

【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1月5日(2023.1.5)

【国際公開番号】WO2020/142479
 【公表番号】特表2022-516515(P2022-516515A)
 【公表日】令和4年2月28日(2022.2.28)
 【年通号数】公開公報(特許)2022-035
 【出願番号】特願2021-538230(P2021-538230)
 【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/11(2006.01)
 C 1 2 N 15/09(2006.01)
 C 1 2 N 7/01(2006.01)
 A 6 1 P 21/04(2006.01)
 A 6 1 K 35/76(2015.01)
 A 6 1 K 48/00(2006.01)
 A 6 1 P 35/00(2006.01)
 A 6 1 P 35/04(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/11 Z Z N A
 C 1 2 N 15/09 1 0 0
 C 1 2 N 7/01
 A 6 1 P 21/04
 A 6 1 K 35/76
 A 6 1 K 48/00
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 35/04

20

【手続補正書】

【提出日】令和4年12月22日(2022.12.22)

30

【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】

配列番号3～13および51～54のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列を含むダブルホメオボックス4(DUX4)コード化ガイドRNA(gRNA)をコードする、核酸。

40

【請求項2】

配列番号14～24および55～58のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列を含むDUX4をコードする標的核酸に特異的にハイブリダイズするダブルホメオボックス4(DUX4)コード化ガイドRNA(gRNA)をコードする、核酸。

【請求項3】

Cas13b直接反復配列をさらに含む、請求項1または2に記載の核酸。

【請求項4】

前記Cas13b直接反復が、前記DUX4コード化gRNAをコードする前記核酸の下流または3'末端に位置する、請求項3に記載の核酸。

【請求項5】

50

前記 C a s 1 3 b 直接反復配列が、配列番号 3 7 に記載のヌクレオチド配列、または配列番号 3 7 に記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 9 0 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、請求項 3 または 4 に記載の核酸。

【請求項 6】

配列番号 2 5 ~ 3 5 および 5 9 ~ 6 2 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列、または配列番号 2 5 ~ 3 5 および 5 9 ~ 6 2 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 9 0 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、請求項 5 に記載の核酸。

【請求項 7】

プロモーター配列をさらに含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の核酸。

【請求項 8】

前記プロモーターが、U 6、U 7、tRNA、H 1、最小 CMV、T 7、EF 1 - アルファ、最小 EF 1 - アルファ、または骨格筋特異的プロモーターのいずれかである、請求項 7 に記載の核酸。

【請求項 9】

前記筋特異的プロモーターが、unc 4 5 b、tMCK、最小 MCK、CK 6、CK 7、MCK 7、または CK 1 である、請求項 8 に記載の核酸。

【請求項 10】

配列番号 3 8 ~ 4 8 および 6 3 ~ 6 6 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列、または配列番号 3 8 ~ 4 8 および 6 3 ~ 6 6 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 9 0 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、請求項 8 に記載の核酸。

【請求項 11】

請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の核酸を含む、アデノ随伴ウイルス。

【請求項 12】

前記ウイルスが、rep および cap 遺伝子を欠損している、請求項 11 に記載のアデノ随伴ウイルス。

【請求項 13】

前記ウイルスが、組換え AAV (rAAV) または自己相補的組換え AAV (scAAV) である、請求項 11 または 12 に記載のアデノ随伴ウイルス。

【請求項 14】

前記ウイルスが、AAV - 1、AAV - 2、AAV - 3、AAV - 4、AAV - 5、AAV - 6、AAV - 7、AAV - 8、AAV - 9、AAV - 10、AAV - 11、AAV - 12、AAV - 13、AAV - anc 80、または AAV rh . 74 である、請求項 11 ~ 13 のいずれか一項に記載のアデノ随伴ウイルス。

【請求項 15】

前記ウイルスが、AAV - 9 である、請求項 11 ~ 14 のいずれか一項に記載のアデノ随伴ウイルス。

【請求項 16】

請求項 11 ~ 15 のいずれか一項に記載のアデノ随伴ウイルスおよび薬学的に許容される担体を含む、組成物。

【請求項 17】

細胞におけるダブルホメオボックス 4 (DUX 4) 遺伝子の発現を阻害および / または妨害する方法における使用のための組み合わせ物であって、前記組み合わせ物は、

