

【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 1 年 6 月 13 日 (2019.6.13)

【公表番号】特表 2018-520648 (P2018-520648A)

【公表日】平成 30 年 8 月 2 日 (2018.8.2)

【年通号数】公開・登録公報 2018-029

【出願番号】特願 2017-559075 (P2017-559075)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 K 35/761 (2015.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/864 (2006.01)

A 6 1 K 38/50 (2006.01)

A 6 1 K 38/02 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 1 0

A 6 1 K 48/00 Z N A

A 6 1 K 35/76

A 6 1 K 35/761

A 6 1 P 43/00 1 0 5

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

A 6 1 K 38/50

A 6 1 K 38/02

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 5 月 10 日 (2019.5.10)

【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】

細胞中の少なくとも 1 つの標的遺伝子を編集するためのシステムであって、

(a) 1 つ以上の CRISPR ガイド RNA をコードする第 1 の核酸配列または (b) 1 つ以上の CRISPR ガイド RNA をコードする複数の核酸配列のセットを含む 1 つ以上のベクター；

Cas9 タンパク質、または該 Cas9 タンパク質をコードする第 2 の核酸；

第 1 のアデノウイルスタンパク質をコードする第 3 の核酸；および

第 2 のアデノウイルスタンパク質をコードする第 4 の核酸

を含み、

前記 1 つ以上の CRISPR ガイド RNA が、細胞中の少なくとも 1 つの標的遺伝子に相補的であること、ならびに

第 2 のアデノウイルスタンパク質が、E1B55K の H373A 変異体 (配列番号 2)、E1B55K の H354 変異体 (配列番号 4) および E1B55K の R240A 変異体 (配列番号 22) のいずれかであってもよいこと

を特徴とするシステム。

【請求項 2】

前記細胞が、真核細胞；哺乳動物細胞；ヒト細胞；初代細胞；および／または非形質転換細胞である、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 3】

前記細胞が、初代リンパ球、CD34⁺幹細胞、肝細胞、心筋細胞、神経細胞、グリア細胞、筋細胞および腸細胞から選択される、請求項 1 または 2 に記載のシステム。

【請求項 4】

前記ベクターがウイルスベクターであり、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターであってもよい、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 5】

前記ベクターが、自己相補型ベクター、一本鎖ベクターまたはこれらの組み合わせである、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 6】

（i）前記Cas9タンパク質をコードする第 2 の核酸がmRNAであり、かつ／もしくは哺乳動物細胞における発現のためにコドン最適化された核酸であるか、

（ii）第 1 のアデノウイルスタンパク質をコードする第 3 の核酸がmRNAであり、かつ／もしくは哺乳動物細胞における発現のためにコドン最適化された核酸であるか、かつ／または

（iii）第 2 のアデノウイルスタンパク質をコードする第 4 の核酸がmRNAであり、かつ／もしくは哺乳動物細胞における発現のためにコドン最適化された核酸である、
請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 7】

前記Cas9タンパク質が、化膿レンサ球菌（S. pyogenes）由来のCas9タンパク質を含む、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 8】

第 1 のアデノウイルスタンパク質が血清型 5 型のAAVに由来するものであるか、または第 2 のアデノウイルスタンパク質が血清型 5 型のAAVに由来するものである、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 9】

第 1 のアデノウイルスタンパク質が野生型のE4ORF6であり、該第 1 のアデノウイルスタンパク質の配列が、配列番号 3 で示される野生型E4ORF6の配列を含んでいてもよい、または

第 1 のアデノウイルスタンパク質が変異型のE4ORF6であり、該変異型のE4ORF6タンパク質が、配列番号 2 3 で示される配列を有するAXA変異体であってもよい、
請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 10】

第 2 のアデノウイルスタンパク質が血清型 5 型のAAVに由来するものである、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 11】

第 2 のアデノウイルスタンパク質が野生型のE1B55Kであり、該第 2 のアデノウイルスタンパク質の配列が、配列番号 1 で示される野生型E1B55Kの配列を含んでいてもよい、または

第 2 のアデノウイルスタンパク質が変異型のE1B55Kであり、該変異型のE1B55Kが、（i）配列番号 2 で示される配列を有するH373A変異体；（ii）配列番号 4 で示される配列を有するH354変異体；および（iii）配列番号 2 2 で示される配列を有するR240A変異体のいずれかであってもよい、

請求項 1 ～ 7 および 10 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 12】

第 1 の核酸配列、第 2 の核酸配列、第 3 の核酸配列および第 4 の核酸配列が、哺乳動物細胞において作動可能な調節エレメントに作動可能に連結されている、請求項 1 ～ 11 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 1 3】

前記 1 つ以上のCRISPRガイドRNAがそれぞれ別の調節エレメントに作動可能に連結されている、請求項 1 ～ 1 2 のいずれかに記載のシステム。

【請求項 1 4】

前記CRISPRガイドRNAをコードする第 1 の核酸配列が構成的に発現される、請求項 1 ～ 1 3 のいずれかに記載のシステム。

【請求項 1 5】

前記 1 つ以上のCRISPRガイドRNAが、配列番号 5、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、配列番号 2 0 および / または配列番号 2 1 の配列を含む、請求項 1 ～ 1 3 のいずれか 1 項に記載のシステム。

【請求項 1 6】

遺伝子ノックアウト、遺伝子ノックイン、またはこれらの両方に使用することができる、請求項 1 ～ 1 5 のいずれかに記載のシステム。

【請求項 1 7】

細胞中の少なくとも 1 つの標的遺伝子を編集する方法であって、
請求項 1 ～ 1 6 のいずれか 1 項に記載のシステムの各コンポーネントを前記細胞に導入することを含む方法。