

【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 10 月 28 日 (2021.10.28)

【公表番号】特表 2020-535802 (P2020-535802A)

【公表日】令和 2 年 12 月 10 日 (2020.12.10)

【年通号数】公開・登録公報 2020-050

【出願番号】特願 2020-516525 (P2020-516525)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/55 (2006.01)

C 1 2 N 15/62 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/50 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 0 0

C 1 2 N 15/63 Z N A Z

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 15/55

C 1 2 N 15/62 Z

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 K 38/50

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 9 月 17 日 (2021.9.17)

【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】

触媒的に不活性な C a s 1 3 エフェクタータンパク質 ( d C a s 1 3 )、または前記触媒的に不活性な C a s 1 3 エフェクタータンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む、エンジニアリングされた天然に存在しない系。

【請求項 2】

前記 d C a s 1 3 タンパク質が、C 末端、N 末端、または両方で短縮される、請求項 1 に記載の系。

【請求項 3】

前記 d C a s 1 3 が、前記 C 末端上の少なくとも 20、少なくとも 40、少なくとも 60、少なくとも 80、少なくとも 100、少なくとも 120、少なくとも 140、少なくとも 160、少なくとも 180、少なくとも 200、少なくとも 220、少なくとも 240、少なくとも 260、または少なくとも 300 アミノ酸短縮されるか、または、前記 d C a s 1 3 が、前記 N 末端上の少なくとも 20、少なくとも 40、少なくとも 60、少なくとも 80、少なくとも 100、少なくとも 120、少なくとも 140、少なくとも 160、少なくとも 180、少なくとも 200、少なくとも 220、少なくとも 240

、少なくとも260、または少なくとも300アミノ酸短縮される、請求項2に記載の系。

【請求項4】

前記Cas13エフェクタータンパク質の短縮型が、C末端 984 - 1090、C末端 1026 - 1090、C末端 1053 - 1090、C末端 934 - 1090、C末端 884 - 1090、C末端 834 - 1090、C末端 784 - 1090、またはC末端 734 - 1090で短縮されており、前記短縮のアミノ酸位置が、Prevotella sp. P5 - 125 Cas13bタンパク質のアミノ酸位置に対応するか、または

前記Cas13エフェクタータンパク質の短縮型が、C末端 795 - 1095で短縮されており、前記短縮のアミノ酸位置が、Riemerella anatipestifer Cas13bタンパク質のアミノ酸位置に対応するか、または、

前記Cas13エフェクタータンパク質の短縮型が、C末端 875 - 1175、C末端 895 - 1175、C末端 915 - 1175、C末端 935 - 1175、C末端 955 - 1175、C末端 975 - 1175、C末端 995 - 1175、C末端 1015 - 1175、C末端 1035 - 1175、C末端 1055 - 1175、C末端 1075 - 1175、C末端 1095 - 1175、C末端 1115 - 1175、C末端 1135 - 1175、C末端 1155 - 1175で短縮されており、アミノ酸位置が、Porphyromonas gulae Cas13bタンパク質のアミノ酸位置に対応するか、または

前記Cas13エフェクタータンパク質の短縮型が、N末端 1 - 125、N末端 1 - 88、またはN末端 1 - 72で短縮されており、前記短縮のアミノ酸位置が、Prevotella sp. P5 - 125 Cas13bタンパク質のアミノ酸位置に対応する、

