

【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 4 年 2 月 24 日(2022.2.24)

【公開番号】特開 2021-100410(P2021-100410A)
【公開日】令和 3 年 7 月 8 日(2021.7.8)
【年通号数】公開・登録公報 2021-030
【出願番号】特願 2021-34456(P2021-34456)
【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09(2006.01)

10

C 1 2 N 9/22(2006.01)

A 0 1 K 67/027(2006.01)

C 1 2 Q 1/34(2006.01)

C 1 2 N 15/52(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 9/22 Z N A

A 0 1 K 67/027

C 1 2 Q 1/34

C 1 2 N 15/52 Z

20

【手続補正書】

【提出日】令和 4 年 1 月 13 日(2022.1.13)

【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】

30

C R I S P R - C p f 1 系であって、

(a) N u c ドメイン中に 1 つ以上の突然変異を含む改変された C p f 1 エフェクタータンパク質、ここで、前記改変された C p f 1 エフェクタータンパク質は、ニッカーゼである、または前記改変された C p f 1 エフェクタータンパク質をコードする核酸である、および

(b) ダイレクトリピート配列に連結されたガイド配列を含む C p f 1 ガイド、ここで、前記ガイド配列は、標的配列、または前記 C p f 1 ガイドをコードする核酸にハイブリダイズ可能である、を含む、

C R I S P R - C p f 1 系。

40

【請求項 2】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、

前記 C R I S P R - C p f 1 系は、前記 C p f 1 ガイドおよび前記改変された C p f 1 エフェクタータンパク質を含む、

C R I S P R - C p f 1 系。

【請求項 3】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、

前記 C R I S P R - C p f 1 系は、前記 C p f 1 ガイドおよび前記改変された C p f 1 エフェクタータンパク質をコードする m R N A を含む、

C R I S P R - C p f 1 系。

50

【請求項 4】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、
前記 C R I S P R - C p f 1 系は、前記 C p f 1 ガイドおよび前記改変された C p f 1
エフェクタータンパク質をコードする 1 つ以上のベクターを含む、
C R I S P R - C p f 1 系。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、
前記改変された C p f 1 エフェクタータンパク質は、改変されたアシダミノコッカス属
種 (A c i d a m i n o c o c c u s s p .) C p f 1 である、
C R I S P R - C p f 1 系。

10

【請求項 6】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、
前記改変された C p f 1 エフェクタータンパク質は、改変されたラクノスピラ科細菌 (L a c h n o s p i r a c e a e b a c t e r i u m) C p f 1 である、
C R I S P R - C p f 1 系。

【請求項 7】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、
前記改変された C p f 1 エフェクタータンパク質は、改変されたフランシセラ・ノビシ
ダ (F r a n s c i s e l l a n o v i c i d a) C p f 1 である、
C R I S P R - C p f 1 系。

20

【請求項 8】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、
前記改変された C p f 1 エフェクタータンパク質は、改変されたアシダミノコッカス属
種 (A c i d a m i n o c o c c u s s p .) B V 3 L 6 C p f 1 である、
C R I S P R - C p f 1 系。

【請求項 9】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、
前記改変された C p f 1 エフェクタータンパク質は、改変されたラクノスピラ科細菌 (L a c h n o s p i r a c e a e b a c t e r i u m) N D 2 0 0 6 C p f 1、または改変されたラクノスピラ科細菌 (L a c h n o s p i r a c e a e b a c t e r i u m) M A 2 0 2 0 C p f 1 である、
C R I S P R - C p f 1 系。

30

【請求項 10】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、
前記 C p f 1 エフェクタータンパク質は、アシダミノコッカス属種 (A c i d a m i n o c o c c u s s p .) B V 3 L 6 C p f 1 の R 1 2 2 6 に対応するアミノ酸残基に突然変異を含む、
C R I S P R - C p f 1 系。

【請求項 11】

請求項 10 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、
前記突然変異は R 1 2 2 6 A である、
C R I S P R - C p f 1 系。

40

【請求項 12】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、
前記改変された C p f 1 エフェクタータンパク質は、少なくとも 1 つの核局在化シグナル (N L S) に融合している、
C R I S P R - C p f 1 系。

【請求項 13】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、
前記改変された C p f 1 エフェクタータンパク質は、少なくとも 2 つの N L S に融合し

50

ている、

C R I S P R - C p f 1 系。

【請求項 1 4】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、

前記改変された C p f 1 エフェクタータンパク質は、異種タンパク質ドメインに融合している、

C R I S P R - C p f 1 系。

【請求項 1 5】

請求項 1 4 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、

前記異種タンパク質ドメインは、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、転写解除因子活性、ヒストン修飾活性、ヌクレアーゼ活性、一本鎖 R N A 切断活性、二本鎖 R N A 切断活性、一本鎖 D N A 切断活性、二本鎖 D N A 切断活性、又は核酸結合活性、

の 1 つ以上を有する、

C R I S P R - C p f 1 系。

【請求項 1 6】

請求項 1 4 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、

前記異種タンパク質ドメインは、転写リプレッサー、転写アクチベーター、ヌクレアーゼドメイン、D N A メチルトランスフェラーゼ、タンパク質アセチルトランスフェラーゼ、タンパク質デアセチラーゼ、タンパク質メチルトランスフェラーゼ、タンパク質デアミナーゼ、タンパク質キナーゼ、又はタンパク質ホスファターゼである、

C R I S P R - C p f 1 系。

【請求項 1 7】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、

前記 C R I S P R - C p f 1 系は、それぞれが異なる標的配列を標的化する 2 つ以上の C p f 1 ガイドを含む、

C R I S P R - C p f 1 系。

【請求項 1 8】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系であって、

前記 C R I S P R - C p f 1 系は、前記標的配列の少なくとも 5 ヌクレオチドと重複する鋳型ポリヌクレオチドをさらに含む、

C R I S P R - C p f 1 系。

【請求項 1 9】

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系を含む単離された真核細胞。

【請求項 2 0】

真核細胞中に標的鎖および非標的鎖を含む二本鎖 D N A 分子を改変する方法であって、

請求項 1 に記載の C R I S P R - C p f 1 系を真核細胞に送達するステップを含み、

ここで、前記 C p f 1 ガイドは、真核細胞の核中のプロトスペーサー隣接モチーフ (P A M) に隣接する二本鎖 D N A 分子の標的解列への C R I S P R - C p f 1 複合体の配列特異的結合を導き、

C R I S P R - C p f 1 複合体が非標的鎖を切断するが、標的鎖を切断しない、方法。

10

20

30

40

50