(a) 請求項 11 ~ 15 のいずれか一項に記載のアデノ随伴ウイルスまたは請求項 16 に記載の組成物、および

(b) C a s 1 3 タンパク質、またはその C a s 1 3 オルソログもしくはバリエーションをコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルス

を含み；

前記方法は、前記細胞を (a) および (b) と接触させることを含む、組み合わせ物。

【請求項 18】

前記 C a s 1 3 タンパク質が、C a s 1 3 b またはその C a s 1 3 b オルソログもしくは

10

20

30

40

50

はバリエーションである、請求項 18 に記載の組み合わせ物。

【請求項 19】

前記 Cas13b タンパク質が、配列番号 36 に記載のヌクレオチド配列、または配列番号 36 に記載の配列と少なくとも約 80% の同一性を有するバリエーションによってコードされる、請求項 19 に記載の組み合わせ物。

【請求項 20】

前記方法は、前記細胞を、DUX4 阻害性 RNA をコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルスと接触させることをさらに含む、請求項 17 ~ 19 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 21】

DUX4 阻害性 RNA をコードする前記核酸の発現が、U6 プロモーター、U7 プロモーター、T7 プロモーター、tRNA プロモーター、H1 プロモーター、最小 EF1-アルファプロモーター、miniCMV プロモーター、CMV プロモーター、筋クレアチンキナーゼ (MCK) プロモーター、アルファ-ミオシン重鎖エンハンサー- / MCK エンハンサー-プロモーター (MHCK7)、またはデスミンプロモーターの制御下にある、請求項 20 に記載の組み合わせ物。

【請求項 22】

筋ジストロフィーを患っている対象を治療する方法における使用のための組み合わせ物であって、

(a) 請求項 11 ~ 15 のいずれか一項に記載のアデノ随伴ウイルスまたは請求項 16 に記載の組成物、および

(b) Cas13 タンパク質、または Cas13 オルソログもしくはバリエーションをコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルスを含む、組み合わせ物。

【請求項 23】

前記 Cas13 タンパク質が、Cas13b またはその Cas13b オルソログもしくはバリエーションである、請求項 22 に記載の組み合わせ物。

【請求項 24】

前記 Cas13b タンパク質が、配列番号 36 に記載のヌクレオチド配列、または配列番号 36 に記載の配列と少なくとも約 80% の同一性を有するバリエーションによってコードされる、請求項 23 に記載の組み合わせ物。

【請求項 25】

前記方法は、前記細胞を、DUX4 阻害性 RNA をコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルスと接触させることをさらに含む、請求項 22 ~ 24 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 26】

DUX4 阻害性 RNA をコードする前記核酸の発現が、U6 プロモーター、U7 プロモーター、T7 プロモーター、tRNA プロモーター、H1 プロモーター、最小 EF1-アルファプロモーター、miniCMV プロモーター、CMV プロモーター、筋クレアチンキナーゼ (MCK) プロモーター、アルファ-ミオシン重鎖エンハンサー- / MCK エンハンサー-プロモーター (MHCK7)、またはデスミンプロモーターの制御下にある、請求項 25 に記載の組み合わせ物。

【請求項 27】

治療を必要とする対象における筋ジストロフィーを治療するための組成物であって、前記組成物は、アデノ随伴ウイルスを含み、前記アデノ随伴ウイルスのゲノムが、

(a) 配列番号 3 ~ 13 および 51 ~ 54 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列を含むダブルホメオボックス 4 (DUX4) コード化ガイド RNA (gRNA) をコードする、少なくとも 1 つの核酸、

(b) 配列番号 14 ~ 24 および 55 ~ 58 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列を含む DUX4 をコードする標的核酸に特異的にハイブリダイズする DUX4 コード化ガイド RNA (gRNA) をコードする、少なくとも 1 つの核酸、

10

20

30

40

50

(c) 配列番号 25 ~ 35 および 59 ~ 62 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 25 ~ 35 および 59 ~ 62 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 90 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、少なくとも 1 つの核酸、

(d) 配列番号 38 ~ 48 および 63 ~ 66 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 38 ~ 48 および 63 ~ 66 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 90 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、少なくとも 1 つの核酸、または

