【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4年5月25日(2022.5.25)

【公開番号】特開2021-192607(P2021-192607A)
【公開日】令和3年12月23日(2021.12.23)
【年通号数】公開・登録公報2021-062
【出願番号】特願2021-123707(P2021-123707)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ 15/09(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 5/10(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 5/078(2010.01)
Ｃ１２Ｎ 5/0789(2010.01)
Ｃ１２Ｎ 5/0783(2010.01)
Ａ６１Ｐ 7/00(2006.01)
Ａ６１Ｋ 35/14(2015.01)
Ａ６１Ｋ 35/28(2015.01)
Ａ６１Ｋ 35/545(2015.01)
Ｃ１２Ｎ 15/31(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/55(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ 15/09 １１０
Ｃ１２Ｎ 5/10 ＺＮＡ
Ｃ１２Ｎ 5/078
Ｃ１２Ｎ 5/0789
Ｃ１２Ｎ 5/0783
Ａ６１Ｐ 7/00
Ａ６１Ｋ 35/14 Ｚ
Ａ６１Ｋ 35/28
Ａ６１Ｋ 35/545
Ｃ１２Ｎ 15/31
Ｃ１２Ｎ 15/55

【手続補正書】
【提出日】令和4年5月16日(2022.5.16)
【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】
血球中のヒト白血球抗原（ＨＬＡ）遺伝子の第１の対立遺伝子によりコードされるタンパク質の細胞表面発現を低減する方法であって、
第１の対立遺伝子特異的ｇＲＮＡ分子およびＣａｓ９分子と血球を接触させるステップ、
ここで前記第１の対立遺伝子特異的ｇＲＮＡ分子が、ＨＬＡ遺伝子中の標的ドメインと相補的である標的化ドメインを含み、前記第１の対立遺伝子特異的ｇＲＮＡ分子および前記Ｃａｓ９分子を、前記ＨＬＡ遺伝子の第１の対立遺伝子と結合させる、
を含み、これにより、前記ＨＬＡ遺伝子の第１の対立遺伝子によりコードされるタンパク質の細胞表面発現を低減する、方法。

【請求項２】
対立遺伝子特異的遺伝子修飾を有する細胞の集団を含む組成物を製造する方法であって、以下：
対立遺伝子特異的ｇＲＮＡ分子およびＣａｓ９分子と血球の集団を接触させるステップ、ここで前記対立遺伝子特異的ｇＲＮＡ分子および前記Ｃａｓ９分子を、同定可能なＨＬＡ遺伝子産物をコードするＨＬＡ遺伝子の単一の対立遺伝子と結合させ、前記対立遺伝子特異的ｇＲＮＡ分子が、前記ＨＬＡ遺伝子中の標的ドメインと相補的である標的化ドメインを含む、ならびに
前記同定可能なＨＬＡ遺伝子産物を発現するが、前記ＨＬＡ遺伝子の第１の対立遺伝子は発現しない細胞を富化するステップ
を含む、方法。
【請求項３】
前記血球が、一次血球、幹細胞または造血幹／前駆細胞（ＨＳＣ）である、請求項１または２に記載の方法。
【請求項４】
前記細胞が、循環血球、動員血球、骨髄細胞、骨髄系前駆細胞、リンパ球系前駆細胞、リンパ球、複能性前駆細胞、系列特異的前駆細胞、内皮細胞、および間葉系間質細胞からなる群から選択される、請求項３に記載の方法。
【請求項５】
前記ＨＬＡ遺伝子が、ＨＬＡ－Ａ、ＨＬＡ－Ｂ、ＨＬＡ－Ｃ、ＨＬＡ－ＤＲＢ１、ＨＬＡ－ＤＲＢ３／４／５、ＨＬＡ－ＤＱ、およびＨＬＡ－ＤＰからなる群から選択される、請求項１～４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６】
前記細胞を、第２のｇＲＮＡ分子と接触させるステップをさらに含み、ここで、前記第２のｇＲＮＡ分子は、表１６に記載される遺伝子を標的化する、請求項１～５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７】
データベーススキーマを用いて、第１の対立遺伝子特異的ｇＲＮＡ分子を選択するステップをさらに含む、請求項１～６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８】
データベーススキーマを用いて、前記第１の対立遺伝子特異的ｇＲＮＡ分子を選択するステップが、以下：
コンピューターシステムのインターフェースを介して、第１の対象の前記内在性免疫原性遺伝子の第１の複数の対立遺伝子の一覧を受信するステップ；
前記コンピューターシステムのインターフェースを介して、第２の対象の前記内在性免疫原性遺伝子の第２の複数の対立遺伝子の一覧を受信するステップ；
前記第１および第２の複数の対立遺伝子の一覧を処理して、前記第１の複数の対立遺伝子と第２の複数の対立遺伝子との間で１つ以上のミスマッチ対立遺伝子を同定するステップ；
１つ以上のｇＲＮＡ分子が、前記第２の複数の対立遺伝子の前記１つ以上のミスマッチ対立遺伝子を編集するのに好適であるか否かを決定するためにデータベースに問い合わせるステップ；
好適であることが判明した前記１つ以上のｇＲＮＡ分子を同定するｇＲＮＡ分子のリストを作成するステップ；
ｇＲＮＡ分子のリストをランク付けするステップ；ならびに
前記ｇＲＮＡ分子のランク付けリストを表示するステップ
を含む、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
前記Ｃａｓ９分子が、
（ａ）酵素的に活性なＣａｓ９（ｅａＣａｓ９）分子、ここで前記ｅａＣａｓ９分子が、

