

【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6月2日(2023.6.2)

【公開番号】特開2023-29966(P2023-29966A)

【公開日】令和5年3月7日(2023.3.7)

【年通号数】公開公報(特許)2023-043

【出願番号】特願2022-194564(P2022-194564)

【国際特許分類】

C 12N 15/09(2006.01)  
 C 12N 15/55(2006.01)  
 C 12N 15/11(2006.01)  
 A 61K 9/51(2006.01)  
 A 61K 47/44(2017.01)  
 A 61K 47/24(2006.01)  
 A 61K 47/38(2006.01)  
 A 61K 31/7088(2006.01)  
 A 61K 48/00(2006.01)  
 A 61K 35/76(2015.01)  
 A 61P 25/28(2006.01)  
 A 61P 43/00(2006.01)  
 C 07K 14/47(2006.01)

10

20

30

40

【F I】

C 12N 15/09 110  
 C 12N 15/55  
 C 12N 15/11 Z  
 A 61K 9/51  
 A 61K 47/44  
 A 61K 47/24  
 A 61K 47/38  
 A 61K 31/7088  
 A 61K 48/00  
 A 61K 35/76  
 A 61P 25/28  
 A 61P 43/00 105  
 C 07K 14/47 Z N A

【手続補正書】

【提出日】令和5年5月25日(2023.5.25)

【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】

シングルガイドRNA(sgRNA)を含む組成物であって、前記シングルガイドRNA(sgRNA)が、

(i)配列番号：23の配列を含むガイド配列；

(ii)配列番号：23の配列の少なくとも17、18、19、または20の連続す 50

るヌクレオチドであるガイド配列；または

( i i i ) 配列番号：2 3 の配列と少なくとも 9 0 % 同一であるガイド配列を含み、および

前記 s g R N A が、配列番号：1 2 5 のヌクレオチドをさらに含み、配列番号：1 2 5 の前記ヌクレオチドが前記ガイド配列にその 3' 末端において後続する、組成物。

