

審決

不服2017- 13796

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02142・ケンブリッジ・メイン・ストリート・415

請求人 ザ・ブロード・インスティテュート・インコーポレイテッド

東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 グラントウキョウサウスタワー 特許業
務法人 志賀国際特許事務所
代理人弁理士 村山 靖彦

東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 グラントウキョウサウスタワー 特許業
務法人 志賀国際特許事務所
代理人弁理士 実広 信哉

東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 グラントウキョウサウスタワー 特許業
務法人 志賀国際特許事務所
代理人弁理士 阿部 達彦

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02139-4307・ケンブリッジ・マサチューセッツ・アベニュー・77

請求人 マサチューセッツ・インスティテュート・オブ・テクノロジー

東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 グラントウキョウサウスタワー 特許業
務法人 志賀国際特許事務所
代理人弁理士 村山 靖彦

東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 グラントウキョウサウスタワー 特許業
務法人 志賀国際特許事務所
代理人弁理士 実広 信哉

東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 グラントウキョウサウスタワー 特許業
務法人 志賀国際特許事務所
代理人弁理士 阿部 達彦

特願2016-128599「遺伝子産物の発現を変更するためのCRISPR-Cas系および方法」拒絶査定不服審判事件〔平成28年9月29日出願公開、特開2016-171817〕について、次のとおり審決する。

結 論

本件審判の請求は、成り立たない。

理由

第1 手続の経緯

本願は、平成25年12月12日（パリ条約による優先権主張 2012年12月12日 米国、2013年1月2日 米国、2013年3月15日 米国、2013年6月17日 米国、2013年7月2日 米国、2013年10月15日 米国）を国際出願日とする特許出願である特願2015-547555号の一部を、平成28年6月29日に新たな特許出願としたものであって、その手続の経緯は以下のとおりである。

平成28年 8月30日付け：拒絶理由通知書
平成29年 3月13日：意見書、手続補正書の提出
平成29年 5月 9日付け：拒絶査定
平成29年 9月15日：審判請求書の提出
平成29年11月 1日：審判請求書を対象とする手続補正書、手続補正書の提出

第2 本願発明

本願の請求項1-16に係る発明は、平成29年3月13日に提出された手続補正書による補正後の特許請求の範囲の請求項1-16に記載された事項により特定されるものと認めるところ、その請求項1に係る発明（以下、「本願発明」という。）は、以下のとおりのものである。

「【請求項1】

エンジニアリングされた、天然に存在しないクラスター化等間隔短鎖回分リピート（CRISPR）-CRISPR関連（Cas）

（CRISPR-Cas）ベクター系であって、

a) 真核細胞中のポリヌクレオチド遺伝子座中の標的配列にハイブリダイズする1つ以上のCRISPR-Cas系ガイドRNAをコードする1つ以上のヌクレオチド配列に作動可能に結合している第1の調節エレメントであって、前記ガイドRNAが、ガイド配列、tracr配列及びtracrメイト配列を含む、第1の調節エレメント、

b) II型Cas9タンパク質をコードするヌクレオチド配列に作動可能に結合している第2の調節エレメントであって、前記タンパク質が、核局在化シグナル（NLS）を含む、第2の調節エレメントを含む1つ以上のベクターを含み；

成分（a）及び（b）が、前記系の同じ又は異なるベクター上に位置し、

前記tracr配列が、30以上のヌクレオチドの長さを有し、

それによって、前記1つ以上のガイドRNAが、真核細胞中の前記ポリヌクレオチド遺伝子座を標的とし、前記Cas9タンパク質が、前記ポリヌクレオチド遺伝子座を開裂し、それによって、前記ポリヌクレオチド遺伝子座の配列が、改変され；前記Cas9タンパク質及び前記1つ以上のガイドRNAが、いっしょに天然に存在しない、CRISPR-Casベクター系。」

第3 原査定の拒絶の理由

原査定の拒絶の理由は、次の理由を含むものである。

1 この出願の請求項1-16に係る発明は、その出願の日前の外国語特許出願（特許法第184条の4第3項の規定により取り下げられたものとみなされたものを除く。）であって、その出願後に国際公開がされた下記の先願1の国際出願日における国際出願の明細書、請求の範囲又は図面に記載され

た発明と同一であり、しかも、この出願の発明者がその出願前の外国語特許出願に係る上記の発明をした者と同じではなく、またこの出願の時に於いて、その出願人が上記外国語特許出願の出願人と同一でもないため、特許法第29条の2の規定により、特許を受けることができない（同法第184条の13参照）。

2 この出願の請求項1-16に係る発明は、その出願前に頒布された刊行物である下記の引用文献2に記載された発明及び周知技術に基づいて当業者が容易に発明をすることができたものであるから、特許法第29条第2項の規定により特許を受けることができない。

先願1 : PCT/US2013/073307号（国際公開第2014/089290号、特表2016-502840号公報）
引用文献2 : Science, Aug 2012, Vol. 337, p. 816-821, Supplementary Materials

第4 理由1（特許法第29条の2）について

1 先願1当初明細書等の記載

原査定で引用された、本願の第1優先日（2012年12月12日）より前の2012年12月6日をパリ条約による第1優先権主張日（以下、「先願1第1優先権主張日」という。）とする外国語特許出願（特許法第184条の4第3項の規定により取り下げられたものとみなされたものを除く。）であって、本願の出願後に国際公開がされた先願1（PCT/US2013/073307号（国際公開第2014/089290号、特表2016-502840号公報））の国際出願日における国際出願の明細書、請求の範囲又は図面（以下、「先願1当初明細書等」という。）には、以下の事項が記載されている。また、それとともに、これらの事項と同様の事項は先願1の第1優先権主張の基礎となる米国出願（61/734, 256）にも記載されている。なお、英文であるから、訳文として先願1の国内公表公報である特表2016-502840号公報の記載事項及び摘記箇所を示す（下線は当審で付した）。

（1-1）「【請求項13】

真核細胞または胚において染色体配列を修飾するための方法であって、
a) 真核細胞または胚に、(i) 少なくとも1つの核局在化シグナルを含む少なくとも1つのRNA誘導型エンドヌクレアーゼ、または少なくとも1つの核局在化シグナルを含む少なくとも1つのRNA誘導型エンドヌクレアーゼをコードする核酸、(ii) 少なくとも1つのガイドRNAまたは少なくとも1つのガイドRNAをコードするDNA、および任意に、(iii) 少なくとも1つのドナーポリヌクレオチドを導入し、
b) 真核細胞または胚を、各ガイドRNAが、RNA誘導型エンドヌクレアーゼを染色体配列中の標的部へ誘導し、そこでRNA誘導型エンドヌクレアーゼが、該標的部にて二本鎖の切断を誘導し、該二本鎖の切断が、染色体配列が修飾されるようにDNA修復過程により修復されるように培養することを含む、
方法。

【請求項14】

RNA誘導型エンドヌクレアーゼがCas9タンパク質に由来する、請求項13に記載の方法。」

（1-2）「【0004】

．．．
他の態様において、RNA誘導型エンドヌクレアーゼをコードする核酸配列は、プロモーター調節配列に操作可能に連結されていてよく、要すれば、

クターの一部であってよい。他の態様において、プロモーター調節配列に操作可能に連結されていてよいRNA誘導型エンドヌクレアーゼをコードする配列を含むベクターはまた、プロモーター調節配列に操作可能に連結されていてよいガイドRNAをコードする配列も含み得る。」

(1-3) 「【0014】

一態様において、RNA誘導型エンドヌクレアーゼは、II型CRISPR/Casシステム由来である。特定の態様において、RNA誘導型エンドヌクレアーゼは、Cas9タンパク質に由来する。」

