

【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】平成30年9月6日(2018.9.6)

【公開番号】特開2018-113985(P2018-113985A)

【公開日】平成30年7月26日(2018.7.26)

【年通号数】公開・登録公報2018-028

【出願番号】特願2018-73677(P2018-73677)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
A 6 1 P	37/06	(2006.01)
A 6 1 P	35/02	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	27/02	(2006.01)
A 6 1 P	25/28	(2006.01)
A 6 1 P	25/16	(2006.01)
A 6 1 P	25/00	(2006.01)
A 6 1 P	21/00	(2006.01)
A 6 1 P	19/00	(2006.01)
A 6 1 P	17/00	(2006.01)
A 6 1 P	15/00	(2006.01)
A 6 1 P	13/12	(2006.01)
A 6 1 P	13/10	(2006.01)
A 6 1 P	13/08	(2006.01)
A 6 1 P	13/02	(2006.01)
A 6 1 P	11/04	(2006.01)
A 6 1 P	11/02	(2006.01)
A 6 1 P	11/00	(2006.01)
A 6 1 P	9/00	(2006.01)
A 6 1 P	5/00	(2006.01)
A 6 1 P	1/18	(2006.01)
A 6 1 P	1/16	(2006.01)
A 6 1 P	1/04	(2006.01)
A 6 1 P	1/02	(2006.01)
A 6 1 K	31/7105	(2006.01)
A 6 1 K	31/713	(2006.01)
A 6 1 K	35/12	(2015.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)
A 6 1 K	47/34	(2017.01)
C 1 2 N	15/113	(2010.01)
A 0 1 K	67/027	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 0 7 K	7/08	(2006.01)
C 1 2 N	15/861	(2006.01)
C 1 2 N	15/864	(2006.01)
C 1 2 N	15/867	(2006.01)
C 1 2 N	15/869	(2006.01)
C 1 2 N	15/62	(2006.01)
C 1 2 N	15/55	(2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N	15/09	1 0 0
A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	25/16	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	21/00	
A 6 1 P	19/00	
A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	15/00	
A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	13/10	
A 6 1 P	13/08	
A 6 1 P	13/02	
A 6 1 P	11/04	
A 6 1 P	11/02	
A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	5/00	
A 6 1 P	1/18	
A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	1/02	
A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	31/713	
A 6 1 K	35/12	
A 6 1 K	38/00	
A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	47/34	
C 1 2 N	15/113	1 3 0 Z
A 0 1 K	67/027	Z N A
C 1 2 N	5/10	
C 0 7 K	7/08	
C 1 2 N	15/861	Z
C 1 2 N	15/864	1 0 0 Z
C 1 2 N	15/867	Z
C 1 2 N	15/869	Z
C 1 2 N	15/62	Z
C 1 2 N	15/55	

【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成30年7月5日 (2018.7.5)

【 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】**

H I V 感染に対して抵抗力のある細胞を作製するための生体外の方法であって、哺乳類細胞における翻訳用の遺伝子編集タンパク質をコードする生体外転写された合成 R N A 分子を細胞に遺伝子導入することを含み、

(i) 前記細胞は前記遺伝子編集タンパク質を発現し、

(ii) 前記遺伝子編集タンパク質は、前記細胞の D N A 中に一本鎖切断又は二本鎖切断を引き起こし、

(iii) 前記一本鎖切断又は二本鎖切断は、C C R 5 及び C X C R 4 から選択される遺伝子の機能を低下させて、前記細胞に H I V 感染に対する抵抗力を持たせる、方法。

【請求項 2】

前記遺伝子導入が少なくとも 2 回発生する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記遺伝子編集タンパク質が、D N A 結合ドメイン及びヌクレアーゼの触媒ドメインを含む、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記遺伝子編集タンパク質が T A L E N である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記生体外転写された合成 R N A 分子が、5' キヤップ、5' キヤップ 1 構造及び 3' ポリ (A) 尾部のうちの 1 つ以上をさらに含む、請求項 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記細胞が皮膚細胞である、請求項 1 から 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記皮膚細胞が線維芽細胞である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記細胞が、H I V に感染した被験者から得られる、請求項 1 から 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記細胞に、前記細胞をより分化されていない状態にリプログラムすることができる 1 つ以上の R N A を遺伝子導入することをさらに含む、請求項 1 から 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記 1 つ以上の R N A が、ヒトタンパク質 O c t 4、S o x 2、K l f 4、c - M y c、及び L i n 2 8 のうちの少なくとも 1 つをコードする、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記 c - M y c が c - M y c - 2 (T 5 8 A) である、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記細胞が造血細胞にリプログラムされる、請求項 9 から 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記造血細胞が、造血幹細胞又は白血球細胞である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記細胞に、前記細胞をより分化されていない状態にリプログラムすることができる前記 1 つ以上の R N A を遺伝子導入することが、D N A を含まない、フィーダーを含まない、免疫抑制剤を含まない、及び条件付けを含まない、培地のうちの 1 つ以上の培地中で発生する、請求項 9 から 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