**【請求項 2】**

前記 s g R N A が配列番号：8 7 の配列を含む、請求項 1 に記載の組成物。

**【請求項 3】**

前記 s g R N A が、配列番号：8 7 の配列と少なくとも 9 0 % 同一である配列を含む、10 請求項 1 に記載の組成物。

**【請求項 4】**

前記 s g R N A が配列番号：3 のパターンを含む、請求項 1 に記載の組成物。

**【請求項 5】**

配列番号：3 における各 N が任意の天然または非天然ヌクレオチドであり、前記 N が前記ガイド配列を形成する、請求項 4 に記載の組成物。

**【請求項 6】**

前記 s g R N A が少なくとも 1 つの修飾を含む、請求項 1 に記載の組成物。

**【請求項 7】**

前記少なくとも 1 つの修飾が、20

( a ) 2' - O - メチル ( 2' - O - M e ) 修飾ヌクレオチド；

( b ) ヌクレオチド間のホスホロチオエート ( P S ) 結合；

( c ) 2' - フルオロ ( 2' - F ) 修飾ヌクレオチド；

( d ) 5' 末端における最初の 5 つのヌクレオチドの 1 つまたは複数における修飾；

( e ) 3' 末端における最後の 5 つのヌクレオチドの 1 つまたは複数における修飾；

( f ) 最初の 4 つのヌクレオチド間の P S 結合；

( g ) 最後の 4 つのヌクレオチド間の P S 結合；

( h ) 5' 末端における最初の 3 つのヌクレオチドにおける 2' - O - M e 修飾ヌクレオチド；および

( i ) 3' 末端における最後の 3 つのヌクレオチドにおける 2' - O - M e 修飾ヌクレ30オチド

から選択される、

請求項 1 に記載の組成物。

**【請求項 8】**

前記 s g R N A がさらに、

( a ) 最初の 4 つのヌクレオチド間の P S 結合；

( b ) 最後の 4 つのヌクレオチド間の P S 結合；

( c ) 5' 末端における最初の 3 つのヌクレオチドにおける 2' - O - M e 修飾ヌクレオチド；

( d ) 3' 末端における最後の 3 つのヌクレオチドにおける 2' - O - M e 修飾ヌクレ40オチド；または

( e ) ( a ) ~ ( d ) の 2 つまたはそれより多くの組合せを含む、

請求項 7 に記載の組成物。

**【請求項 9】**

前記 s g R N A がさらに、

( a ) 最初の 4 つのヌクレオチド間の P S 結合；

( b ) 最後の 4 つのヌクレオチド間の P S 結合；

( c ) 5' 末端における最初の 3 つのヌクレオチドにおける 2' - O - M e 修飾ヌクレオチド；および

(d) 3' 末端における最後の 3 つのヌクレオチドにおける 2' - O - M e 修飾ヌクレオチドを含む、

請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 1 0】

前記ガイド RNA における位置の少なくとも 25% が修飾ヌクレオチドである、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 1 1】

前記 sg RNA が脂質ナノ粒子 (LNP) と会合している、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 1 2】

前記 LNP が、イオン性脂質、中性脂質、ヘルパー脂質、またはステルス脂質のうちの 1 つまたは複数を含む、請求項 1 1 に記載の組成物。

【請求項 1 3】

下記 (i) ~ (iv) :

(i) 前記イオン性脂質がリピド A またはリピド B である；

(ii) 前記中性脂質が DSPC である；

(iii) 前記ヘルパー脂質がコレステロールである；および

(iv) 前記ステルス脂質が PEG - DMG である；

の 1 つまたは複数が満たされている、請求項 1 2 に記載の組成物。

【請求項 1 4】

前記組成物が RNA ガイド DNA 結合剤または RNA ガイド DNA 結合剤をコードする mRNA をさらに含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 1 5】

前記 RNA ガイド DNA 結合剤が Cas 9 である、請求項 1 4 に記載の組成物。

【請求項 1 6】

前記 RNA ガイド DNA 結合剤をコードする前記 mRNA が、配列番号： 201、204、210、214、215、223、224、250、252、254、265、または 266 のいずれか 1 つに対して少なくとも 90% の同一性を有する配列を含むオープンリーディングフレーム (ORF) を含む、請求項 1 5 に記載の組成物。

【請求項 1 7】

請求項 1 に記載の組成物および薬学的に許容される担体を含む医薬配合物。

【請求項 1 8】

請求項 1 に記載の組成物および RNA ガイド DNA 結合剤または RNA ガイド DNA 結合剤をコードする核酸を含む脂質ナノ粒子 (LNP)。

【請求項 1 9】

請求項 1 に記載の組成物を含む細胞。

【請求項 2 0】

前記細胞が肝細胞である、請求項 1 9 に記載の細胞。

【請求項 2 1】

(i) 配列番号 23 のガイド配列を含むシングルガイド RNA (sgRNA) を含む組成物であって、前記 sgRNA が、配列番号： 125 のヌクレオチドをさらに含み、配列番号： 125 の前記ヌクレオチドが前記ガイド配列にその 3' 末端において後続する、組成物。

【請求項 2 2】

前記 sgRNA が配列番号： 87 のヌクレオチド配列を含む、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 2 3】

(i) 配列番号 23 のガイド配列を含むシングルガイド RNA (sgRNA) であって、前記 sgRNA が、配列番号： 125 のヌクレオチドをさらに含み、配列番号： 125 の前記ヌクレオチドが前記ガイド配列にその 3' 末端において後続する、sgRNA、な

10

20

30

40

50

らびに

( i i ) R N A ガイド D N A 結合剤または R N A ガイド D N A 結合剤をコードする核酸であって、前記 R N A ガイド D N A 結合剤が C a s 9 である、 R N A ガイド D N A 結合剤または R N A ガイド D N A 結合剤をコードする核酸を含む、

