

【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16日(2021.9.16)

【公表番号】特表2020-533963(P2020-533963A)

【公表日】令和2年11月26日(2020.11.26)

【年通号数】公開・登録公報2020-048

【出願番号】特願2020-507102(P2020-507102)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)
 A 0 1 H 1/00 (2006.01)
 A 0 1 H 5/00 (2018.01)
 A 0 1 H 5/10 (2018.01)
 C 1 2 N 15/31 (2006.01)
 C 1 2 N 15/82 (2006.01)
 C 1 2 N 15/55 (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)
 C 1 2 N 9/16 (2006.01)
 C 0 7 K 14/245 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 0 0
 A 0 1 H 1/00 Z N A A
 A 0 1 H 5/00 A
 A 0 1 H 5/10
 C 1 2 N 15/31
 C 1 2 N 15/82 1 5 4 Z
 C 1 2 N 15/82 Z
 C 1 2 N 15/55
 C 1 2 N 1/15
 C 1 2 N 1/19
 C 1 2 N 1/21
 C 1 2 N 5/10
 C 1 2 N 9/16 Z
 C 0 7 K 14/245

【手続補正書】

【提出日】令和3年8月6日(2021.8.6)

【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】

真核細胞のゲノムにおける標的部位でヌクレオチド配列を修飾する方法であって、前記真核細胞に

(i) DNA 標的化 RNA、又は DNA 標的化 RNA をコードする DNA ポリヌクレオ

チド、ここで、DNA 標的化 RNA は、(a) 標的 DNA の配列に相補的なヌクレオチド配列を含む第 1 のセグメント；及び (b) C m s 1 ポリペプチドと相互作用する第 2 のセグメントを含む；ならびに

(i i) C m s 1 ポリペプチド、又は C m s 1 ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、ここで、C m s 1 ポリペプチドは、(a) DNA 標的化 RNA と相互作用する RNA 結合部分；及び (b) 部位特異的酵素活性を示す活性部分を含む、を導入することを含み、

ここで、前記 C m s 1 ポリペプチドは、配列番号 6 2、2 0 ~ 2 3、3 0 ~ 6 1、6 3 ~ 6 9、及び 2 2 2 ~ 2 5 4 からなる群から選択される配列と少なくとも 9 5 % の同一性を有し、C m s 1 ヌクレアーゼ活性を有し、前記方法は、前記標的部位で前記ヌクレオチド配列を修飾し、真核細胞の前記ゲノムは、核、色素体、又はミトコンドリアのゲノムである上記方法。

【請求項 2】

原核細胞のゲノムにおける標的部位でヌクレオチド配列を修飾する方法であって、前記原核細胞に

(i) DNA 標的化 RNA、又は DNA 標的化 RNA をコードする DNA ポリヌクレオチド、ここで、DNA 標的化 RNA は、(a) 標的 DNA の配列に相補的なヌクレオチド配列を含む第 1 のセグメント；及び (b) C m s 1 ポリペプチドと相互作用する第 2 のセグメントを含む；ならびに

(i i) C m s 1 ポリペプチド、又は C m s 1 ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、ここで、C m s 1 ポリペプチドは、(a) DNA 標的化 RNA と相互作用する RNA 結合部分；及び (b) 部位特異的酵素活性を示す活性部分を含む、を導入することを含み、

ここで、前記 C m s 1 ポリペプチドは、配列番号 6 2、2 0 ~ 2 3、3 0 ~ 6 1、6 3 ~ 6 9、及び 2 2 2 ~ 2 5 4 からなる群から選択される配列と少なくとも 9 5 % の同一性を有し、C m s 1 ヌクレアーゼ活性を有し、原核細胞の前記ゲノムは、染色体、プラスミド、又は他の細胞内 DNA 配列であり、前記原核細胞は前記 C m s 1 ポリペプチドをコードする遺伝子の天然の宿主ではない上記方法。

