

【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 7 年 6 月 24 日(2025.6.24)

【公開番号】特開 2024-23294(P2024-23294A)

【公開日】令和 6 年 2 月 21 日(2024.2.21)

【年通号数】公開公報(特許)2024-033

【出願番号】特願 2023-193282(P2023-193282)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/11(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 15/55(2006.01)

C 1 2 N 15/09(2006.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

A 6 1 K 31/7105(2006.01)

A 6 1 P 7/00(2006.01)

A 6 1 P 7/06(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 N 15/11 Z

C 1 2 N 5/10 Z N A

C 1 2 N 15/55

C 1 2 N 15/09 1 1 0

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 P 7/00

A 6 1 P 7/06

20

【誤訳訂正書】

【提出日】令和 7 年 6 月 16 日(2025.6.16)

【誤訳訂正 1】

30

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ゲノム編集システムであって、

(a) 標的核酸配列に相補的な標的化ドメインを含む gRNA 分子であって、前記標的核酸配列が、T R A C 遺伝子配列の一部を含む、gRNA 分子；

(b) C p f 1 RNA 誘導ヌクレアーゼ又は C p f 1 RNA 誘導ヌクレアーゼをコードする核酸；並びに

(c) 5' 相同性アーム、3' 相同性アーム第 1 のスタッパー配列、第 2 のスタッパー配列及びカーゴを含む DNA ドナー鋳型であって、5' 相同性アームが標的核酸配列の上流の配列に相同であり、3' 相同性アームが標的核酸配列の下流の配列に相同であり、且つ、DNA ドナー鋳型が、5' から 3' の方向に、5' 相同性アーム、第 1 のスタッパー配列、カーゴ、第 2 のスタッパー配列及び 3' 相同性アーム、を含む DNA ドナー鋳型；

を含む、ゲノム編集システム。

【請求項 2】

5' 相同性アーム及び / 又は 3' 相同性アームは、長さが 50 ~ 1000 ヌクレオチドの 50

間である、請求項 1 に記載のゲノム編集システム。

【請求項 3】

カーゴが、置換配列を含む、請求項 1 又は 2 に記載のゲノム編集システム。

【請求項 4】

カーゴが、

- (a) 遺伝子配列のエクソン；
- (b) 遺伝子配列のイントロン；
- (c) cDNA 配列；
- (d) 転写調節エレメント；及び／又は
- (e) プロモーター配列

10

を含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載のゲノム編集システム。

【請求項 5】

カーゴが、外因性タンパク質をコードする配列を含む、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載のゲノム編集システム。

【請求項 6】

Cpf1 RNA 誘導ヌクレアーゼが、該ヌクレアーゼの N 末端の 1 つ若しくは複数の核局在化シグナル (NLS) 配列、該ヌクレアーゼの C 末端の 1 つ若しくは複数の NLS 配列又は該ヌクレアーゼの N 末端及び C 末端の 1 つ若しくは複数の NLS 配列を含む、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載のゲノム編集システム。

20

【請求項 7】

NLS 配列は、ヌクレオプラスミン NLS (nNLS) (配列番号 1) 及びシミアンウイルス 40 (SV40) NLS (sNLS) (配列番号 2) からなる群から選択される、請求項 6 に記載のゲノム編集システム。

【請求項 8】

Cpf1 RNA 誘導ヌクレアーゼが、配列番号 17 の野生型 AsCpf1 アミノ酸配列の C334S、C379S、及び／又は、C674S の置換を含む、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載のゲノム編集システム。

【請求項 9】

標的化ドメインが、配列番号 216 ～ 475 の配列を含む、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載のゲノム編集システム。

30

【請求項 10】

(i)

(a) 第 1 のスタッファー配列が、配列番号 23 ～ 123 の配列の少なくとも 25 ヌクレオチド配列を含む配列を含む；

(b) 第 2 のスタッファー配列が、配列番号 23 ～ 123 の配列の少なくとも 25 ヌクレオチド配列を含む配列を含む；又は

(c) 第 1 のスタッファー配列及び第 2 のスタッファー配列が、配列番号 23 ～ 123 の配列の少なくとも 25 ヌクレオチド配列を含む配列を含む；

(ii) 5' 相同性アーム及び第 1 のスタッファー配列の長さが、3' 相同性アーム及び第 2 のスタッファー配列の長さ、25 ヌクレオチド以下異なる；且つ／又は

40

(iii) 第 1 のスタッファー配列及び第 2 のスタッファー配列が、標的細胞のゲノムにおける同じ長さのいかなる核酸配列とも 10% 未満の同一性である；

請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載のゲノム編集システム。

【請求項 11】

がん罹患している対象の治療で使用するための、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項に記載のゲノム編集システム。

【請求項 12】

細胞を修飾するのに使用するための、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項に記載のゲノム編集システム。

