

【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】平成29年10月19日 (2017.10.19)

【公表番号】特表2016-534132(P2016-534132A)

【公表日】平成28年11月4日 (2016.11.4)

【年通号数】公開・登録公報2016-062

【出願番号】特願2016-540408(P2016-540408)

【国際特許分類】

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 0 7 K 14/435 (2006.01)

A 6 1 K 38/46 (2006.01)

A 6 1 K 47/50 (2017.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 37/02 Z N A

C 1 2 N 9/16 Z

C 0 7 K 19/00

C 0 7 K 14/435

A 6 1 K 37/54

A 6 1 K 47/48

A 6 1 P 43/00 1 0 5

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成29年9月5日 (2017.9.5)

【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】

C a s 9 蛋白質およびカチオン性脂質を含む組成物であって、C a s 9 蛋白質がガイド RNA (g RNA) と結びつき、組成物が細胞に C a s 9 蛋白質を送達することができる、前記組成物。

【請求項 2】

カチオン性脂質が、Lipofectamine (登録商標) 2000、Lipofectamine (登録商標) 3000、Lipofectamine (登録商標) RNAiMAX、およびLipofectamine (登録商標) LTXからなる群から選択される、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

C a s 9 蛋白質が、野生型 C a s 9 蛋白質もしくはそのバリエーション、C a s 9 ニッカゼ、またはヌクレアーゼ不活性型 C a s 9 (d C a s 9) もしくはそのバリエーションを含む、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

C a s 9 蛋白質が、野生型 C a s 9 蛋白質を含む、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 5】

C a s 9 蛋白質が、C a s 9 ニッカーゼ、またはヌクレアーゼ不活性型 C a s 9 (d C a s 9) を含む、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 6】

d C a s 9 が転写活性化因子または転写抑制因子に融合し、任意で転写活性化因子が V P 1 6、V P 6 4、および p 6 5 からなる群から選択されるか、または転写抑制因子が K R A B 蛋白質もしくは S I D 蛋白質である、請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 7】

d C a s 9 がヌクレアーゼドメインに融合し、任意でヌクレアーゼドメインが F o k I ヌクレアーゼドメインを含む、請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 8】

d C a s 9 がリコンビナーゼ触媒ドメインに融合し、任意でリコンビナーゼ触媒ドメインが H i n リコンビナーゼ触媒ドメイン、G i n リコンビナーゼ触媒ドメイン、または T n 3 リコンビナーゼ触媒ドメインを含む、請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 9】

C a s 9 ニッカーゼまたは d C a s 9 がデアミナーゼに融合し、任意でデアミナーゼが、A P O B E C 1、A I D、および A C F 1 / A S E デアミナーゼからなる群から選択されるシチジンデアミナーゼを含むか、または、デアミナーゼが、A D A T ファミリーデアミナーゼを任意で含むアデノシンデアミナーゼを含む、請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 10】

d C a s 9 がエピジェネティック修飾因子に融合し、任意でエピジェネティック修飾因子が、ヒストン脱メチル化酵素、ヒストンメチルトランスフェラーゼ、ヒドロキシラーゼ、ヒストン脱アセチル化酵素、およびヒストンアセチルトランスフェラーゼからなる群から選択され、任意でエピジェネティック修飾因子が、L S D 1 ヒストン脱メチル化酵素または T E T 1 ヒドロキシラーゼを含む、請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 11】

C a s 9 蛋白質が、超負荷電蛋白質と結びつき、結びつけられた C a s 9 蛋白質および超負荷電蛋白質は負電荷を有し、任意で結びつきは共有結合的な結びつきである、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 12】

超負荷電蛋白質が蛍光蛋白質であり、任意で超負荷電蛋白質が超負荷電 G F P である、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 13】

細胞に C a s 9 蛋白質を導入する方法であって、C a s 9 蛋白質が細胞に入るための好適な条件下で請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の組成物と細胞を接触させることを含み、それによって細胞に C a s 9 蛋白質を導入する、前記方法。

【請求項 14】

エフェクター蛋白質およびカチオン性脂質、カチオン性ポリマー、またはカチオン性脂質およびカチオン性ポリマーの両方を含む組成物であって、エフェクター蛋白質が超負荷電蛋白質と結びつき、結びつけられたエフェクター蛋白質および超負荷電蛋白質が正味の負電荷を有し、組成物が細胞にエフェクター蛋白質を送達することができる、前記組成物。

【請求項 15】

カチオン性脂質が、Lipofectamine (登録商標) 2000、Lipofectamine (登録商標) 3000、Lipofectamine (登録商標) RNAiMAX、および Lipofectamine (登録商標) LTX からなる群から選択される、請求項 14 に記載の組成物。

