

【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E6遺伝子またはE7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RNA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RNAが、ヒトゲノム内で60%超の一一致を有さない、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、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、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、リポソーム、マイクロバブル、細胞透過性ペプチド、およびリポ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HPVゲノム内のE6遺伝子またはE7遺伝子内の第2の標的部位を切斷するために前記Cas9エンドヌクレアーゼを標的に向かわせる第2のガイドRNA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】**

HPV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】**

HPV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HPV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HPVがHPV-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(RNP)を含む組成物であって、前記RNPが、Cas9ヌクレアーゼ、およびヒトパピローマウイルス(HPV)のウイルス核酸内の標的部位に相補的なガイドRNAを含む、組成物。

**【請求項13】**

RNPを包み込むリポ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、E6またはE7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HPVがHPV-16である、請求項14に記載の組成物。

**【請求項16】**

前記HPVがHPV-18である、請求項14に記載の組成物。

**【請求項17】**

前記Cas9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RNAが、単一ガイドRNA(sgRNA)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RNPをさらに含み、前記第2のRNPは、第2のCas9ヌクレアーゼおよび前記HPV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RNA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RNPを包み込む第2のリポ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vant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、リポソーム内に包まれている、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スクレアーゼ、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よく、標的指向性配列は、ヒトゲノム内で 7 0 % 超の一一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スクレアーゼ、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)**

前記スクレアーゼが Cas 9 エンドスクレアーゼを含み、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 E 6 遺伝子を切断するために前記ス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 E 7 遺伝子を切断するために前記ス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、およびリポ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スクレアーゼおよび HPV ゲノムへと前記ス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スクレアーゼで前記 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ス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ス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の前記標的に向かうことが可能なス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の前記標的に向かうことが可能なス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、およびリポ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 )

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

(項目 17 )

前記スクレアーゼが Cas 9 エンドスクレアーゼを含み、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  
を含むリボ核タンパク質 ( 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 を包み込むリポ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 を包み込むリポソームおよび前記第 2 の R N P を包み込む第 2 のリポ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ポ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。