

【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 5 年 3 月 7 日(2023.3.7)

【国際公開番号】WO2020/176552

【公表番号】特表 2022-521764(P2022-521764A)

【公表日】令和 4 年 4 月 12 日(2022.4.12)

【年通号数】公開公報(特許)2022-065

【出願番号】特願 2021-549698(P2021-549698)

【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/113(2010.01)

C 1 2 N 15/11(2006.01)

C 1 2 N 15/55(2006.01)

C 1 2 N 15/09(2006.01)

C 1 2 N 15/864(2006.01)

C 1 2 N 15/12(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 9/16(2006.01)

A 6 1 K 31/7105(2006.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

A 6 1 P 27/02(2006.01)

C 0 7 K 14/47(2006.01)

20

【F I】

C 1 2 N 15/113 Z Z N A

C 1 2 N 15/11 Z

C 1 2 N 15/55

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 9/16 Z

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 27/02

C 0 7 K 14/47

30

【手続補正書】

【提出日】令和 5 年 2 月 24 日(2023.2.24)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

40

【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】

ロドブシン(RHO)遺伝子の第 1 の標的ドメインに相補的な第 1 の標的化ドメインを含む第 1 のガイド RNA(gRNA)分子。

【請求項 2】

前記第 1 の標的化ドメインが、配列番号 100 ~ 502 からなる群から選択される配列番号で示す配列と同一であるか、又は 3 ヌクレオチド以下が異なる配列を含む、請求項 1

50

に記載の第 1 の g R N A 分子。

【請求項 3】

前記第 1 の g R N A 分子が、モジュラー g R N A 分子又はキメラ g R N A 分子である、請求項 1 又は 2 に記載の第 1 の g R N A 分子。

【請求項 4】

(a) 請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の第 1 の g R N A 分子をコード化する配列、を含む核酸。

【請求項 5】

(b) R N A 誘導ヌクレアーゼ分子をコード化する配列をさらに含む、請求項 4 に記載の核酸。

【請求項 6】

前記 R N A 誘導ヌクレアーゼ分子が C a s 9 分子である、請求項 5 に記載の核酸。

【請求項 7】

(c) R H O c D N A 分子をさらに含む、請求項 4 ~ 6 のいずれか一項に記載の核酸。

【請求項 8】

(d) 前記 R H O 遺伝子の第 2 の標的ドメインに相補的な第 2 の標的化ドメインを含む第 2 の g R N A 分子をコード化する配列をさらに含む、請求項 7 に記載の核酸。

【請求項 9】

前記第 2 の標的化ドメインが、配列番号 1 0 0 ~ 5 0 2 からなる群から選択される配列番号で示す配列と同一であるか、又は 3 ヌクレオチド以下が異なる配列を含む、請求項 8 に記載の核酸。

【請求項 10】

前記第 2 の g R N A 分子が、モジュラー g R N A 分子又はキメラ g R N A 分子である、請求項 8 又は 9 に記載の核酸。

【請求項 11】

(b) が第一の核酸分子上に存在し、(a) 及び (c) が第二の核酸分子上に存在し、任意選択的に、(d) が第二の核酸分子上に存在する、請求項 8 ~ 10 のいずれか一項に記載の核酸。

【請求項 12】

前記第一及び第二の核酸分子が A A V ベクターである、請求項 11 に記載の核酸。

【請求項 13】

請求項 4 ~ 12 のいずれか一項に記載の核酸を含む、組成物。

【請求項 14】

前記細胞を、請求項 4 ~ 12 のいずれか一項に記載の核酸と接触させるステップを含む、細胞を改変する方法。

【請求項 15】

前記細胞が網膜細胞である、請求項 14 に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0443

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0443】

その他の実施形態は、以下の特許請求の範囲内にある。

以下に、出願当初の特許請求の範囲に記載された発明を付記する。

[1] R H O 遺伝子の標的配列に結合する標的ドメインを含む、ガイド R N A (g R N A) 分子。

[2] 前記標的化ドメインが、R H O 遺伝子の標的ドメインに相補的である、[1] に記載の g R N A 分子。

[3] 前記標的化ドメインが、R H O 標的位置の 10 ヌクレオチド内で、二本鎖切断及

10

20

30

40

50

び一本鎖切断から選択される切断事象を提供するように構成される、[1]に記載の g R N A 分子。

[4] 前記 R H O 標的位置が前記 R H O 遺伝子の 5 ' 領域にある、[1]に記載の g R N A 分子。

[5] 前記 R H O 遺伝子の 5 ' 領域が、前記 R H O 遺伝子の 5 ' 非翻訳 (U T R) 領域、エクソン 1、エクソン 1 / イントロン 1 境界、エクソン 2、及びエクソン 2 / イントロン 1 境界からなる群から選択される、[4]に記載の g R N A 分子。