【請求項 16】

超負荷電蛋白質が蛍光蛋白質であり、任意で蛍光蛋白質が超負荷電 G F P である、請求項 14 または 15 に記載の組成物。

【請求項 17】

エフェクター蛋白質が、ヌクレアーゼ、リコンビナーゼまたは T A L E 蛋白質であり、

任意でヌクレアーゼが、RNAによってプログラミング可能なヌクレアーゼであり、リコンビナーゼがCreリコンビナーゼであり、またはTALE蛋白質がVP64転写活性化因子を含み、任意でヌクレアーゼが、Cas9ヌクレアーゼである、請求項12～14のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項18】

組成物が医薬組成物であり、任意で医薬組成物が、薬学的に許容し得る担体をさらに含む、請求項1～12および14～17のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項19】

組成物が、細胞の集団に投与されたときに低い毒性を示し、任意で細胞の少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%が、組成物の投与後に生存可能である、請求項18に記載の組成物。

【請求項20】

機能的なエフェクター蛋白質と結びついた超負荷電蛋白質を含む組成物であって、超負荷電蛋白質が、その対応する未改変蛋白質よりも小さくかつ充分量である負の総電荷を有し、細胞への透過のために処方される、前記組成物。

【請求項21】

機能的なエフェクター蛋白質がヌクレアーゼである、請求項20に記載の組成物。

【請求項22】

ヌクレアーゼが、RNAによってプログラミング可能なヌクレアーゼである、請求項21に記載の組成物。

【請求項23】

ヌクレアーゼがTALEヌクレアーゼ、Cas9ヌクレアーゼ、またはジンクフィンガーヌクレアーゼである、請求項21に記載の組成物。

【請求項24】

ヌクレアーゼが核酸配列に特異的に結合して切断し、任意で核酸配列が、疾患または障害と結びついた遺伝子またはアレル内に含まれる、請求項21～23のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項25】

組成物が、ヌクレアーゼによって結合および切断される核酸配列と同一のまたは相同な配列を含む核酸分子をさらに含む、請求項24に記載の組成物。

【請求項26】

核酸配列が、治療ターゲットである遺伝子内に含まれる配列であり、任意で遺伝子が、細胞運命をコントロールする遺伝子であり、任意で遺伝子が、褐色脂肪細胞の細胞運命に向かう細胞プログラミングを誘導または阻害する遺伝子であり、任意で遺伝子がPRDM16またはPPARである、請求項24または25に記載の組成物。

【請求項27】

機能的なエフェクター蛋白質が転写因子であり、任意で機能的なエフェクター蛋白質がTALE転写活性化因子または抑制因子であり、任意で転写因子、転写活性化因子、または転写抑制因子が遺伝子に特異的に結合して活性化または抑制し、任意で遺伝子が治療ターゲットである、請求項20に記載の組成物。

【請求項28】

超負荷電蛋白質が共有結合を介して機能的なエフェクター蛋白質と結びつき、それゆえに融合蛋白質を形成し、任意で超負荷電蛋白質がリンカーを介して機能的なエフェクター蛋白質と結びつき、任意でリンカーが、切断可能なリンカーであり、任意でリンカーが、UVによって切断可能なリンカーまたはリソソーム酵素によって切断されるリンカーである、請求項20～27のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項29】

超負荷電蛋白質が非共有結合的な相互作用を介して機能的なエフェクター蛋白質と結びつき、それゆえに複合体を形成する、請求項20～27のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 30】

超負荷電蛋白質が蛍光蛋白質であり、任意で超負荷電蛋白質が超負荷緑色蛍光蛋白質（GFP）である、請求項 20～29 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 31】

組成物が医薬組成物であり、任意で組成物が薬学的に許容し得る賦形剤を含む、請求項 20～30 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 32】

組成物が対象への投与のために処方され、対象の少なくとも 1 つの細胞への送達に有効な量で超負荷電蛋白質および機能的なエフェクター蛋白質を含み、任意で組成物が、対象への投与後に測定可能な治療効果を誘導することに有効な量で超負荷電蛋白質および機能的なエフェクター蛋白質を含む、請求項 31 に記載の医薬組成物。

【請求項 33】

機能的なエフェクター蛋白質が細胞に入るための好適な条件で、請求項 20～30 のいずれか一項に記載の組成物または請求項 31 または 32 に記載の医薬組成物と細胞を接触させることを含み、それによって細胞に機能的なエフェクター蛋白質を導入する、細胞に機能的なエフェクター蛋白質を導入するインビトロ方法。

【請求項 34】

細胞が体細胞である、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

細胞が、望まれる細胞運命への細胞のプログラミングを誘導するために十分な量、時間、および条件で組成物または医薬組成物と接触させられる、請求項 33 または 34 に記載の方法。