

【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 3 部門第 2 区分

【発行日】令和 1 年 6 月 27 日 (2019.6.27)

【公表番号】特表 2018-516984 (P2018-516984A)

【公表日】平成 30 年 6 月 28 日 (2018.6.28)

【年通号数】公開・登録公報 2018-024

【出願番号】特願 2018-513745 (P2018-513745)

【国際特許分類】

A 6 1 K 38/43 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 9/127 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 38/43

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 9/127

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 31/12

C 1 2 N 15/09 1 0 0

C 1 2 N 15/63

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 5 月 23 日 (2019.5.23)

【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】

C a s 9 エンドヌクレアーゼと

ヒトパピローマウイルス (HPV) ゲノム内の E 6 遺伝子または E 7 遺伝子内の第 1 の
標的部位を切断するために前記 C a s 9 エンドヌクレアーゼを標的に向かわせるガイド R
N A と

をコードする核酸を含む組成物。

【請求項 2】

ヒト患者への送達のためにさらにパッケージされている、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

局所送達のためにさらにパッケージされている、請求項 1 ～ 2 のいずれか一項に記載の
組成物。

【請求項 4】

前記ガイド R N A が、ヒトゲノム内で 60 % 超の一致を有さない、請求項 1 ～ 3 のい
ずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5】

前記組成物が、レトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ボックスウイルス、アルファウイルス、ワクシニアウイルス、アデノ随伴ウイルス、およびプラスミドから選択されるベクターをさらに含む、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6】

前記組成物が、ナノ粒子、カチオン性脂質、カチオン性ポリマー、金属ナノ粒子、ナノロッド、リボソーム、マイクロバブル、細胞透過性ペプチド、およびリボスフェアから選択されるベクターをさらに含む、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7】

前記組成物が、前記 H P V ゲノム内の E 6 遺伝子または E 7 遺伝子内の第 2 の標的部位を切断するために前記 C a s 9 エンドヌクレアーゼを標的に向かわせる第 2 のガイド R N A をさらに含み、前記第 2 の標的部位が、前記第 1 の標的部位と同じではない、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 8】

H P V 感染を処置する方法において使用するための、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 9】

H P V 感染細胞を死滅させる方法において使用するための、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 10】

前記 H P V 感染細胞がケラチノサイトである、請求項 9 に記載の使用のための組成物。

【請求項 11】

前記 H P V が H P V - 16 である、請求項 8 ～ 10 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項 12】

リボ核タンパク質 (R N P) を含む組成物であって、前記 R N P が、C a s 9 ヌクレアーゼ、およびヒトパピローマウイルス (H P V) のウイルス核酸内の標的部位に相補的なガイド R N A を含む、組成物。

【請求項 13】

R N P を包み込むリボソームをさらに含む、請求項 12 に記載の組成物。

【請求項 14】

前記標的部位が、E 6 または E 7 遺伝子内に存在する、請求項 12 ～ 13 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 15】

前記 H P V が H P V - 16 である、請求項 14 に記載の組成物。

【請求項 16】

前記 H P V が H P V - 18 である、請求項 14 に記載の組成物。

【請求項 17】

前記 C a s 9 ヌクレアーゼが少なくとも 1 つの核局在化シグナルをさらに含む、請求項 12 ～ 16 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 18】

前記ガイド R N A が、単一ガイド R N A (s g R N A) である、請求項 12 ～ 17 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 19】

第 2 の R N P をさらに含み、前記第 2 の R N P は、第 2 の C a s 9 ヌクレアーゼおよび前記 H P V のウイルス核酸内の異なる標的部位に相補的な第 2 のガイド R N A を含む、請求項 12 ～ 18 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 20】

前記第 2 の R N P を包み込む第 2 のリボソームをさらに含む、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 2 1】

請求項 1 2 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の組成物、および医薬的に許容される希釈剤、アジュバントまたは担体を含む、医薬製剤。

【請求項 2 2】

前記医薬製剤が、局所投与のために製剤化されている、請求項 2 1 に記載の医薬製剤。

【請求項 2 3】

前記 R N P が、リボソーム内に含まれている、請求項 2 2 に記載の医薬製剤。

【請求項 2 4】

H P V 感染を処置するかまたは H P V 感染細胞を死滅させる方法において使用するための、請求項 1 2 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の組成物または医薬製剤。