[6] 前記標的化ドメインが、表 1 ~ 3 及び 1 8 のいずれかからの標的化ドメイン配列と同一であるか、又は 3 ヌクレオチド以下が異なる配列を含む、[1]に記載の g R N A 分子。

[7] 前記標的化ドメインが表 1 ~ 3 及び 1 8 のものから選択される、[1]に記載の g R N A 分子。

[8] 前記 g R N A がモジュラー g R N A 分子又はキメラ g R N A 分子である、[1] ~ [7] のいずれか一項に記載の g R N A 分子。

[9] 5 ' から 3 ' 方向に、
標的化ドメイン；

第 1 の相補的ドメイン；

連結ドメイン；

第 2 の相補的ドメイン；

近位ドメイン；及び

尾部ドメイン

を含む、[1] ~ [8] のいずれか一項に記載の g R N A 分子。

[1 0] (a) 前記 R H O 遺伝子の標的ドメインに相補的な標的化ドメインを含む g R N A 分子をコード化する配列を含む核酸。

[1 1] 前記 g R N A 分子が、[1] ~ [9] のいずれか一項に記載の g R N A 分子である、[1 0]に記載の核酸。

[1 2] 前記標的化ドメインが、R H O 標的位置の 1 0 ヌクレオチド内で、二本鎖切断及び一本鎖切断から選択される切断事象を提供するように構成される、[1 1]に記載の核酸。

[1 3] 前記標的化ドメインが、表 1 ~ 3 及び 1 8 のいずれかからの標的化ドメイン配列と同一であるか、又は 3 ヌクレオチド以下が異なる配列を含む、[1 1]に記載の核酸。

[1 4] 前記標的化ドメインが表 1 ~ 3 及び 1 8 のものから選択される、[1 1]に記載の核酸。

[1 5] 前記 g R N A がモジュラー g R N A 分子又はキメラ分子である、[1 0] ~ [1 4] のいずれか一項に記載の核酸。

[1 6] 前記核酸が、(a) の前記 g R N A 分子をコード化する配列と作動可能に連結するプロモーターを含む、[1 0] ~ [1 5] のいずれか一項に記載の核酸。

[1 7] (a) の前記 g R N A 分子をコード化する配列と作動可能に連結する前記プロモーターが、U 6 プロモーターである、[1 6]に記載の核酸。

[1 8] (b) R N A 誘導ヌクレアーゼ分子をコード化する配列をさらに含む、[1 0] ~ [1 7] のいずれか一項に記載の核酸。

[1 9] 前記 R N A 誘導ヌクレアーゼ分子が、標的核酸中で二本鎖切断を形成する、[1 8]に記載の核酸。

[2 0] 前記 R N A 誘導ヌクレアーゼ分子が、標的核酸中で一本鎖切断を形成する、[1 8]に記載の核酸。

[2 1] 前記一本鎖切断が、前記 g R N A 分子の前記標的化ドメインがそれに相補的である前記標的核酸の前記鎖中に形成される、[2 0]に記載の核酸。

[2 2] 前記一本鎖切断が、前記 g R N A の前記標的化ドメインがそれに相補的である前記鎖以外の前記標的核酸の前記鎖中に形成される、[2 1]に記載の核酸。

10

20

30

40

50

[2 3] 前記 R N A 誘導ヌクレアーゼ分子が C a s 9 分子である、[1 8] に記載の核酸。

[2 4] 前記 C a s 9 分子がニッカーゼ分子を含む、[2 3] に記載の核酸。

[2 5] 前記 R N A 誘導ヌクレアーゼ分子が C p f 1 分子である、[1 8] に記載の核酸。

[2 6] 前記核酸が、(b) の前記 R N A 誘導ヌクレアーゼ分子をコード化する前記配列と作動可能に連結するプロモーターを含む、[1 8] ~ [2 5] のいずれか一項に記載の核酸。

[2 7] (b) の前記 R N A 誘導ヌクレアーゼ分子をコード化する前記配列と作動可能に連結する前記プロモーターが、R H O、C M V、E F S、G R K 1、C R X、N R L、及び R C V R N プロモーターからなる群から選択されるプロモーターを含む、[2 6] に記載の核酸。

