

【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30年11月22日(2018.11.22)

【公開番号】特開2018-82709(P2018-82709A)

【公開日】平成30年5月31日(2018.5.31)

【年通号数】公開・登録公報2018-020

【出願番号】特願2017-249186(P2017-249186)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/47

C 1 2 N 9/16 A

C 1 2 N 5/10

【手続補正書】

【提出日】平成30年10月12日(2018.10.12)

【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】

(a) 真核細胞において目的の遺伝子座を標的化するCRISPR-Cas系ガイドRNA；

(b) ヘテロダイマー対の第一の成員またはヘテロダイマー対の第一の成員の機能的断片に連結されたCas9タンパク質であって、CRISPR-Cas系ガイドRNAが、Cas9タンパク質と複合体を形成し、真核細胞における目的の遺伝子座に特異的に標的化するDNA結合ポリペプチドを形成する、Cas9タンパク質；および

(c) ヘテロダイマー対の第二の成員またはヘテロダイマー対の第二の成員の機能的断片に連結されたエフェクタードメイン

を含む、天然に存在しないCRISPR-Cas系であって、前記ヘテロダイマー対の二量化が、インデューサーエネルギー供給源への曝露によって生じる、系。

【請求項2】

天然に存在しないCRISPR-Cas系をin vitroで制御する方法であって、

(i) CRISPR-Cas系を提供する工程であって、前記CRISPR-Cas系が、

(a) 真核細胞において目的の遺伝子座を標的化するCRISPR-Cas系ガイドRNA；

(b) ヘテロダイマー対の第一の成員またはヘテロダイマー対の第一の成員の機能的断片に連結されたCas9タンパク質であって、CRISPR-Cas系ガイドRNAが、Cas9タンパク質と複合体を形成し、真核細胞における目的の遺伝子座に特異的に標的化するDNA結合ポリペプチドを形成する、Cas9タンパク質；および

(c) ヘテロダイマー対の第二の成員またはヘテロダイマー対の第二の成員の機能的断片に連結されたエフェクタードメイン

を含むベクター系を含み、

前記ヘテロダイマー対の二量化が、インデューサーエネルギー供給源への曝露によって生じる、工程；ならびに

(ii)系を制御するために、前記インデューサーエネルギー供給源を導入または除去する工程

を含む、方法。

【請求項3】

前記Cas9タンパク質が、II型Cas9タンパク質である、請求項1に記載の系または請求項2に記載の方法。

【請求項4】

前記目的の遺伝子座を標的化するCRISPR-Cas系ガイドRNAをコードする配列が、  
(a)真核細胞において標的配列にハイブリダイズすることが可能なガイド配列；  
(b)トラクルメイト配列；および  
(c)トラクル配列

を含む、請求項1から3のいずれか一項に記載の系または方法。

【請求項5】

前記Cas9タンパク質をコードする配列が、少なくとも1つまたは複数の核局在化配列をさらに含む、請求項1から4のいずれか一項に記載の系または方法。

【請求項6】

前記Cas9タンパク質が、核酸分解的に不活性な、RNAによってガイドされるDNA結合タンパク質へと変換される、請求項1から5のいずれか一項に記載の系または方法。

【請求項7】

前記CRISPR-Cas系が、少なくとも1つの核局在化シグナル(NLS)、核外輸送シグナル(NES)またはその変異形態をさらに含む、請求項1から6のいずれか一項に記載の系または方法。

【請求項8】

前記NLSまたはNESうち1つまたは複数が、条件的に活性化または不活性化されている、請求項7に記載の系または方法。

【請求項9】

前記インデューサーエネルギー供給源が、電磁気エネルギーである、請求項1から8のいずれか一項に記載の系または方法。

【請求項10】

前記電磁気エネルギーが可視光の成分である、請求項9に記載の系または方法。

【請求項11】

可視光の前記成分が、450nm～700nmの範囲の波長を有する、請求項10に記載の系または方法。

【請求項12】

可視光の前記成分が、450nm～500nmの範囲の波長を有する、請求項11に記載の系または方法。

【請求項13】

可視光の前記成分が青色光である、請求項10に記載の系または方法。

【請求項14】

前記可視光が、少なくとも0.2mW/cm<sup>2</sup>の強度を有する、請求項10に記載の系または方法。

【請求項15】

前記可視光が、少なくとも4mW/cm<sup>2</sup>の強度を有する、請求項10に記載の系または方法。

【請求項16】

可視光の前記成分が、620～700nmの範囲の波長を有する、請求項10に記載の系または方法。

【請求項17】

可視光の前記成分が赤色光である、請求項16に記載の系または方法。

【請求項18】

前記エフェクタードメインが、以下:トランスボザーゼドメイン、インテグラーゼドメ

イン、リコンビナーゼドメイン、リゾルバーゼドメイン、インベルターゼドメイン、プロテアーゼドメイン、DNAメチルトランスフェラーゼドメイン、DNAヒドロキシメチラーゼドメイン、DNAデメチラーゼドメイン、ヒストンアセチラーゼドメイン、ヒストンデアセチラーゼドメイン、ヌクレアーゼドメイン、リプレッサードメイン、アクチベータードメイン、核局在化シグナルドメイン、転写-調節タンパク質(または転写複合体リクルート)ドメイン、細胞取り込み活性関連ドメイン、核酸結合ドメイン、抗体提示ドメイン、ヒストン修飾酵素、ヒストン修飾酵素のリクルーター;ヒストン修飾酵素のインヒビター、ヒストンメチルトランスフェラーゼ、ヒストンデメチラーゼ、ヒストンキナーゼ、ヒストンホスファターゼ、ヒストンリボシラーゼ、ヒストンデリボシラーゼ、ヒストンユビキチナーゼ、ヒストンデユビキチナーゼ、ヒストンビオチナーゼおよびヒストンテイルプロテアーゼからなる群から選択される、請求項1から17のいずれか一項に記載の系または方法。

【請求項 19】

目的のゲノム遺伝子座またはエピゲノム遺伝子座を攪乱するために使用される、請求項1および3から18のいずれか一項に記載の系。

【請求項 20】

医薬組成物の調製のために使用される、請求項1および3から18のいずれか一項に記載の系。

【請求項 21】

前記系が、AAVまたはレンチウイルスベクター中にパッケージングされている、請求項1から20のいずれか一項に記載の系または方法。

【請求項 22】

医薬の調製のための、請求項1および3から21のいずれか一項に記載の系。