

【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】平成 29 年 3 月 16 日 (2017.3.16)

【公開番号】特開 2016-165307 (P2016-165307A)

【公開日】平成 28 年 9 月 15 日 (2016.9.15)

【年通号数】公開・登録公報 2016-055

【出願番号】特願 2016-117740 (P2016-117740)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 0 1 K 67/027 (2006.01)

A 0 1 H 1/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 0 1 K 67/027

A 0 1 H 1/00 A

【誤訳訂正書】

【提出日】平成 29 年 2 月 8 日 (2017.2.8)

【誤訳訂正 1】

【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】

エンジニアリングされた、天然に存在しないクラスター化等間隔短鎖回分リピート (C R I S P R) - C R I S P R 関連 (C a s) (C R I S P R - C a s) ベクター系であって、

a) ガイド配列、t r a c r R N A 及び t r a c r メイト配列を含む C R I S P R - C a s 系ポリ - ヌクレオチド配列をコードするヌクレオチド配列に作動可能に結合している第 1 の調節エレメントであって、前記ガイド配列が、真核細胞中のポリヌクレオチド遺伝子座中の 1 つ以上の標的配列にハイブリダイズする、第 1 の調節エレメント、

b) I I 型 C a s 9 タンパク質をコードするヌクレオチド配列に作動可能に結合している第 2 の調節エレメント、

c) 組換えテンプレート

を含む 1 つ以上のベクターを含み、

成分 (a)、(b) 及び (c) が、前記系の同じ又は異なるベクター上に位置し、前記系が、前記 C a s 9 タンパク質をコードする前記ヌクレオチド配列とともに発現される 1 つ以上の核局在化シグナル (複数の場合もあり) (N L S (複数の場合もあり)) をさらに含み、

それによって、前記ガイド配列が、真核細胞中の前記 1 つ以上のポリヌクレオチド遺伝子座を標的とし、前記 C a s 9 タンパク質が、前記 1 つ以上のポリヌクレオチド遺伝子座を開裂し、それによって、前記 1 つ以上のポリヌクレオチド遺伝子座の配列が、改変される、

C R I S P R - C a s ベクター系。

【請求項 2】

前記 C a s 9 タンパク質が、対応する野生型 C a s 9 タンパク質と比較して突然変異し、その結果、前記突然変異タンパク質が、標的ポリヌクレオチドの 1 つの鎖を開裂する能力を欠くニッカーゼであり、

それによって、前記ガイド配列が、真核細胞中の前記１つ以上のポリヌクレオチド遺伝子座を標的とし、前記 Cas9 タンパク質が、前記ポリヌクレオチド遺伝子座の１つの鎖のみを開裂し、それによって、前記１つ以上のポリヌクレオチド遺伝子座の配列が、改変される、

請求項１に記載のエンジニアリングされた、天然に存在しない II 型 CRISPR - Cas ベクター系。

【請求項３】

前記 Cas9 タンパク質が、RuvC I、RuvC II 又は RuvC III 触媒ドメイン中に１つ以上の突然変異を含む、請求項２に記載の系。

【請求項４】

前記 Cas9 タンパク質が、化膿性連鎖球菌 (Streptococcus pyogenes) Cas9 (SpCas9) タンパク質の位置ナンバリングに対して、D10A、H840A、N854A 及び N863A からなる群から選択される突然変異を含む、請求項２に記載の系。

【請求項５】

前記組換えテンプレート (c) が、成分 (a) 及び (b) とは別個のベクター中に含有される、請求項１～４のいずれか一項に記載の系。

【請求項６】

前記組換えテンプレート (c) が、成分 (a) 及び / 又は (b) を含むベクターの成分である、請求項１～４のいずれか一項に記載の系。

【請求項７】

成分 (a) 及び (b) が、同じベクターの成分である、請求項１～６のいずれか一項に記載の系。

【請求項８】

前記組換えテンプレートが、前記標的配列を含むポリヌクレオチドの一部に相補的である、請求項１～７のいずれか一項に記載の系。

【請求項９】

前記 CRISPR - Cas 系が、前記 Cas9 タンパク質をコードする前記ヌクレオチド配列とともに発現される２つ以上の核局在化シグナルを含む、請求項１～８のいずれか一項に記載の系。

