

【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4年9月20日(2022.9.20)

【国際公開番号】WO2020/081568

【公表番号】特表2022-508716(P2022-508716A)

【公表日】令和4年1月19日(2022.1.19)

【年通号数】公開公報(特許)2022-009

【出願番号】特願2021-545287(P2021-545287)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/55(2006.01)

C 1 2 N 15/09(2006.01)

C 1 2 N 9/78(2006.01)

C 0 7 K 19/00(2006.01)

C 1 2 N 9/16(2006.01)

C 1 2 N 15/864(2006.01)

C 1 2 N 15/62(2006.01)

A 6 1 P 7/00(2006.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

A 6 1 K 38/43(2006.01)

A 6 1 K 35/76(2015.01)

10

20

【F I】

C 1 2 N 15/55 Z N A

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 9/78

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 9/16 Z

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

C 1 2 N 15/62 Z

A 6 1 P 7/00

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 38/43

A 6 1 K 35/76

30

【手続補正書】

【提出日】令和4年9月8日(2022.9.8)

【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

40

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

融合ヌクレオチドデアミナーゼおよびN4CCヌクレオチド配列についての結合領域を含む変異Nm e C a s 9タンパク質。

【請求項2】

前記タンパク質がNm e 2 C a s 9である、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項3】

核局在シグナルタンパク質をさらに含む、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項4】

50

前記ヌクレオチドデアミナーゼがシチジンデアミナーゼである、請求項 1 に記載のタンパク質。

【請求項 5】

前記ヌクレオチドデアミナーゼがアデノシンデアミナーゼである、請求項 1 に記載のタンパク質。

【請求項 6】

ウラシルグルコシラーゼ阻害剤をさらに含む、請求項 1 に記載のタンパク質。

【請求項 7】

前記核局在シグナルタンパク質が、ヌクレオプラスミンおよび SV 40 から選択される、請求項 1 に記載のタンパク質。

10

【請求項 8】

前記結合領域が、プロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインである、請求項 1 に記載のタンパク質。

【請求項 9】

前記プロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインが変異を含む、請求項 8 に記載のタンパク質。

【請求項 10】

前記変異タンパク質がニッカーゼである、請求項 1 に記載のタンパク質。

【請求項 11】

前記変異タンパク質が変異 Nme 2 Cas 9 ニッカーゼタンパク質であり、前記結合領域が、N 4 C Cヌクレオチド配列についてのプロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインである、請求項 1 に記載のタンパク質。

20

【請求項 12】

変異 Nme Cas 9 タンパク質をコードするアデノ随伴ウイルスであって、前記変異 Nme Cas 9 タンパク質が、融合ヌクレオチドデアミナーゼおよび N 4 C Cヌクレオチド配列についての結合領域を含む、アデノ随伴ウイルス。

【請求項 13】

前記ウイルスが、アデノ随伴ウイルス 8 である、請求項 12 に記載のウイルス。

【請求項 14】

前記ウイルスが、アデノ随伴ウイルス 6 である、請求項 12 に記載のウイルス。

30

【請求項 15】

前記タンパク質が Nme 2 Cas 9 である、請求項 12 に記載のウイルス。

【請求項 16】

前記タンパク質が、核局在シグナルタンパク質をさらに含む、請求項 12 に記載のウイルス。

【請求項 17】

前記ヌクレオチドデアミナーゼがシチジンデアミナーゼである、請求項 12 に記載のウイルス。

【請求項 18】

前記ヌクレオチドデアミナーゼがアデノシンデアミナーゼである、請求項 12 に記載のウイルス。

40

【請求項 19】

前記タンパク質が、ウラシルグルコシラーゼ阻害剤をさらに含む、請求項 12 に記載のウイルス。

【請求項 20】

前記核局在シグナルタンパク質が、ヌクレオプラスミンおよび SV 40 から選択される、請求項 12 に記載のウイルス。

【請求項 21】

前記結合領域が、プロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインである、請求項 12 に記載のウイルス。

50

【請求項 2 2】

前記プロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインが変異を含む、請求項 2 1 に記載のウイルス。

【請求項 2 3】

前記変異タンパク質がニッカーゼである、請求項 1 2 に記載のウイルス。

【請求項 2 4】

前記変異タンパク質が変異 N m e 2 C a s 9 ニッカーゼタンパク質であり、前記結合領域が、N 4 C Cヌクレオチド配列についてのプロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインである、請求項 1 2 に記載のウイルス。