(e) その (a) ~ (d) のいずれかの組み合わせ、を含む、組成物。

【請求項 28】

前記組成物が、C a s 1 3 タンパク質、または C a s 1 3 オルソログもしくはバリエーションをコードする核酸を含む、アデノ随伴ウイルスと組み合わせて投与されることを特徴とする、請求項 27 に記載の組成物。

10

【請求項 29】

前記 C a s 1 3 タンパク質が、C a s 1 3 b またはその C a s 1 3 b オルソログもしくはバリエーションである、請求項 28 に記載の組成物。

【請求項 30】

前記 C a s 1 3 b タンパク質が、配列番号 36 に記載のヌクレオチド配列、または配列番号 36 に記載の配列と少なくとも約 80 % の同一性を有するバリエーションによってコードされる、請求項 28 または 29 に記載の組成物。

20

【請求項 31】

前記組成物が、D U X 4 阻害性 R N A をコードする核酸を含む、アデノ随伴ウイルスと組み合わせて投与されることを特徴とする、請求項 27 ~ 30 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 32】

前記筋ジストロフィーが、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (F S H D) である、請求項 22 ~ 31 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 33】

組換え遺伝子編集複合体であって、

(a) C a s 1 3 または C a s 1 3 オルソログもしくはバリエーションをコードするヌクレオチド配列を含む、少なくとも 1 つの核酸、および

30

(b) ダブルホメオボックス 4 (D U X 4) をコードする標的核酸配列および C a s 1 3 b 直接反復配列に特異的にハイブリダイズするガイド R N A (g R N A) をコードするヌクレオチド配列を含む、少なくとも 1 つの核酸を含み、

前記複合体が前記標的核酸配列に結合することによって、D U X 4 遺伝子発現が阻害される、組換え遺伝子編集複合体。

【請求項 34】

前記 g R N A をコードする前記ヌクレオチド配列および前記 C a s 1 3 b 直接反復配列を含む前記核酸が、

(a) 配列番号 3 ~ 13 および 51 ~ 54 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列を含むダブルホメオボックス 4 (D U X 4) コード化ガイド R N A (g R N A) をコードする、少なくとも 1 つの核酸、

40

(b) 配列番号 14 ~ 24 および 55 ~ 58 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列を含む D U X 4 をコードする標的核酸に特異的にハイブリダイズする D U X 4 コード化ガイド R N A (g R N A) をコードする、少なくとも 1 つの核酸、

(c) 配列番号 25 ~ 35 および 59 ~ 62 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 25 ~ 35 および 59 ~ 62 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 90 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、少なくとも 1 つの核酸、

(d) 配列番号 38 ~ 48 および 63 ~ 66 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列

50

、もしくは配列番号 38 ~ 48 および 63 ~ 66 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 90 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、少なくとも 1 つの核酸、または

(e) その (a) ~ (d) のいずれかの組み合わせ、を含む、請求項 33 に記載の組換え遺伝子編集複合体。

【請求項 35】

前記 Cas 13 タンパク質が、Cas 13 b またはその Cas 13 b オルソログもしくはバリエーションである、請求項 33 または 34 に記載の組換え遺伝子編集複合体。

【請求項 36】

前記 Cas 13 b タンパク質が、配列番号 36 に記載のヌクレオチド配列、または配列番号 36 に記載の配列と少なくとも約 80 % の同一性を有するバリエーションによってコードされる、請求項 35 に記載の組換え遺伝子編集複合体。

10

【請求項 37】

DUX4 阻害性 RNA をコードする核酸をさらに含む、請求項 33 ~ 36 のいずれか一項に記載の組換え遺伝子編集複合体。

【請求項 38】

治療を必要とする対象における癌を治療するための組成物であって、前記組成物は、アデノ随伴ウイルスを含み、前記アデノ随伴ウイルスのゲノムが、

(a) 配列番号 3 ~ 13 および 51 ~ 54 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列を含むダブルホメオボックス 4 (DUX4) コード化ガイド RNA (gRNA) をコードする、少なくとも 1 つの核酸、

20

(b) 配列番号 14 ~ 24 および 55 ~ 58 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列を含む DUX4 をコードする標的核酸に特異的にハイブリダイズする DUX4 コード化ガイド RNA (gRNA) をコードする、少なくとも 1 つの核酸、