【請求項 3】

前記真核細胞が植物細胞である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

C m s 1 ポリペプチドが発現され、標的部位でヌクレオチド配列を切断して修飾ヌクレオチド配列を生成する条件下で植物細胞を培養して植物を生成し；及び

前記修飾ヌクレオチド配列を含む植物を選択することをさらに含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 C m s 1 ポリペプチドが、配列番号 6 2、2 0 ~ 2 3、3 0 ~ 6 1、6 3 ~ 6 9、及び 2 2 2 ~ 2 5 4 からなる群から選択される配列を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記 C m s 1 ポリペプチドが、配列番号 6 2、2 0 ~ 2 3、3 0 ~ 6 1、6 3 ~ 6 9、及び 2 2 2 ~ 2 5 4 からなる群から選択される配列を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 7】

前記修飾ヌクレオチド配列が、細胞のゲノムへの異種 DNA の挿入、細胞のゲノムからのヌクレオチド配列の欠失、又は細胞のゲノムにおける少なくとも 1 つのヌクレオチドの突然変異を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記修飾ヌクレオチド配列が、細胞のゲノムへの異種 DNA の挿入、細胞のゲノムからのヌクレオチド配列の欠失、又は細胞のゲノムにおける少なくとも 1 つのヌクレオチドの突然変異を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 9】

前記修飾ヌクレオチド配列が、形質転換細胞に抗生物質又は除草剤耐性を付与するタンパク質をコードするポリヌクレオチドの挿入を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

抗生物質又は除草剤耐性を付与するタンパク質をコードする前記ポリヌクレオチドが、配列番号 7 を含むか、又は配列番号 8 を含むタンパク質をコードする、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

Cms1ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む核酸分子であって、前記ポリヌクレオチド配列は、配列番号 142、16～19、24～27、70～141、143～146、174～176、及び 255～287 からなる群から選択される配列と少なくとも 95% の同一性を有し、又は前記ポリヌクレオチド配列は、配列番号 62、20～23、30～61、63～69、及び 222～254 からなる群から選択される配列と少なくとも 95% の同一性を有する Cms1ポリペプチドをコードし、Cms1ヌクレアーゼ活性を有し、Cms1ポリペプチドをコードする前記ポリヌクレオチド配列は、Cms1ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列に対して異種であるプロモーターに作動可能に連結されている上記核酸分子。

【請求項 12】

Cms1ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む前記核酸分子が、配列番号 142、16～19、24～27、70～141、143～146、174～176、及び 255～287 からなる群から選択される配列を含み、又は配列番号 62、20～23、30～61、63～69、及び 222～254 からなる群から選択される配列を含む Cms1ポリペプチドをコードする、請求項 11 に記載の核酸分子。

【請求項 13】

請求項 11 に記載の核酸分子によってコードされる Cms1ポリペプチド。

【請求項 14】

請求項 11 に記載の核酸分子を含む、植物細胞、真核細胞、又は原核細胞。

【請求項 15】

請求項 12 に記載の核酸分子を含む、植物細胞、真核細胞、又は原核細胞。

【請求項 16】

請求項 1 に記載の方法によって生成された真核細胞。

【請求項 17】

前記真核細胞が植物細胞である、請求項 16 に記載の真核細胞。

【請求項 18】

請求項 11 に記載の核酸分子を含む植物。

【請求項 19】

請求項 12 に記載の核酸分子を含む植物。

【請求項 20】

請求項 3 に記載の方法によって生成された植物。

【請求項 21】

請求項 18 に記載の植物の種子。

【請求項 22】

請求項 20 に記載の植物の種子。

【請求項 23】

Cms1ポリペプチドをコードする前記ポリヌクレオチド配列が、植物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 11 に記載の核酸分子。

【請求項 24】

Cms1ポリペプチドをコードする前記ポリヌクレオチドが、植物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 3 に記載の方法。