【請求項１０】

少なくとも１つの NLS が、前記 Cas9 タンパク質のアミノ末端に若しくはその付近に存在し、及び / 又は、少なくとも１つの NLS が、前記 Cas9 タンパク質のカルボキシ末端に若しくはその付近に存在する、請求項９に記載の系。

【請求項１１】

少なくとも１つの NLS が、前記 Cas9 のアミノ末端に若しくはその付近に存在し、少なくとも１つの NLS が、前記 Cas9 タンパク質のカルボキシ末端に若しくはその付近に存在する、請求項１０に記載の系。

【請求項１２】

前記ベクターが、ウイルスベクターである、請求項１～１１のいずれか一項に記載の系。

【請求項１３】

前記ウイルスベクターが、レトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴又は単純ヘルペスウイルスベクターである、請求項１２に記載の系。

【請求項１４】

前記 CRISPR - Cas 系ポリヌクレオチド配列が、トランス活性化 cr (tracr) 配列に融合したガイド配列を含む、請求項１～１３のいずれか一項に記載の系。

【請求項１５】

前記 CRISPR - Cas 系ポリヌクレオチド配列が、前記ガイド配列、前記 tracr 配列及び tracr メイト配列を含むキメラ RNA である、請求項１～１４のいずれか一項に記載の系。

【請求項 16】

前記真核細胞が、哺乳動物細胞又はヒト細胞である、請求項 1 ～ 15 のいずれか一項に記載の系。

【請求項 17】

前記 Cas9 タンパク質が、真核細胞中の発現のためにコドン最適化されている、請求項 1 ～ 16 のいずれか一項に記載の系。

【請求項 18】

前記系が、ゲノムエンジニアリングのためのものである、請求項 1 ～ 17 のいずれか一項に記載の系。

【請求項 19】

ゲノムエンジニアリングのための請求項 1 ～ 18 のいずれか一項に記載の系の使用であって、前記使用は、人間の生殖系列の遺伝的同一性を改変するためのプロセスを含まず、前記使用は、人体における疾患の治療又は予防のための方法ではなく、前記使用は、前記系を人体に投与する工程を含まない、使用。

【請求項 20】

非ヒトトランスジェニック動物又はトランスジェニック植物の製造における、請求項 1 ～ 18 のいずれか一項に記載の系の使用。

【請求項 21】

遺伝子療法又はゲノム編集における使用のための、請求項 1 ～ 18 のいずれか一項に記載の系。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0077

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0077】

一部の実施形態において、組換えテンプレートも提供される。組換えテンプレートは、本明細書に記載の別のベクターの成分であってもよく、別個のベクター中に含有されてもよく、または別個のポリヌクレオチドとして提供されてもよい。一部の実施形態において、組換えテンプレートは、例えば、CRISPR 複合体の一部としての CRISPR 酵素によりニック形成または開裂される標的配列内またはその付近での相同組換えにおけるテンプレートとして機能するように設計される。テンプレートポリヌクレオチドは、任意の好適な長さ、例えば、約または約 10、15、20、25、50、75、100、150、200、500、1000、またはそれよりも大きい数を超えるヌクレオチド長であり得る。一部の実施形態において、テンプレートポリヌクレオチドは、標的配列を含むポリヌクレオチドの一部に相補的である。最適にアラインされた場合、テンプレートポリヌクレオチドは、標的配列の 1 つ以上のヌクレオチド（例えば、約または約 1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、またはそれよりも多い数を超えるヌクレオチド）と重複し得る。一部の実施形態において、テンプレート配列および標的配列を含むポリヌクレオチドが最適にアラインされた場合、テンプレートポリヌクレオチドの最近傍ヌクレオチドは、標的配列から約 1、5、10、15、20、25、50、75、100、200、300、400、500、1000、5000、10000、またはそれよりも多いヌクレオチド内に存在する。