【請求項 2 5】

融合ヌクレオチドデアミナーゼおよび N 4 C Cヌクレオチド配列についての結合領域を含む変異 N m e C a s 9 タンパク質を含むシステムであって、以下：

a)

i) 変異一塩基を有する遺伝子を含むヌクレオチド配列であって、前記遺伝子が前記 N 4 C Cヌクレオチド配列に隣接された、ヌクレオチド配列；

i i) 前記変異 N m e C a s 9 タンパク質；

を準備すること；

b) 前記ヌクレオチド配列を、前記結合領域が前記 N 4 C Cヌクレオチド配列に付着するような条件下で、前記変異 N m e C a s 9 タンパク質と接触させること；および

c) 前記変異 N m e C a s 9 タンパク質により、前記変異一塩基を野生型塩基で置き換

えること、
を含む方法において使用するための、システム。

【請求項 2 6】

前記タンパク質が N m e 2 C a s 9 である、請求項 2 5 に記載のシステム。

【請求項 2 7】

前記タンパク質が、核局在シグナルタンパク質をさらに含む、請求項 2 5 に記載のシステム。

【請求項 2 8】

前記ヌクレオチドデアミナーゼがシチジンデアミナーゼである、請求項 2 5 に記載のシステム。

【請求項 2 9】

前記ヌクレオチドデアミナーゼがアデノシンデアミナーゼである、請求項 2 5 に記載のシステム。

【請求項 3 0】

前記タンパク質が、ウラシルグルコシラーゼ阻害剤をさらに含む、請求項 2 5 に記載のシステム。

【請求項 3 1】

前記核局在シグナルタンパク質が、ヌクレオプラスミンおよび S V 4 0 からなる群から選択される、請求項 2 5 に記載のシステム。

【請求項 3 2】

前記結合領域が、プロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインである、請求項 2 5 に記載のシステム。

【請求項 3 3】

前記プロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインが変異を含む、請求項 3 0 に記載のシステム。

【請求項 3 4】

前記変異タンパク質がニッカーゼである、請求項 2 5 に記載のシステム。

【請求項 3 5】

前記変異タンパク質が変異 N m e 2 C a s 9 ニッカーゼタンパク質であり、前記結合領域が、N 4 C Cヌクレオチド配列についてのプロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用

10

20

30

40

50

用ドメインである、請求項 2 5 に記載のシステム。

【請求項 3 6】

融合ヌクレオチドデアミナーゼおよび N 4 C Cヌクレオチド配列についての結合領域を含む変異 N m e C a s 9 タンパク質を含むアデノ随伴ウイルスを含むシステムであって、以下：

a)

i) 変異一塩基を有する遺伝子を含むヌクレオチド配列を含む患者であって、前記遺伝子が前記 N 4 C Cヌクレオチド配列に隣接され、前記変異遺伝子が遺伝子に基づく医学的状态を引き起こす、患者；

i i) 前記アデノ随伴ウイルス；

を準備すること、

b) 前記変異 N m e C a s 9 タンパク質が前記変異一塩基を野生型一塩基で置き換えるような条件下で、前記患者を前記アデノ随伴ウイルスで処置することであって、その結果、前記遺伝子に基づく医学的状态が発症しない、処置すること

を含む方法において使用するための、システム。

【請求項 3 7】

前記遺伝子がチロシナーゼタンパク質をコードする、請求項 3 6 に記載のシステム。

【請求項 3 8】

前記遺伝子に基づく医学的状态がチロシン血症である、請求項 3 6 に記載のシステム。

【請求項 3 9】

前記ウイルスが、アデノ随伴ウイルス 8 である、請求項 3 6 に記載のシステム。

【請求項 4 0】

前記ウイルスが、アデノ随伴ウイルス 6 である、請求項 3 6 に記載のシステム。

【請求項 4 1】

前記タンパク質が N m e 2 C a s 9 である、請求項 3 6 に記載のシステム。

【請求項 4 2】

前記タンパク質が、核局在シグナルタンパク質をさらに含む、請求項 3 6 に記載のシステム。

【請求項 4 3】

前記ヌクレオチドデアミナーゼがシチジンデアミナーゼである、請求項 3 6 に記載のシステム。

【請求項 4 4】

前記ヌクレオチドデアミナーゼがアデノシンデアミナーゼである、請求項 3 6 に記載のシステム。

【請求項 4 5】

前記タンパク質が、ウラシルグルコシラーゼ阻害剤をさらに含む、請求項 3 6 に記載のシステム。

【請求項 4 6】

前記核局在シグナルタンパク質が、ヌクレオプラスミンおよび S V 4 0 からなる群から選択される、請求項 3 6 に記載のシステム。

【請求項 4 7】

前記結合領域が、プロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインである、請求項 3 6 に記載のシステム。

