

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2021年10月14日(14.10.2021)



(10) 国際公開番号

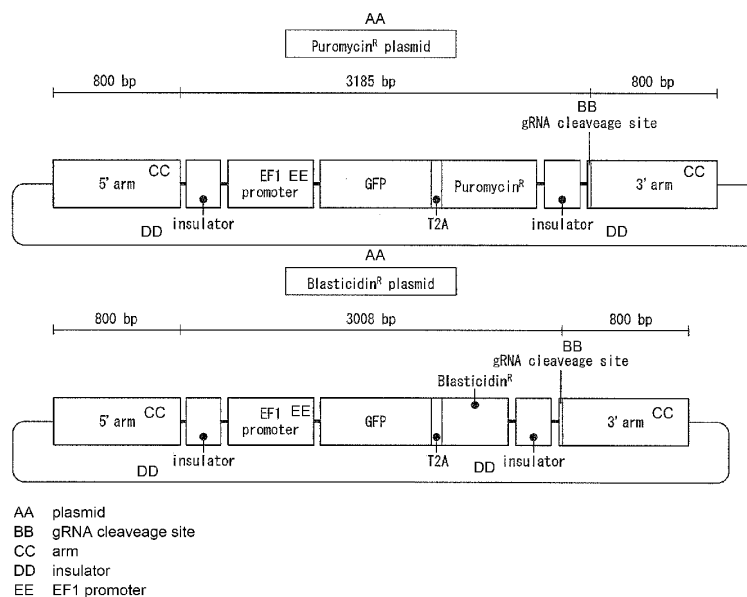
WO 2021/206054 A1

- (51) 国際特許分類:
C12N 5/10 (2006.01) C12N 1/21 (2006.01)
C12N 1/15 (2006.01) C12N 15/09 (2006.01)
C12N 1/19 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2021/014495
- (22) 国際出願日: 2021年4月5日(05.04.2021)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2020-068266 2020年4月6日(06.04.2020) JP
特願 2020-141335 2020年8月25日(25.08.2020) JP
- (71) 出願人: 株式会社 L o g o m i x (LOGOMIX, INC.) [JP/JP]; 〒1040053 東京都中央区晴海 4
- ー 7 - 4 Tokyo (JP). 国立大学法人東京工業大学(TOKYO INSTITUTE OF TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒1528550 東京都目黒区大岡山 2 丁目 1 2 番 1 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 相澤 康則 (AIZAWA Yasunori); 〒1528550 東京都目黒区大岡山 2 丁目 1 2 番 1 号 国立大学法人東京工業大学内 Tokyo (JP). 大野 知幸(OHNO Tomoyuki); 〒1528550 東京都目黒区大岡山 2 丁目 1 2 番 1 号 国立大学法人東京工業大学内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 大野 聖二, 外 (OHNO Seiji et al.); 〒1000005 東京都千代田区丸の内一丁目 6 番 5 号 丸の内北口ビル 2 1 階 大野総合法律事務所 Tokyo (JP).

(54) Title: GENOME ALTERATION METHOD AND GENOME ALTERATION KIT

(54) 発明の名称: ゲノム改変方法及びゲノム改変キット

[図1]



(57) Abstract: Provided are a genome alteration method and a genome alteration kit that enable alteration of two or more alleles efficiently and that enable alteration of a relatively large region. This genome alteration method is for altering two or more alleles in a chromosomal genome, the method comprising: (a) a step for introducing, to cells including said chromosome, (i) a genome alteration system including a sequence-specific nucleic acid cleaving molecule that targets a target region of the chromosome genome or a polynucleotide encoding said sequence-specific nucleic acid cleaving

[続葉有]

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))
- 一 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

molecule, and (ii) two or more types of selection marker donor DNA strands having mutually different selection marker genes (the number of types of the selection marker donor DNA strands is equal to or more than the number of alleles to be subjected to genome alteration); and (b) a step for selecting the cells on the basis of all the selection marker genes included in said two or more types of selection marker donor DNA strands.

(57) 要約: 2つ以上のアレルを効率よく改変することができ、且つ比較的大きな領域の改変が可能な、ゲノム改変方法及び前記ゲノム改変キットを提供する。染色体ゲノムの2つ以上のアレルを改変するゲノム改変方法であって、(a) 下記(i)及び(ii)を、前記染色体を含む細胞に導入する工程と、(i) 前記染色体ゲノムの標的領域を標的とする配列特異的核酸切断分子、又は前記配列特異的核酸切断分子をコードするポリヌクレオチドを含むゲノム改変システム、(ii) 相互に異なる選択マーカー遺伝子を有する、2種以上の選択マーカー用ドナーDNA (前記選択マーカー用ドナーDNAの種類数は、ゲノム改変の対象とする前記アレルの数と同数以上である)、(b) 前記2種以上の選択マーカー用ドナーDNAが有する全ての選択マーカー遺伝子に基づいて、前記細胞を選択する工程と、を含む、ゲノム改変方法。