

【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 2 月 4 日(2025.2.4)

【公開番号】特開 2024-28643(P2024-28643A)

【公開日】令和 6 年 3 月 4 日(2024.3.4)

【年通号数】公開公報(特許)2024-040

【出願番号】特願 2024-10029(P2024-10029)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09(2006.01)

10

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 15/12(2006.01)

C 1 2 N 9/22(2006.01)

C 1 2 N 5/079(2010.01)

C 1 2 N 15/55(2006.01)

C 1 2 N 15/88(2006.01)

C 1 2 N 15/113(2010.01)

C 1 2 N 15/864(2006.01)

C 1 2 N 7/01(2006.01)

C 0 7 K 14/705(2006.01)

20

C 1 2 P 21/02(2006.01)

A 6 1 K 35/30(2015.01)

A 6 1 P 25/00(2006.01)

A 6 1 P 25/04(2006.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

A 6 1 P 3/10(2006.01)

A 6 1 P 25/08(2006.01)

A 6 1 P 31/22(2006.01)

A 6 1 P 29/00(2006.01)

A 6 1 P 19/02(2006.01)

30

A 6 1 P 25/16(2006.01)

A 6 1 P 17/00(2006.01)

A 6 1 P 25/06(2006.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

A 6 1 K 35/545(2015.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 0 0

C 1 2 N 5/10 Z N A

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 9/22

40

C 1 2 N 5/079

C 1 2 N 15/55

C 1 2 N 15/88 Z

C 1 2 N 15/113 Z

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

C 1 2 N 7/01

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 0 7 K 14/705

C 1 2 P 21/02 C

A 6 1 K 35/30

50

A 6 1 P 25/00  
A 6 1 P 25/04  
A 6 1 P 35/00  
A 6 1 P 3/10  
A 6 1 P 25/08  
A 6 1 P 31/22  
A 6 1 P 29/00  
A 6 1 P 19/02  
A 6 1 P 25/16  
A 6 1 P 17/00  
A 6 1 P 25/06  
A 6 1 K 48/00  
A 6 1 K 35/545

10

【手続補正書】

【提出日】令和7年1月24日(2025.1.24)

【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

20

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

ゲノム編集によって細胞内で電位依存性ナトリウムチャネルアルファサブユニット9 (SCN9A) 遺伝子を編集する方法に使用するための組成物であって、1つまたは複数の Cas9 エンドヌクレアーゼ、および前記 SCN9A 遺伝子内の DNA 配列に対して相補的であるスパーサー配列を含む1つもしくは複数の gRNA または1つもしくは複数の sgRNA を含み、

前記方法は、前記組成物を前記細胞に導入して、前記 SCN9A 遺伝子または SCN9A 制御エレメント内で1つまたは複数の一本鎖切断 (SSB) または二本鎖切断 (DSB) を行い、前記 SCN9A 遺伝子内に少なくとも1つのヌクレオチドの1つまたは複数の恒久的挿入、欠失または変異をもたらし、それによって、SCN9A 遺伝子産物の発現または機能を低減または除去することを含み、

30

前記1つもしくは複数の gRNA または1つもしくは複数の sgRNA のスパーサー配列は、配列番号 46832、49122、49431、47474、47446、28779、28146、49436、47224、47462、47240、27323、27893、47261、28137、49367、47232、49313、47267、30622、47231、26766、28139、46079、48091、46833、26765、27876、47241、47248、30051、30111、28760、27254、30163、49303、28083、49344、47245、48090、27328、46078、28773、46496、27885、29928、および 46039 のいずれか1つに対応する、組成物。

40

【請求項2】

SCN9A 関連状態または障害を有する患者を処置するための末梢神経系のニューロンを含む組成物であって、末梢神経系のニューロンは、

(a) 患者特異的誘導多能性幹細胞 (iPSC) を、請求項1で定義された方法に従って、電位依存性ナトリウムチャネルアルファサブユニット9 (SCN9A) 遺伝子または前記 SCN9A 遺伝子の制御エレメントをコードする他の DNA 配列内で編集すること；および