(c) 配列番号 25 ~ 35 および 59 ~ 62 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 25 ~ 35 および 59 ~ 62 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 90 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、少なくとも 1 つの核酸、

(d) 配列番号 38 ~ 48 および 63 ~ 66 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 38 ~ 48 および 63 ~ 66 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 90 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、少なくとも 1 つの核酸、または

30

(e) その (a) ~ (d) のいずれかの組み合わせ、を含む、組成物。

【請求項 39】

前記組成物が、Cas 13 タンパク質、または Cas 13 オルソログもしくはバリエーションをコードする核酸を含む、アデノ随伴ウイルスと組み合わせて投与されることを特徴とする、請求項 38 に記載の組成物。

【請求項 40】

前記 Cas 13 タンパク質が、Cas 13 b またはその Cas 13 b オルソログもしくはバリエーションである、請求項 39 に記載の組成物。

40

【請求項 41】

前記 Cas 13 b タンパク質が、配列番号 36 に記載のヌクレオチド配列、または配列番号 36 に記載の配列と少なくとも約 80 % の同一性を有するバリエーションによってコードされる、請求項 39 または 40 に記載の組成物。

【請求項 42】

前記組成物が、DUX4 阻害性 RNA をコードする核酸を含む、アデノ随伴ウイルスと組み合わせて投与されることを特徴とする、請求項 38 ~ 41 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 43】

前記癌が、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、食道癌、肺癌、腎臓癌、卵巣癌、ラ

50

ブドイド癌（またはラブドイド肉腫）、肉腫、胃癌、精巣癌、胸腺腫、黒色腫、または転移性黒色腫である、請求項 38～42 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 44】

細胞におけるダブルホメオボックス 4 (DUX4) 遺伝子の発現を阻害および/または妨害する方法における使用のための、請求項 11～15 のいずれか一項に記載のアデノ随伴ウイルスを含む組成物または請求項 16 に記載の組成物であって、

前記方法は、前記細胞を (a) 前記組成物、および (b) Cas13 タンパク質、またはその Cas13 オルソログもしくはバリエントをコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルスと接触させることを含む、組成物。

【請求項 45】

細胞におけるダブルホメオボックス 4 (DUX4) 遺伝子の発現を阻害および/または妨害する方法における使用のための組成物であって、前記組成物は、Cas13 タンパク質、またはその Cas13 オルソログもしくはバリエントをコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルスを含み、

前記方法は、前記細胞を (a) 前記組成物、および (b) 請求項 11～15 のいずれか一項に記載のアデノ随伴ウイルスまたは請求項 16 に記載の組成物と接触させることを含む、組成物。

【請求項 46】

筋ジストロフィーを患っている対象を治療する方法における使用のための、請求項 11～15 のいずれか一項に記載のアデノ随伴ウイルスを含む組成物または請求項 16 に記載の組成物であって、

前記組成物は、Cas13 タンパク質、または Cas13 オルソログもしくはバリエントをコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルスと組み合わせて投与されることを特徴とする、組成物。

【請求項 47】

筋ジストロフィーを患っている対象を治療する方法における使用のための組成物であって、前記組成物は、Cas13 タンパク質、または Cas13 オルソログもしくはバリエントをコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルスを含み、

前記組成物は、請求項 11～15 のいずれか一項に記載のアデノ随伴ウイルスまたは請求項 16 に記載の組成物と組み合わせて投与されることを特徴とする、組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0025

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0025】

本開示の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明から明らかになるであろう。しかしながら、詳細な説明および特定の例は、本開示の好ましい実施形態を示すが、本開示の趣旨および範囲内である様々な変更および修正はこの詳細な説明から当業者には明らかになるため、単に例示としてのみ与えられることを理解されたい。

特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：

(項目 1)

配列番号 3～13 および 51～54 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列を含むダブルホメオボックス 4 (DUX4) コード化ガイド RNA (gRNA) をコードする、核酸。

(項目 2)

配列番号 14～24 および 55～58 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列を含む DUX4 をコードする標的核酸に特異的にハイブリダイズするダブルホメオボックス 4 (DUX4) コード化ガイド RNA (gRNA) をコードする、核酸。

