

【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3年9月24日(2021.9.24)

【公開番号】特開2021-118726(P2021-118726A)

【公開日】令和3年8月12日(2021.8.12)

【年通号数】公開・登録公報2021-037

【出願番号】特願2021-75869(P2021-75869)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	15/62	(2006.01)
C 1 2 N	15/55	(2006.01)
C 1 2 N	15/31	(2006.01)
C 1 2 N	9/16	(2006.01)
C 1 2 N	15/63	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/09	1 1 0
C 1 2 N	15/62	Z N A Z
C 1 2 N	15/55	
C 1 2 N	15/31	
C 1 2 N	9/16	A
C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10	

【手続補正書】

【提出日】令和3年5月27日(2021.5.27)

【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】

配列番号24を含む、RNA誘導型FokIヌクレアーゼ(RFN)融合タンパク質。

【請求項2】

請求項1に記載の融合タンパク質をコードする、核酸。

【請求項3】

配列番号27を含む、請求項2に記載の核酸。

【請求項4】

請求項2に記載の核酸を含む、ベクター。

【請求項5】

請求項1に記載の融合タンパク質を発現する、宿主細胞。

【請求項6】

細胞において、ゲノム配列の配列特異的な崩壊を誘導する方法であって、前記方法が、請求項1に記載のRNA誘導型FokIヌクレアーゼ(RFN)融合タンパク質、および2つの標的ゲノム配列に前記RFNを配向するガイドRNAを、前記細胞に発現すること、または前記細胞と接触させることとを含む、方法。

【請求項7】

前記ガイドRNAが、

(a) 2つの單一ガイドRNAであって、1つの單一ガイドRNAが第1の鎖を標的とし、他方のガイドRNAが相補鎖を標的とし、FokIが各鎖を切斷して、反対のDNA鎖上に1対のニックをもたらし、それにより二重鎖を切斷する、2つの單一ガイドRNA、または

(b) tracrRNAおよび2つのcrrRNAであって、1つのcrrRNAが第1の鎖を標的とし、他方のcrrRNAが相補鎖を標的とし、FokIが各鎖を切斷して、反対のDNA鎖上に1対のニックをもたらし、それにより二重鎖を切斷する、tracrRNAおよび2つのcrrRNA

である、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

前記2つのガイドRNAが、それぞれ、標的ゲノム配列の17~20個のヌクレオチドと相補的な相補領域を含む、請求項6に記載の方法。

【請求項9】

挿入欠失変異が、前記2つの標的配列の間に誘導される、請求項6に記載の方法。

【請求項10】

前記2つの標的ゲノム配列が、それぞれ3'末端でプロトスペーサー隣接モチーフ(PAM)配列を有する、請求項6に記載の方法。

【請求項11】

前記2つの標的ゲノム配列が、0~31ヌクレオチド離れている、請求項6に記載の方法。

【請求項12】

前記2つの標的ゲノム配列が、10~20塩基対離れている、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記2つの標的ゲノム配列が、13~17塩基対離れている、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

細胞におけるRNA誘導型ゲノム編集の特異性を増大させる方法であって、前記細胞を、請求項1に記載のRNA誘導型FokIヌクレアーゼ(RFN)融合タンパク質と接触させることを含み、前記細胞におけるRNA誘導型ゲノム編集の特異性が、ネイティブCas9を用いたゲノム編集と比較して増大される、方法。