(b) 前記編集された iPSC を末梢神経系のニューロンに分化させること

50

によって調製され、

前記組成物は前記患者に投与される、組成物。

【請求項 3】

S C N 9 A 関連状態または障害を有する患者を処置するための末梢神経系のニューロンを含む組成物であって、末梢神経系のニューロンは、

( a ) 間葉系幹細胞を、請求項 1 で定義された方法に従って、電位依存性ナトリウムチャネルアルファサブユニット 9 ( S C N 9 A ) 遺伝子または前記 S C N 9 A 遺伝子の制御エレメントをコードする他の D N A 配列内で編集すること；および

( b ) 前記編集された間葉系幹細胞を末梢神経系のニューロンに分化させることによって調製され、

10

前記組成物は前記患者に投与される、組成物。

【請求項 4】

S C N 9 A 関連障害を有する患者を処置するための i n v i v o 方法に使用するための請求項 1 に記載の組成物であって、前記方法は、患者の細胞内で前記電位依存性ナトリウムチャネルアルファサブユニット 9 ( S C N 9 A ) 遺伝子を編集することを含む、組成物。

【請求項 5】

前記細胞が末梢神経系のニューロンである、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

前記 1 つまたは複数の C a s 9 エンドヌクレアーゼが、直接的な神経節内もしくは髄腔内注射、または髄腔内送達を介して前記末梢神経系のニューロンに送達される、請求項 5 に記載の組成物。

20

【請求項 7】

細胞内で S C N 9 A 遺伝子の連続ゲノム配列を変化させる方法において使用するための請求項 1 に記載の組成物であって、前記方法は、前記細胞を、前記組成物と接触させて、1 つもしくは複数の一本鎖切断 ( S S B ) または二本鎖切断 ( D S B ) を行うことを含む、組成物。

【請求項 8】

前記連続ゲノム配列の変化が前記 S C N 9 A 遺伝子の 1 つまたは複数のエキソンで生じる、請求項 7 に記載の組成物。

30

【請求項 9】

前記 1 つまたは複数の C a s 9 エンドヌクレアーゼが、S . p y o g e n e s C a s 9 ( s p C a s 9 ) 、または前記 s p C a s エンドヌクレアーゼと少なくとも 9 0 % 配列同一性を有するバリエーションである、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 10】

前記 1 つまたは複数の C a s 9 エンドヌクレアーゼが、1 つもしくは複数のタンパク質またはポリペプチドである、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 11】

前記 1 つまたは複数の C a s 9 エンドヌクレアーゼが、前記 C a s 9 エンドヌクレアーゼをコードする 1 つまたは複数のポリヌクレオチドである、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

40

【請求項 12】

前記 1 つまたは複数の C a s 9 エンドヌクレアーゼが、前記 C a s 9 エンドヌクレアーゼをコードする 1 つまたは複数のリボ核酸 ( R N A ) である、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 13】

前記 1 つまたは複数のリボ核酸 ( R N A ) が、1 つまたは複数の化学修飾 R N A である、請求項 12 に記載の組成物。

【請求項 14】

前記 1 つまたは複数のリボ核酸 ( R N A ) が、前記コード領域で化学修飾されている、

50

請求項 1 3 に記載の組成物。

【請求項 1 5】

前記 1 つもしくは複数のポリヌクレオチドまたは 1 つもしくは複数のリボ核酸 ( R N A ) がコドン最適化されている、請求項 1 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 6】

前記 1 つもしくは複数の g R N A または 1 つもしくは複数の s g R N A が化学修飾されている、請求項 1 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 7】

前記 1 つもしくは複数の g R N A または 1 つもしくは複数の s g R N A が、前記 1 つまたは複数の C a s 9 エンドヌクレアーゼと事前複合体化されている、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。 10

【請求項 1 8】

前記事前複合体化が、前記 1 つもしくは複数の g R N A または 1 つもしくは複数の s g R N A と、前記 1 つまたは複数の C a s 9 エンドヌクレアーゼとの共有結合を伴う、請求項 1 7 に記載の組成物。