(項目 3)

10

20

30

40

50

C a s 1 3 b 直接反復配列をさらに含む、項目 1 または 2 に記載の核酸。

(項目 4)

前記 C a s 1 3 b 直接反復が、前記 D U X 4 コード化 g R N A をコードする前記核酸の下流または 3 ' 末端に位置する、項目 3 に記載の核酸。

(項目 5)

前記 C a s 1 3 b 直接反復配列が、配列番号 3 7 に記載のヌクレオチド配列、または配列番号 3 7 に記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 9 0 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、項目 3 または 4 に記載の核酸。

(項目 6)

配列番号 2 5 ~ 3 5 および 5 9 ~ 6 2 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列、または配列番号 2 5 ~ 3 5 および 5 9 ~ 6 2 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 9 0 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、項目 5 に記載の核酸。

(項目 7)

プロモーター配列をさらに含む、項目 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の核酸。

(項目 8)

前記プロモーターが、U 6、U 7、t R N A、H 1、最小 C M V、T 7、E F 1 - アルファ、最小 E F 1 - アルファ、または骨格筋特異的プロモーターのいずれかである、項目 7 に記載の核酸。

(項目 9)

前記筋特異的プロモーターが、u n c 4 5 b、t M C K、最小 M C K、C K 6、C K 7、M H C K 7、または C K 1 である、項目 8 に記載の核酸。

(項目 1 0)

配列番号 3 8 ~ 4 8 および 6 3 ~ 6 6 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列、または配列番号 3 8 ~ 4 8 および 6 3 ~ 6 6 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 9 0 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、項目 8 に記載の核酸。

(項目 1 1)

項目 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の核酸を含む、アデノ随伴ウイルス。

(項目 1 2)

前記ウイルスが、r e p および c a p 遺伝子を欠損している、項目 1 1 に記載のアデノ随伴ウイルス。

(項目 1 3)

前記ウイルスが、組換え A A V (r A A V) または自己相補的組換え A A V (s c A A V) である、項目 1 1 または 1 2 に記載のアデノ随伴ウイルス。

(項目 1 4)

前記ウイルスが、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、A A V - 9、A A V - 1 0、A A V - 1 1、A A V - 1 2、A A V - 1 3、A A V - a n c 8 0、または A A V r h . 7 4 である、項目 1 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載のアデノ随伴ウイルス。

(項目 1 5)

前記ウイルスが、A A V - 9 である、項目 1 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載のアデノ随伴ウイルス。

(項目 1 6)

項目 1 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載のアデノ随伴ウイルスおよび薬学的に許容される担体を含む、組成物。

(項目 1 7)

細胞におけるダブルホメオボックス 4 (D U X 4) 遺伝子の発現を阻害および / または妨害する方法であって、前記細胞を、

(a) 項目 1 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載のアデノ随伴ウイルスまたは項目 1 6 に記載の組成物、および

(b) C a s 1 3 タンパク質、またはその C a s 1 3 オルソログもしくはバリエーションを

10

20

30

40

50

コードする核酸を含むアデノ随伴ウイルスと接触させることを含む、方法。

(項目 18)

前記 Cas 13 タンパク質が、Cas 13 b またはその Cas 13 b オルソログもしくはバリエーションである、項目 18 に記載の方法。

(項目 19)

前記 Cas 13 b タンパク質が、配列番号 36 に記載のヌクレオチド配列、または配列番号 36 に記載の配列と少なくとも約 80% の同一性を有するバリエーションによってコードされる、項目 19 に記載の方法。

(項目 20)

前記細胞を、DUX4 阻害性 RNA をコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルスと接触させることをさらに含む、項目 17 ~ 19 のいずれか一項に記載の方法。

10

(項目 21)

DUX4 阻害性 RNA をコードする前記核酸の発現が、U6 プロモーター、U7 プロモーター、T7 プロモーター、tRNA プロモーター、H1 プロモーター、最小 EF1 - アルファプロモーター、miniCMV プロモーター、CMV プロモーター、筋クレアチンキナーゼ (MCK) プロモーター、アルファ - ミオシン重鎖エンハンサー - / MCK エンハンサー - プロモーター (MHCK7)、またはデスミンプロモーターの制御下にある、項目 20 に記載の方法。