組成物。

**【請求項 2 4】**

前記 s g R N A が配列番号： 8 7 のヌクレオチド配列を含む、請求項 2 3 に記載の組成物。

**【請求項 2 5】**

前記 R N A ガイド D N A 結合剤をコードする前記核酸が、配列番号： 2 0 1 、 2 0 4 、 2 1 0 、 2 1 4 、 2 1 5 、 2 2 3 、 2 2 4 、 2 5 0 、 2 5 2 、 2 5 4 、 2 6 5 、または 2 6 6 のいずれか 1 つに対して少なくとも 9 0 % の同一性を有する配列を含むオーブンリーディングフレーム ( O R F ) を含む、請求項 2 3 に記載の組成物。

**【請求項 2 6】**

( i ) 配列番号： 2 3 のガイド配列を含むシングルガイド R N A ( s g R N A ) であって、前記 s g R N A が、配列番号： 1 2 5 のヌクレオチドをさらに含み、配列番号： 1 2 5 の前記ヌクレオチドが前記ガイド配列にその 3 ' 末端において後続する s g R N A 、ならびに

( i i ) R N A ガイド D N A 結合剤をコードする核酸であって、前記 R N A ガイド D N A 結合剤が C a s 9 である核酸を含む、

脂質ナノ粒子 ( L N P ) 配合物。

**【請求項 2 7】**

前記 s g R N A が配列番号： 8 7 のヌクレオチド配列を含む、請求項 2 6 に記載の L N P 配合物。

**【請求項 2 8】**

前記 L N P が、イオン性脂質、中性脂質、ヘルパー脂質、またはステルス脂質を含む、請求項 2 7 に記載の L N P 配合物。

**【請求項 2 9】**

下記 ( i ) ~ ( i v ) :

( i ) 前記イオン性脂質がリピド A またはリピド B である；

( i i ) 前記中性脂質が D S P C である；

( i i i ) 前記ヘルパー脂質がコレステロールである；および

( i v ) 前記ステルス脂質が P E G - D M G である；

の 1 つまたは複数が満たされている、請求項 2 8 に記載の L N P 配合物。

**【請求項 3 0】**

L N P がリピド A 、 D S P C 、コレステロール、および P E G - D M G を含む、請求項 2 8 記載の L N P 製剤。

**【請求項 3 1】**

対象における T T R と関連付けられるアミロイドーシス ( A T T R ) を治療するための医薬組成物であって、前記組成物が、( i ) R N A ガイド D N A 結合剤または R N A ガイド D N A 結合剤をコードする核酸および( i i ) ガイド R N A を含み、前記ガイド R N A が、

( a ) 配列番号： 2 3 を含むガイド配列；

( b ) 配列番号 2 3 の配列の少なくとも 1 7 、 1 8 、 1 9 、または 2 0 の連続するヌクレオチドであるガイド配列；または

( c ) 配列番号： 2 3 の配列と少なくとも 9 0 % 同一であるガイド配列を含む、

医薬組成物。

10

20

30

40

50

**【請求項 3 2】**

対象において TTR 遺伝子内に二本鎖切断 (DSB) を誘導するか、または TTR 遺伝子を修飾するための医薬組成物であって、前記組成物がガイド RNA を含み、前記ガイド RNA が、

(a) 配列番号：23 を含むガイド配列；

(b) 配列番号 23 の配列の少なくとも 17、18、19、または 20 の連続するヌクレオチドであるガイド配列；または

(c) 配列番号 23 の配列と少なくとも 90 % 同一であるガイド配列を含む、

医薬組成物。

10

**【請求項 3 3】**

対象において TTR の血清濃度を低減させるか、または TTR を含むアミロイドもしくはアミロイド原線維の蓄積を低減させまたは予防するための医薬組成物であって、前記組成物が、(i) RNA ガイド DNA 結合剤または RNA ガイド DNA 結合剤をコードする核酸および (ii) ガイド RNA を含み、ガイド RNA が、

