

【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11月28日(2019.11.28)

【公表番号】特表2018-531013(P2018-531013A)

【公表日】平成30年10月25日(2018.10.25)

【年通号数】公開・登録公報2018-041

【出願番号】特願2018-518522(P2018-518522)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/52 (2006.01)

C 1 2 N 15/55 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 15/83 (2006.01)

C 1 2 N 15/70 (2006.01)

C 1 2 N 15/74 (2006.01)

C 1 2 N 15/81 (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)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 0 1 K 67/027 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 15/52 Z N A Z

C 1 2 N 15/55

C 1 2 N 15/09 1 0 0

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 15/83 Z

C 1 2 N 15/70 Z

C 1 2 N 15/74 Z

C 1 2 N 15/81 Z

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

A 0 1 K 67/027

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 P 43/00 1 0 5

【手続補正書】

【提出日】令和1年10月15日(2019.10.15)

【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) 調節タンパク質をコードする核酸に作動可能に連結されているプロモーターと；
(b) 核酸を切断する酵素をコードする核酸、核酸にニックを入れる酵素をコードする核酸、又は核酸の交換を触媒する酵素をコードする核酸に作動可能に連結されている誘導性プロモーターであって、前記誘導性プロモーターの活性が前記調節タンパク質によってモジュレートされる、誘導性プロモーターと；
(c) (a)の下流及び(b)の上流に配置された少なくとも2つのインシュレーターと；
(d) (b)の下流及び(a)の上流に配置された少なくとも1つのインシュレーターと；
(e) (b)の下流及び(a)の上流に配置された少なくとも1つのデオキシリボ核酸(DNA)結合ドメイン認識配列とを含む、操作された核酸構築物。

【請求項2】

少なくとも2つのDNA結合ドメイン認識配列を含む、請求項1に記載の操作された核酸構築物。

【請求項3】

DNA結合ドメイン認識配列の少なくとも1つがヒトゲノムのAAVS1遺伝子座のヌクレオチド配列又はマウスゲノムのRos26遺伝子座のヌクレオチド配列に対応する、請求項2に記載の操作された核酸構築物。

【請求項4】

少なくとも1つのDNA結合ドメイン認識配列が(a)の上流で隣接して配置され、少なくとも1つのDNA結合ドメイン認識配列が(b)の下流で隣接して配置されている、請求項2に記載の操作された核酸構築物。

【請求項5】

選択可能なマーカータンパク質をコードする核酸に作動可能に連結されているプロモーターをさらに含む、請求項1～4のいずれか一項に記載の操作された核酸構築物。

【請求項6】

前記酵素がCas9ヌクレアーゼ、触媒的に不活性なCas9ヌクレアーゼ、又はCpf1ヌクレアーゼである、請求項1に記載の操作された核酸構築物。

【請求項7】

ガイドRNAをコードする核酸をさらに含む、請求項6に記載の操作された核酸構築物。

【請求項8】

請求項1～7のいずれか一項に記載の操作された核酸構築物を含むベクター。

【請求項9】

(a) 核局在化シグナルを含まないCas9ヌクレアーゼをコードする核酸に作動可能に連結されているプロモーターであって、前記ヌクレアーゼをコードする前記核酸がエストロゲン受容体(ERT2)配列に隣接されている、プロモーターと；
(b) デオキシリボ核酸(DNA)結合ヌクレアーゼ認識配列とを含む、操作された核酸。

【請求項10】

(a) 核局在化シグナルを含まないCas9ヌクレアーゼをコードする核酸に作動可能に連結されているプロモーターであって、前記ヌクレアーゼをコードする前記核酸がエストロゲン受容体(ERT2)配列に隣接されている、プロモーターと；
(b) デオキシリボ核酸(DNA)結合ヌクレアーゼ認識配列とを含む、操作された核酸構築物を細胞に導入するステップと；
前記細胞のゲノム領域を標的とするガイドRNA(gRNA)をコードする核酸に作動

可能に連結されているプロモーターを含む、操作された核酸を前記細胞に導入するステップと；

前記細胞ゲノムの改変をもたらす条件下で、タモキシフェンの存在下において前記細胞をインキュベートするステップと

を含む、細胞ゲノムを改変するための、操作された核酸構築物の使用。

【請求項 1 1】

配列番号 8 又は 1 2 ~ 2 0 のいずれか 1 つの配列を含む、操作された核酸構築物。

【請求項 1 2】

請求項 1 1 に記載の操作された核酸構築物を、ゲノムを含む、トランスジェニックマウス。

【請求項 1 3】

前記操作された核酸構築物が前記マウスゲノムのR o s a 2 6 遺伝子座に組み込まれている、請求項 1 2 に記載のトランスジェニックマウス。

【請求項 1 4】

免疫応答性である、請求項 1 2 又は 1 3 に記載のトランスジェニックマウス。