(1-4) 「【0022】

任意の態様において、RNA誘導型エンドヌクレアーゼは、ガイドRNAを含むタンパク質-RNA複合体の一部であり得る。ガイドRNAは、RNA誘導型エンドヌクレアーゼと相互作用して、エンドヌクレアーゼを、特定の標的部位（ガイドRNA塩基対の5'末端にある特定のプロトSpacer配列）へ誘導する。」

(1-5) 「【0060】

任意のドナーポリヌクレオチドが存在する態様において、ドナーポリヌクレオチドにおけるドナー配列は、二本鎖の切断の修復中に標的部位において染色体配列で置換されるか、または染色体配列中に挿入され得る。例えば、ドナー配列が、染色体配列中の標的部位の上流および下流配列のそれぞれと実質的に同一の配列を有する上流および下流配列に挟まれている態様において、該ドナー配列は、相同組み換え修復過程により仲介される修復中に標的部位において染色体配列で置換されるか、または染色体配列に挿入され得る。」

(1-6) 「【0066】

(b) ガイドRNA

本方法はまた、細胞または胚に、少なくとも1つのガイドRNAまたは少なくとも1つのガイドRNAをコードするDNAを導入することも含む。ガイドRNAは、RNA誘導型エンドヌクレアーゼと相互作用して、エンドヌクレアーゼを、染色体配列中の特定のプロトSpacer配列を有するガイドRNA塩基対の5'末端である特定の標的部位へ導く。

【0067】

各ガイドRNAは、3つの領域：染色体配列中の標的部位に相補的である5'末端における第一の領域、ステムループ構造を形成する第二の内部領域、および本質的に一本鎖のままである第三の3'領域を含む。各ガイドRNAの第一の領域は、各ガイドRNAが融合タンパク質を特定の標的部位へ誘導するように異なっている。各ガイドRNAの第二および第三の領域は、全てのガイドRNAで同じであってよい。

【0069】

ガイドRNAはまた、二次構造を形成する第二の領域を含む。ある態様において、該二次構造は、ステム（またはヘアピン）およびループを含む。ループおよびステムの長さは可変である。例えば、ループは、約3から約10ヌクレオチド長の範囲であってよく、ステムは、約6から約20塩基対長であってよい。ステムは、1から約10ヌクレオチドの1またはそれ以上のバルジ(bulge)を含んでいてよい。従って、第二の領域の全体の長さは、約16から約60ヌクレオチド長の範囲であり得る。例示的態様において、ループは、約4ヌクレオチド長であり、ステムは、約12塩基対を含む。

【0070】

ガイドRNAはまた、本質的に一本鎖のままである第三の領域を3'末端に含む。従って、第三の領域は、目的の細胞内の染色体配列に相補性を有しておらず、ガイドRNAの残りの部分に相補性を有していない。第三の領域の

長さは可変である。一般的に、第三の領域は、約4ヌクレオチド長以上である。例えば、第三の領域の長さは、約5から約60ヌクレオチド長の範囲である。

【0071】

ガイドRNAの第二および第三領域の合わせた長さ（ユニバーサル領域または骨格領域とも言われる）は、約30から約120ヌクレオチド長の範囲であり得る。一面において、ガイドRNAの第二および第三領域を合わせた長さは、約70から約100ヌクレオチド長の範囲である。」

(1-7) 「【0141】

実施例2：Cas9のターゲティング

アデノ随伴ウイルス挿入部位1（AAVS1）遺伝子座を、Cas9仲介性ヒトゲノム修飾のための標的として用いた。ヒトAAVS1遺伝子座は、タンパク質ホスファターゼ1、調節サブユニット

12C（PPP1R12C）のイントロン1（4427bp）に位置する。

表3は、PPP1R12Cの第一エクソン（網掛け灰色部分）および第一イントロンを示す。イントロン内の下線を付した配列は、標的修飾部位（すなわち、AAVS1遺伝子座）である

【0142】

表3. PPP1R12Cの第一エクソンおよびイントロン（5' - 3'）

...

TCCTCCAACCCGGGCCCCCTATGTCCACTTCAGGACAGC
ATGTTTGTCTGCCTCCAGGGATCCTGTGTCCCCGAGCTG
GGACCACCTTATATTCCCAGGGCCGGTTAATGTGGCTC
TGGTTCTGGGTACTTTTATCTGTCCCCTCCACCCACA
GTGGGGCCACTAGGGACAGGATTGGTGACAGAAAAGCC
CCATCCTTAGGCCTCCTCCTTCTAGTCTCCTGATATT
GGGTCTAACCCCCACCTCCTGTTAGGCAGATTCCCTTAT
CTGGTGACACACCCCCATTTCCCTGGAGCCATCTCTCTC
CTTGCCAGAACCTCTAAGGTTTGCTTACGATGGAGCCA
GAGAGGATCCTGGGAGGGAGAGCTTGGCAGGGGGTGGG
AGGGAAGGGGGGGATGCGTGACCTGCCCGGTTCTCAGT
GGCCACCCTGCGCTACCCTCTCCCAGAACCTGAGCTGC
TCTGACGCGGCCGTCTGGTGCGTTTCACTGATCCTGGT
GCTGCAGCTTCCTTACACTTCCCAAGAGGAGAAGCAGT
TTGGAAAAACAATAAATCAGAATAAGTTGGTCCTGAGTTC
TAACTTTGGCTCTTACCTTTCTAGTCCCCAATTTATA
TTGTTCCCTCCGTGCGTCAGTTTTTACCTGTGAGATAAGG
CCAGTAGCCAGCCCCGTCCCTGGCAGGGCTGTGGTGAGG
AGGGGGGTGTCCGTGTGGAAAACCTCCCTTTGTGAGAAAT
GGTGCGTCCTAGGTGTTCCACCAGGTCGTGGCCGCCTCT
ACTCCCTTTCTCTTTTCTCCATCCTTCTTTCCCTTAAAGA
GTCCCAGTGCTATCTGGGACATATTCCCTCCGCCCAGA
GCAGGGTCCCGCTTCCCTAAGGCCCTGCTCTGGGCTTC
TGGGTTTGAGTCCTTGGCAAGCCCAGGAGAGGCGCTCA
GGCTTCCCTGTCCCCCTTCCCTCGTCCACCATCTCATGC
CCCTGGCTCTCCTGCCCCCTTCCCTACAGGGGTTCCCTGG
CTCTGCTCTTCAGACTGAGCCCCGTTCCCTGCATCCC
CGTTCCCTGCATCCCCCTTCCCTGCATCCCCCAGAG
GCCCCAGGCCACCTACTTGGCCTGGACCCCACGAGAGG
CCACCCCAGCCCTGTCTACCAGGCTGCCTTTTGGGTGG
ATTCTCCTCCAACCTGTGGGGTGACTGCTTGGCAAACCTC
ACTCTTCGGGGTATCCCAGGAGGCCCTGGAGCATTGGGG
TGGGCTGGGGTTCAGAGAGGAGGGATTCCCTTCTCAGG
TTACGTGGCCAAGAAGCAGGGGAGCTGGGTTTGGGTCA
GGTCTGGGTGTGGGGTGACCAGCTTATGCTGTTTGCCC
AGGACAGCCTAGTTTTTAGCACTGAAACCCTCAGTCCTA
GGA AACAGGGATGGTTGGTCACTGTCTCTGGGTGACT
CTTGATTCCCGGCCAGTTTCTCCACCTGGGGCTGTGTT
TCTCGTCCCTGCATCCTTCTCCAGGCAGGTCCCCAAGCA
TCGCCCCCCTGCTGTGGCTGTTCCCAAGTTCTTAGGGT
ACCCACGTGGGTTTATCAACCACTTGGTGAGGCTGGT
ACCTGCCCCCATTCCTGCACCCCAATTGCCTTAGTG
CTAGGGGGTT

...