【請求項 13】

50

請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載のゲノム編集システムを含む、細胞。

【請求項 14】

T 細胞、リンパ系前駆細胞、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、造血幹細胞 (HSC) 又はヒト臍帯血誘導赤血球系前駆細胞 (HUEP 細胞) である、請求項 13 に記載の細胞。

【請求項 15】

T 細胞が、CD8⁺T 細胞、CD8⁺ナイーブ T 細胞、CD4⁺中央記憶 T 細胞、CD8⁺中央記憶 T 細胞、CD4⁺エフェクター記憶 T 細胞、CD4⁺T 細胞、CD4⁺幹細胞記憶 T 細胞、CD8⁺幹細胞記憶 T 細胞、CD4⁺ヘルパー T 細胞、制御性 T 細胞、細胞毒性 T 細胞、ナチュラルキラー T 細胞、CD4⁺ナイーブ T 細胞、TH17CD4⁺T 細胞、TH1CD4⁺T 細胞、TH2CD4⁺T 細胞、TH9CD4⁺T 細胞、CD4⁺Foxp3⁺T 細胞、CD4⁺CD25⁺CD127⁻T 細胞及び CD4⁺CD25⁺CD127⁻Foxp3⁺T 細胞からなる群から選択される、請求項 14 に記載の細胞。

【請求項 16】

標的核酸配列における修飾を含む、単離された T 細胞であって、単離された T 細胞が、
 (a) プレボテラ属 (Prevotella) 及びフランシセラ属 (Francisella) からの CRISPR-1 (Cpf1) RNA 誘導ヌクレアーゼと、
 (b) T R A C 遺伝子配列の一部である標的核酸配列に相補的な標的化ドメインを含む gRNA 分子と、
 (c) 5' 相同性アーム、3' 相同性アームのスタッファー配列、第 2 のスタッファー配列及びカーゴを含む DNA ドナー鋳型であって、5' 相同性アームが標的核酸配列の上流の配列に相同であり、3' 相同性アームが標的核酸配列の下流の配列に相同であ
DNA ドナー鋳型が、5' から 3' の方向に、5' 相同性アーム、第 1 のスタッファー配列、カーゴ、第 2 のスタッファー配列及び 3' 相同性アーム含み、且つ、修飾が、標的核酸配列における欠失、挿入、停止コドン又はフレームシフト変異である、DNA ドナー鋳型と、を含む、単離された T 細胞。

【請求項 17】

5' 相同性アーム及び / 又は 3' 相同性アームは、長さが 50 ~ 1000 ヌクレオチドの間である、請求項 16 に記載の単離された T 細胞。

【請求項 18】

カーゴが、置換配列を含む、請求項 16 又は 17 に記載の単離された T 細胞。

【請求項 19】

T R A C 遺伝子に修飾を含む T 細胞集団であって、前記修飾は、

(i)

(a) CRISPR / Cpf1 RNA 誘導ヌクレアーゼと、

(b) T R A C 遺伝子配列の一部である標的核酸配列に相補的な標的化ドメインを含む gRNA と、
 を含む、1 つ又は複数の RNP 複合体と、

(i i) 5' 相同性アーム、3' 相同性アームのスタッファー配列、第 2 のスタッファー配列及びカーゴを含む DNA ドナー鋳型であって、5' 相同性アームが標的核酸配列の上流の配列に相同であり、3' 相同性アームが標的核酸配列の下流の配列に相同であり、且つ、DNA ドナー鋳型が、5' から 3' の方向に、5' 相同性アーム、第 1 のスタッファー配列、カーゴ、第 2 のスタッファー配列及び 3' 相同性アーム含み、且つ、修飾が、T R A C 遺伝子の発現の妨害である、DNA ドナー鋳型と、
 を使用して生成され、

前記 T 細胞集団の少なくとも 60 % の T 細胞は、T 細胞の表面上において、検出可能なレベルの T C R を含まない、T 細胞集団。

【請求項 20】

修飾された T R A C 遺伝子座に挿入されたキメラ抗原受容体 (CAR) 又は操作された T 細胞受容体 (e T C R) をさらに含む、請求項 16 ~ 18 のいずれか一項に記載の単離さ

れたT細胞又は請求項19に記載のT細胞集団。

【請求項21】

T細胞が、CD8⁺T細胞、CD8⁺ナイーブT細胞、CD4⁺中央記憶T細胞、CD8⁺中央記憶T細胞、CD4⁺エフェクター記憶T細胞、CD4⁺T細胞、CD4⁺幹細胞記憶T細胞、CD8⁺幹細胞記憶T細胞、CD4⁺ヘルパーT細胞、制御性T細胞、細胞毒性T細胞、ナチュラルキラーT細胞、CD4⁺ナイーブT細胞、TH17CD4⁺T細胞、TH1CD4⁺T細胞、TH2CD4⁺T細胞、TH9CD4⁺T細胞、CD4⁺Foxp3⁺T細胞、CD4⁺CD25⁺CD127⁻T細胞又はCD4⁺CD25⁺CD127⁻Foxp3⁺T細胞である、請求項16～18及び20のいずれか一項に記載の単離されたT細胞又は請求項19又は請求項20に記載のT細胞集団。