[2 8] (c) R H O c D N A 分子をさらに含む、[1 0] ~ [2 7] のいずれか一項に記載の核酸。

[2 9] 前記 R H O c D N A 分子が、前記 g R N A 分子とのハイブリッド形成に耐性があるようにコドン修飾されていない、[2 4] に記載の核酸。

[3 0] 前記 R H O c D N A 分子が、前記 R H O 遺伝子のエクソン 1、エクソン 2、エクソン 3、エクソン 4、及びエクソン 5 を含むヌクレオチド配列を含む、[2 8] に記載の核酸。

[3 1] 前記 R H O c D N A 分子が、前記 R H O 遺伝子のエクソン 1、イントロン 1、エクソン 2、エクソン 3、エクソン 4、及びエクソン 5 を含むヌクレオチド配列を含む、[2 8] に記載の核酸。

[3 2] イントロン 1 が、イントロン 1 の 5 ' 末端、イントロン 1 の 3 ' 末端、又はその双方に 1 つ又は複数のランケーションを含む、[2 8] に記載の核酸。

[3 3] 前記核酸が、前記 R H O c D N A 分子の下流の 3 ' U T R ヌクレオチド配列を含む、[2 8] ~ [3 2] のいずれか一項に記載の核酸。

[3 4] 前記 3 ' U T R ヌクレオチド配列が、R H O 遺伝子 3 ' U T R ヌクレオチド配列を含む、[3 3] に記載の核酸。

[3 5] 前記 3 ' U T R ヌクレオチド配列が、- グロビン 3 ' U T R ヌクレオチド配列を含む、[3 3] に記載の核酸。

[3 6] 前記 3 ' U T R ヌクレオチド配列が、- グロビン 3 ' U T R ヌクレオチド配列を含む、[3 3] に記載の核酸。

[3 7] 前記 3 ' U T R ヌクレオチド配列が、前記 3 ' U T R ヌクレオチド配列の 5 ' 末端、前記 3 ' U T R ヌクレオチド配列の 3 ' 末端、又はその双方に 1 つ又は複数のランケーションを含む、[3 3] ~ [3 6] のいずれか一項に記載の核酸。

[3 8] 前記核酸が、(c) の前記 R H O c D N A 分子と作動可能に連結するプロモーターを含む、[2 8] ~ [3 7] のいずれか一項に記載の核酸。

[3 9] (c) の前記 R H O c D N A 分子と作動可能に連結する前記プロモーターが、桿体特異的プロモーターである、[3 8] に記載の核酸。

[4 0] 前記桿体特異的プロモーターが、ヒト R H O プロモーターである、[3 9] に記載の核酸。

[4 1] 前記ヒト R H O プロモーターが、内在性 R H O プロモーターを含む、[4 0] に記載の核酸。

[4 2] (d) 前記 R H O 遺伝子の第 2 の標的ドメインに相補的な標的化ドメインを有する第 2 の g R N A 分子をコード化する配列をさらに含む、[4 1] に記載の核酸。

[4 3] 前記第 2 の g R N A の前記標的化ドメインが、R H O 標的位置の 1 0 ヌクレオチド内で、二本鎖切断及び一本鎖切断から選択される切断事象を提供するように構成される、[4 2] に記載の核酸。

[4 4] 前記第 2 の g R N A 分子が、モジュラー g R N A 分子又はキメラ g R N A 分子である、[4 2] 又は [4 3] に記載の核酸。