前記内在性免疫原性遺伝子内に一本鎖切断または二本鎖切断を生成する、
（ｂ）野生型Ｃａｓ９、
（ｃ）Ｃａｓ９ニッカーゼ、
（ｄ）不活性型Ｃａｓ９（ｄＣａｓ９）、
（ｅ）分割型Ｃａｓ９、
（ｆ）誘導性Ｃａｓ９
（ｇ）Ｎ末端ＲｕｖＣ様ドメイン切断活性を含むが、ＨＮＨ様ドメイン切断活性は有さないＣａｓ９分子、
（ｈ）ストレプトコッカス・ピオゲネス（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｐｙｏｇｅｎｅｓ）Ｃａｓ９のアミノ酸位置Ｎ８６３に対応するアミノ酸位置にアミノ酸突然変異を含むＣａｓ９分子、
（ｉ）ＨＮＨ様ドメイン切断活性を含むが、Ｎ末端ＲｕｖＣ様ドメイン切断活性を有さないＣａｓ９分子、および
（ｊ）ストレプトコッカス・ピオゲネス（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｐｙｏｇｅｎｅｓ）Ｃａｓ９のアミノ酸位置Ｄ１０に対応するアミノ酸位置にアミノ酸突然変異を含むＣａｓ９分子
からなる群から選択される、請求項１～８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１０】
前記Ｃａｓ９分子が、Ｃａｓ９ポリペプチドである、請求項１～９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１１】
前記Ｃａｓ９ポリペプチドが、スタフィロコッカス・アウレウス（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）Ｃａｓ９ポリペプチドまたはストレプトコッカス・ピオゲネス（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｐｙｏｇｅｎｅｓ）Ｃａｓ９ポリペプチドである、請求項１０に記載の方法。
【請求項１２】
前記ｇＲＮＡ分子と前記Ｃａｓ９ポリペプチドが、事前に形成されたリボヌクレオチド複合体中で結合されている、請求項１０～１１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１３】
前記細胞をテンプレート核酸と接触させるステップをさらに含む、請求項１～１２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１４】
前記テンプレート核酸が、一本鎖オリゴデオキシヌクレオチド（ｓｓＯＤＮ）である、請求項１３に記載の方法。
【請求項１５】
前記細胞をトランスジーンと接触させるステップをさらに含み、ここで、前記接触ステップを、前記トランスジーンが、前記細胞の前記ゲノム、または前記細胞の集団の細胞に組み込まれることを可能にする条件下で行う、請求項１～１４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１６】
（ａ）前記トランスジーンが、免疫同一ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）をコードする遺伝子、化学療法選択マーカー、細胞表面抗原、または自殺遺伝子であるか、
（ｂ）前記トランスジーンが、ＨＬＡ遺伝子またはその断片であるか、あるいは
（ｃ）前記トランスジーンが、ＨＬＡ－Ａ、ＨＬＡ－Ｂ、ＨＬＡ－Ｃ、ＨＬＡ－ＤＲＢ１、ＨＬＡ－ＤＲＢ３／４／５、ＨＬＡ－ＤＱ、およびＨＬＡ－ＤＰからなる群から選択されるＨＬＡ遺伝子またはその断片である、請求項１４に記載の方法。
【請求項１７】
血球中の集団中のＨＬＡ遺伝子の第１の対立遺伝子によりコードされるタンパク質の細胞表面発現を低減するステップを含む、請求項１に記載の方法。
【請求項１８】

対立遺伝子特異的抗体を用いて、前記細胞の集団を選別することにより、ＨＬＡ遺伝子の特定の対立遺伝子を発現する細胞を選択するステップをさらに含む、請求項１７に記載の方法。

【請求項１９】

請求項１～１８のいずれか１項に記載の方法により改変される細胞または細胞の集団。

【請求項２０】

請求項１９に記載の細胞または細胞の集団を含む医薬組成物。

【請求項２１】

対象の疾患の治療または予防に使用するための、請求項１９に記載の細胞または細胞の集団あるいは請求項２０記載の医薬組成物。

【請求項２２】

ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）遺伝子の第１の対立遺伝子に修飾を含む血球または血球の集団であって、前記血球が、第１の対立遺伝子特異的修飾ｇＲＮＡ分子およびＣａｓ９分子と接触している血球または血球の集団。