

【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 6 年 7 月 25 日(2024.7.25)

【公開番号】特開 2023-156339(P2023-156339A)
【公開日】令和 5 年 10 月 24 日(2023.10.24)
【年通号数】公開公報(特許)2023-200
【出願番号】特願 2023-119855(P2023-119855)
【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09(2006.01)
A 6 1 K 38/46(2006.01)
A 6 1 K 48/00(2006.01)
A 6 1 K 47/62(2017.01)
A 6 1 P 43/00(2006.01)
A 6 1 K 47/18(2017.01)
A 6 1 K 35/12(2015.01)
C 0 7 K 19/00(2006.01)
C 1 2 N 9/16(2006.01)
C 1 2 N 15/88(2006.01)

10

【F I】

20

C 1 2 N 15/09 1 0 0
A 6 1 K 38/46 Z N A
A 6 1 K 48/00
A 6 1 K 47/62
A 6 1 P 43/00 1 0 5
A 6 1 K 47/18
A 6 1 K 35/12
C 0 7 K 19/00
C 1 2 N 9/16 Z
C 1 2 N 15/88 Z

30

【手続補正書】
【提出日】令和 6 年 7 月 17 日(2024.7.17)
【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】

40

R N A プログラミング可能な蛋白質、およびカチオン性脂質、カチオン性ポリマー、またはカチオン性脂質およびカチオン性ポリマーの両方を含む組成物であって、ここで、R N A プログラミング可能な蛋白質が、g R N A と結びつく、前記組成物。

【請求項 2】

組成物が、R N A プログラムミング可能な蛋白質を細胞の内部に送達することができる、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

g R N A と結びつく R N A プログラミング可能な蛋白質、およびカチオン性脂質を含む、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

50

gRNAと結びつくRNAプログラミング可能な蛋白質、およびカチオン性ポリマーを含む、請求項1または2に記載の組成物。

【請求項5】

gRNAと結びつくRNAプログラミング可能な蛋白質、カチオン性脂質、およびカチオン性ポリマーを含む、請求項1～4のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項6】

組成物が、細胞の集団に投与されたときに低い毒性を示す、請求項1～5のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項7】

細胞の少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%が、組成物の投与後に生存可能である、請求項6に記載の組成物。 10

【請求項8】

カチオン性脂質が、Lipofectamine（登録商標）2000、Lipofectamine（登録商標）3000、Lipofectamine（登録商標）RNAiMAX、Lipofectamine（登録商標）LTX、またはそれらのいずれかの組み合わせである、請求項1～7のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項9】

RNAプログラミング可能な蛋白質が、野生型Cas9蛋白質もしくはそのバリエーション、Cas9ニッカーゼもしくはそのバリエーション、またはヌクレアーゼ不活性型Cas9（dCas9）もしくはそのバリエーションを含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の組成物。 20

【請求項10】

RNAプログラミング可能な蛋白質が、機能的なエフェクター蛋白質に融合する、請求項1～9のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項11】

RNAプログラミング可能な蛋白質が、リンカーを介して、機能的なエフェクター蛋白質に融合する、請求項10に記載の組成物。

【請求項12】

リンカーが、SGSETPGTSESATPES（配列番号3）、SGSETPGTSESA（配列番号4）、SGSETPGTSESATPEGGS（配列番号5）、VPFLLEPDNINGKTC（配列番号6）、GSAGSAGSGEF（配列番号7）、SIVAQLSRPDPA（配列番号8）、MKIIIEQLPSA（配列番号9）、VRHKLKRVGS（配列番号10）、GHGTGSTGSGSS（配列番号11）、MSRPDPA（配列番号12）、GGS（配列番号13）、GGS、および（GGS）_n、ここでnは1～10の整数のいずれかである、からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項11に記載の組成物。 30

【請求項13】

機能的なエフェクター蛋白質に融合されているRNAプログラミング可能な蛋白質が、構造：[NH₂]-[RNAプログラミング可能な蛋白質]-[機能的なエフェクター蛋白質]-[COOH]、または[NH₂]-[機能的なエフェクター蛋白質]-[RNAプログラミング可能な蛋白質]-[COOH]を含み、任意にここで、リンカーが、RNAプログラミング可能な蛋白質と機能的なエフェクター蛋白質との間に挿入される、請求項10～12のいずれか一項に記載の組成物。 40