10

20

30

40

50

[4 5] 前記第 2 の g R N A 分子が、キメラ g R N A 分子である、[4 2] ~ [4 4] のいずれか一項に記載の核酸。

[4 6] 前記第 2 の g R N A 分子が、5' から 3' 方向に、
標的化ドメイン；

第 1 の相補的ドメイン；

連結ドメイン；

第 2 の相補的ドメイン；

近位ドメイン；及び

尾部ドメイン

を含む、[4 2] ~ [4 5] のいずれか一項に記載の核酸。

10

[4 7] 第 3 の g R N A 分子をさらに含む、[4 2] ~ [4 6] のいずれか一項に記載の核酸。

[4 8] 第 4 の g R N A 分子をさらに含む、[4 7] に記載の核酸。

[4 9] (a) 及び (b) のそれぞれが同じ核酸分子上に存在する、[1 8] ~ [2 7] のいずれか一項に記載の核酸。

[5 0] 前記核酸分子が A A V ベクターである、[4 9] に記載の核酸。

[5 1] (a) が第 1 の核酸分子上に存在し、(b) が第 2 の核酸分子上に存在する、[1 8] ~ [2 7] のいずれか一項に記載の核酸。

[5 2] 前記第 1 及び第 2 の核酸分子が A A V ベクターである、[5 1] に記載の核酸。

[5 3] (c) [2 8] ~ [4 1] のいずれか一項に記載の R H O c D N A 分子をさらに含む、[1 8] ~ [2 7] のいずれか一項に記載の核酸。

20

[5 4] (a) 及び (c) のそれぞれが同じ核酸分子上に存在する、[5 3] に記載の核酸。

[5 5] 前記核酸分子が A A V ベクターである、[5 4] に記載の核酸。

[5 6] (a) が第 1 の核酸分子上に存在し、(c) が第 2 の核酸分子上に存在する、[5 3] に記載の核酸。

[5 7] 前記第 1 及び第 2 の核酸分子が A A V ベクターである、[5 6] に記載の核酸。

[5 8] (b) [1 8] ~ [2 7] のいずれか一項に記載の R N A 誘導ヌクレアーゼ分子をコード化する配列；及び

(c) [2 8] ~ [4 1] のいずれか一項に記載の R H O c D N A 分子

をさらに含む、[1 0] ~ [1 7] のいずれか一項に記載の核酸。

30

[5 9] (a)、(b)、及び (c) のそれぞれが同じ核酸分子上に存在する、[5 8] に記載の核酸。

[6 0] 前記核酸分子が A A V ベクターである、[5 9] に記載の核酸。

[6 1] (a)、(b)、及び (c) の 1 つが第 1 の核酸分子上に存在し；

(a)、(b)、(c) の第 2 及び第 3 のものが第 2 の核酸分子上に存在する、[5 8] に記載の核酸。

[6 2] 前記第 1 及び第 2 の核酸分子が A A V ベクターである、[6 1] に記載の核酸。

[6 3] (a) が第 1 の核酸分子上に存在し、(b) 及び (c) が第 2 の核酸分子上に存在する、[5 8] に記載の核酸。

40

[6 4] 前記第 1 及び第 2 の核酸分子が A A V ベクターである、[6 3] に記載の核酸。

[6 5] (b) が第 1 の核酸分子上に存在し、(a) 及び (c) が第 2 の核酸分子上に存在する、[5 8] に記載の核酸。

[6 6] 前記第 1 及び第 2 の核酸分子が A A V ベクターである、[6 5] に記載の核酸。

[6 7] (c) が第 1 の核酸分子上に存在し、(b) 及び (a) が第 2 の核酸分子上に存在する、[5 8] に記載の核酸。

[6 8] 前記第 1 及び第 2 の核酸分子が A A V ベクターである、[6 7] に記載の核酸。

[6 9] 前記第 1 の核酸分子が A A V ベクター以外であり、前記第 2 の核酸分子が A A V ベクターである、[5 1]、[5 6]、[6 1]、[6 3]、[6 5]、及び [6 7] のいずれか一項に記載の核酸。

