

【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23日 (2017.2.23)

【公表番号】特表2016-501532(P2016-501532A)

【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2015-547545(P2015-547545)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

A 0 1 K 67/027 (2006.01)

C 1 2 N 15/873 (2010.01)

C 1 2 N 7/00 (2006.01)

A 0 1 H 1/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/43 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 0 1 K 67/033 (2006.01)

C 1 2 N 1/13 (2006.01)

C 1 2 N 1/11 (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)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 9/16 Z

A 0 1 K 67/027

C 1 2 N 15/00 K

C 1 2 N 7/00

A 0 1 H 1/00 A

A 6 1 K 37/02

A 6 1 K 37/48

A 6 1 K 48/00

A 0 1 K 67/033 5 0 1

C 1 2 N 1/13

C 1 2 N 1/11

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 5/00 1 0 1

【手続補正書】

【提出日】平成29年1月17日 (2017.1.17)

【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】

天然に存在しない又はエンジニアリングされた組成物であって、

I. CRISPR-Cas系キメラRNA (chimeric RNA) ポリヌクレオチド配列に
作動可能に結合している第1の調節エレメントであって、前記ポリヌクレオチド配列が、

(a) 真核細胞中の標的配列にハイブリダイズし得るガイド配列、

(b) tracrメイト配列、及び

(c) tracr配列

を含む、第1の調節エレメント、並びに

II. 少なくとも1つ以上の核局在化配列を含むCRISPR酵素をコードする酵素
コー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むベクター系を含み、

(a)、(b)及び(c)は、5'～3'配向で配置されており、

成分I及びIIは、前記系の同じ又は異なるベクター上に位置し、

転写されると、前記tracrメイト配列が、前記tracr配列にハイブリダイズし
、前記ガイド配列が、前記標的配列へのCRISPR複合体の配列特異的結合を指向し、

前記CRISPR複合体が、(1)前記標的配列にハイブリダイズされる前記ガイド配
列、及び(2)前記tracr配列にハイブリダイズされる前記tracrメイト配列と
複合体形成している前記CRISPR酵素を含み、

前記CRISPR酵素が、コリネバクター (Corynebacter)、レジオネラ (Legionella)
、トレポネマ (Treponema)、マイコプラズマ (Mycoplasma)、ネイセリア (Neisser
ia)、スタフィロコッカス (Staphylococcus) 及びカンピロバクター (Campylobacter)
からなる群に属する属のCas9オルソログである、
組成物。

【請求項2】

前記CRISPR酵素が、黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) Cas9 (Sa
Cas9) である、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

前記CRISPR酵素が、前記酵素のいずれかのドメインにおいて1つ以上の突然変異
を有する、請求項1又は2に記載の組成物。

【請求項4】

前記CRISPR酵素が、触媒ドメインにおいて1つ以上の突然変異を有する、請求項
3に記載の組成物。

【請求項5】

前記1つ以上の突然変異が、前記CRISPR酵素のRuvC I、RuvC II、
RuvC III又はHNHドメインに存在する、請求項3又は4に記載の組成物又は酵
素。

【請求項6】

前記CRISPR酵素が、D10A、H840A、N854A又はN863Aにおける
SpCas9の位置ナンバリングに対応する1つ以上の突然変異を含む、請求項4又は5
に記載の組成物又は酵素。

【請求項7】

前記Cas9酵素が、機能ドメインをさらに含む、前述の請求項のいずれか一項に記載
の組成物。

【請求項8】

前記機能ドメインが、転写アクチベータードメインである、請求項7に記載の組成物。

【請求項9】

前記転写アクチベータードメインが、VP64である、請求項8に記載の組成物。

【請求項10】

前記機能ドメインが、転写リプレッサードメインである、請求項7に記載の組成物。

【請求項11】

前記転写リプレッサードメインが、KRAB、SID又はSID4Xである、請求項1

0 に記載の組成物。

【請求項 1 2】

前記機能ドメインが、リコンビナーゼ、トランスポーゼース、ヒストンリモデラー、DNAメチルトランスフェラーゼ、クリプトクロム及び光誘導性/制御性ドメイン又は化学誘導性/制御性ドメインである、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 1 3】

前記 CRISPR 酵素をコードする前記ポリヌクレオチド配列が、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、前述の請求項のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 4】

2 つ以上の chRNA を含む、前述の請求項のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 5】

1 つ以上のベクターを含むベクター系を含む、前述の請求項のいずれか一項に記載の組成物であって、前記成分 I 及び II を含む又はコードするポリヌクレオチド配列が、前記系の同じ又は異なるベクター上に位置する、組成物。

【請求項 1 6】

前記ベクター系が、単一ベクターを含む、請求項 1 5 に記載の組成物。

【請求項 1 7】

前記 1 つ以上のベクターが、1 つ以上のウイルスベクターを含む、請求項 1 5 に記載の組成物。

【請求項 1 8】

前記 1 つ以上のウイルスベクターが、1 つ以上のレトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス又は単純ヘルペスウイルスベクターを含む、請求項 1 7 に記載の組成物。

【請求項 1 9】

ナノ粒子、リポソーム、エキソソーム、酵母系又はマイクロベシクルを含む、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 0】

前記ベクター系が、前記標的配列の開裂した鎖中への挿入のための DNA を含み、前記 CRISPR 酵素が、前記標的配列を開裂し、挿入のための前記 DNA が、前記標的配列の開裂した鎖中に挿入し、それによって、前記 CRISPR - Cas 系が、前記標的配列を有する真核細胞中に導入されると、媒介性ゲノムターゲティングをもたらす、前述の請求項のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 1】

前述の請求項のいずれか一項に記載の組成物を含む、エキスピボ又はインビトロ宿主細胞若しくは細胞系又はその子孫であって、前記宿主細胞又は細胞系が、ヒト生殖細胞系ではない、エキスピボ又はインビトロ宿主細胞若しくは細胞系又はその子孫。

【請求項 2 2】

幹細胞又は幹細胞系である、請求項 2 1 に記載のエキスピボ又はインビトロ宿主細胞、細胞系又はその子孫。

【請求項 2 3】

目的のゲノム遺伝子座での 1 つ以上の標的配列の操作によって生物を改変する方法であって、請求項 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の組成物を前記生物に送達することを含み、前記生物が、非動物生物である、方法。

【請求項 2 4】

目的のゲノム遺伝子座での 1 つ以上の標的配列の操作によって細胞又は生物を改変するエキスピボ方法であって、請求項 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の組成物を前記細胞に送達することを含み、前記方法が、人間の生殖系列の遺伝的同一性を改変するためのプロセスを含まない、方法。

【請求項 2 5】

前記生物が、植物又は藻類である、請求項 2 3 又は 2 4 に記載の方法。

【請求項 26】

エキスピボ遺伝子又はゲノム編集のための請求項 1 ～ 20 のいずれか一項に記載の組成物の使用であって、前記使用が、人間の生殖系列の遺伝的同一性を改変するためのプロセスを含まない、使用。

【請求項 27】

医薬品の調製のための、請求項 1 ～ 20 のいずれか一項に記載の組成物の使用。

【請求項 28】

遺伝子突然変異から生じる眼の異常の補正において使用するための、請求項 1 ～ 20 のいずれか一項に記載の組成物；請求項 21 若しくは 22 に記載の細胞若しくは細胞系；又は、遺伝子突然変異から生じる眼の異常を補正するための、請求項 23 ～ 27 のいずれか一項に記載の方法若しくは使用。