(a) 配列番号：23 を含むガイド配列；

(b) 配列番号：23 の配列の少なくとも 17、18、19、または 20 の連続するヌクレオチドであるガイド配列；または

(c) 配列番号 23 の配列と少なくとも 90 % 同一であるガイド配列を含む、

医薬組成物。

20

**【請求項 3 4】**

前記組成物が、血清 TTR レベルを、前記組成物の投与前の血清 TTR レベルと比較して少なくとも 50 % 低減させる、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

**【請求項 3 5】**

前記組成物が TTR 遺伝子の編集を結果としてもたらす、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

**【請求項 3 6】**

前記編集が、編集される細胞の集団のパーセンテージ（編集パーセント）として算出され、前記編集パーセントが、集団の 30 % ~ 99 % である、請求項 3 5 に記載の医薬組成物。

30

**【請求項 3 7】**

前記組成物が少なくとも 1 つの組織においてアミロイド沈着を低減させ、前記少なくとも 1 つの組織が、胃、結腸、坐骨神経、および後根神経節の 1 つまたは複数を含む、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

**【請求項 3 8】**

前記ガイド RNA が、前記ガイド配列を含みかつ配列番号：126 のヌクレオチド配列をさらに含む cRNA を含み、配列番号：126 の前記ヌクレオチドが前記ガイド配列にその 3' 末端において後続する、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

40

**【請求項 3 9】**

前記ガイド RNA がシングルガイド (sgRNA) である、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

**【請求項 4 0】**

前記 sgRNA が配列番号：3 のパターンを含む、請求項 3 9 に記載の医薬組成物。

**【請求項 4 1】**

配列番号：3 における各 N が任意の天然または非天然ヌクレオチドであり、前記 N が前記ガイド配列を形成する、請求項 4 0 に記載の医薬組成物。

**【請求項 4 2】**

前記 sgRNA が配列番号：23 のガイド配列および配列番号：125 のヌクレオチドを含み、配列番号：125 の前記ヌクレオチドが前記ガイド配列にその 3' 末端において

50

後続する、請求項 4 1 に記載の医薬組成物。

**【請求項 4 3】**

前記 s g R N A が配列番号：8 7 の配列と少なくとも 9 0 % 同一である配列を含む、請求項 3 9 に記載の医薬組成物。

**【請求項 4 4】**

前記ガイド R N A がすくなくとも 1 つの修飾を含む、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

**【請求項 4 5】**

前記少なくとも 1 つの修飾が、

2' - O - メチル ( 2' - O - M e ) 修飾ヌクレオチド；

ヌクレオチド間のホスホロチオエート ( P S ) 結合；

2' - フルオロ ( 2' - F ) 修飾ヌクレオチド；

5' 末端における最初の 5 つのヌクレオチドの 1 つまたは複数における修飾；

3' 末端における最後の 5 つのヌクレオチドの 1 つまたは複数における修飾；

最初の 4 つのヌクレオチド間の P S 結合；

最後の 4 つのヌクレオチド間の P S 結合；

5' 末端における最初の 3 つのヌクレオチドにおける 2' - O - M e 修飾ヌクレオチド；および

3' 末端における最後の 3 つのヌクレオチドにおける 2' - O - M e 修飾ヌクレオチドから選択される。

10

20

30

請求項 4 4 に記載の医薬組成物。

**【請求項 4 6】**

前記 s g R N A がさらに、

( a ) 最初の 4 つのヌクレオチド間の P S 結合；

( b ) 最後の 4 つのヌクレオチド間の P S 結合；

( c ) 5' 末端における最初の 3 つのヌクレオチドにおける 2' - O - M e 修飾ヌクレオチド；

( d ) 3' 末端における最後の 3 つのヌクレオチドにおける 2' - O - M e 修飾ヌクレオチド；または

( e ) ( a ) ~ ( d ) の 2 つまたはそれより多くの組合せを含む、

請求項 3 9 に記載の医薬組成物。

**【請求項 4 7】**

前記ガイド R N A が配列番号：8 7 の配列を含む、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

**【請求項 4 8】**

前記ガイド R N A が脂質ナノ粒子 ( L N P ) と会合している、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