50

- [7 0] [1] ~ [1 7] のいずれか一項に記載の g R N A 分子を含む、組成物。
- [7 1] [1 8] ~ [2 7] のいずれか一項に記載の (b) C a s 9 分子をさらに含む、[7 0] に記載の組成物。
- [7 2] (c) [2 8] ~ [4 1] のいずれか一項に記載の R H O c D N A 分子をさらに含む、[7 1] に記載の組成物。
- [7 3] 第 2 の g R N A 分子をさらに含む、[7 2] に記載の組成物。
- [7 4] 第 3 の g R N A 分子をさらに含む、[7 3] に記載の組成物。
- [7 5] 第 4 の g R N A 分子をさらに含む、[7 5] に記載の組成物。
- [7 6] 前記細胞を
- (a) [1] ~ [1 7] のいずれか一項に記載の g R N A ;
- (b) [1 8] ~ [2 7] のいずれか一項に記載の R N A 誘導ヌクレアーゼ分子 ;
- (c) [2 8] ~ [4 1] のいずれか一項に記載の R H O c D N A 分子 ; 及び
- 任意選択的に、(d) [4 2] ~ [4 6] のいずれか一項に記載の第 2 の g R N A 分子に接触させるステップを含む、細胞を改変する方法。
- [7 7] 第 3 の g R N A 分子をさらに含む、[7 6] に記載の方法。
- [7 8] 第 4 の g R N A 分子をさらに含む、[7 7] に記載の方法。
- [7 9] 前記細胞を (a)、(b)、(c)、及び任意選択的に (d) と接触させるステップを含む、[7 6] に記載の方法。
- [8 0] 前記細胞が、a d R P に罹患している対象に由来する、[7 6] ~ [7 9] のいずれか一項に記載の方法。
- [8 1] 前記細胞が、前記 R H O 遺伝子に変異を有する対象に由来する、[7 6] ~ [8 0] のいずれか一項に記載の方法。
- [8 2] 前記細胞が網膜細胞である、[7 6] ~ [8 1] のいずれか一項に記載の方法。
- [8 3] 前記網膜細胞が桿体光受容体である、[8 2] に記載の方法。
- [8 4] 前記細胞が、胚性幹細胞、誘導万能性幹細胞、造血幹細胞、神経細胞幹細胞又は間葉系幹細胞である、[7 6] ~ [8 3] のいずれか一項に記載の方法。
- [8 5] 前記接触が生体外で実施される、[7 6] ~ [8 3] のいずれか一項に記載の方法。
- [8 6] 前記接触した細胞を前記対象の体内に戻す、[8 4] に記載の方法。
- [8 7] 前記接触が生体内で実施される、[7 6] ~ [8 3] のいずれか一項に記載の方法。
- [8 8] 前記細胞中の前記 R H O 遺伝子における前記変異の存在についての知識を得るステップを含む、[8 0] ~ [8 7] のいずれか一項に記載の方法。
- [8 9] 前記 R H O 遺伝子の一部を配列決定することによって、前記細胞中の前記 R H O 遺伝子における前記変異の存在についての知識を得るステップを含む、[8 8] に記載の方法。
- [9 0] R H O 標的位置を変更して前記 R H O 遺伝子の機能をノックアウトするステップを含む、[7 6] ~ [8 9] のいずれか一項に記載の方法。
- [9 1] 接触させるステップが、前記細胞を (a)、(b)、(c)、及び任意選択的に (d) の少なくとも 1 つをコード化する核酸に接触させるステップを含む、[7 6] ~ [9 0] のいずれか一項に記載の方法。
- [9 2] 接触させるステップが、(b) の前記 R N A 誘導ヌクレアーゼ分子と、(a) 及び (c)、及び任意選択的に (d) をコード化する核酸とを前記細胞に送達するステップを含む、[7 6] ~ [9 0] のいずれか一項に記載の方法。
- [9 3] 接触させるステップが、(b) の前記 R N A 誘導ヌクレアーゼ分子、(a) の前記 g R N A 分子、及び (c) の前記 R H O c D N A 分子を前記細胞に送達するステップを含む、[7 6] ~ [9 0] のいずれか一項に記載の方法。
- [9 4] 接触させるステップが、(a) の前記 g R N A 分子と、(c) の前記 R H O c D N A 分子と、(b) の前記 R N A 誘導ヌクレアーゼ分子をコード化する核酸とを前記細胞に送達するステップを含む、[7 6] ~ [9 0] のいずれか一項に記載の方法。

[9 5] 対象（又は前記対象の細胞）を

（ a ） [1] ~ [1 7] のいずれか一項に記載の g R N A ；

（ b ） [1 8] ~ [2 7] のいずれか一項に記載の R N A 誘導ヌクレアーゼ分子；

（ c ） [2 8] ~ [4 1] のいずれか一項に記載の R H O c D N A 分子；及び

任意選択的に、（ d ） [4 2] ~ [4 6] のいずれか一項に記載の第 2 の g R N A と接触させる方法。

[9 6] 第 3 の g R N A 分子をさらに含む、[9 5] に記載の方法。

[9 7] 第 4 の g R N A 分子をさらに含む、[9 6] に記載の方法。

[9 8] 前記対象を（ a ）、（ b ）、（ c ）、及び任意選択的に（ d ）と接触させるステップをさらに含む、[9 7] に記載の方法。

[9 9] 前記対象が a d R P に罹患している、[9 5] ~ [9 8] のいずれか一項に記載の方法。

[1 0 0] 前記対象が前記 R H O 遺伝子に変異を有する、[9 5] ~ [9 9] のいずれか一項に記載の方法。

[1 0 1] 前記対象中の前記 R H O 遺伝子における前記変異の存在についての知識を得るステップを含む、[9 5] ~ [1 0 0] のいずれか一項に記載の方法。

