

【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27年7月16日(2015.7.16)

【公表番号】特表2014-523748(P2014-523748A)

【公表日】平成26年9月18日(2014.9.18)

【年通号数】公開・登録公報2014-050

【出願番号】特願2014-522973(P2014-522973)

【国際特許分類】

| | | |
|---------|--------|-----------|
| C 1 2 N | 15/09 | (2006.01) |
| C 1 2 N | 9/16 | (2006.01) |
| C 1 2 N | 9/22 | (2006.01) |
| A 0 1 K | 67/027 | (2006.01) |
| A 6 1 K | 35/12 | (2015.01) |
| A 6 1 P | 11/00 | (2006.01) |

【F I】

| | | |
|---------|--------|---------|
| C 1 2 N | 15/00 | Z N A A |
| C 1 2 N | 9/16 | A |
| C 1 2 N | 9/22 | |
| A 0 1 K | 67/027 | |
| A 6 1 K | 35/12 | |
| A 6 1 P | 11/00 | |

【手続補正書】

【提出日】平成27年5月29日(2015.5.29)

【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】

操作されたZnフィンガータンパク質DNA結合ドメインを含むタンパク質であって、前記DNA結合ドメインが、N末端からC末端に向かってF1からF4、F1からF5またはF1からF6と配列された4、5または6つのZnフィンガー認識領域を含み、前記F1からF4、F1からF5またはF1からF6が表1の単一列に示される配列を含む、上記タンパク質。

【請求項2】

請求項1に記載のタンパク質および野生型のまたは操作された切断ドメインまたは切断ハーフドメインを含む融合タンパク質。

【請求項3】

請求項1または請求項2に記載のタンパク質をコードするポリヌクレオチド。

【請求項4】

請求項1もしくは2に記載のタンパク質または請求項3に記載のポリヌクレオチドを含む単離細胞。

【請求項5】

前記細胞が胚性幹細胞(ESc)、造血幹細胞、神経幹細胞、皮膚幹細胞、筋幹細胞、肺幹細胞、誘導多能性幹細胞(iPSC)および線維芽細胞からなる群から選択される、請求項4に記載の細胞。

【請求項6】

細胞における囊胞性線維症膜コンダクタンス制御因子（C F T R）遺伝子を改変するための組成物であって、

C F T Rを切斷する一つまたは複数の請求項2に記載の融合タンパク質を含む上記組成物。

【請求項7】

前記改変が、挿入、欠失、置換およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項6に記載の組成物。

【請求項8】

C F T R遺伝子に導入される外来性配列をさらに含む、請求項6または請求項7に記載の組成物。

【請求項9】

前記改変がC F T R遺伝子における変異を修復する、請求項6～8のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項10】

前記変異がF 508、I 507およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項9に記載の組成物。

【請求項11】

囊胞性線維症（C F）の研究用モデル系を作製するための、細胞を改変する請求項6～10のいずれかに記載の組成物。

【請求項12】

前記モデル系が細胞株または非ヒト動物を含む、請求項11に記載の組成物。

【請求項13】

対象においてC Fを治療するための、請求項9または10に記載の組成物であって、前記組成物が、前記対象の一つまたは複数の細胞におけるC F T R遺伝子を改変することを特徴とする、上記組成物。

【請求項14】

前記細胞がインビトロで改変され、前記細胞が前記対象に投与されることを特徴とする、請求項13に記載の組成物。

【請求項15】

請求項1に記載のタンパク質、請求項2に記載の融合タンパク質、または請求項3に記載のポリヌクレオチドを含むキット。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0034

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0034】

これらの態様および他の態様は、下記の実施形態を含む全体としての本開示を考慮することにより、当業者には容易に明らかになるであろう。

1.

操作されたZ n フィンガータンパク質D N A結合ドメインを含むタンパク質であって、前記D N A結合ドメインが、N末端からC末端に向かってF 1からF 4、F 1からF 5またはF 1からF 6と配列された4、5または6つのZ n フィンガー認識領域を含み、前記F 1からF 4、F 1からF 5またはF 1からF 6が表1の単一列に示される配列を含む、上記タンパク質。

2.

実施形態1に記載のタンパク質および野生型のまたは操作された切断ドメインまたは切断ハーフドメインを含む融合タンパク質。

3.

実施形態 1 または 2 に記載のタンパク質をコードするポリヌクレオチド。

4.

実施形態 1 もしくは 2 に記載のタンパク質または実施形態 3 に記載のポリヌクレオチドを含む単離細胞。

5.

