

【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 9 月 6 日(2024.9.6)

【公開番号】 特開 2024-29218(P2024-29218A)
【公開日】 令和 6 年 3 月 5 日(2024.3.5)
【年通号数】 公開公報(特許)2024-041
【出願番号】 特願 2024-2064(P2024-2064)
【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09(2006.01)
C 1 2 N 1/15(2006.01)
C 1 2 N 1/19(2006.01)
C 1 2 N 5/10(2006.01)
C 1 2 N 7/01(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 0 0
C 1 2 N 1/15 Z N A
C 1 2 N 1/19
C 1 2 N 5/10
C 1 2 N 7/01
C 1 2 N 15/09 1 1 0

20

【手続補正書】
【提出日】 令和 6 年 8 月 26 日(2024.8.26)
【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】

30

【請求項 1】

(a) 長さ 50～110 nt の一本鎖オリゴデオキシリボヌクレオチド(ssODN)を真核生物の細胞に導入することを含み、ここで、該 ssODN はドナー核酸配列を含む、標的 DNA を標的部位で部位特異的に切断する遺伝子ターゲティングヌクレアーゼを前記真核生物の細胞に提供すること、
を含み、
前記ドナー核酸配列は前記標的 DNA に挿入されて、前記真核生物の細胞内で改変された DNA を産生する、
真核生物の細胞内で標的 DNA を改変する方法。

【請求項 2】

40

前記遺伝子ターゲティングヌクレアーゼが RNA 誘導型の遺伝子ターゲティングヌクレアーゼであり、
前記標的 DNA の標的配列と相補的な配列を含むガイド RNA を前記真核生物の細胞に提供することをさらに含み、
前記ガイド RNA および前記遺伝子ターゲティングヌクレアーゼは前記標的 DNA の標的配列に結合する共局在複合体を形成する、
請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 RNA 誘導型の遺伝子ターゲティングヌクレアーゼが Cas9 ヌクレアーゼを含む、
請求項 2 に記載の方法。

50

【請求項 4】

前記遺伝子ターゲティングヌクレアーゼが転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（T A L E N）を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 s s O D N の長さが 5 0 ～ 9 0 n t である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記ドナー核酸配列が前記標的 D N A に対するミスマッチを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記ドナー核酸配列の前記標的 D N A への挿入後に、前記改変された D N A 中の前記ミスマッチが前記標的部から 4 0 b p 以下離れて位置する、請求項 6 に記載の方法。

10

【請求項 8】

前記ドナー核酸配列が前記標的 D N A に対する追加のミスマッチを含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 9】

前記追加のミスマッチが前記ドナー核酸配列中の前記ミスマッチから 3 0 b p 以下離れている、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 1 0】

前記ドナー核酸配列が相同組換えにより挿入される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 1】

前記ドナー核酸配列が非相同末端結合により挿入される、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 1 2】

前記真核生物の細胞が動物細胞である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記遺伝子ターゲティングヌクレアーゼ及び前記 s s O D N が前記真核生物の細胞に同時に導入される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記標的 D N A がインビトロで改変される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記（a）及び（b）の工程を繰り返して、前記細胞中への多重外来核酸挿入をもたらすことをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

30

40

50