

【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 6 年 10 月 4 日(2024.10.4)

【公開番号】特開 2024-1075(P2024-1075A)

【公開日】令和 6 年 1 月 9 日(2024.1.9)

【年通号数】公開公報(特許)2024-003

【出願番号】特願 2023-165873(P2023-165873)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/55(2006.01)

10

C 1 2 N 9/22(2006.01)

C 1 2 N 15/31(2006.01)

C 1 2 N 15/63(2006.01)

C 1 2 N 15/09(2006.01)

C 0 7 K 14/315(2006.01)

C 0 7 K 19/00(2006.01)

C 0 7 K 14/47(2006.01)

C 1 2 N 1/15(2006.01)

C 1 2 N 1/19(2006.01)

C 1 2 N 1/21(2006.01)

20

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 15/62(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/55 Z N A

C 1 2 N 9/22

C 1 2 N 15/31

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 15/63 1 0 0

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 0 7 K 14/315

30

C 0 7 K 19/00

C 0 7 K 14/47

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 15/09 Z

C 1 2 N 15/62 Z

【手続補正書】

40

【提出日】令和 6 年 9 月 20 日(2024.9.20)

【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】

細胞を改変する方法であって、

前記方法は、前記細胞に、

50

(i)ヌクレアーゼ活性を有するポリペプチドであって、配列番号 1 3 に対して少なくとも 9 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含み、配列番号 1 3 の以下の位置：D 2 3、T 6 7、Y 1 2 8、および D 1 2 5 1 のうち 2 つ以上におけるアミノ酸置換を有する、ポリペプチド；および、

(i i)ガイド核酸

を投与するステップを含む、
方法。

【請求項 2】

請求項 1 の方法であって、
前記ガイド核酸がガイド RNA である、
方法。

10

【請求項 3】

請求項 1 の方法であって、
前記細胞が標的 (t a r g e t) 配列および非標的 (o f f - t a r g e t) 配列を含み、前記ポリペプチドによる前記非標的配列のオフターゲット編集率が、配列番号 1 3 を含む対照ポリペプチドを用いる場合に観察される前記非標的配列の前記オフターゲット編集率よりも低い、
方法。

【請求項 4】

請求項 3 の方法であって、
前記ポリペプチドによる前記オフターゲット編集率が、前記対照ポリペプチドのオフターゲット編集率よりも約 5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、6 0 %、7 0 %、または 8 0 % 低い、
方法。

20

【請求項 5】

請求項 3 の方法であって、
前記オフターゲット編集率は、前記非標的配列におけるインデルのレベルを評価することによって測定される、
方法。

【請求項 6】

請求項 1 の方法であって、
前記細胞は、前記ポリペプチドおよび前記ガイド核酸を含むリボ核タンパク質 (R N P) 複合体を用いて改変される、
方法。

30

【請求項 7】

請求項 1 の方法であって、
前記ポリペプチドは、配列番号 1 3 に対して少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、
方法。

【請求項 8】

請求項 1 の方法であって、
前記ポリペプチドは、配列番号 1 3 に対して少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、
方法。

40

【請求項 9】

請求項 1 の方法であって、
前記ポリペプチドは、配列番号 1 3 の以下の位置：D 2 3、T 6 7、Y 1 2 8、および D 1 2 5 1 のうち 3 つ以上におけるアミノ酸置換を有する、
方法。

【請求項 1 0】

50

請求項 1 の方法であって、

前記ポリペプチドは、配列番号 1 3 の以下の位置：D 2 3、T 6 7、Y 1 2 8、および D 1 2 5 1 の 4 つ全てにおけるアミノ酸置換を有する、方法。

【請求項 1 1】

請求項 1 の方法であって、

前記ポリペプチドは、配列番号 1 3 に対する以下のアミノ酸置換：D 2 3 A、T 6 7 L、Y 1 2 8 V、および、D 1 2 5 1 G、のうち 2 つ以上を有する、方法。

【請求項 1 2】

請求項 1 の方法であって、

前記ポリペプチドは、配列番号 1 3 に対する以下のアミノ酸置換：D 2 3 A、T 6 7 L、Y 1 2 8 V、および、D 1 2 5 1 G、のうち 3 つ以上を有する、方法。

【請求項 1 3】

請求項 1 の方法であって、

前記ポリペプチドは、配列番号 1 3 に対する以下の 4 つのアミノ酸置換：D 2 3 A、T 6 7 L、Y 1 2 8 V、および、D 1 2 5 1 G、を有する、方法。

【請求項 1 4】

二本鎖 DNA (dsDNA) 分子の集団を編集する方法であって、

前記方法は、前記 dsDNA 分子を、

(i) 配列番号 1 3 に対して少なくとも 90 % の同一性を有するアミノ酸配列を含み、配列番号 1 3 の以下の位置：D 2 3、T 6 7、Y 1 2 8、および D 1 2 5 1 のうち 2 つ以上におけるアミノ酸置換を有する、ポリペプチド；および、

(ii) 前記 dsDNA 分子の標的配列に相補的な領域を含むガイド核酸と接触させるステップを含み、それにより複数の前記 dsDNA 分子が編集される、方法。

【請求項 1 5】

請求項 1 4 の方法であって、

前記ポリペプチドによる非標的配列のオフターゲット編集率が、配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含むポリペプチドを用いる場合に観察される前記非標的配列のオフターゲット編集率よりも低い、方法。

【請求項 1 6】

請求項 1 5 の方法であって、

前記ポリペプチドによる前記オフターゲット編集率が、配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含むポリペプチドの前記オフターゲット編集率よりも、約 5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、または 80 % 低い、方法。

【請求項 1 7】

請求項 1 5 の方法であって、

前記オフターゲット編集率は、前記非標的配列におけるインデルのレベルを評価することによって測定される、方法。

【請求項 1 8】

請求項 1 4 の方法であって、

前記 dsDNA 分子を、前記ポリペプチドとガイド核酸とを含む RNP 複合体と接触させるステップを含む、方法。

10

20

30

40

50

【請求項 19】

請求項 18 の方法であって、
前記 dsDNA 分子を前記 RNP 複合体と接触させるステップを含み、
前記 RNP 複合体は $1 \times 10^{-4} \mu\text{M} \sim 1 \mu\text{M}$ RNP の用量である、
方法。

10

20

30

40

50