前記細胞が胚性幹細胞 (E S C) 、造血幹細胞、神経幹細胞、皮膚幹細胞、筋幹細胞、肺幹細胞、誘導多能性幹細胞 (i P S C) および線維芽細胞からなる群から選択される、実施形態 4 に記載の細胞。

6.

細胞における囊胞性線維症膜コンダクタンス制御因子 (C F T R) 遺伝子または肺サーファクタントタンパク質 B (S P - B) 遺伝子を改変する方法であって、 C F T R または S P - B に標的化された一つまたは複数の融合タンパク質を用いて C F T R または S P - B 遺伝子を切断することを含み、該融合タンパク質が実施形態 2 に記載の融合タンパク質および S P - B に標的化されたヌクレアーゼからなる群から選択される、上記方法。

7.

前記改変が、挿入、欠失、置換およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、実施形態 6 に記載の方法。

8.

C F T R または S P - B 遺伝子に外来性配列を導入することをさらに含む、実施形態 6 または 7 に記載の方法。

9.

前記改変が C F T R または S P - B 遺伝子における変異を修復する、実施形態 6 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

10.

前記変異が F 5 0 8 、 I 5 0 7 、 1 2 1 i n s 2 およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、実施形態 9 に記載の方法。

11.

囊胞性線維症 (C F) または肺サーファクタントタンパク質 B 欠損症の研究用モデル系を作製する方法であって、実施形態 6 ~ 1 0 のいずれかの方法に従って細胞を改変することを含む、上記方法。

12.

前記モデル系が細胞株または非ヒト動物を含む、実施形態 1 1 に記載の方法。

13.

対象において C F または S P - B 欠損症を治療する方法であって、実施形態 9 または 1 0 に記載の方法に従って、前記対象の一つまたは複数の細胞における C F T R または S P - B 遺伝子を改変することを含む、上記方法。

14.

前記細胞がインピトロで改変され、前記細胞が前記対象に投与される、実施形態 1 3 に記載の方法。

15.

実施形態 1 に記載のタンパク質、実施形態 2 に記載の融合タンパク質、または実施形態 3 に記載のポリヌクレオチドを含むキット。

本発明は、例えば、以下の項目も提供する。

(項目 1)

操作された Z n フィンガータンパク質 D N A 結合ドメインを含むタンパク質であって、前記 D N A 結合ドメインが、N 末端からC 末端に向かって F 1 から F 4 、 F 1 から F 5 または F 1 から F 6 と配列された 4 、 5 または 6 つの Z n フィンガー認識領域を含み、前記 F 1 から F 4 、 F 1 から F 5 または F 1 から F 6 が表 1 の单一列に示される配列を含む、上記タンパク質。

(項目2)

項目1に記載のタンパク質および野生型のまたは操作された切断ドメインまたは切断ハーフドメインを含む融合タンパク質。

(項目3)

項目1または項目2に記載のタンパク質をコードするポリヌクレオチド。

(項目4)

項目1もしくは2に記載のタンパク質または項目3に記載のポリヌクレオチドを含む単離細胞。

(項目5)

前記細胞が胚性幹細胞(ESC)、造血幹細胞、神経幹細胞、皮膚幹細胞、筋幹細胞、肺幹細胞、誘導多能性幹細胞(iPSC)および線維芽細胞からなる群から選択される、項目4に記載の細胞。

(項目6)

細胞における囊胞性線維症膜コンダクタンス制御因子(CFTR)遺伝子を改変する方法であって、

一つまたは複数の項目2に記載の融合タンパク質を用いてCFTRを切斷すること、を含む上記方法。

(項目7)

前記改変が、挿入、欠失、置換およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、項目6に記載の方法。

(項目8)

CFTR遺伝子に外来性配列を導入することをさらに含む、項目6または項目7に記載の方法。

(項目9)

前記改変がCFTR遺伝子における変異を修復する、項目6~8のいずれか1項に記載の方法。

(項目10)

前記変異がF508、I507およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、項目9に記載の方法。

(項目11)

囊胞性線維症(CF)の研究用モデル系を作製する方法であって、項目6~10のいずれかの方法に従って細胞を改変することを含む、上記方法。

(項目12)

前記モデル系が細胞株または非ヒト動物を含む、項目11に記載の方法。

(項目13)

対象においてCFを治療する方法であって、項目9または10に記載の方法に従って、前記対象の一つまたは複数の細胞におけるCFTR遺伝子を改変することを含む、上記方法。

(項目14)

前記細胞がインピトロで改変され、前記細胞が前記対象に投与される、項目13に記載の方法。

(項目15)

項目1に記載のタンパク質、項目2に記載の融合タンパク質、または項目3に記載のポリヌクレオチドを含むキット。