前記生体外転写された合成RNA分子が、少なくとも1つの非標準ヌクレオチドを含む、請求項1から14のいずれか1項に記載の方法。

【請求項16】

前記1つ以上のRNA分子が、少なくとも1つの非標準ヌクレオチドを含む、請求項9から15のいずれか1項に記載の方法。

【請求項17】

遺伝子編集された細胞を含む組成物であって、

前記遺伝子編集された細胞は、遺伝子編集タンパク質をコードする生体外転写された合成RNA分子を含み、前記遺伝子編集タンパク質は、DNA結合ドメインと、DNA内に一本鎖切断又は二本鎖切断を引き起こすことができる触媒ヌクレアーゼドメインとを含み、

前記細胞の前記DNA内の一本鎖切断又は二本鎖切断によりCCR5遺伝子の機能を低下させ、前記一本鎖切断又は二本鎖切断は前記遺伝子編集タンパク質により引き起こされ、

前記遺伝子編集タンパク質の標的配列は、TCATTTTCCATACAGTCACT、TTTTCATACAGTCACTATC、TGACTATCTTTTAATGTCCTGG、及びTATCTTTTAATGTCCTGGAATのうちの1つ以上を含む、

組成物。

【請求項18】

前記生体外転写された合成RNA分子が、少なくとも1つの非標準ヌクレオチドを含む、請求項17に記載の組成物。

【請求項19】

人間の被験者における鎌状赤血球病又は地中海貧血症を治療するための薬剤を調製するための遺伝子編集された細胞の使用であって、

(a) 前記被験者から細胞を採取することと、

(b) 前記細胞に、遺伝子編集タンパク質をコードする生体外転写された合成RNA分子を遺伝子導入することによって、前記細胞を遺伝子編集することと、を含み、

前記遺伝子導入された細胞は前記遺伝子編集タンパク質を発現し、

前記遺伝子編集タンパク質は、DNA結合ドメインと、前記細胞のベータグロビン(HBB)遺伝子内に一本鎖切断又は二本鎖切断を引き起こすヌクレアーゼ触媒ドメインとを含む、

使用。

【請求項20】

前記細胞に、修復鋳型として作用する核酸をさらに遺伝子導入する、請求項19に記載の使用。

【請求項21】

前記遺伝子編集タンパク質がTALENである、請求項19又は20に記載の使用。

【請求項22】

前記生体外転写された合成RNA分子が、5'キャップ、5'キャップ1構造及び3'ポリ(A)尾部のうちの1つ以上をさらに含む、請求項19から21のいずれか1項に記載の使用。

【請求項23】

前記採取された細胞が皮膚細胞である、請求項19から22のいずれか1項に記載の使用。

【請求項24】

前記皮膚細胞が線維芽細胞である、請求項23に記載の使用。

【請求項25】

前記細胞に、前記細胞をより分化されていない状態にリプログラムすることができる1つ以上のRNAをさらに遺伝子導入する、請求項19から24のいずれか1項に記載の使用。

【請求項 26】

前記 1 つ以上の RNA が、ヒトタンパク質 Oct 4、Sox 2、Klf 4、c - Myc、及び Lin 28 のうちの少なくとも 1 つをコードする、請求項 25 に記載の使用。

【請求項 27】

前記 c - Myc が c - Myc - 2 (T 5 8 A) である、請求項 26 に記載の使用。

【請求項 28】

前記細胞が造血細胞にリプログラムされる、請求項 25 から 27 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 29】

前記採取された細胞が造血細胞である、請求項 19 から 22 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 30】

前記造血細胞が、造血幹細胞又は白血球細胞である、請求項 28 又は 29 に記載の使用。

【請求項 31】

前記細胞に、前記細胞をより分化されていない状態にリプログラムすることができる前記 1 つ以上の RNA を遺伝子導入することが、DNA を含まない、フィーダーを含まない、免疫抑制剤を含まない、及び条件付けを含まない、培地のうちの 1 つ以上の培地中で発生する、請求項 25 から 30 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 32】

前記生体外転写された合成 RNA 分子が、少なくとも 1 つの非標準ヌクレオチドを含む、請求項 19 から 31 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 33】

前記 1 つ以上の RNA 分子が、少なくとも 1 つの非標準ヌクレオチドを含む、請求項 25 から 32 のいずれか 1 項に記載の使用。