

【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 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。

【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ト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 ( 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、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ズ制御因子（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を切断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 5 0 8、I 5 0 7 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】0 0 3 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 3 4】

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ト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 .

細胞における嚢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 508、I 507、121ins2 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 .

嚢胞性線維症 ( 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 ~ 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。

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 11 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 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 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 .

前記細胞がインビトロで改変され、前記細胞が前記対象に投与される、実施形態 13 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 の単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 ( 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、項目 4 に記載の細胞。

( 項目 6 )

細胞における嚢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 C F T R を切断すること、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 )

C F T R 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 C F T R 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 1 0 )

前記変異が F 5 0 8、I 5 0 7 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 1 1 )

嚢胞性線維症 ( C F ) の研究用モデル系を作製する方法であって、項目 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。

( 項目 1 2 )

前記モデル系が細胞株または非ヒト動物を含む、項目 1 1 に記載の方法。

( 項目 1 3 )

対象において C F を治療する方法であって、項目 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 遺伝子を改変することを含む、上記方法。

( 項目 1 4 )

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、項目 1 3 に記載の方法。

( 項目 1 5 )

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。