【請求項 1 9】

前記 1 つまたは複数の C a s 9 エンドヌクレアーゼがリボソームまたは脂質ナノ粒子に製剤化されている、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 0】

前記 1 つまたは複数の C a s 9 エンドヌクレアーゼが、前記 1 つもしくは複数の g R N A または 1 つもしくは複数の s g R N A も含むリボソームまたは脂質ナノ粒子に製剤化されている、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。 20

【請求項 2 1】

前記 1 つまたは複数の C a s 9 エンドヌクレアーゼが A A V ベクター粒子内でコードされる、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 2】

前記 1 つもしくは複数の g R N A または 1 つもしくは複数の s g R N A が A A V ベクター粒子内でコードされる、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 3】

前記 1 つまたは複数の C a s 9 エンドヌクレアーゼが、前記 1 つもしくは複数の g R N A または 1 つもしくは複数の s g R N A もコードする A A V ベクター粒子内でコードされる、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。 30

【請求項 2 4】

前記 A A V ベクター粒子が、A A V 1、A A V 2、A A V 3、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、および A A V 9 からなる群から選択される、請求項 2 1 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 5】

配列番号 4 6 8 3 2、4 9 1 2 2、4 9 4 3 1、4 7 4 7 4、4 7 4 4 6、2 8 7 7 9、2 8 1 4 6、4 9 4 3 6、4 7 2 2 4、4 7 4 6 2、4 7 2 4 0、2 7 3 2 3、2 7 8 9 3、4 7 2 6 1、2 8 1 3 7、4 9 3 6 7、4 7 2 3 2、4 9 3 1 3、4 7 2 6 7、3 0 6 2 2、4 7 2 3 1、2 6 7 6 6、2 8 1 3 9、4 6 0 7 9、4 8 0 9 1、4 6 8 3 3、2 6 7 6 5、2 7 8 7 6、4 7 2 4 1、4 7 2 4 8、3 0 0 5 1、3 0 1 1 1、2 8 7 6 0、2 7 2 5 4、3 0 1 6 3、4 9 3 0 3、2 8 0 8 3、4 9 3 4 4、4 7 2 4 5、4 8 0 9 0、2 7 3 2 8、4 6 0 7 8、2 8 7 7 3、4 6 4 9 6、2 7 8 8 5、2 9 9 2 8、および 4 6 0 3 9 のいずれか 1 つに対応する R N A 配列である少なくとも 1 つのスペーサー配列を含む、一分子ガイド R N A。 40

【請求項 2 6】

前記一分子ガイド R N A がスペーサーエクステンション領域をさらに含む、請求項 2 5 に記載の一分子ガイド R N A。

【請求項 2 7】

前記一分子ガイドRNAがtracrRNAエクステンション領域をさらに含む、請求項25または26に記載の一分子ガイドRNA。

【請求項28】

前記一分子ガイドRNAが化学修飾されている、請求項25～27に記載の一分子ガイドRNA。

【請求項29】

Cas9エンドヌクレアーゼと事前複合体化している、請求項25～28のいずれか1項に記載の一分子ガイドRNA。

【請求項30】

前記Cas9エンドヌクレアーゼが、S. pyogenes Cas9 (spCas9) 、または前記spCas9エンドヌクレアーゼと少なくとも90%配列同一性を有するバリエーションである、請求項29に記載の一分子ガイドRNA。 10

【請求項31】

前記Cas9エンドヌクレアーゼが1つまたは複数の核移行シグナル(NLS)を含む、請求項29または30に記載の一分子ガイドRNA。

【請求項32】

少なくとも1つのNLSが、前記Cas9エンドヌクレアーゼのアミノ末端に、またはその50アミノ酸以内にあり、及び/または少なくとも1つのNLSが、前記Cas9エンドヌクレアーゼのカルボキシ末端に、またはその50アミノ酸以内にある、請求項31に記載の一分子ガイドRNA。 20

【請求項33】

請求項25～32のいずれか1項に記載の一分子ガイドRNAをコードするDNA。

30

40

50