

【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7年5月14日(2025.5.14)

【公開番号】特開2024-170441(P2024-170441A)

【公開日】令和6年12月10日(2024.12.10)

【年通号数】公開公報(特許)2024-231

【出願番号】特願2024-138377(P2024-138377)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)
 C 12 N 15/63 (2006.01)
 C 12 N 9/16 (2006.01)
 C 12 N 1/15 (2006.01)
 C 12 N 1/19 (2006.01)
 C 12 N 5/10 (2006.01)
 C 12 N 15/55 (2006.01)
 C 12 Q 1/6869 (2018.01)

10

【F I】

C 12 N 15/09 110
 C 12 N 15/63 Z Z N A
 C 12 N 9/16 Z
 C 12 N 1/15
 C 12 N 1/19
 C 12 N 5/10
 C 12 N 15/55
 C 12 N 15/63 Z
 C 12 Q 1/6869 Z

20

【手続補正書】

【提出日】令和7年5月2日(2025.5.2)

30

【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) Cas9タンパク質またはCas9タンパク質をコードするポリヌクレオチドであって、Cas9タンパク質がS. pyogenes Cas9であり、2つ以上の核局在化シグナル(NLS)と融合しているもの；

40

(b) NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGUUUAGAGCUAGAAUAGCAAGUUAAAUAAGGCCUAGUCGCUUAUCAを含むCRISPR-Cas9系キメラRNAであって、NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNが、真核細胞の目的のゲノム遺伝子座におけるプロトスペーサー隣接モチーフ(PAM)に隣接する標的配列にハイブリダイズすることができるガイド配列である、CRISPR-Cas9系キメラRNA：

を含む、エンジニアリングされたCRISPR-Cas9系であって、前記キメラRNAおよび前記Cas9タンパク質は、真核細胞においてCRISPR複合体を形成することができ、前記ガイド配列は、真核細胞の目的のゲノム遺伝子座におけるPAMに隣接する標的配列へのCRISPR複合体の配列特異的結合を指向することができる、エンジニア

50

リングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項2】

(a) Cas9タンパク質またはCas9タンパク質をコードするポリヌクレオチドであって、Cas9タンパク質がS. pyogenes Cas9であり、2つ以上の核局在化シグナル(NLS)と融合しているもの；

を含む、エンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系であって、前記キメラ R N A および前記 C a s 9 タンパク質は、真核細胞において C R I S P R 複合体を形成することができ、前記ガイド配列は、真核細胞の目的のゲノム遺伝子座における P A M に隣接する標的配列への 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る、エンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項3】

(a) Cas9タンパク質またはCas9タンパク質をコードするポリヌクレオチドであって、Cas9タンパク質がS. pyogenes Cas9であり、2つ以上の核局在化シグナル(NLS)と融合しているもの；

(b) NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGUUUUAGAGCUAGAAU
 AGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAA
 AGUGGGCACCGAGUCGGUGCを含むCRISPR-Cas9系キメラRNA
 であって、NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNが、真核細胞の目的のゲノム遺伝子座におけるプロトスペーサー隣接モチーフ(PAM)に隣接する標的配列にハイブリダイズすることができるガイド配列である、CRISPR-Cas9系キメラRNA：

を含む、エンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系であって、前記キメラ R N A および前記 C a s 9 タンパク質は、真核細胞において C R I S P R 複合体を形成することができ、前記ガイド配列は、真核細胞の目的のゲノム遺伝子座における P A M に隣接する標的配列への 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る、エンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系

【 請求項 4 】

P A M が N G G である、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【 請求項 5 】

キメラ RNA がポリ U 配列をさらに含む、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R T S P R - C a s 9 系。

【請求項 6】

キメラ RNA が 1 つ以上の修飾ヌクレオチドを含む、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R T S P R - C a s 9 系。

【請求項 7】

キメラ RNA が 1 つ以上のメチル化されたヌクレオチドまたはヌクレオチドアナログを含む、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 8】

2つ以上のNLSが独立して、PKKKRKV、KRPAATKKAGQAKKKK、PAAKRVKLD、RQRRNELKRSR、NQSSNFGPMKGGNFGGRS、SGPYGGGGQYFAKPRNQGGY、RMRIZFKNKKGKD TAE LRRR、RVEVSVELRKAKKDEQILKRRNV、VSRKRP RP、PPKKARE、PQPKKKPL、SALIKKKKKMAP、DRLRR、PKQKKRK、RK LKKKIKKL、REKKKELKRR、KRKGDEV DGVDEVAKKKSKK

および R K C L Q A G M N L E A R K T K K からなる群から選択される、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 9】

N L S の少なくとも 1 つが P K K K R K V を含む、請求項 8 に記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 10】

C a s 9 タンパク質が、D 1 0 A、H 8 4 0 A、N 8 5 4 A、または N 8 6 3 A の変異を含む、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 11】

C a s 9 タンパク質が少なくとも 1 つの異種タンパク質ドメインと融合している、請求項 10 に記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 12】

異種タンパク質ドメインが、エピトープタグ、レポーター配列、および以下の活性：メチラーゼ活性、デメチラーゼ活性、転写活性化活性、転写抑制活性、転写放出因子活性、ヒストン修飾活性、R N A 切断活性、または核酸結合活性のうちの 1 つ以上を有するタンパク質ドメインからなる群から選択される、請求項 11 に記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 13】

C a s 9 タンパク質をコードするポリヌクレオチドが、真核細胞での発現のためにコドン最適化されている、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 14】

C a s 9 タンパク質をコードするポリヌクレオチドが、ポリアデニル化シグナルを含む、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 15】

C R I S P R - C a s 9 系が、送達のためにリポソーム中に含まれる、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 16】

C R I S P R 複合体によって導入された D N A 切断への標的化組み込みのための外因性ポリヌクレオチドをさらに含む、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系。

【請求項 17】

遺伝性疾患または障害の処置における使用のための、前記請求項のいずれかに記載のエンジニアリングされた C R I S P R - C a s 9 系を含む医薬組成物、ただし、前記使用は、ヒトの生殖細胞系列の遺伝的同一性を改変するための工程を含まない。

10

20

30

40

50