【請求項14】

機能的なエフェクター蛋白質が、転写活性化因子または転写抑制因子である、請求項10～13のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項15】

転写活性化因子が、VP16、VP64およびp65からなる群から選択される、請求項14に記載の組成物。 50

【請求項 16】

転写抑制因子が、K R A B 蛋白質または S I D 蛋白質である、請求項 14 に記載の組成物。

【請求項 17】

機能的なエフェクター蛋白質が、ヌクレアーゼドメインである、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 18】

ヌクレアーゼドメインが、F o k Iヌクレアーゼドメイン、T A L Eヌクレアーゼドメイン、ジンクフィンガーヌクレアーゼドメインを含む、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 19】

機能的なエフェクター蛋白質が、リコンビナーゼ触媒ドメインである、請求項 10 ~ 13 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 20】

リコンビナーゼ触媒ドメインが、H i nリコンビナーゼ触媒ドメイン、G i nリコンビナーゼ触媒ドメイン、またはT n 3リコンビナーゼ触媒ドメインを含む、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 21】

機能的なエフェクター蛋白質が、デアミナーゼである、請求項 10 ~ 13 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 22】

デアミナーゼが、シチジンデアミナーゼを含む、請求項 21 の組成物。

【請求項 23】

デアミナーゼが、A P O B E Cファミリーデアミナーゼを含む、請求項 21 または 22 に記載の組成物。

【請求項 24】

デアミナーゼが、A P O B E C 1、A I DおよびA C F 1 / A S Eデアミナーゼからなる群から選択される、請求項 21 または 22 に記載の組成物。

【請求項 25】

デアミナーゼが、アデノシンデアミナーゼを含む、請求項 21 の組成物。

【請求項 26】

アデノシンデアミナーゼが、A D A Tファミリーデアミナーゼである、請求項 25 に記載の組成物。

【請求項 27】

機能的なエフェクター蛋白質が、エピジェネティック修飾因子である、請求項 10 ~ 13 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 28】

エピジェネティック修飾因子が、ヒストン脱メチル化酵素、ヒストンメチルトランスフェラーゼ、ヒドロキシラーゼ、ヒストン脱アセチル化酵素、およびヒストンアセチルトランスフェラーゼからなる群から選択される、請求項 27 に記載の組成物。

【請求項 29】

エピジェネティック修飾因子が、L S D 1ヒストン脱メチル化酵素またはT E T 1ヒドロキシラーゼを含む、請求項 27 または 28 に記載の組成物。

【請求項 30】

R N Aプログラミング可能な蛋白質または機能的なエフェクター蛋白質に融合されている核局在シグナル(N L S)をさらに含む、請求項 1 ~ 29 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 31】

N L Sが、アミノ酸配列M A P K K K R K V G I H R G V P (配列番号 47)を含む、請求項 30 に記載の組成物。

【請求項 32】

10

20

30

40

50

N L S が、機能的なエフェクター蛋白質の C 末端である、請求項 3 0 または 3 1 に記載の組成物。

【請求項 3 3】

N L S が、R N A プログラミング可能な蛋白質の C 末端である、請求項 3 0 または 3 1 に記載の組成物。

【請求項 3 4】

機能的なエフェクター蛋白質に融合されている R N A プログラミング可能な蛋白質が、構造：[N H ₂] - [N L S] - [R N A プログラミング可能な蛋白質] - [機能的なエフェクター蛋白質] - [C O O H] または [N H ₂] - [N L S] - [機能的なエフェクター蛋白質] - [R N A プログラミング可能な蛋白質] - [C O O H] を含み、任意にこ
ここで、リンカーが、R N A プログラミング可能な蛋白質と機能的なエフェクター蛋白質との間に挿入されるか、リンカーが、N L S と R N A プログラミング可能な蛋白質もしくはは機能的なエフェクター蛋白質との間に挿入されるか、またはその両方である、請求項 3 0 または 3 1 に記載の組成物。