10

【請求項22】

__T細胞の集団において、関心のある標的配列を修飾する方法であって、前記細胞の集団を、

(i)

(a) 標的核酸配列に相補的な標的化ドメインを含むgRNA分子であって、前記標的核酸配列が、TRAC遺伝子配列の一部を含む、gRNA分子；及び

(b) Cpf1 RNA誘導ヌクレアーゼ；

を含む1つ又は複数のRNP複合体、並びに

(ii) 5'相同性アーム、3'相同性アーム、第1のスタッファー配列、第2のスタッファー配列及びカーゴを含むDNAドナー鋳型であって、5'相同性アームが標的核酸配列の上流の配列に相同であり、3'相同性アームが標的核酸配列の下流の配列に相同であり、且つ、DNAドナー鋳型が、5'から3'の方向に、5'相同性アーム、第1のスタッファー配列、カーゴ、第2のスタッファー配列及び3'相同性アームを含むDNAドナー鋳型、__

20

とエキスピボ又はインピトロで接触させることを含み、

前記1つ又は複数のRNP複合体が、前記細胞の集団内の関心のある標的配列を修飾し、且つ、

修飾が、標的核酸配列における欠失、挿入、停止コドン又はフレームシフト変異である、方法。

【請求項23】

細胞集団を含む、対象における症状を治療する又は緩和するための医薬であって、__前記細胞集団が、

30

(i)

(a) プレボテラ属(Prevotella)及びフランシセラ属(Francisella)からのCRISPR_1(Cpf1)RNA誘導ヌクレアーゼ；及び

(b) 標的核酸配列に相補的な標的化ドメインを含むgRNA分子であって、前記標的核酸配列が、TRAC遺伝子配列の一部を含む、gRNA分子；

を含む複合体、並びに

(ii) 5'相同性アーム、3'相同性アーム、第1のスタッファー配列、第2のスタッファー配列及びカーゴを含むDNAドナー鋳型であって、5'相同性アームが標的核酸配列の上流の配列に相同であり、3'相同性アームが標的核酸配列の下流の配列に相同であり、且つ、DNAドナー鋳型が、5'から3'の方向に、5'相同性アーム、第1のスタッファー配列、カーゴ、第2のスタッファー配列及び3'相同性アームを含むDNAドナー鋳型

40

の送達によって生成される、TRAC遺伝子における修飾を含む、医薬。

【請求項24】

前記対象が、がん又は自己免疫障害に罹患している、請求項23に記載の医薬。

【請求項25】

前記細胞集団内の細胞の少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも7

50

0 %、少なくとも80 %又は少なくとも90 %が、生産的インデルを含む、請求項23又は24に記載の医薬。

【請求項26】

5'相同性アーム及び/若しくは3'相同性アームは、長さが50～1000ヌクレオチドの間である、並びに/又はカーゴが、置換配列を含む、請求項23～25のいずれか一項に記載の医薬。

【請求項27】

(a) 標的配列又はgRNA分子をコードする核酸に相補的な第1の標的化ドメインを含む、gRNA分子であって、前記標的配列は、TRAC遺伝子配列の一部を含む、gRNA分子；並びに

10

(b) 5'相同性アーム、3'相同性アーム第1のスタッパー配列、第2のスタッパー配列及びカーゴを含むDNAドナー鋳型であって、5'相同性アームが標的核酸配列の上流の配列に相同であり、3'相同性アームが標的核酸配列の下流の配列に相同であり、且つ、DNAドナー鋳型が、5'から3'の方向に、5'相同性アーム、第1のスタッパー配列、カーゴ、第2のスタッパー配列及び3'相同性アームを含むDNAドナー鋳型を含む、組成物。

【請求項28】

前記gRNA分子は、配列番号216～475の配列を含む、請求項27に記載の組成物。

【請求項29】

20

プレボテラ属(Prevotella)及びフランシセラ属(Francisella)からのCRISPR1(Cpf1)RNA誘導ヌクレアーゼ又はCpf1RNA誘導ヌクレアーゼをコードする核酸をさらに含む、請求項27又は28に記載の組成物。

【請求項30】

がん罹患している対象の治療で使用するための、請求項29に記載の組成物。

【請求項31】

対象における症状を治療する又は緩和するための医薬であって、請求項29に記載の組成物を含む、医薬。

30

40

50