【請求項 4 8】

前記プロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインが変異を含む、請求項 4 7 に記載のシステム。

【請求項 4 9】

前記変異タンパク質がニッカーゼである、請求項 3 6 に記載のシステム。

【請求項 5 0】

前記変異タンパク質が変異 N m e 2 C a s 9 ニッカーゼタンパク質であり、前記結合領域

10

20

30

40

50

が、N 4 C Cヌクレオチド配列についてのプロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインである、請求項 3 6 に記載のシステム。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 2 0 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 2 0 5】

上の明細書中で言及した全ての刊行物および特許は、本明細書中で参考として援用される。本発明の記載の方法およびシステムの種々の修正および変形は、本発明の範囲および精神から逸脱することなく当業者に明らかである。本発明を特定の好ましい実施形態と併せて記載しているが、特許請求の範囲に記載の発明がかかる特定の実施形態に過度に制限されるべきではないと理解すべきである。実際に、生物学的調節、生化学、分子生物学、昆虫学、浮遊生物、水産業、および淡水生態学、または関連分野の当業者に明白な記載の本発明の実施の形態の種々の修正形態が、以下の特許請求の範囲の範囲内にあることが意図される。

本発明は、例えば以下の項目を提供する。

(項目 1)

融合ヌクレオチドデアミナーゼおよび N 4 C Cヌクレオチド配列の結合領域を含む変異 N m e C a s 9 タンパク質。

(項目 2)

前記タンパク質が N m e 2 C a s 9 である、項目 1 に記載のタンパク質。

(項目 3)

核局在シグナルタンパク質をさらに含む、項目 1 に記載のタンパク質。

(項目 4)

前記ヌクレオチドデアミナーゼがシチジンデアミナーゼである、項目 1 に記載のタンパク質。

(項目 5)

前記ヌクレオチドデアミナーゼがアデノシンデアミナーゼである、項目 1 に記載のタンパク質。

(項目 6)

ウラシルグルコシラーゼ阻害剤をさらに含む、項目 1 に記載のタンパク質。

(項目 7)

前記核局在シグナルタンパク質が、ヌクレオプラスミンおよび S V 4 0 から選択される、項目 1 に記載のタンパク質。

(項目 8)

前記結合領域が、プロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインである、項目 1 に記載のタンパク質。

(項目 9)

前記プロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインが、前記変異を含む、項目 8 に記載のタンパク質。

(項目 1 0)

前記変異が D 1 6 A 変異である、項目 9 に記載のタンパク質。

(項目 1 1)

変異 N m e C a s 9 タンパク質を含むアデノ随伴ウイルスであって、前記変異 N m e C a s 9 タンパク質が、融合ヌクレオチドデアミナーゼおよび N 4 C Cヌクレオチド配列の結合領域を含む、アデノ随伴ウイルス。

(項目 1 2)

前記ウイルスが、アデノ随伴ウイルス 8 である、項目 1 1 に記載のウイルス。

(項目 1 3)

10

20

30

40

50

前記ウイルスが、アデノ随伴ウイルス6である、項目11に記載のウイルス。

(項目14)

前記タンパク質がNm e 2 C a s 9である、項目11に記載のウイルス。

(項目15)

前記タンパク質が、核局在シグナルタンパク質をさらに含む、項目11に記載のウイルス。

(項目16)

前記ヌクレオチドデアミナーゼがシチジンデアミナーゼである、項目11に記載のウイルス。

(項目17)

前記ヌクレオチドデアミナーゼがアデノシンデアミナーゼである、項目11に記載のウイルス。

(項目18)

前記タンパク質が、ウラシルグルコシラーゼ阻害剤をさらに含む、項目11に記載のウイルス。

(項目19)

前記核局在シグナルタンパク質が、ヌクレオプラスミンおよびSV40から選択される、項目11に記載のウイルス。

(項目20)

前記結合領域が、プロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインである、項目11に記載のウイルス。

(項目21)

前記プロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインが、前記変異を含む、項目20に記載のウイルス。