10

【請求項 3 5】

R N A プログラミング可能な蛋白質が、正味の負電荷を有する超荷電蛋白質と結びつく、請求項 1 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 3 6】

R N A プログラミング可能な蛋白質が、超負荷電蛋白質と非共有結合的な相互作用、またはリンカーを介して直接的にもしくは間接的に共有結合を介して結びつき、ここで超負荷電蛋白質は正味の負電荷を有し、結びつけられた R N A プログラミング可能な蛋白質および超負荷電蛋白質は負電荷を有し、任意で超負荷電蛋白質は - 5 ~ - 5 0 の正味の負電荷を有する、請求項 3 5 に記載の組成物。

20

【請求項 3 7】

超荷電蛋白質が、蛍光蛋白質である、請求項 3 5 または 3 6 に記載の組成物。

【請求項 3 8】

超荷電蛋白質が、超負荷電 G F P である、請求項 3 5 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 3 9】

R N A プログラミング可能な蛋白質が、配列番号 4 4 の野生型 C a s 9 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一であるか、少なくとも 8 0 % 同一であるか、少なくとも 9 0 % 同一であるか、少なくとも 9 5 % 同一であるか、少なくとも 9 8 % 同一であるか、少なくとも 9 9 % 同一であるか、少なくとも 9 9 . 5 % 同一であるか、または少なくとも 9 9 . 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 3 8 のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項 4 0】

R N A プログラミング可能な蛋白質が、配列番号 4 5 の d C a s 9 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一であるか、少なくとも 8 0 % 同一であるか、少なくとも 9 0 % 同一であるか、少なくとも 9 5 % 同一であるか、少なくとも 9 8 % 同一であるか、少なくとも 9 9 % 同一であるか、少なくとも 9 9 . 5 % 同一であるか、または少なくとも 9 9 . 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む d C a s 9 または n C a s 9 であり、配列番号 4 4 の野生型 C a s 9 のアミノ酸配列と比較して、D 1 0 A および H 8 4 0 A 置換を含む、請求項 1 ~ 3 8 のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項 4 1】

C a s 9 蛋白質が、配列番号 4 4 の野生型 C a s 9 アミノ酸配列と比較して、D 1 0 A 置換を含む C a s 9 ニッカーゼである、請求項 1 ~ 3 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 4 2】

請求項 1 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の組成物、および薬学的に許容し得る賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項 4 3】

R N A プログラミング可能な蛋白質を細胞にインビトロまたはエキスビボで導入する方

50

法であって、RNAプログラミング可能な蛋白質が細胞内に入るための好適な条件で、請求項1～41のいずれか一項に記載の組成物または請求項42に記載の医薬組成物と細胞とをインビトロまたはエキスピボで接触させることを含む、前記方法。

【請求項44】

細胞が体細胞である、請求項43に記載の方法。

【請求項45】

細胞が、望まれる細胞運命への細胞のプログラミングを誘導するために十分な量、時間、および条件で組成物または医薬組成物と接触させられる、請求項43または44に記載の方法。

【請求項46】

RNAプログラミング可能な蛋白質が、細胞に透過したことを確認することをさらに含む、請求項43～45のいずれか一項に記載の方法。

【請求項47】

接触させるステップが、インビトロでなされる、請求項43～46のいずれか一項に記載の方法。

【請求項48】

対象における疾患を治療するための薬物の製造における、請求項1～41のいずれか一項に記載の組成物、または請求項42に記載の医薬組成物の使用。

【請求項49】

対象における疾患の治療が、RNAプログラミング可能な蛋白質を細胞に導入する方法であって、RNAプログラミング可能な蛋白質が細胞内に入るための好適な条件で、請求項1～41のいずれか一項に記載の組成物または請求項42に記載の医薬組成物と細胞とを接触させることを含む、請求項48に記載の使用。

【請求項50】

細胞が体細胞である、請求項49に記載の使用。

【請求項51】

細胞が、望まれる細胞運命への細胞のプログラミングを誘導するために十分な量、時間、および条件で組成物または医薬組成物と接触させられる、請求項49または50に記載の使用。

【請求項52】

請求項1～41のいずれか一項に記載の組成物、または請求項42に記載の医薬組成物を含むキット。

10

20

30

40

50