【0143】

Cas9 ガイドRNAは、ヒトAAVS1遺伝子座を標的とするために設計された。標的認識配列（すなわち、標的配列の非コーディング鎖に相補的な配列）およびプロトSpacer配列を含む42ヌクレオチドのRNA（本明細書中、“crRNA”配列と言う）（5'から3'）；crRNAの3'配列に相補的な5'配列および付加的ヘアピン配列を含む85ヌクレオチドのRNA（本明細書中、“tracrRNA”配列と言う）；ならびに、crRNAのヌクレオチド1-32、GAAAループおよびtracrRNAのヌクレオチド19-45を含むキメラRNAを調製し

た。crRNAを、Sigma-Aldrich社により化学的に合成した。tracrRNAおよびキメラRNAを、T7-Scribe Standard RNA IVT Kit (Cellscript) を用いてT7 RNAポリメラーゼを用いるインビトロ転写により合成した。キメラRNAコーディング配列はまた、ヒト細胞におけるインビボ転写のためのヒトU6プロモーターの制御下に置いた。表4は、ガイドRNAの配列を示す。

【0144】

RNA	5' - 3' 配列	配列番号
AAVS1-crRNA	ACCCACAGUGGGGCCACUAGUUU UAGAGCUAUGCUGUUUUG	12
tracrRNA	GGAACCAUUCAAAACAGCAUAGCA AGUUAAAUAAGGCUAGUCCGUUA UCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAG UCGGUGCUUUUUUU	13
キメラRNA	ACCCACAGUGGGGCCACUAGUUU UAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAA AUAAGGCUAGUCCG	14

」

(1-8) 「【0145】

実施例3：ゲノム修飾をモニターするためのドナーポリヌクレオチドの調製
PPP1R12CのN末端へのGFPタンパク質の特異的挿入を、Cas9仲介性ゲノム修飾をモニターするために用いた。相同組換えによる挿入を仲介するために、ドナーポリヌクレオチドを調製した。

AAVS1-GFP DNA ドナーは、5' (1185 bp) のAAVS1遺伝子座の相同アーム、RNAスプライシング受容体、ターボGFPコーディング配列、3' 転写ターミネーター、および3' (1217 bp) のAAVS1遺伝子座の相同アームを含んでいた。表5は、RNAスプライシング受容体の配列および3' 転写ターミネーターが続くGFPコーディング配列を示す。プラスミドDNAを、GenEluteエンドトキシンプラスミドMaxiprep Kit (Sigma) を用いて調製した。

...

【0147】

特異的遺伝子導入は、PPP1R12Cの最初の107アミノ酸とターボGFPの融合タンパク質をもたらす。予期される融合タンパク質は、PPP1R12Cの第一エクソンと設計されたスプライス受容体の間のRNAスプライシングからPPP1R12Cの最初の107アミノ酸残基(網掛け灰色部分)を含む(表6参照)。」

(1-9) 「【0149】

実施例4：Cas9仲介性特異的導入

トランスフェクションをヒトK562細胞で行った。K562細胞株をAmerican Type Culture Collection (ATCC)より入手し、10% FBSおよび2mMのL-グルタミンを添加したイスコフ改変ダルベッコ培地中で増殖させた。全ての培地および添加物は、Sigma-Aldrichより入手した。培養物をトランスフェクションの1日前に(1mL当たり約50万個の細胞で)分割した。細胞を、T-016プログラムを用いてNucleofector (Lonza)のNucleofector ソリューションV (Lonza)を用いてトランスフェクションした。各ヌクレオフェクション(nucleofection)溶液は、約60万個の細胞を含んだ。トランスフェクション処理を表7に詳述する。細胞を、ヌクレオフェクション直後に37°Cおよび5% CO₂で増殖させた。

【0150】

表7. トランスフェクション処理			
処理	修飾されたCas9	ガイドRNA	ドナー配列
A	アンチリバースキャップアナログを用いて転写されたCas9 mRNA (10 μg)。	プレアニーリングされたcrRNA-tracrRNAの二本鎖 (0.3 nmol)	AAVS1-GFPプラスミドDNA (10 μg)
B	アンチリバースキャップアナログを用いて転写されたCas9 mRNA (10 μg)。	キメラRNA (0.3 nmol)	AAVS1-GFPプラスミドDNA (10 μg)
C	転写後キャッピング反応によりキャップ構造を付加されたCas9 mRNA (10 μg)。	キメラRNA (0.3 nmol)	AAVS1-GFPプラスミドDNA (10 μg)
D	Cas9プラスミドDNA (10 μg)	U6-キメラRNAプラスミドDNA (5 μg)	AAVS1-GFPプラスミドDNA (10 μg)
E	なし	なし	AAVS1-GFPプラスミドDNA (10 μg)
F	なし	なし	なし

【0151】

蛍光活性化細胞選別 (FACS) をトランスフェクションの4日後に行った。FACSデータを図4に示す。4つの実験処理群 (A-D) のそれぞれで検出されたGFPの割合は、対照処理群 (E、F) よりも多く、ドナー配列の挿入および融合タンパク質の発現が確認された。」

(1-10) 「【0152】

実施例5：標的組み換えのPCR確認

ゲノムDNAを、トランスフェクションの12日後にGenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma)を用いてトランスフェクション細胞から抽出した。その後、ゲノムDNAを、AAVS1-GFPプラスミドドナーの5' 相同アームの外側に位置するフォワードプライマーおよびGFPの5' 領域に位置するリバースプライマーを用いて、PCR増幅させた。フォワードプライマーは、
 5' -CCACTCTGTGCTGACCACTCT-3' (配列番号18) であり、リバースプライマーは、
 5' -GCGGCACTCGATCTCCA-3' (配列番号19) であった。ジャンクションPCRから予期されるフラグメントサイズは、1388bpであった。増幅を、以下のサイクル条件を用いてJumpStart Taq ReadyMix (Sigma)を用いて行った：最初の変性のために98°Cで2分間；98°Cで15秒間、62°Cで30秒間、および72°Cで1分30秒を35サイクル；そして、最後の伸張を72°Cで5分間。PCR産物を1%アガロースゲル上で分離した。

【0153】

アンチリバースキャップアナログ (ARCA) を用いて転写されたCas9 mRNA (10 μg)、0.3 nmolのプレアニーリングされたcrRNA-tracrRNAの二本鎖、および10 μgのAAVS1-GFPプラスミドDNAをトランスフェクトされた細胞は、予期されたサイズのPCR産物を示した (図5のレーンAを参照のこと)。」