請求項2に記載の系。

【請求項5】

前記dCas13が、前記Cas13エフェクタータンパク質のHEPNドメインで、Cas13エフェクタータンパク質の短縮型を含む、請求項1に記載の系。

【請求項6】

前記Cas13エフェクタータンパク質が、Cas13a、Cas13b、Cas13cまたはCas13dである、請求項1に記載の系。

【請求項7】

機能性成分をさらに含む、または前記ヌクレオチド配列が、前記機能性成分をさらにコードする、請求項1に記載の系。

【請求項8】

前記機能性成分が、塩基編集成分である、請求項7に記載の系。

【請求項9】

前記塩基編集成分が、アデノシンデアミナーゼ、シチジンデアミナーゼ、またはその触媒ドメインを含む、請求項8に記載の系。

【請求項10】

前記アデノシンデアミナーゼ、前記シチジンデアミナーゼ、またはその前記触媒ドメインが、前記dCas13に融合される、請求項9に記載の系。

【請求項11】

前記アデノシンデアミナーゼ、前記シチジンデアミナーゼ、またはその前記触媒ドメインが、リンカーによって、前記dCas13に融合される、請求項10に記載の系。

【請求項12】

前記アデノシンデアミナーゼ、前記シチジンデアミナーゼ、またはその前記触媒ドメインが、前記dCas13の内部ループに挿入される、請求項9に記載の系。

【請求項13】

前記アデノシンデアミナーゼ、前記シチジンデアミナーゼ、またはその前記触媒ドメイ

ンが、アダプタータンパク質に連結される、請求項 9 に記載の系。

【請求項 14】

前記アダプタータンパク質が、MS2、PP7、Q、F2、GA、fr、JP501、M12、R17、BZ13、JP34、JP500、KU1、M11、MX1、TW18、VK、SP、FI、ID2、NL95、TW19、AP205、Cb5、Cb8r、Cb12r、Cb23r、7s 及び PRR1 から選択される、請求項 13 に記載の系。

【請求項 15】

前記アデノシンデアミナーゼ、前記シチジンデアミナーゼ、またはその前記触媒ドメインが、ヒト、頭足類、または *Drosophila* タンパク質である、請求項 9 に記載の系。

【請求項 16】

前記 dCas13 が、スプリット Cas13 エフェクタータンパク質である、請求項 1 に記載の系。

【請求項 17】

前記スプリット Cas13 エフェクタータンパク質が、第 1 のスプリット Cas13 エフェクタータンパク質であり、第 2 のスプリット Cas13 エフェクタータンパク質に融合して、触媒的に活性な Cas13 エフェクタータンパク質を形成することができる、請求項 16 に記載の系。

【請求項 18】

前記第 1 及び前記第 2 の Cas13 エフェクタータンパク質の融合が、誘導性である、請求項 17 に記載の系。

【請求項 19】

前記機能性成分が、転写因子またはその活性ドメインである、請求項 7 に記載の系。

【請求項 20】

前記 dCas13 が、前記転写因子またはその前記活性ドメインと融合される、請求項 19 に記載の系。

【請求項 21】

ガイド配列をさらに含む、請求項 1 に記載の系。

【請求項 22】

請求項 1 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の dCas13 をコードする 1 つ以上のベクターを含む、ベクター系。

【請求項 23】

請求項 1 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の系を含む、インビトロまたはエキソビボの宿主細胞もしくはその子孫または細胞株もしくはその子孫。

【請求項 24】

請求項 1 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の系を細胞に送達することを含む、標的配列のプログラム可能なかつ標的化された塩基編集の方法、ただし、ヒトの治療方法は除く。

【請求項 25】

目的の前記標的配列を決定すること、及び前記標的配列に存在するアデニンまたはシチジンを最も効率的に脱アミノ化するアデノシンデアミナーゼ、シチジンデアミナーゼ、またはその触媒ドメインを選択することをさらに含む、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記脱アミノ化が、病原性 T(U) C、A G、G A、または C T 点突然変異を含む転写物によって引き起こされる疾患を治す、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

標的遺伝子座での核酸の改変方法であって、

(1) 請求項 1 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の系であって、前記 dCas13 は、第 1 のスプリット Cas13 エフェクタータンパク質である、前記系、及び (2) 第 2 のスプリット Cas13 エフェクタータンパク質であって、前記第 1 及び前記第 2 のスプリット C

a s 1 3 エフェクタータンパク質は、触媒的に活性な C a s 1 3 エフェクタータンパク質を形成することができる、前記第 2 のスプリット C a s 1 3 エフェクタータンパク質、を送達することを含む、前記方法、ただし、ヒトの治療方法は除く。

【請求項 2 8】

細胞中の標的遺伝子の調節方法であって、

請求項 1 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の系を送達することを含み、前記 d C a s 1 3 は、転写因子またはその活性ドメインに融合される、前記方法、ただし、ヒトの治療方法は除く。