(項目 22)

筋ジストロフィーを患っている対象を治療する方法であって、前記対象に、有効量の (a) 項目 11 ~ 15 のいずれか一項に記載のアデノ随伴ウイルスまたは項目 16 に記載の組成物、および

20

(b) Cas 13 タンパク質、または Cas 13 オルソログもしくはバリエーションをコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルスを投与することを含む、方法。

(項目 23)

前記 Cas 13 タンパク質が、Cas 13 b またはその Cas 13 b オルソログもしくはバリエーションである、項目 22 に記載の方法。

(項目 24)

前記 Cas 13 b タンパク質が、配列番号 36 に記載のヌクレオチド配列、または配列番号 36 に記載の配列と少なくとも約 80% の同一性を有するバリエーションによってコードされる、項目 23 に記載の方法。

30

(項目 25)

前記細胞を、DUX4 阻害性 RNA をコードする核酸を含むアデノ随伴ウイルスと接触させることをさらに含む、項目 22 ~ 24 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 26)

DUX4 阻害性 RNA をコードする前記核酸の発現が、U6 プロモーター、U7 プロモーター、T7 プロモーター、tRNA プロモーター、H1 プロモーター、最小 EF1 - アルファプロモーター、miniCMV プロモーター、CMV プロモーター、筋クレアチンキナーゼ (MCK) プロモーター、アルファ - ミオシン重鎖エンハンサー - / MCK エンハンサー - プロモーター (MHCK7)、またはデスミンプロモーターの制御下にある、項目 25 に記載の方法。

40

(項目 27)

治療を必要とする対象における筋ジストロフィーを治療する方法であって、有効量のアデノ随伴ウイルスを前記対象に投与することを含み、前記アデノ随伴ウイルスのゲノムが

(a) 配列番号 3 ~ 13 および 51 ~ 54 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列を含むダブルホメオボックス 4 (DUX4) コード化ガイド RNA (gRNA) をコードする、少なくとも 1 つの核酸、

(b) 配列番号 14 ~ 24 および 55 ~ 58 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列を含む DUX4 をコードする標的核酸に特異的にハイブリダイズする DUX4 コード化ガ

50

イドRNA (gRNA) をコードする、少なくとも1つの核酸、

(c) 配列番号25～35および59～62のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列、もしくは配列番号25～35および59～62のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約90%の同一性を有するそのバリエーションを含む、少なくとも1つの核酸、

(d) 配列番号38～48および63～66のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列、もしくは配列番号38～48および63～66のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約90%の同一性を有するそのバリエーションを含む、少なくとも1つの核酸、または

(e) その(a)～(d)のいずれかの組み合わせ、を含む、方法。

(項目28)

Cas13タンパク質、またはCas13オルソログもしくはバリエーションをコードする核酸を含む、有効量のアデノ随伴ウイルスを前記対象に投与することをさらに含む、項目27に記載の方法。

(項目29)

前記Cas13タンパク質が、Cas13bまたはそのCas13bオルソログもしくはバリエーションである、項目28に記載の方法。

(項目30)

前記Cas13bタンパク質が、配列番号36に記載のヌクレオチド配列、または配列番号36に記載の配列と少なくとも約80%の同一性を有するバリエーションによってコードされる、項目28または29に記載の方法。

(項目31)

DX4阻害性RNAをコードする核酸を含む、有効量のアデノ随伴ウイルスを前記対象に投与することをさらに含む、項目27～30のいずれか一項に記載の方法。

(項目32)

前記筋ジストロフィーが、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー(FSHD)である、項目22～31のいずれか一項に記載の方法。

(項目33)

組換え遺伝子編集複合体であって、

(a) Cas13またはCas13オルソログもしくはバリエーションをコードするヌクレオチド配列を含む、少なくとも1つの核酸、および

(b) ダブルホメオボックス4(DX4)をコードする標的核酸配列およびCas13b直接反復配列に特異的にハイブリダイズするガイドRNA(gRNA)をコードするヌクレオチド配列を含む、少なくとも1つの核酸を含み、