(1-11) 「

【図4-1】

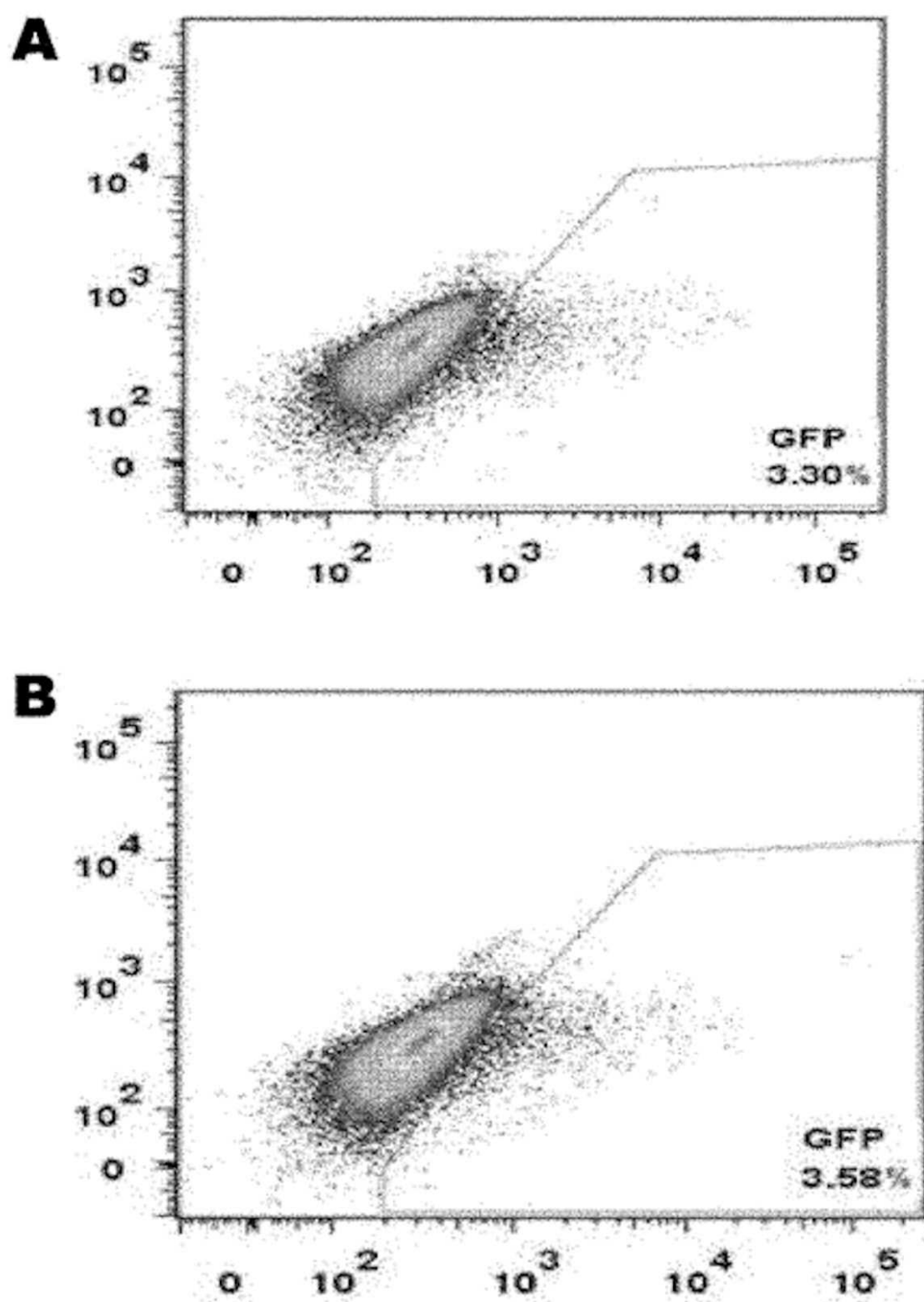


FIG. 4

【图 4-2】

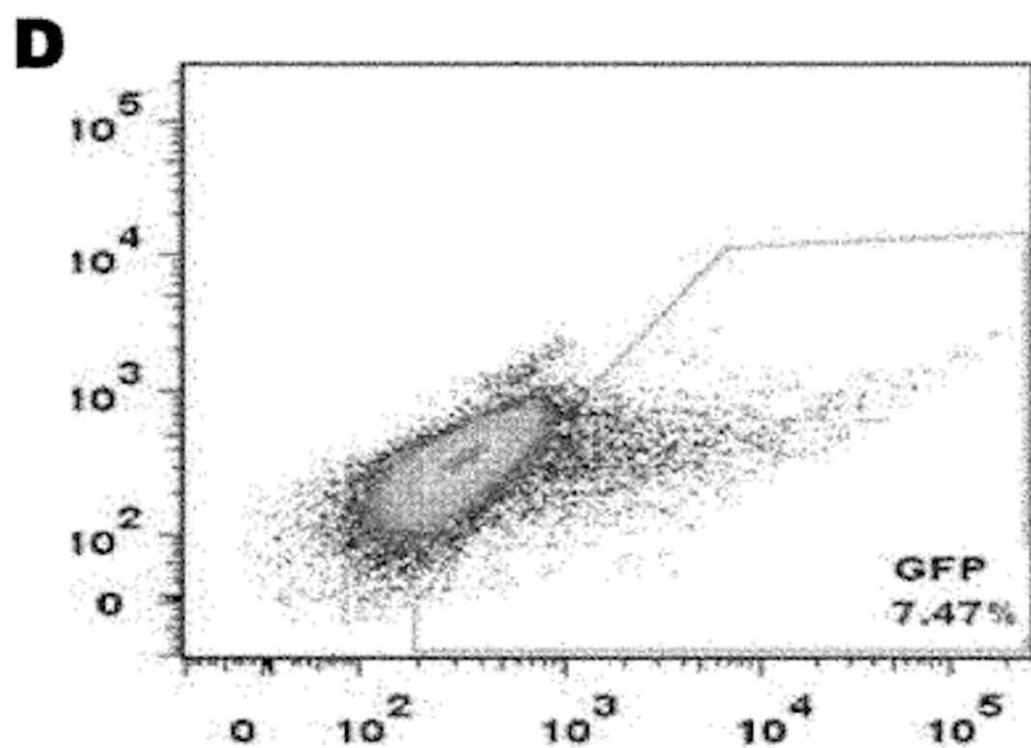
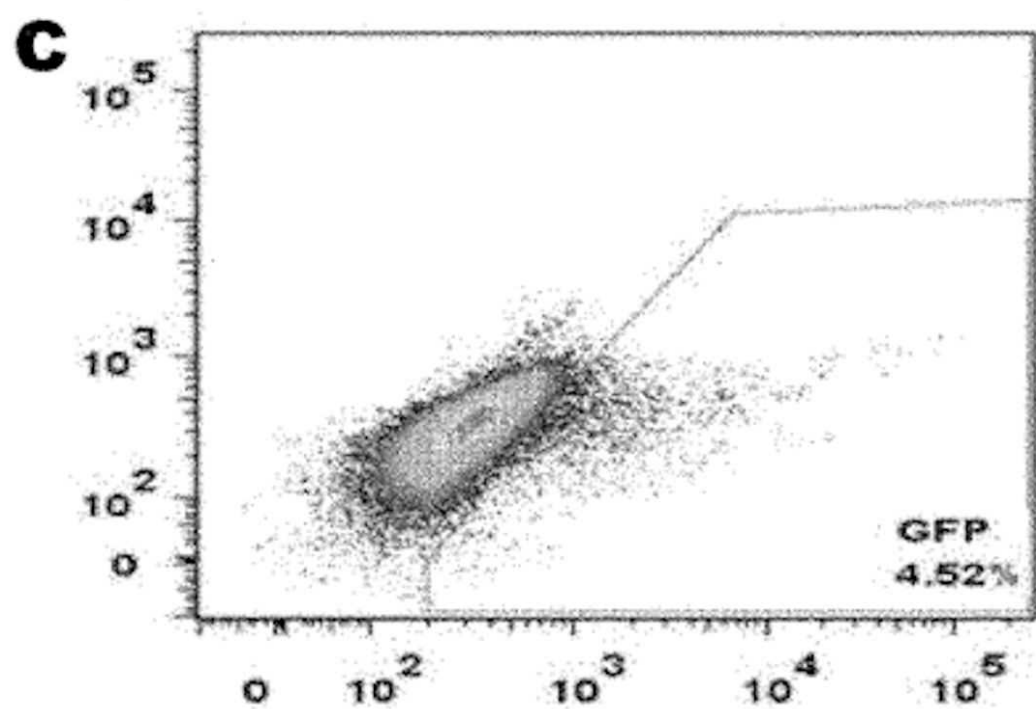