【請求項 2 5】

請求項 2 2 に記載の医薬製剤が投与される、請求項 2 4 に記載の使用のための組成物または医薬製剤。

【請求項 2 6】

前記 H P V 感染細胞が、ケラチノサイトである、請求項 2 4 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の使用のための組成物または医薬製剤。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 5】

好ましい実施形態では、宿主細胞はケラチノサイトであり、ベクターは、ケラチノサイト内の標的に向かうことが可能なヌクレアーゼおよび標的指向性配列の発現を促進する特徴を含む。発現を促進する特徴は、他のタイプの宿主細胞よりも、ケラチノサイト内の標的に向かうことが可能なヌクレアーゼおよび標的指向性配列の発現を選択的に好むプロモーター - エンハンサーカセットであり得る。ジンクフィンガーヌクレアーゼ、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ、またはメガヌクレアーゼ等の任意の好適なヌクレアーゼを使用することができる。本方法の好ましい態様では、ヌクレアーゼは C a s 9 エンドヌクレアーゼであり、標的指向性配列はガイド R N A を含む。標的指向性配列は、E 6 遺伝子、E 7 遺伝子、その他、またはそれらの組合せ等の、H P V ゲノム内の特定の遺伝子を切断するためにヌクレアーゼを標的に向かわせてもよく、標的指向性配列は、ヒトゲノム内で 7 0 % 超の一致を有していないガイド R N A である。

特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：

(項目 1)

標的に向かうことが可能なヌクレアーゼおよび前記ヌクレアーゼを H P V ゲノムへと標的に向かわせる標的指向性配列をコードするベクターを含む、ヒトパピローマウイルス (H P V) 感染を処置するための組成物。

(項目 2)

ベクターが、ケラチノサイト内での前記標的に向かうことが可能なヌクレアーゼおよび前記標的指向性配列の発現を促進する特徴を含む、項目 1 に記載の組成物。

(項目 3)

発現を促進する前記特徴が、他の型の宿主細胞よりも前記ケラチノサイト内での前記標的に向かうことが可能なヌクレアーゼおよび前記標的指向性配列の発現を選択的に好むプロモーター - エンハンサーカセットを含む、項目 2 に記載の組成物。

(項目 4)

前記ヌクレアーゼが、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ、およびメガヌクレアーゼからなる群から選択されるヌクレアーゼである、項目 2 に記載の組成物。

(項目 5)

前記ヌクレアーゼが Cas9 エンドヌクレアーゼを含み、前記標的指向性配列がガイド RNA を含む、項目 2 に記載の組成物。

(項目 6)

前記標的指向性配列が、前記 HPV ゲノム内の E6 遺伝子を切断するために前記ヌクレアーゼを標的に向かわせる、項目 2 に記載の組成物。

(項目 7)

前記ベクターが、前記 HPV ゲノム内の E7 遺伝子を切断するために前記ヌクレアーゼを標的に向かわせる第 2 の標的指向性配列をさらに含む、項目 6 に記載の組成物。

(項目 8)

ヒト患者への送達のためにさらにパッケージされる、項目 1 に記載の組成物。

(項目 9)

前記標的指向性配列がガイド RNA であり、ヒトゲノム内で 60 % 超の一致を有さない、項目 1 に記載の組成物。

(項目 10)

前記ベクターが、レトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、アルファウイルス、ワクシニアウイルス、アデノ随伴ウイルス、プラスミド、ナノ粒子、カチオン性脂質、カチオン性ポリマー、金属ナノ粒子、ナノロッド、リポソーム、マイクロバブル、細胞透過性ペプチド、およびリボスフェアからなる群から選択されるベクターを含む、項目 1 に記載の組成物。

(項目 11)

ヒトパピローマウイルス (HPV) 感染を処置するための方法であって、
宿主細胞に、標的に向かうことが可能なヌクレアーゼおよび HPV ゲノムへと前記ヌクレアーゼを標的に向かわせる標的指向性配列を導入するステップ；ならびに
宿主ゲノム上の遺伝子に干渉することなく、前記宿主細胞内において前記ヌクレアーゼで前記 HPV ゲノムを切断するステップ
を含む方法。

(項目 12)

前記標的に向かうことが可能なヌクレアーゼおよび前記標的指向性配列が、前記標的に向かうことが可能なヌクレアーゼおよび前記標的指向性配列をコードするベクターを使用して導入される、項目 11 に記載の方法。

(項目 13)

前記宿主細胞がケラチノサイトであり、前記ベクターが、前記ケラチノサイト内での前記標的に向かうことが可能なヌクレアーゼおよび前記標的指向性配列の発現を促進する特徴を含む、項目 12 に記載の方法。