**【請求項 4 9】**

前記組成物が R N A ガイド D N A 結合剤または R N A ガイド D N A 結合剤をコードする m R N A をさらに含む、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

40

**【請求項 5 0】**

前記 R N A ガイド D N A 結合剤が C a s 9 である、請求項 4 9 に記載の医薬組成物。

**【請求項 5 1】**

前記 R N A ガイド D N A 結合剤をコードする前記 m R N A が、配列番号：2 0 1 、 2 0 4 、 2 1 0 、 2 1 4 、 2 1 5 、 2 2 3 、 2 2 4 、 2 5 0 、 2 5 2 、 2 5 4 、 2 6 5 、または 2 6 6 のいずれか 1 つに対して少なくとも 9 0 % の同一性を有する配列を含むオープンリーディングフレーム ( O R F ) を含む、請求項 5 0 に記載の医薬組成物。

**【請求項 5 2】**

前記組成物が、薬学的に許容される担体をさらに含む、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれか 1

50

項に記載の医薬組成物。

**【請求項 5 3】**

前記対象における TTR のレベルが少なくとも 50 % 低減される、請求項 31 ~ 33 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

**【請求項 5 4】**

前記対象が ATTR を有する、任意選択的に、前記対象が ATTRwt または遺伝性 ATTR を有する；

前記対象が AATD の家族歴を有する；

前記対象が家族性アミロイド多発ニューロパシーを有する；

前記対象が ATTR の神経症状のみを有するか、または主に ATTR の神経症状を有する； 10

前記対象が家族性アミロイド心筋症を有する；

前記対象が ATTR の心臓症状のみを有するか、または主に ATTR の神経症状を有する；

前記対象が、V30 突然変異を有する TTR を発現する、任意選択的に、前記 V30 突然変異が、V30A、V30G、V30L、または V30 突然変異である；

前記対象が、T60 突然変異を有する TTR を発現する、任意選択的に、前記 T60 突然変異が、T60A である；

前記対象が、V122 突然変異を有する TTR を発現する、任意選択的に、前記 V122 突然変異が、V122A、V122I、または V122( - ) である； 20

前記対象が野生型 TTR を発現する；

前記対象が、V30、T60、または V122 突然変異を有する TTR を発現しない、任意選択的に、前記対象が野生型 TTR についてホモ接合である；または

前記対象が、病理学的突然変異を有する TTR を発現しない、

請求項 31 ~ 33 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

**【請求項 5 5】**

対象において TTR 遺伝子内に二本鎖切断 (DSB) を誘導するか、または TTR 遺伝子を修飾するための医薬組成物であって、前記組成物が、(i) RNA ガイド DNA 結合剤または RNA ガイド DNA 結合剤をコードする核酸であって、前記 RNA ガイド DNA 結合剤が Cas9 である、RNA ガイド DNA 結合剤または RNA ガイド DNA 結合剤をコードする核酸、および (ii) 配列番号：23 のガイド配列を含むガイド RNA を含む、医薬組成物。 30

**【請求項 5 6】**

前記ガイド RNA がシングルガイド (sgRNA) である、請求項 55 に記載の医薬組成物。

**【請求項 5 7】**

前記 sgRNA が配列番号：23 のガイド配列および配列番号：125 のヌクレオチドを含み、配列番号：125 の前記ヌクレオチドが前記ガイド配列にその 3' 末端において後続する、請求項 56 に記載の医薬組成物。

**【請求項 5 8】**

前記 sgRNA が配列番号：87 の配列と少なくとも 90 % 同一である配列を含む、請求項 55 に記載の医薬組成物。 40

**【請求項 5 9】**

前記 sgRNA が配列番号：87 の配列を含む、請求項 55 に記載の医薬組成物。

**【請求項 6 0】**

前記対象が TTR と関連付けられるアミロイドーシス (ATTR) を有する、請求項 54 に記載の医薬組成物。

**【手続補正 2】**

**【補正対象書類名】** 明細書

**【補正対象項目名】** 配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2023029966000001.app

10

20

30

40

50