FIG. 4

【图 4-3】

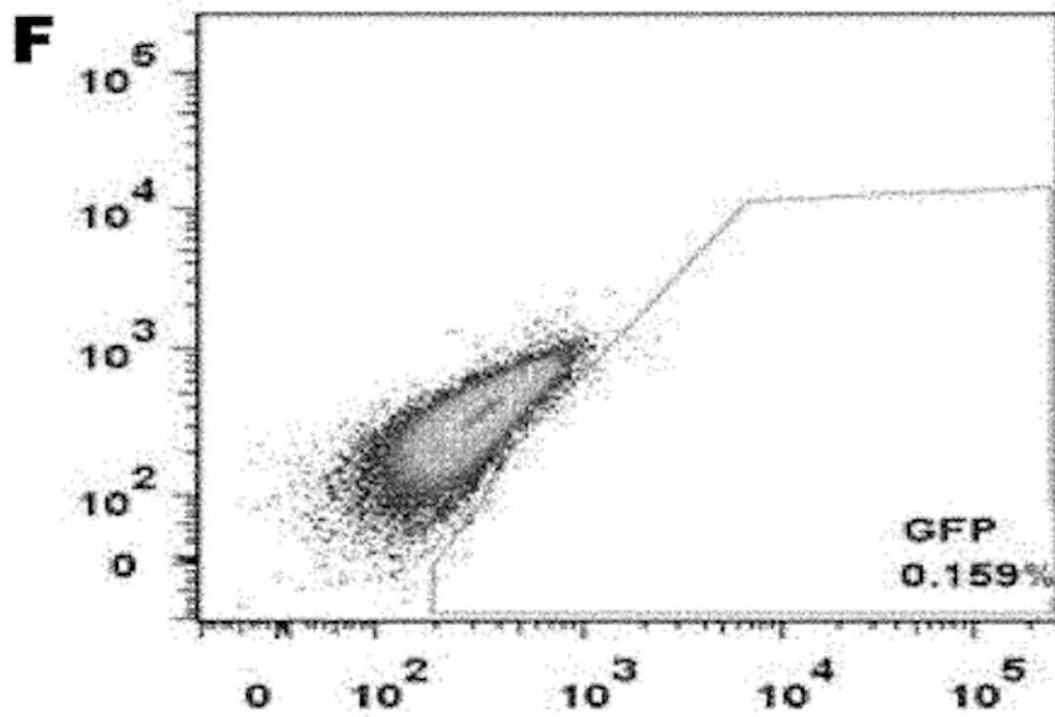
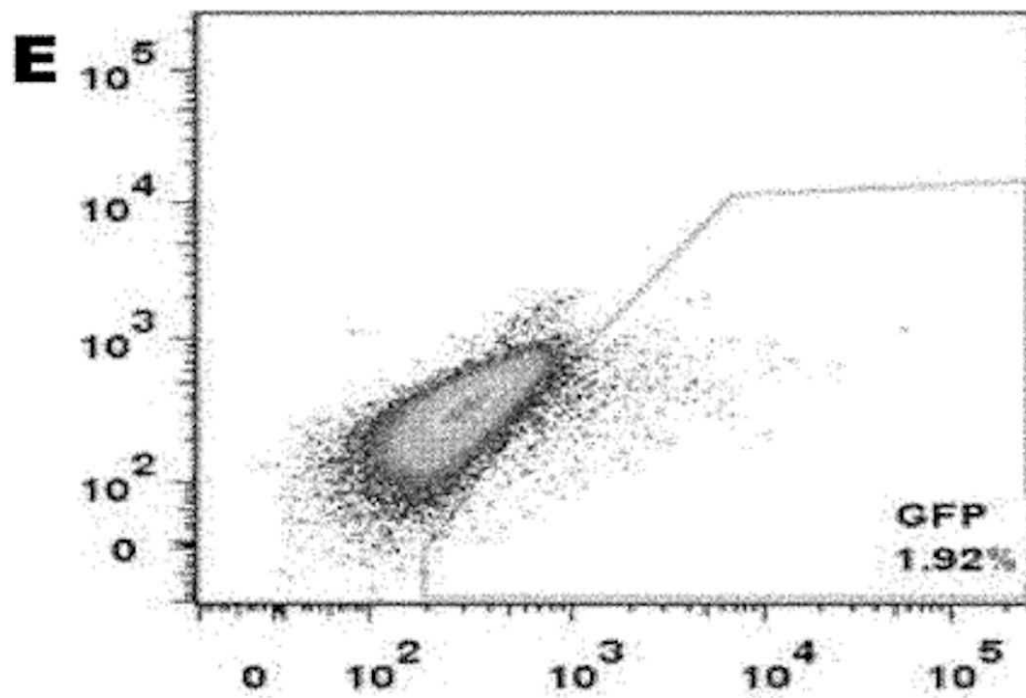


FIG. 4

」

(1-12) 「

【図5】

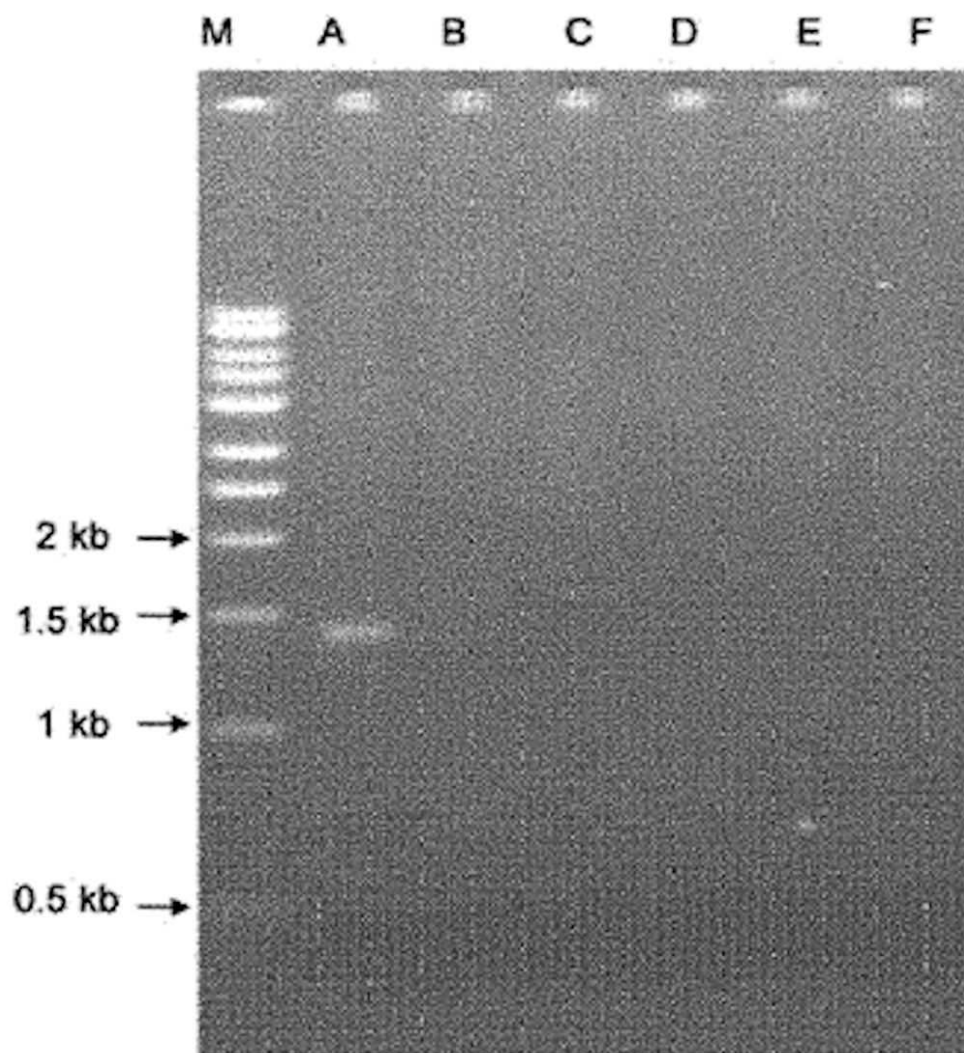


FIG. 5

」

2 引用発明

上記(1-1)～(1-3)、(1-6)にその技術思想が記載されているのみならず、上記(1-9)、(1-11)において実験的な確認もなされているから、先願1当初明細書等には、次の発明(以下、「引用発明1」という。)が記載されていると認められる。

