

【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24年3月8日 (2012.3.8)

【公表番号】特表2011-514144(P2011-514144A)

【公表日】平成23年5月6日 (2011.5.6)

【年通号数】公開・登録公報2011-018

【出願番号】特願2010-544817(P2010-544817)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 9/22 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (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)

A 0 1 K 67/027 (2006.01)

A 0 1 H 5/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/46 (2006.01)

A 6 1 P 31/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 9/22 Z N A

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 5/00 1 0 1

A 0 1 K 67/027

A 0 1 H 5/00 A

A 6 1 K 37/02

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 37/54

A 6 1 P 31/00

A 6 1 P 31/12

A 6 1 K 35/76

【手続補正書】

【提出日】平成24年1月18日 (2012.1.18)

【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】

ペプチドリンカーにより連結された 2 つのドメインを含み：

(a) 親の I-Cre1 単量体に由来するそれぞれのドメインが、I-Cre1 の第 1 アルファヘリックス

スの始点(₁)からC末端ループの終点まで少なくとも広がりかつ ₁ ₁ ₂ ₂ ₃ ₄ ₃ コアドメインと、₄及び₅ヘリックスと、I-CreIのC末端ループとを連続的に含む前記親のI-CreI単量体の部分を含み、

(b) それぞれの親のホモ二量体I-CreIメガヌクレアーゼ標的配列の一方の異なる半分を含むキメラDNA標的と結合しそれを切断できるI-CreI二量体として前記2つのドメインが折り畳まれることを可能にするペプチドリinkerにより、前記2つのドメインが連結されている、

単鎖I-CreIメガヌクレアーゼ。

【請求項2】

N末端若しくはC末端ドメイン又はその両方が、少なくともI-CreIのアルファ6ヘリックスをさらに含む請求項1に記載の単鎖I-CreIメガヌクレアーゼ。

【請求項3】

N末端ドメインがI-CreIの1位又は6位から始まり、C末端ドメインがI-CreIの2位又は6位から始まる請求項1又は2に記載の単鎖I-CreIメガヌクレアーゼ。

【請求項4】

N末端若しくはC末端ドメイン又はその両方が、I-CreIの145位、152位、156位、160位又は163位にて終結する請求項1～3のいずれか1項に記載の単鎖I-CreIメガヌクレアーゼ。

【請求項5】

リンカーが、15～35アミノ酸の配列からなり、好ましくは配列番号2～12及び14～19の配列からなる群より選択される請求項1～4のいずれか1項に記載の単鎖I-CreIメガヌクレアーゼ。

【請求項6】

少なくとも一方のドメイン又は両方のドメインが、両方のドメインにおける、I-CreIの26位～40位及び/又は44位～77位での異なる変異であって、単鎖I-CreIメガヌクレアーゼが非パリンδροームDNA配列を切断でき、前記DNA配列の少なくとも+3位～+5位、+8位～+10位、-10位～-8位及び-5位～-3位のヌクレオチドが、興味対象の遺伝子からのDNA標的の+3位～+5位、+8位～+10位、-10位～-8位及び-5位～-3位のヌクレオチドに相当する、及び

少なくとも一方のドメインにおける、I-CreIの137位～143位での変異であって、該変異がI-CreI部位の±1～2、6～7及び/又は11～12位のヌクレオチドに対する単鎖I-CreIメガヌクレアーゼの特異性を改変するからなる群より選択される1つ以上の変異を含む請求項1～5のいずれか1項に記載の単鎖I-CreIメガヌクレアーゼ。

【請求項7】

変異が、A、D、E、G、H、K、N、P、Q、R、S、T、Y、C、V、L及びWからなる群より選択されるアミノ酸での元のアミノ酸の置き換えである請求項6に記載の単鎖I-CreIメガヌクレアーゼ。

【請求項8】

2つのドメインからの機能的ホモ二量体の形成を損なう少なくとも1つの変異を含み、好ましくはそれぞれのドメインが、それぞれ第1及び第2のドメインについて、K7E又はK7DとE8K又はE8R；F54G又はF54AとL97F又はL97W；K96D又はK96EとE61R又はE61K；R51D又はR51EとD137R又はD137Kからなる群より選択される少なくとも1つの変異を含む請求項1～7のいずれか1項に記載の単鎖I-CreIメガヌクレアーゼ。

【請求項9】

一方のドメインが、G19S変異を含む請求項1～8のいずれか1項に記載の単鎖I-CreIメガヌクレアーゼ。

【請求項10】

配列番号95又は97の配列を含む請求項1～9のいずれか1項に記載の単鎖I-CreIメガヌクレアーゼ。

【請求項 1 1】

請求項 1 ~ 10のいずれか 1 項に記載の単鎖I-CreIメガヌクレアーゼをコードするポリヌクレオチドフラグメント。

【請求項 1 2】

単鎖I-CreIメガヌクレアーゼの生成を可能にする調節配列に機能可能に連結された請求項11に記載のポリヌクレオチドフラグメントを含み、好ましくは単鎖I-CreIメガヌクレアーゼのゲノムDNA標的を取り囲む領域と同一性を有する配列を含むターゲティングDNA構築物をさらに含む発現ベクター。

【請求項 1 3】

請求項 1 ~ 10のいずれか 1 項に記載の少なくとも 1 つの単鎖I-CreIメガヌクレアーゼ、請求項11に記載の 1 つのポリヌクレオチドフラグメント、又は請求項12に記載の 1 つのベクターを含み、好ましくは興味対象のゲノム部位と同一性を有する配列で挟まれた前記ゲノム部位を修復する配列を含むターゲティングDNA構築物をさらに含む医薬組成物。

【請求項 1 4】

請求項 1 ~ 10のいずれか 1 項に記載の少なくとも 1 つの単鎖I-CreIメガヌクレアーゼ、請求項11に記載の 1 つのポリヌクレオチドフラグメント、請求項12に記載の 1 つのベクターの、非治療目的での、分子生物学、インビボ又はインビトロでの遺伝子工学、及びインビボ又はインビトロでのゲノム工学のための使用。

【請求項 1 5】

配列番号95又は配列番号97の配列を含む少なくとも 1 つの単鎖I-CreIメガヌクレアーゼ、前記メガヌクレアーゼをコードする 1 つのポリヌクレオチドフラグメント、又は前記ポリヌクレオチドを含む 1 つのベクターの、ヒトRAG1遺伝子における変異に関連するSCID症候群を予防、改善又は治療するための医薬品の製造のための使用。