

【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<sub>as</sub>13エフェクタータンパク質(dC<sub>as</sub>13)、または前記触媒的に不活性なC<sub>as</sub>13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dC<sub>as</sub>13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dC<sub>as</sub>13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dC<sub>as</sub>13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 d Cas13 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 d Cas13 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 d Cas13 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 d Cas13 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、M S 2、P P 7、Q 、F 2、G A、f r、J P 5 0 1、M 1 2、R 1 7、B Z 1 3、J P 3 4、J P 5 0 0、K U 1、M 1 1、M X 1、T W 1 8、V K、S P、F I、I D 2、N L 9 5、T W 1 9、A P 2 0 5、C b 5、C b 8 r、C b 1 2 r、C b 2 3 r、7 s 及びP R R 1 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D r o s o p h i l a タンパク質である、請求項 9 に記載の系。

【請求項 16】

前記d C a s 1 3 が、スプリットC a s 1 3 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C a s 1 3 エフェクタータンパク質が、第 1 のスプリットC a s 1 3 エフェクタータンパク質であり、第 2 のスプリットC a s 1 3 エフェクタータンパク質に融合して、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、請求項 16 に記載の系。

【請求項 18】

前記第 1 及び前記第 2 のC a s 1 3 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d C a s 1 3 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 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載のd C a s 1 3 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 ~ 2 1 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オ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 ~ 2 1 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 2 4 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 2 5 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 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の系であって、前記d C a s 1 3 は、第 1 のスプリットC a s 1 3 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C a s 1 3 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 エフェクターアンパク質は、触媒的に活性な C a s 1 3 エフェクターア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 エフェクターアンパク質、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。