

【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】平成29年2月16日 (2017.2.16)

【公表番号】特表2016-501531(P2016-501531A)

【公表日】平成28年1月21日 (2016.1.21)

【年通号数】公開・登録公報2016-005

【出願番号】特願2015-547543(P2015-547543)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 K 35/761 (2015.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 35/76

A 6 1 K 35/761

A 6 1 P 43/00 1 1 1

【手続補正書】

【提出日】平成29年1月11日 (2017.1.11)

【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】

1 つ以上の遺伝子産物の発現を変更する方法であって、前記 1 つ以上の遺伝子産物をコードする DNA 分子を含有及び発現する非ヒト真核生物中に、C a s タンパク質と、前記 DNA 分子を標的とする 1 つ以上のガイド RNA とを含むエンジニアリングされた、天然に存在しない C R I S P R - C a s 系を導入することを含み、それによって、前記 1 つ以上のガイド RNA が、前記 1 つ以上の遺伝子産物をコードする前記 DNA 分子のゲノム遺伝子座を標的とし、前記 C a s タンパク質が、前記 1 つ以上の遺伝子産物をコードする前記 DNA 分子の前記ゲノム遺伝子座を開裂し、それによって、前記 1 つ以上の遺伝子産物の発現が変更され；前記 C a s タンパク質及び前記ガイド RNA が、いっしょに天然に存在しない、方法。

【請求項 2】

前記 1 つ以上の遺伝子産物をコードする DNA 分子を含有及び発現する非ヒト真核生物中に、エンジニアリングされた、天然に存在しないベクター系を導入することを含み、前記ベクター系が、

a) 前記 1 つ以上の遺伝子産物をコードする前記 DNA 分子のゲノム遺伝子座における標的配列にハイブリダイズする 1 つ以上の C R I S P R - C a s 系ガイド RNA をコードする 1 つ以上のヌクレオチド配列に作動可能に結合している第 1 の調節エレメント、

b) C a s タンパク質をコードするヌクレオチド配列に作動可能に結合している第 2 の調節エレメント

を含む 1 つ以上のベクターを含み、

成分 ( a ) 及び ( b ) が、前記系の同じ又は異なるベクター上に位置し、

それによって、前記ガイド RNA が、前記 1 つ以上の遺伝子産物をコードする前記 DNA 分子の前記ゲノム遺伝子座を標的とし、前記 Cas タンパク質が、前記 1 つ以上の遺伝子産物をコードする前記 DNA 分子の前記ゲノム遺伝子座を開裂し、それによって、前記 1 つ以上の遺伝子産物の発現が変更され；前記 Cas タンパク質及び前記ガイド RNA が、  
いっしょに天然に存在しない、

請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3】**

前記 Cas タンパク質が、II 型 Cas タンパク質である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

**【請求項 4】**

前記 Cas タンパク質が、Cas9 タンパク質である、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記 Cas タンパク質が、真核細胞における発現のためにコドン最適化されている、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 6】**

前記系の前記ベクター又は前記 Cas タンパク質が、1 つ以上の NLS ( 複数の場合もあり ) をさらに含む、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 7】**

前記 Cas タンパク質が、触媒ドメインにおける 1 つ以上の突然変異、好ましくは RuvCI、RuvCII 又は RuvCIII 触媒ドメインにおける 1 つ以上の突然変異を含む、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 8】**

前記ガイド RNA が、ガイド配列、tracr 配列及び tracr メイト配列を含む、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記ガイド RNA が、tracr 配列に融合したガイド配列を含む、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記非ヒト真核生物が、哺乳動物である、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 11】**

前記 1 つ以上のベクターが、ウイルスベクターである、請求項 2 ～ 10 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記 1 つ以上のウイルスベクターが、レトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴及び単純ヘルペスウイルスベクターからなる群から選択される、請求項 11 に記載の方法。

**【請求項 13】**

前記 1 つ以上の遺伝子産物の発現が減少する、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 14】**

請求項 1 ～ 13 のいずれか一項に記載の方法によって得ることができる非ヒト真核生物。

**【請求項 15】**

前記真核生物が、哺乳動物である、請求項 14 に記載の非ヒト真核生物。