(項目22)

前記変異がD16A変異である、項目21に記載のウイルス。

(項目23)

方法であって、

a)

i) 変異一塩基を有する遺伝子を含むヌクレオチド配列であって、前記遺伝子がN4CCヌクレオチド配列に挟まれた、ヌクレオチド配列；

ii) 融合ヌクレオチドデアミナーゼおよび前記N4CCヌクレオチド配列の結合領域を含む変異Nm e C a s 9タンパク質

を準備すること；

b) 前記ヌクレオチド配列を、前記結合領域が前記N4CCヌクレオチド配列に付着するような条件下で、前記変異Nm e C a s 9タンパク質と接触させること；および

c) 前記変異Nm e C a s 9タンパク質に関して、前記変異一塩基を野生型塩基で置き換えること、

を含む、方法。

(項目24)

前記タンパク質がNm e 2 C a s 9である、項目23に記載の方法。

(項目25)

前記タンパク質が、核局在シグナルタンパク質をさらに含む、項目23に記載の方法。

(項目26)

前記ヌクレオチドデアミナーゼがシチジンデアミナーゼである、項目23に記載の方法。

(項目27)

前記ヌクレオチドデアミナーゼがアデノシンデアミナーゼである、項目23に記載の方法。

(項目28)

前記タンパク質が、ウラシルグルコシラーゼ阻害剤をさらに含む、項目23に記載の方法

10

20

30

40

50

—

(項目 2 9)

前記核局在シグナルタンパク質が、ヌクレオプラスミンおよびSV40からなる群から選択される、項目 2 3 に記載の方法。

(項目 3 0)

前記結合領域が、プロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインである、項目 2 3 に記載の方法。

(項目 3 1)

前記プロトスペーサーアクセサリーモチーフ相互作用ドメインが、前記 Cas 9 タンパク質変異を含む、項目 3 0 に記載の方法。

10

(項目 3 2)

前記 Cas 9 タンパク質変異が D 1 6 A 変異である、項目 3 1 に記載の方法。

(項目 3 3)

方法であって、

— a)

i) 変異一塩基を有する遺伝子を含むヌクレオチド配列を含む患者であって、前記遺伝子が N 4 C C ヌクレオチド配列に挟まれ、前記変異遺伝子が遺伝子に基づく医学的状态を引き起こす、患者；

i i) 変異 N m e C a s 9 タンパク質を含むアデノ随伴ウイルスであって、前記変異 N m e C a s 9 タンパク質が、融合ヌクレオチドデアミナーゼおよび前記 N 4 C C ヌクレオチド配列の結合領域を含む、アデノ随伴ウイルス；

20

を準備すること、

b) 前記変異 N m e C a s 9 タンパク質が前記変異一塩基を野生型一塩基で置き換えるような条件下で、前記患者を前記アデノ随伴ウイルスで処置することであって、その結果、前記遺伝子に基づく医学的状态が発症しない、処置することを含む、方法。

(項目 3 4)

前記遺伝子がチロシナーゼタンパク質をコードする、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 3 5)

前記遺伝子に基づく医学的状态がチロシン血症である、項目 3 3 に記載の方法。

30

(項目 3 6)

前記ウイルスが、アデノ随伴ウイルス 8 である、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 3 7)

前記ウイルスが、アデノ随伴ウイルス 6 である、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 3 8)

前記タンパク質が N m e 2 C a s 9 である、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 3 9)

前記タンパク質が、核局在シグナルタンパク質をさらに含む、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 4 0)

前記ヌクレオチドデアミナーゼがシチジンデアミナーゼである、項目 3 3 に記載の方法。

40

(項目 4 1)

前記ヌクレオチドデアミナーゼがアデノシンデアミナーゼである、項目 3 3 に記載の方法。

—

(項目 4 2)

前記タンパク質が、ウラシルグルコシラーゼ阻害剤をさらに含む、項目 3 3 に記載の方法。

—

(項目 4 3)

前記核局在シグナルタンパク質が、ヌクレオプラスミンおよびSV40からなる群から選択される、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 4 4)

50

前記結合領域が、プロトスペーサーアクセサリモチーフ相互作用ドメインである、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 4 5)

前記プロトスペーサーアクセサリモチーフ相互作用ドメインが、前記変異を含む、項目 4 4 に記載の方法。

(項目 4 6)

前記変異が D 1 6 A 変異である、項目 4 5 に記載の方法。

10

20

30

40

50