

【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 12N 15/09(2006.01)	10
C 12N 5/10(2006.01)	
C 12N 15/12(2006.01)	
C 12N 9/22(2006.01)	
C 12N 5/079(2010.01)	
C 12N 15/55(2006.01)	
C 12N 15/88(2006.01)	
C 12N 15/113(2010.01)	
C 12N 15/864(2006.01)	
C 12N 7/01(2006.01)	
C 07K 14/705(2006.01)	20
C 12P 21/02(2006.01)	
A 61K 35/30(2015.01)	
A 61P 25/00(2006.01)	
A 61P 25/04(2006.01)	
A 61P 35/00(2006.01)	
A 61P 3/10(2006.01)	
A 61P 25/08(2006.01)	
A 61P 31/22(2006.01)	
A 61P 29/00(2006.01)	
A 61P 19/02(2006.01)	30
A 61P 25/16(2006.01)	
A 61P 17/00(2006.01)	
A 61P 25/06(2006.01)	
A 61K 48/00(2006.01)	
A 61K 35/545(2015.01)	

【F I】

C 12N 15/09 100		
C 12N 5/10	Z N A	
C 12N 15/12		
C 12N 9/22		40
C 12N 5/079		
C 12N 15/55		
C 12N 15/88 Z		
C 12N 15/113 Z		
C 12N 15/864 100Z		
C 12N 7/01		
C 12N 15/09 110		
C 07K 14/705		
C 12P 21/02 C		
A 61K 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ペーサー配列を含む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、

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のスペーサー配列は、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。

30

【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

40

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ントである、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 1 2 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(RNA)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gRNAまたは1つもしくは複数のsgRNA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gRNAまたは1つもしくは複数のsgRNAが、前記1つまたは複数のCas9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gRNAまたは1つもしくは複数のsgRNAと、前記1つまたは複数のCas9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Cas9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Cas9エンドヌクレアーゼが、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Cas9エンドヌクレアーゼがAAV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gRNAまたは1つもしくは複数のsgRNAがAAV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Cas9エンドヌクレアーゼが、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もコードするAAV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AAVベクター粒子が、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、およびAAV9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RNA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RNA。40

【請求項 2 6】

前記一分子ガイドRNA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RNA。

【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spCas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ントである、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。