「(i) 少なくとも1つの核局在化シグナルを含む少なくとも1つのII型Cas9タンパク質をコードする核酸に操作可能に連結されたプロモーター調節配列を含むベクター、および、

(i i) 真核細胞中の染色体配列中の標的部位に相補的である5'末端における第一の領域、ステムループ構造を形成する第二の内部領域、および本質的に一本鎖のままである第三の3'領域を含む少なくとも1つのガイドRNAをコードするDNAに操作可能に連結されたプロモーター調節配列を含むベクター、

を含むベクター系であって、前記ガイドRNAの第二および第三領域の合わせた長さが、約30から約120ヌクレオチド長の範囲であり、前記ガイドRNAが、I I型Cas9タンパク質を真核細胞中の染色体配列中の標的部位へ誘導し、そこで該I I型Cas9タンパク質が、該標的部位にて染色体DNA二本鎖の切断を誘導し、該二本鎖の切断が、染色体配列が修飾されるようにDNA修復過程により修復される、ベクター系。」

3 対比

(1) 本願発明の成分(a)について

ア 「ガイド配列」について

本願発明の「ガイド配列」に関して、本願明細書【0060】には、「一般に、ガイド配列は、標的配列とハイブリダイズし、標的配列へのCRISPR複合体の配列特異的結合を指向するために標的ポリヌクレオチド配列との十分な相補性を有する任意のポリヌクレオチド配列である。」と記載されているところ、上記(1-4)、(1-6)の記載からみて、引用発明1の「真核細胞中の染色体配列中の標的部位に相補的である5'末端における第一の領域」は、ステムループ構造を形成する第二の内部領域、および本質的に一本鎖のままである第三の3'領域とともにガイドRNAを形成し、該ガイドRNAが、Cas9タンパク質と複合体を形成することで、Cas9を特定の染色体配列中の標的部位へ誘導するものであるから、本願発明の「ガイド配列」に相当する。

イ 「tracr配列及びtracrメイト配列」について(審決末尾に示す当審作成の図A、図B(以下、「図A」、「図B」という。)参照。)

本願発明の「tracr配列及びtracrメイト配列」に関して、本願明細書【0019】には、「CRISPR複合体は、前記ポリヌクレオチド内の標的配列にハイブリダイズされるガイド配列と複合体形成しているCRISPR酵素を含み、前記ガイド配列は、次いでtracr配列にハイブリダイズするtracrメイト配列に結合している」、【0017】には、「一部の実施形態において、CRISPR酵素は、Cas9酵素である」、【0063】には、「一部の実施形態において、tracr配列およびtractメイト配列(当審注:「tracrメイト配列」の誤記と認める。引用部分について以下同じ。)は、単一転写物内に含有され、その結果、2つの間のハイブリダイゼーションが二次構造、例えば、ヘアピンを有する転写物を産生する。ヘアピン構造において使用される好ましいループ形成配列は、4ヌクレオチド長であり、最も好ましくは、配列GAAAを有する」と記載されている。

これらの記載からみて、本願発明の「tracr配列」と「tracrメイト配列」は、互いにハイブリダイズして、「ガイド配列」や「Cas9」とともに、「CRISPR複合体」を形成するものであり、「tracr配列」と「tracrメイト配列」が単一転写物内に含有される場合は、互いにハイブリダイゼーションすることでヘアピン構造を形成するものといえる。

一方、上記(1-4)、(1-6)の記載からみて、引用発明1の「ステムループ構造を形成する第二の内部領域、および本質的に一本鎖のままである第三の3'領域」は、「真核細胞中の染色体配列中の標的部位に相補的である5'末端における第一の領域」(上記アで述べたとおり本願発明の「ガイド配列」に相当)とともに「Cas9タンパク質」と複合体を形成するものであり、「第二の内部領域」が含む「ステムループ構造」は、本願発明における「tracr配列」と「tracrメイト配列」が単一転写物内に含有される場合にループ形成配列を介して形成するヘアピン構造に相当するといえる。

よって、引用発明1の「ステムループ構造を形成する第二の内部領域、および本質的に一本鎖のままである第三の3'領域」は、本願発明の「t r a c r配列及びt r a c rメイト配列」を含む、すなわち、「t r a c r配列」、「t r a c rメイト配列」及びループ形成配列とからなる配列に相当する。

ウ 「調節エレメント」について

本願発明の「調節エレメント」に関して、本願明細書【0014】には「用語「調節エレメント」は、プロモーター、エンハンサー、内部リボソーム進入部位（IRES）、および他の発現制御エレメント（例えば、転写終結シグナル、例えば、ポリアデニル化シグナルおよびポリU配列）を含むものとする」と記載されていることから、引用発明1の「プロモーター調節配列」は、本願発明の「調節エレメント」に相当する。

エ 上記ア～ウのとおりであるから、引用発明1の（i i）は、本願発明の成分（a）を含むベクターであるといえる。

（2）本願発明の成分（b）について

NLSとはNuclear Localization Signalの略であるという技術常識に照らすと、本願発明の「（NLS）」は、「核局在化シグナル」の同義語を括弧書きとして添えたものであることが明らかであるから、引用発明1の（i）は、本願発明の成分（b）を含むベクターに相当する。

（3）本願発明は、「前記1つ以上のガイドRNAが、真核細胞中の前記ポリヌクレオチド遺伝子座を標的とし、前記Cas9タンパク質が、前記ポリヌクレオチド遺伝子座を開裂し、それによって、前記ポリヌクレオチド遺伝子座の配列が、改変されるものであるが、引用発明1も「前記ガイドRNAが、I I型Cas9タンパク質を真核細胞中の染色体配列中の標的部位へ誘導し、そこで該I I型Cas9タンパク質が、該標的部位にて二本鎖の切断を誘導し、該二本鎖の切断が、染色体配列が修飾されるようにDNA修復過程により修復される」のであり、ここでいう「修飾」は、ドナー配列の挿入や置換を含むものであるから（上記（1-5））から、この点においても両者は相違しない。

（4）本願発明は、「エンジニアリングされた、天然に存在しないクラスター化等間隔短鎖回分リピート（CRISPR）-CRISPR関連（Cas）（CRISPR-Cas）ベクター系」であって、「前記Cas9タンパク質及び前記1つ以上のガイドRNAが、いっしょに天然に存在しない、CRISPR-Casベクター系」であるところ、引用発明1は、「少なくとも1つの核局在化シグナル」を含むなど、天然に存在するI I型Cas9タンパク質を改変することで得られたベクターを構成成分とするベクター系であるから、本願発明の「エンジニアリングされた、天然に存在しない」ベクター系であって、「前記Cas9タンパク質及び前記1つ以上のガイドRNAが、いっしょに天然に存在しない、CRISPR-Casベクター系」に相当する。

また、「CRISPR」は、「Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat（クラスター化等間隔短鎖回分リピート）」の略称であり、「Cas」は、「CRISPR-associated（CRISPR関連）」の略称であるから、本願発明の「（CRISPR-Cas）」は、「クラスター化等間隔短鎖回分リピート（CRISPR）-CRISPR関連（Cas）」の同義語を括弧書きとして添えたものであることが明らかであるところ、上記（1-3）のとおり、引用発明1の「I I型Cas9タンパク質」は、「I I型CRISPR/Casシステム」に由来するものであるから、引用発明1は、「クラスター化等間隔短鎖回分リピート（CRISPR）-CRISPR関連（Cas）（CRISPR-Cas）」