前記複合体が前記標的核酸配列に結合することによって、DX4遺伝子発現が阻害される、組換え遺伝子編集複合体。

(項目34)

前記gRNAをコードする前記ヌクレオチド配列および前記Cas13b直接反復配列を含む前記核酸が、

(a) 配列番号3～13および51～54のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列を含むダブルホメオボックス4(DX4)コード化ガイドRNA(gRNA)をコードする、少なくとも1つの核酸、

(b) 配列番号14～24および55～58のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列を含むDX4をコードする標的核酸に特異的にハイブリダイズするDX4コード化ガイドRNA(gRNA)をコードする、少なくとも1つの核酸、

(c) 配列番号25～35および59～62のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列、もしくは配列番号25～35および59～62のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約90%の同一性を有するそのバリエーションを含む、少なくとも1つの核酸、

(d) 配列番号38～48および63～66のいずれか1つに記載のヌクレオチド配列

10

20

30

40

50

、もしくは配列番号 38 ~ 48 および 63 ~ 66 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 90 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、少なくとも 1 つの核酸、または

— (e) その (a) ~ (d) のいずれかの組み合わせ、を含む、項目 33 に記載の組換え遺伝子編集複合体。

(項目 35)

前記 Cas 13 タンパク質が、Cas 13 b またはその Cas 13 b オルソログもしくはバリエーションである、項目 33 または 34 に記載の組換え遺伝子編集複合体。

(項目 36)

前記 Cas 13 b タンパク質が、配列番号 36 に記載のヌクレオチド配列、または配列番号 36 に記載の配列と少なくとも約 80 % の同一性を有するバリエーションによってコードされる、項目 35 に記載の組換え遺伝子編集複合体。

10

(項目 37)

DUX4 阻害性 RNA をコードする核酸をさらに含む、項目 33 ~ 36 のいずれか一項に記載の組換え遺伝子編集複合体。

(項目 38)

治療を必要とする対象における癌を治療する方法であって、有効量のアデノ随伴ウイルスを前記対象に投与することを含み、前記アデノ随伴ウイルスのゲノムが、

— (a) 配列番号 3 ~ 13 および 51 ~ 54 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列を含むダブルホメオボックス 4 (DUX4) コード化ガイド RNA (gRNA) をコードする、少なくとも 1 つの核酸、

20

— (b) 配列番号 14 ~ 24 および 55 ~ 58 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列を含む DUX4 をコードする標的核酸に特異的にハイブリダイズする DUX4 コード化ガイド RNA (gRNA) をコードする、少なくとも 1 つの核酸、

— (c) 配列番号 25 ~ 35 および 59 ~ 62 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 25 ~ 35 および 59 ~ 62 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 90 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、少なくとも 1 つの核酸

— (d) 配列番号 38 ~ 48 および 63 ~ 66 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 38 ~ 48 および 63 ~ 66 のいずれか 1 つに記載のヌクレオチド配列と少なくとも約 90 % の同一性を有するそのバリエーションを含む、少なくとも 1 つの核酸、または

30

— (e) その (a) ~ (d) のいずれかの組み合わせ、を含む、方法。

(項目 39)

Cas 13 タンパク質、または Cas 13 オルソログもしくはバリエーションをコードする核酸を含む、有効量のアデノ随伴ウイルスを前記対象に投与することをさらに含む、項目 38 に記載の方法。

(項目 40)

前記 Cas 13 タンパク質が、Cas 13 b またはその Cas 13 b オルソログもしくはバリエーションである、項目 39 に記載の方法。

40

(項目 41)

前記 Cas 13 b タンパク質が、配列番号 36 に記載のヌクレオチド配列、または配列番号 36 に記載の配列と少なくとも約 80 % の同一性を有するバリエーションによってコードされる、項目 39 または 40 に記載の方法。

(項目 42)

DUX4 阻害性 RNA をコードする核酸を含む、有効量のアデノ随伴ウイルスを前記対象に投与することをさらに含む、項目 38 ~ 41 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 43)

前記癌が、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、食道癌、肺癌、腎臓癌、卵巣癌、ラプドイド癌 (またはラプドイド肉腫)、肉腫、胃癌、精巣癌、胸腺腫、黒色腫、または転

50

移行性黒色腫である、項目 38 ~ 42 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50