

【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6年8月26日(2024.8.26)

【国際公開番号】WO2022/066335  
 【公表番号】特表2023-542976(P2023-542976A)  
 【公表日】令和5年10月12日(2023.10.12)  
 【年通号数】公開公報(特許)2023-192  
 【出願番号】特願2023-518720(P2023-518720)  
 【国際特許分類】  
 C 1 2 N 15/09(2006.01)  
 C 1 2 N 15/11(2006.01)  
 C 1 2 N 9/22(2006.01)

10

【F I】  
 C 1 2 N 15/09 1 1 0  
 C 1 2 N 15/11 Z Z N A  
 C 1 2 N 9/22

【手続補正書】  
 【提出日】令和6年8月16日(2024.8.16)

20

【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】

操作されたヌクレアーゼ系であって、  
R u v Cドメインを含むエンドヌクレアーゼであって、配列番号1、12、16、20  
~ 30、64、または80~85のいずれか1つに対して少なくとも80%の同一性を有  
するクラスII、タイプV-KのCasエフェクターである、エンドヌクレアーゼと、  
操作されたガイドリボ核酸(RNA)であって、前記エンドヌクレアーゼと複合体を形  
成するように構成され、標的核酸配列にハイブリダイズするように構成されたスパー  
配列を含む、操作されたガイドRNAと  
を含む、操作されたヌクレアーゼ系。

30

【請求項2】  
前記エンドヌクレアーゼが、配列番号1、12、16、20~30、64、または80  
~ 85のいずれか1つに対して少なくとも90%の配列同一性を有する配列を含む、請求  
項1に記載の操作されたヌクレアーゼ系。

40

【請求項3】  
前記エンドヌクレアーゼが配列番号1を含む、請求項1または2に記載の操作されたヌ  
クレアーゼ系。

【請求項4】  
前記操作されたガイドRNAが、配列番号6、32~33、94~95、または104  
~ 105のいずれか1つに対して少なくとも80%の同一性を有する、少なくとも約46  
~ 80個の連続したヌクレオチドを含む配列を含む、請求項1~3のいずれか一項に記載  
の操作されたヌクレアーゼ系。

【請求項5】  
前記操作されたガイドRNAが、配列番号5または6のいずれか1つに対して少なくとも  
90%の同一性を有する、少なくとも約46~80個の連続したヌクレオチドを含む配列

50

を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の操作されたヌクレアーゼ系。

【請求項 6】

前記操作されたガイド RNA が、配列番号 106 ~ 108 のいずれか 1 つの非縮重ヌクレオチドに対して少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の操作されたヌクレアーゼ系。

【請求項 7】

前記操作されたガイド RNA が、配列番号 5、45 ~ 63、68 ~ 75、または 96 ~ 103 のいずれか 1 つの非縮重ヌクレオチドに対して少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の操作されたヌクレアーゼ系。

【請求項 8】

前記エンドヌクレアーゼが、配列番号 31 を含むプロトスペーサー隣接モチーフ (PAM) 配列に結合するように構成される、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の操作されたヌクレアーゼ系。

【請求項 9】

Tn7 タイプのトランスポザゼ複合体と相互作用するように構成されたカーゴヌクレオチド配列を含む二本鎖核酸と、

クラス II、タイプ V の Cas エフェクター、および前記標的核酸部位にハイブリダイズするように構成された操作されたガイドポリヌクレオチドを含む、Cas エフェクター複合体と、

前記 Cas エフェクター複合体に結合するように構成された前記 Tn7 タイプのトランスポザゼ複合体であって、TnsB サブユニットを含む、Tn7 タイプのトランスポザゼ複合体と

を含む、標的核酸部位にカーゴヌクレオチド配列を転位させるための系。

【請求項 10】

前記クラス II、タイプ V の Cas エフェクターが、配列番号 1、12、16、20 ~ 30、64、または 80 ~ 85 のいずれか 1 つに対して少なくとも 80 % の同一性を有する配列を含むポリペプチドを含む、請求項 9 に記載の系。

【請求項 11】

前記クラス II、タイプ V の Cas エフェクターが、配列番号 1、12、16、20 ~ 30、64、または 80 ~ 85 のいずれか 1 つに対して少なくとも 90 % の同一性を有する配列を含むポリペプチドを含む、請求項 9 または 10 に記載の系。

【請求項 12】

前記クラス II、タイプ V の Cas エフェクターが配列番号 1 を含むポリペプチドを含む、請求項 9 ~ 11 のいずれか一項に記載の系。

【請求項 13】

前記 TnsB サブユニットが、配列番号 2、13、17、または 65 のいずれか 1 つに対して少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含むポリペプチドを含む、請求項 9 ~ 12 のいずれか一項に記載の系。

【請求項 14】

前記 TnsB サブユニットが、配列番号 2 に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する配列を含むポリペプチドを含む、請求項 9 ~ 13 のいずれか一項に記載の系。

【請求項 15】

前記 Tn7 タイプのトランスポザゼ複合体が、配列番号 3 ~ 4、14 ~ 15、18 ~ 19、または 66 ~ 67 のいずれか 1 つに対して少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含むポリペプチドを含む、請求項 9 ~ 14 のいずれか一項に記載の系。

【請求項 16】

前記 Tn7 タイプのトランスポザゼ複合体が、配列番号 3 または 4 に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する配列を含むポリペプチドを含む、請求項 9 ~ 15 のいずれか一項に記載の系。

【請求項 17】

10

20

30

40

50

前記操作されたガイドポリヌクレオチドが、配列番号 106、107、108、5、45 ~ 63、68 ~ 75、または 96 ~ 103 のいずれか 1 つの非縮重ヌクレオチドに対して少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列を含む、請求項 9 ~ 16 のいずれか一項に記載の系。

【請求項 18】

前記操作されたガイドポリヌクレオチドが、配列番号 5 ~ 6、32 ~ 33、94 ~ 95、または 104 ~ 105 のいずれか 1 つに対して少なくとも 80 % の配列同一性を有する、少なくとも約 46 ~ 80 個の連続したヌクレオチドを含む配列を含む、請求項 9 ~ 17 のいずれか一項に記載の系。

【請求項 19】

前記操作されたガイドポリヌクレオチドが、配列番号 5 または 6 のいずれか 1 つに対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する、少なくとも約 46 ~ 80 個の連続したヌクレオチドを含む配列を含む、請求項 9 ~ 18 のいずれか一項に記載の系。

【請求項 20】

前記カーゴヌクレオチド配列が、左側のトランスポザーゼ認識配列および右側のトランスポザーゼ認識配列に隣接している、請求項 9 ~ 19 のいずれか一項に記載の系。

【請求項 21】

前記左側のトランスポザーゼ認識配列が、配列番号 9、11、36 ~ 38、76、または 78 のいずれか 1 つに対して少なくとも 80 % の同一性を有する配列を含む、請求項 20 に記載の系。

【請求項 22】

前記右側のトランスポザーゼ認識配列が、配列番号 8、10、39 ~ 44、77、79、または 93 のいずれか 1 つに対して少なくとも 80 % の同一性を有する配列を含む、請求項 20 または 21 に記載の系。

【請求項 23】

標的ヌクレオチド配列を、請求項 9 ~ 22 のいずれか一項に記載の系と接触させる工程を含む、標的ヌクレオチド配列を修飾する方法。

【請求項 24】

前記標的ヌクレオチド配列が細胞内にある、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

請求項 9 ~ 22 のいずれか一項に記載の系をコードする 1 つ以上の核酸。

10

20

30

40

50