

【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6月15日 (2017.6.15)

【公表番号】特表2016-529904(P2016-529904A)

【公表日】平成28年9月29日 (2016.9.29)

【年通号数】公開・登録公報2016-057

【出願番号】特願2016-538910(P2016-538910)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 0 1 K 67/027 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

C 1 2 N 5/16 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 5/10

A 0 1 K 67/027

C 1 2 N 9/16 Z

C 1 2 N 5/16

【手続補正書】

【提出日】平成29年4月27日 (2017.4.27)

【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】

細胞の染色体 DNA 中に外性対立遺伝子を移入させる相同組換え修復 (HDR) の方法であって、

前記細胞に、標的エンドヌクレアーゼ系と、前記外性対立遺伝子を含む HDR 鑄型とを導入するステップを含み、前記標的ヌクレアーゼ系は、前記染色体 DNA における内在性コグネイト配列に特異的に結合する DNA 結合メンバーを含み、前記標的ヌクレアーゼ系及び前記 HDR 鑄型が作動することにより、HDR 鑄型配列に対して同一性を有するように前記染色体 DNA を改変して、前記染色体 DNA 中に、内在性対立遺伝子の代わりに前記外性対立遺伝子を移入させ、

前記標的エンドヌクレアーゼ系が、クラスター化された短鎖反復回文配列 (CRISPR)、tracrRNA、または RNA 誘導性エンドヌクレアーゼ (RGEN) を含む、方法。

【請求項 2】

前記標的エンドヌクレアーゼ系が CRISPR/Cas を含む、請求項 1 に記載の方法

。

【請求項 3】

前記標的ヌクレアーゼ系が、Cas9 ヌクレアーゼ及びガイド RNA を含む、ミスマッチが、前記内在性コグネイト配列に対して gRNA 配列中に存在する、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記標的エンドヌクレアーゼ系及び / 又は HDR 鑄型が、DNA に対する前記標的エン

ドヌクレアーゼ系の特異的結合を低減する特徴を含み、前記標的ヌクレアーゼ系が、Cas9ヌクレアーゼ及びガイドRNAを含み、前記 mismatches が、前記 HDR 鑄型配列に対して gRNA 配列中に存在する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記標的エンドヌクレアーゼ系が、Cas9ヌクレアーゼ及びガイドRNAを有するCRISPRを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

細胞に導入される対立遺伝子が、天然対立遺伝子である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記 HDR 鑄型が、前記天然対立遺伝子と、染色体 DNA 配列に対して同一性を有する DNA とから構成される、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記 HDR 鑄型が、前記 mismatches を含み、前記 mismatches が、天然に存在しない配列を形成する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

細胞に導入される対立遺伝子が、polled、食肉の特徴、食肉生産、乳牛の特徴、牛乳生産、動物サイズ、および疾患耐性からなる群から選択される形質を高める、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記細胞が、初代細胞、初代体細胞、接合子、生殖細胞、幹細胞、卵母細胞、精子、胚及び胚の細胞からなる群から選択される、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記ヌクレアーゼ系が、mRNA として前記細胞中に導入される、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記細胞が、家畜細胞である、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記細胞が、ヒト以外の霊長類、ブタ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ニワトリ、ウサギ、魚類、イヌ、又はネコである、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記細胞が、前記外性対立遺伝子に対して同型接合である、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

細胞の染色体 DNA 中に外性対立遺伝子に移入させる相同組換え修復 (HDR) の方法であって、

前記細胞に、標的エンドヌクレアーゼ系と、前記外性対立遺伝子を含む HDR 鑄型とを導入するステップを含み、前記標的ヌクレアーゼ系は、前記染色体 DNA における内在性コグネイト配列に特異的に結合する DNA 結合メンバーを含み、前記標的ヌクレアーゼ系及び前記 HDR 鑄型が作動することにより、HDR 鑄型配列に対して同一性を有するように前記染色体 DNA を改変して、前記染色体 DNA 中に、内在性対立遺伝子の代わりに前記外性対立遺伝子に移入させ、

前記標的エンドヌクレアーゼ系及び / 又は HDR 鑄型が、DNA に対する前記標的エンドヌクレアーゼ系の特異的結合を低減する特徴を含む、方法。

【請求項 16】

請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法により作製される細胞。

【請求項 17】

請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法により作製される動物。

【請求項 18】

請求項 1 - 15 のいずれか一項に記載の方法を含む、動物を作製する方法。

【請求項 19】

前記細胞が体細胞であり、前記動物が体細胞核移植によって細胞から作製される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 20】

前記細胞が接合子または胚の細胞であり、前記動物が、前記接合子または胚を胚盤胞まで培養し、前記胚盤胞を代理母動物において妊娠することによって作製される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 21】

請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の標的ヌクレアーゼ系及び H D R 鑄型を含むキット。