(項目 14)

発現を促進する前記特徴が、他の型の宿主細胞よりも前記ケラチノサイト内での前記標的に向かうことが可能なヌクレアーゼおよび前記標的指向性配列の発現を選択的に好むプロモーター - エンハンサーカセットを含む、項目 13 に記載の方法。

(項目 15)

前記ベクターが、レトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、アルファウイルス、ワクシニアウイルス、アデノ随伴ウイルス、プラスミド、ナノ粒子、カチオン性脂質、カチオン性ポリマー、金属ナノ粒子、ナノロッド、リポソーム、マイクロバブル、細胞透過性ペプチド、およびリボスフェアからなる群から選択されるベクターを含む、項目 12 に記載の方法。

(項目 16)

前記ヌクレアーゼが、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ、およびメガヌクレアーゼからなる群から選択されるヌクレアーゼである、項目 11 に記載の方法。

(項目 17)

前記ヌクレアーゼが Cas9 エンドヌクレアーゼを含み、前記標的指向性配列がガイド

R N A を含む、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 1 8)

前記標的指向性配列が、前記 H P V ゲノム内の E 6 遺伝子を切断するために前記ヌクレアーゼを標的に向かわせる、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 1 9)

前記ベクターが、前記 H P V ゲノム内の E 7 遺伝子を切断するために前記ヌクレアーゼを標的に向かわせる第 2 の標的指向性配列をさらに含む、項目 1 8 に記載の方法。

(項目 2 0)

前記標的指向性配列がガイド R N A であり、ヒトゲノム内で 6 0 % 超の一致を有さない、項目 1 9 に記載の方法。

(項目 2 1)

前記宿主が生体ヒト患者であり、前記ステップが i n v i v o で行われる、項目 2 0 に記載の方法。

(項目 2 2)

R N A でガイドされるヌクレアーゼ；および
ウイルスのウイルス核酸内の標的部位に相補的な部分を有する R N A
を含むリボタンパク質 (R N P) を含む組成物。

(項目 2 3)

前記 R N A でガイドされるヌクレアーゼが、C R I S P R 関連タンパク質および C p f 1 からなる群より選択される、項目 2 2 に記載の組成物。

(項目 2 4)

前記 R N P を包み込むリボソームをさらに含む、項目 2 3 に記載の組成物。

(項目 2 5)

前記ウイルスがヒトパピローマウイルス (H P V) である、項目 2 3 に記載の組成物。

(項目 2 6)

前記標的部位が、前記 H P V のゲノムの E 6 または E 7 遺伝子内に存在する、項目 2 5 に記載の組成物。

(項目 2 7)

前記 R N A でガイドされるヌクレアーゼが、核局在化シグナルをさらに含む、項目 2 6 に記載の組成物。

(項目 2 8)

少なくとも第 2 の R N P をさらに含み、前記第 2 の R N P は、第 2 の R N A でガイドされるヌクレアーゼおよび第 2 の R N A を含む、項目 2 6 に記載の組成物。

(項目 2 9)

前記第 2 の R N A が、前記ウイルス核酸内の第 2 の標的部位に相補的な第 2 の部分を含み、前記第 2 の標的部位が、前記 E 6 または E 7 遺伝子内に存在し、前記標的部位と同じでない、項目 2 8 に記載の組成物。

(項目 3 0)

前記 R N P を包み込むリボソームおよび前記第 2 の R N P を包み込む第 2 のリボソームをさらに含む、項目 2 8 に記載の組成物。

(項目 3 1)

前記 R N A でガイドされるヌクレアーゼが C a s 9 である、項目 2 8 に記載の組成物。

(項目 3 2)

前記ウイルスに感染した細胞に送達されたときに前記ウイルス核酸を複数の位置で切断する複数の R N P をさらに含む、項目 2 3 に記載の組成物。

(項目 3 3)

前記複数の R N P を包み込む複数のリボソームをさらに含む、項目 3 1 に記載の組成物。

(項目 3 4)

前記標的部位に相補的な前記部分が、ヒトゲノム内で 6 0 % 超の一致を有さない、項目

22～33のいずれか一項に記載の組成物。

(項目35)

項目22～33のいずれか一項に記載の組成物を *in vitro* で細胞または組織に送達するステップ、およびウイルス核酸を前記RNPで切断するステップを含む、細胞から外来核酸を除去する方法。