

【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3日(2024.10.3)

【公開番号】特開2024-23239(P2024-23239A)

【公開日】令和6年2月21日(2024.2.21)

【年通号数】公開公報(特許)2024-033

【出願番号】特願2023-189768(P2023-189768)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

10

C 12 N 1/15 (2006.01)

C 12 N 1/21 (2006.01)

C 12 N 5/10 (2006.01)

C 12 N 1/19 (2006.01)

C 12 N 9/22 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/09 110

C 12 N 1/15 Z N A

C 12 N 1/21

20

C 12 N 5/10

C 12 N 1/19

C 12 N 9/22

【手続補正書】

【提出日】令和6年9月24日(2024.9.24)

【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】

30

【特許請求の範囲】

【請求項1】

真核細胞の目的のゲノム遺伝子座の改変に使用するためのエンジニアされたC R I S P R - C a s 系であって、

C a s 9 タンパク質またはC a s 9 タンパク質をコードするポリヌクレオチドであって、前記C a s 9 はR u v C またはH N H ドメインに突然変異を含み、かつニッカーゼであり、前記C a s 9 は核局在化シグナル(N L S)に融合している、C a s 9 タンパク質またはC a s 9 タンパク質をコードするポリヌクレオチド；

目的のゲノム遺伝子座において第1の標的配列とハイブリダイズするようにエンジニアされた第1のC R I S P R - C a s 系キメラR N A であって、前記第1のキメラR N A は、C a s 9 タンパク質と第1のC R I S P R 複合体を形成し、真核細胞の核内の第1の標的配列への第1のC R I S P R 複合体の配列特異的結合を指向することができ、それによつて、C a s 9 タンパク質が目的のゲノム遺伝子座の第1のD N A 鎮を切断して第1のニックを生成できる第1のC R I S P R - C a s 系キメラR N A ；および

目的のゲノム遺伝子座において第2の標的配列とハイブリダイズするようにエンジニアされた第2のC R I S P R - C a s 系キメラR N A であって、前記第2のキメラR N A は、C a s 9 タンパク質と第2のC R I S P R 複合体を形成し、真核細胞の核内の第2の標的配列への第2のC R I S P R 複合体の配列特異的結合を指向することができ、それによつて、C a s 9 タンパク質が目的のゲノム遺伝子座の第2のD N A 鎮を切断して第2のニックを生成できる、第2のC R I S P R - C a s 系キメラR N A ；

40

50

を含み、

ここで、第1のニックは、第2のニックの1~200ヌクレオチド5'に位置する、エンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

【請求項2】

前記C a s 9タンパク質が少なくとも2つのN L Sに融合している、請求項1に記載のエンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

【請求項3】

前記C a s 9タンパク質がS . p y o g e n e s C a s 9である、請求項1または2に記載のエンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

【請求項4】

前記C a s 9タンパク質がS . a u r e u s C a s 9である、請求項1または2に記載のエンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

【請求項5】

前記C a s 9タンパク質が、S . p y o g e n e s C a s 9のD 1 0 A、E 7 6 2 A又はD 9 8 6 Aに対応するR u v Cドメイン中の突然変異を含む、請求項1から4の何れか一項に記載のエンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

【請求項6】

前記C a s 9タンパク質が、S . p y o g e n e s C a s 9のD 1 0 Aに対応する突然変異を含む、請求項5に記載のエンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

【請求項7】

前記C a s 9タンパク質が、S . p y o g e n e s C a s 9のH 8 4 0 A、N 8 5 4 A、又はN 8 6 3 Aに対応するH N Hドメイン中の突然変異を含む、請求項1から4の何れか一項に記載のエンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

【請求項8】

前記C a s 9タンパク質が、S . p y o g e n e s C a s 9のH 8 4 0 Aに対応する突然変異を含む、請求項7に記載のエンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

【請求項9】

前記C a s 9タンパク質が、異種タンパク質ドメインに融合している、請求項1から8の何れか一項に記載のエンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

【請求項10】

前記異種タンパク質ドメインが、メチラーゼ、デメチラーゼ、転写活性化因子、転写抑制因子、リコンビナーゼ、トランスポザーゼ、ヒストンリモデラー、D N Aメチルトランスフェラーゼ、またはクリプトクロムである、請求項9に記載のエンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

【請求項11】

第1のニックが、第2のニックの1~100ヌクレオチド5'に位置する、請求項1から10の何れか一項に記載のエンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

【請求項12】

第1のニックが、第2のニックの1~50ヌクレオチド5'に位置する、請求項1から10の何れか一項に記載のエンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

【請求項13】

第1のニックが、第2のニックの26~50ヌクレオチド5'に位置する、請求項1から10の何れか一項に記載のエンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

【請求項14】

第1のニックが、第2のニックの34~50ヌクレオチド5'に位置する、請求項1から10の何れか一項に記載のエンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

【請求項15】

前記エンジニアされたC R I S P R - C a s 系が、前記C a s 9タンパク質をコードするウイルスペクターを含む、請求項1から14の何れか一項に記載のエンジニアされたC R I S P R - C a s 系。

10

20

30

40

50

【請求項 16】

前記エンジニアされた C R I S P R - C a s 系が、前記 C a s 9 タンパク質をコードする m R N A を含む、請求項 1 から 1 4 の何れか一項に記載のエンジニアされた C R I S P R - C a s 系。

【請求項 17】

第 1 または第 2 の標的配列の少なくとも 5 ヌクレオチドと重複する鑄型ポリヌクレオチドをさらに含む、請求項 1 から 1 6 の何れか一項に記載のエンジニアされた C R I S P R - C a s 系。

【請求項 18】

目的のゲノム遺伝子座が遺伝子産物をコードしている、請求項 1 から 1 7 の何れか一項に記載のエンジニアされた C R I S P R - C a s 系。 10

【請求項 19】

真核細胞が、哺乳動物細胞である、請求項 1 から 1 8 の何れか一項に記載のエンジニアされた C R I S P R - C a s 系。