ベクター系」であるので、この点においても両者は相違しない。

(5) t r a c r 配列の長さについて

本願発明は「t r a c r 配列が、30以上のヌクレオチドの長さを有」するものであると下限値が特定されているのに対して、引用発明1では、本願発明の「t r a c r 配列及びt r a c r メイト配列」を含む「第二および第三領域」の合わせた長さが、「約30から約120ヌクレオチド長の範囲であり」と特定されているのみであり、本願発明の「t r a c r 配列」に相当する部分の長さは明確には特定されていない。

ここで、本願発明の「t r a c r 配列」は、ループ形成配列の3'側に付加される配列であるから(図A参照)、引用発明1の「ステムループ構造を形成する第二の内部領域」の「ステム」の片側及び「本質的に一本鎖のままである第三の3'領域」に相当するものであるところ(図B参照)、上記(1-6)のとおり、先願1当初明細書等には、「ステムは、約6から約20塩基対長であってよい」、「一般的に、第三の領域は、約4ヌクレオチド長以上である。例えば、第三の領域の長さは、約5から約60ヌクレオチド長の範囲である。」と記載されている。してみれば、例えば、ステムが6塩基対長であって、第三の領域の長さが4ヌクレオチド長である場合、両者を併せた長さ(すなわち、本願発明の「t r a c r 配列」に相当する部分)は10ヌクレオチドの長さであり、また、ステムが20塩基対長であって、第三の領域の長さが60ヌクレオチド長である場合、本願発明の「t r a c r 配列」に相当する部分は80ヌクレオチドの長さとなる。

よって、引用発明1は、本願発明の「t r a c r 配列」に相当する部分が、30ヌクレオチドよりも短い場合も長い場合も包含しているといえる。

(6) 以上のとおりであるから、本願発明と引用発明1は、以下の一致点と一応の相違点を有する。

【一致点】

「エンジニアリングされた、天然に存在しないクラスター化等間隔短鎖回分リピート(CRISPR)-CRISPR関連(Cas)

(CRISPR-Cas)ベクター系であって、

a) 真核細胞中のポリヌクレオチド遺伝子座中の標的配列にハイブリダイズする1つ以上のCRISPR-Cas系ガイドRNAをコードする1つ以上のヌクレオチド配列に作動可能に結合している第1の調節エレメントであって、前記ガイドRNAが、ガイド配列、t r a c r 配列及びt r a c r メイト配列を含む、第1の調節エレメント、

b) I I型Cas9タンパク質をコードするヌクレオチド配列に作動可能に結合している第2の調節エレメントであって、前記タンパク質が、核局在化シグナル(NLS)を含む、第2の調節エレメントを含む1つ以上のベクターを含み、

成分(a)及び(b)が、前記系の異なるベクター上に位置し、

それによって、前記1つ以上のガイドRNAが、真核細胞中の前記ポリヌクレオチド遺伝子座を標的とし、前記Cas9タンパク質が、前記ポリヌクレオチド遺伝子座を開裂し、それによって、前記ポリヌクレオチド遺伝子座の配列が、改変され；前記Cas9タンパク質及び前記1つ以上のガイドRNAが、いっしょに天然に存在しない、CRISPR-Casベクター系。」

【一応の相違点】

本願発明は「t r a c r 配列が、30以上のヌクレオチドの長さを有」するものであると下限値が特定されているのに対して、引用発明1では、本願発明の「t r a c r 配列」に相当する部分の長さについて明確な特定はないものの、「第二および第三領域」の合わせた長さが「約30から約120ヌクレオチド長の範囲」である限りにおいて、30ヌクレオチドよりも短い場合をも包含する点。

4 判断

(1) 上記3(6)のとおり、本願発明と引用発明1とは、本願発明の「t r a c r配列」に相当する部分の長さに関して重複関係にある。

特許制度は、新しい技術の公表の代償として当該技術を発明として保護しようとするものであるところ、特許法第29条の2は、先願と同一の発明を後願として出願しても、新しい技術を公表することにならないことから特許権を得ることができないとしたものである。そうすると、先願である引用発明1が存在するにもかかわらず本願発明が特許を受けるためには、本願発明が「t r a c r配列」の長さの下限値を30ヌクレオチド長と特定することにより、引用発明1とは異なる新たな効果を奏することが必要である。以下、この観点から検討する。

(2) 先願1当初明細書等に具体的に開示されたガイドRNAについて

上記(1-7)の実施例2の【0144】に示されるキメラRNA(以下、「先願1実施例ガイドRNA」という。)は、【0143】の記載からみて、「c r RNAのヌクレオチド1-32、GAAAループおよびt r a c r RNAのヌクレオチド19-45」からなるものである(審決末尾に示す当審作成の図C(以下、「図C」という。)参照。)

また、上記(1-7)の【0141】の記載からみて、【0142】に下線を付して示された配列「A C C C C A C A G T G G G G C C A C T A」は標的配列であるため、先願1実施例ガイドRNAの当該標的配列に対応する5'末端側の20ヌクレオチドを除いた残りの部分、すなわち「c r RNAのヌクレオチド21-32、GAAAループおよびt r a c r RNAのヌクレオチド19-45」からなる部分が、引用発明1の「第二および第三領域の合わせた」部分であり、その長さは42ヌクレオチドである。

一方、上記3(5)で述べたとおり、本願発明の「t r a c r配列」は、引用発明1の「ステムループ構造を形成する第二の内部領域」の「ステム」の片側及び「本質的に一本鎖のままである第三の3'領域」に相当するものであるから、先願1実施例ガイドRNAにおける本願発明の「t r a c r配列」に相当する配列は、「t r a c r RNAのヌクレオチド19-45」であり、26ヌクレオチドの長さを有するものである(図C参照)。

(3) 一応の相違点についての判断

引用発明1では、「第二および第三領域の合わせた長さが、約30から約120ヌクレオチド長の範囲であり」と特定されているところ、上記(2)のとおり先願1実施例ガイドRNAの「第二および第三領域の合わせた長さ」は42ヌクレオチドであるのだから、「第二および第三領域の合わせた長さ」を、上記(1-7)の【0144】に記載された

「t r a c r RNA」のヌクレオチド配列などを参考に、42ヌクレオチドより少し長くしたガイドRNA、例えば、1割程度すなわち4~5ヌクレオチド程度長くしたガイドRNAも好適な態様であると理解される。そして、その態様においては、本願発明の「t r a c r配列」に相当する部分の長さが30以上のヌクレオチドの長さなのだから、引用発明1において、本願発明の「t r a c r配列」に相当する部分を30以上のヌクレオチドの長さとする事は、設計上の微差にすぎない。

次に、本願発明の効果について検討すると、本願図16、17には、「t r a c r配列」の長さが標的配列の改変効率に与える影響を、5種類の標的配列について試験した結果が記載されている。ここで、「+48」として示されるガイドRNA(「t r a c r配列」は26ヌクレオチド長。先願1実施例ガイドRNAと同じ長さである。)と「+54」として示されるガイドRNA(「t r a c r配列」は32ヌクレオチド長)を比較しても、プロトスペーサー2、4、5を標的としたものではその影響を確認できず、プロトスペーサー1を標的としたものでもごく僅かな影響が生じていることしか確認できない。プロトスペーサー3を標的としたもので、一定程度の改変効率の向上が認められるとしても、他の標的配列の場合はそのような改変効率の向上を確認できないのであるから、標的配列を何ら特定しない本願発明自体の効果とはいえない。したがって、引用発明1において「t r a c r配