[1 0 2] 前記 R H O 遺伝子の一部を配列決定することによって、前記対象中の前記 R H O 遺伝子における前記変異の存在についての知識を得るステップを含む、[1 0 1] に記載の方法。

[1 0 3] R H O 標的位置を変更して前記 R H O 遺伝子の機能をノックアウトするステップを含む、[9 5] ~ [1 0 2] のいずれか一項に記載の方法。

[1 0 4] 前記対象の細胞が、生体外で、（ a ）、（ b ）、（ c ）、及び任意選択的に（ d ）に接触される、[9 5] ~ [1 0 3] のいずれか一項に記載の方法。

[1 0 5] 前記細胞を前記対象の体内に戻す、[1 0 4] に記載の方法。

[1 0 6] 前記治療が、細胞を前記対象の身体に導入するステップを含み、前記細胞対象が、生体外で、（ a ）、（ b ）、（ c ）、及び任意選択的に（ d ）に接触される、[9 5] ~ [1 0 5] のいずれか一項に記載の方法。

[1 0 7] 前記接触させるステップが生体内で実施される、[9 5] ~ [1 0 6] のいずれか一項に記載の方法。

[1 0 8] 前記接触させるステップが静脈内送達を含む、[1 0 7] に記載の方法。

[1 0 9] 接触させるステップが、前記対象を（ a ）、（ b ）、（ c ）、及び任意選択的に（ d ）の少なくとも 1 つをコード化する核酸に接触させるステップを含む、[9 5] ~ [1 0 8] のいずれか一項に記載の方法。

[1 1 0] 接触させるステップが、前記対象を [1 0] ~ [6 9] のいずれか一項に記載の核酸に接触させるステップを含む、[9 5] ~ [1 0 8] のいずれか一項に記載の方法。

[1 1 1] 接触させるステップが、（ b ）の前記 R N A 誘導ヌクレアーゼ分子と、（ a ）及び（ c ）、及び任意選択的に（ d ）をコード化する（encodes and）核酸とを前記対象に送達するステップを含む、[9 5] ~ [1 0 8] のいずれか一項に記載の方法。

[1 1 2] 接触させるステップが、（ b ）の前記 R N A 誘導ヌクレアーゼ分子、（ a ）の前記 g R N A、及び（ c ）の前記 R H O c D N A 分子、及び任意選択的に（ d ）の前記第 2 の g R N A を前記対象に送達するステップを含む、[9 5] ~ [1 0 8] のいずれかに記載の方法。

[1 1 3] 接触させるステップが、（ a ）の前記 g R N A と、（ c ）の前記 R H O c D N A 分子と、（ b ）の前記 R N A 誘導ヌクレアーゼ分子をコード化する核酸とを前記対象に送達するステップを含む、[9 5] ~ [1 0 8] のいずれか一項に記載の方法。

[1 1 4] 本明細書に記載の g R N A、核酸、又は組成物、及び a d R P を有する対象からの、又は前記 R H O 遺伝子に変異を有する対象からの細胞を含む、反応混合物。

[1 1 5] （ a ） [1] ~ [1 7] のいずれか一項に記載の g R N A 分子、又は前記 g R N A をコード化する核酸、及び

10

20

30

40

50

(b) [1 8] ~ [2 7] のいずれか一項に記載の C a s 9 分子 ;
(c) [2 8] ~ [4 1] のいずれか一項に記載の R H O c D N A 分子 ;
任意選択的に、(d) [4 2] ~ [4 6] のいずれか一項に記載の第 2 の g R N A 分子 ;
及び
(e) (b) 及び (c) の 1 つ又は複数をコード化する核酸の 1 つ又は複数を含むキット
。
[1 1 6] (a)、(b)、(c)、及び (d) の 1 つ又は複数をコード化する核酸を
含む、[1 1 5] に記載のキット。
[1 1 7] 前記 R H O 遺伝子の R H O 標的位置を標的化する第 3 の g R N A 分子をさら
に含む、[1 1 6] に記載のキット。
[1 1 8] 前記 R H O 遺伝子の R H O 標的位置を標的化する第 4 の g R N A 分子をさら
に含む、[1 1 7] に記載のキット。

10

20

30

40

50