

【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を含む、方法。

【請求項 7】

前記ガイド RNA が、

(a) 2 つの単一ガイド RNA であって、1 つの単一ガイド 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 が各鎖を切断して、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断する、2 つの単一ガイド RNA、または

(b) tracrRNA および 2 つの crRNA であって、1 つの crRNA が第 1 の鎖を標的とし、他方の crRNA が相補鎖を標的とし、FokI が各鎖を切断して、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断する、tracrRNA および 2 つの crRNA

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Spacer 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む、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。