

【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）ベクターであつてもよい、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E40RF6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E40RF6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E40RF6であり、該変異型のE40RF6タンパク質
が、配列番号23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22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。