列」の長さの下限値を30ヌクレオチド長と特定する本願発明が、引用発明1とは異なる新たな効果を奏すると認めることはできない。

(4) 小括

以上のとおり、上記一応の相違点は、設計上の微差に過ぎず、新たな効果を奏するものとは認められないから、本願発明は引用発明1と実質的に同一である。

5 審判請求人の主張について

審判請求人が平成29年11月1日付け手続補正書による補正後の審判請求書においてする主張と、それに対する合議体の判断は次のとおりである。

(1) 審判請求人の主張

先願1当初明細書等の実施例のうち、実施例4の処理Dのみが、すべての成分がDNAであって、CRISPR/Casベクター系であるといえるが、真核細胞中の標的とされるポリヌクレオチド遺伝子座を開裂し、改変したことは開示されていないから、本願発明は、先願1に記載された発明と同一でも実質同一でもない。

すなわち、審査官は、実施例4の処理Dの結果である上記(1-11)の図4DにおけるGFPシグナルの増加をもって、標的ポリヌクレオチドの開裂及び改変を認定したが、当該増加はわずかなものにすぎず、当該開裂や改変が起こったことを結論づけることはできない。むしろ、標的ポリヌクレオチドへのドナー配列の組み込みを検証するための実験である実施例5においては、実施例4の処理A(ベクター系ではない)では、組み込みが確認されたものの(上記(1-12)の図5のレーンA)、処理Dに関してはネガティブな結果であった(同レーンD)。したがって、実施例4及び5を併せ参照した当業者は、先願1当初明細書等は標的ポリヌクレオチドを開裂及び改変できるCRISPR/Casベクター系を開示しないと結論づけるはずである。

(2) 判断

ア 先願1の実施例4について

(ア) 実施例4のドナーポリヌクレオチドについて

上記(1-9)の表7には、実施例4において、「AAVS1-GFPプラスミドDNA」がドナーポリヌクレオチドとして用いられたことが記載されている。

そして、上記(1-8)の記載から、当該ドナーポリヌクレオチドは、5'(1185bp)のAAVS1遺伝子座の相同アーム、RNAスプライシング受容体、ターボGFPコーディング配列、3'転写ターミネーター、および3'(1217bp)のAAVS1遺伝子座の相同アームという構造のものであり、染色体配列中の標的部位であるAAVS1遺伝子座への特異的遺伝子導入(上記審判請求人の主張にいう「標的ポリヌクレオチドへのドナー配列の組み込み」に相当する。)により、PPP1R12Cの第一エクソンとスプライス受容体の間のRNAスプライシングが生じ、その結果、PPP1R12Cの最初の107アミノ酸とターボGFPの融合タンパク質がもたらされることでGFPが発現することが理解できる。すなわち、当該ドナーポリヌクレオチドは、単に細胞内や核内に存在するだけでGFPが発現するものでなく、真核細胞内の染色体配列中の標的ポリヌクレオチドへのドナー配列の組み込みが生じることで、はじめてGFPが発現するものといえる。

(イ) 実施例4の結果について

上記(1-9)の表7に「処理D」として記載された「Cas9プラスミドDNA」、「U-6キメラRNAプラスミドDNA」は、それぞれ引用発明1の「(i)少なくとも1つの核局在化シグナルを含む少なくとも1つのII型Cas9タンパク質をコードする核酸に操作可能に連結されたプロモーター調節配列を含むベクター」、「(ii)真核細胞中の染色体配列中の標的部位に相補的である5'末端における第一の領域、ステムループ構造

を形成する第二の内部領域、および本質的に一本鎖のままである第三の3'領域を含む少なくとも1つのガイドRNAをコードするDNAに操作可能に連結されたプロモーター調節配列を含むベクター」に相当するものである。そして、これを用いた実験結果について、先願1当初明細書等には、「4つの実験処理群（A-D）のそれぞれで検出されたGFPの割合は、対照処理群（E、F）よりも多く、ドナー配列の挿入および融合タンパク質の発現が確認された。」（上記（1-9））と記載されている。

念のため、実験データを詳細に検討すると、上述のベクターをヒトK562細胞にトランスフェクションし、その4日後に行ったGFPの発現割合を示すFACSデータが図4Dとして示され、その値は「7.47%」であった。ここで、表7の「処理F」は、ベクターをトランスフェクションしないものであることから、図4Fに示される「0.159%」は、この実験系のバックグラウンド値といえる。したがって、「0.159%」を「7.47%」から引いた値である「7.311%」が、処理Dを行うことによりもたらされた結果といえる。

他方、表7の「処理E」は、「AAVS1-GFPプラスミドDNA」のみを用いたものであるから、その結果は、「Cas9プラスミドDNA」、「U-6キメラRNAプラスミドDNA」に依存しない標的ポリヌクレオチドへのドナー配列の組み込みを反映したものとイえる。そして、図4Eに示された「1.92%」からバックグラウンド値である「0.159%」引いた「1.761%」が、処理Eを行うことによりもたらされた結果といえる。

ここで、「処理D」と「処理E」の結果を比較すると、「処理D」では「処理E」の4倍以上の値が得られており、その違いは「Cas9プラスミドDNA」、「U-6キメラRNAプラスミドDNA」を用いることによりもたらされたものであるといえるから、「処理D」においては、「Cas9プラスミドDNA」、「U-6キメラRNAプラスミドDNA」により、標的ポリヌクレオチドの切断とドナー配列の組み込みが促進されたと考えるのが妥当である。これは、上述の（1-9）の記載のとおりである。

このとおり、実施例4の実験方法および結果に照らすと、審判請求人の実施例4に関する主張は失当であることが明らかである。

イ 先願1の実施例5について

上記（1-10）の実施例5では、標的ポリヌクレオチドへのドナー配列の組み込みを確認するためにPCRを行っており、その結果が図5として示されている。そして、図5からは、上記「処理D」を行った場合に、該組み込みが行われたこと示すPCR産物が得られたことを確認することはできない。

しかし、実施例5ではトランスフェクションの12日後にゲノムDNAを細胞から抽出したのに対して、実施例4ではトランスフェクションをしてから4日後に分析を行うなど、実施例4と実施例5は異なるサンプルを用いた結果であるから、実施例5の結果をもって、実施例4の結果が直ちに否定されるものではない。

ウ 先願1当初明細書等全体の記載について

上記「2 引用発明」で述べたとおり、先願1当初明細書等には、引用発明1が開示されており、上記アで述べたとおり、実施例4は、その一態様において標的ポリヌクレオチドの切断とドナー配列の組み込みが生じることを示している。

したがって、実施例5の結果においてこれらと整合しない点があったとしても、そのことをもって、引用発明1が先願1当初明細書等に開示されていないとまではいえない。

エ 上記ア～ウのとおり、審判請求人の主張は採用することができない。

6 まとめ

以上のとおり、本願発明は、引用発明1と実質的に同一であり、しかも、

この出願の発明者がその出願前の外国語特許出願に係る上記の発明をした者と同一ではなく、またこの出願の時に、その出願人が上記外国語特許出願の出願人と同一でもないので、特許法第29条の2の規定により、特許を受けることができない（同法第184条の13参照）。

第5 理由2（特許法第29条第2項）について

1 引用文献の記載

（1）引用文献2

原査定で引用された、本願の第1優先日前に頒布された刊行物である、Science, Aug 2012, Vol. 337, p. 816-821, Supplementary Materials（以下、「引用文献2」という。）は、「細菌の獲得免疫におけるデュアルRNA誘導性のプログラム可能なDNAエンドヌクレアーゼ」と題する学術論文であって、以下の事項が記載されている。なお、英文であるから当審による訳文を記載する。

（1-1）「クラスター化等間隔短鎖回分リポート

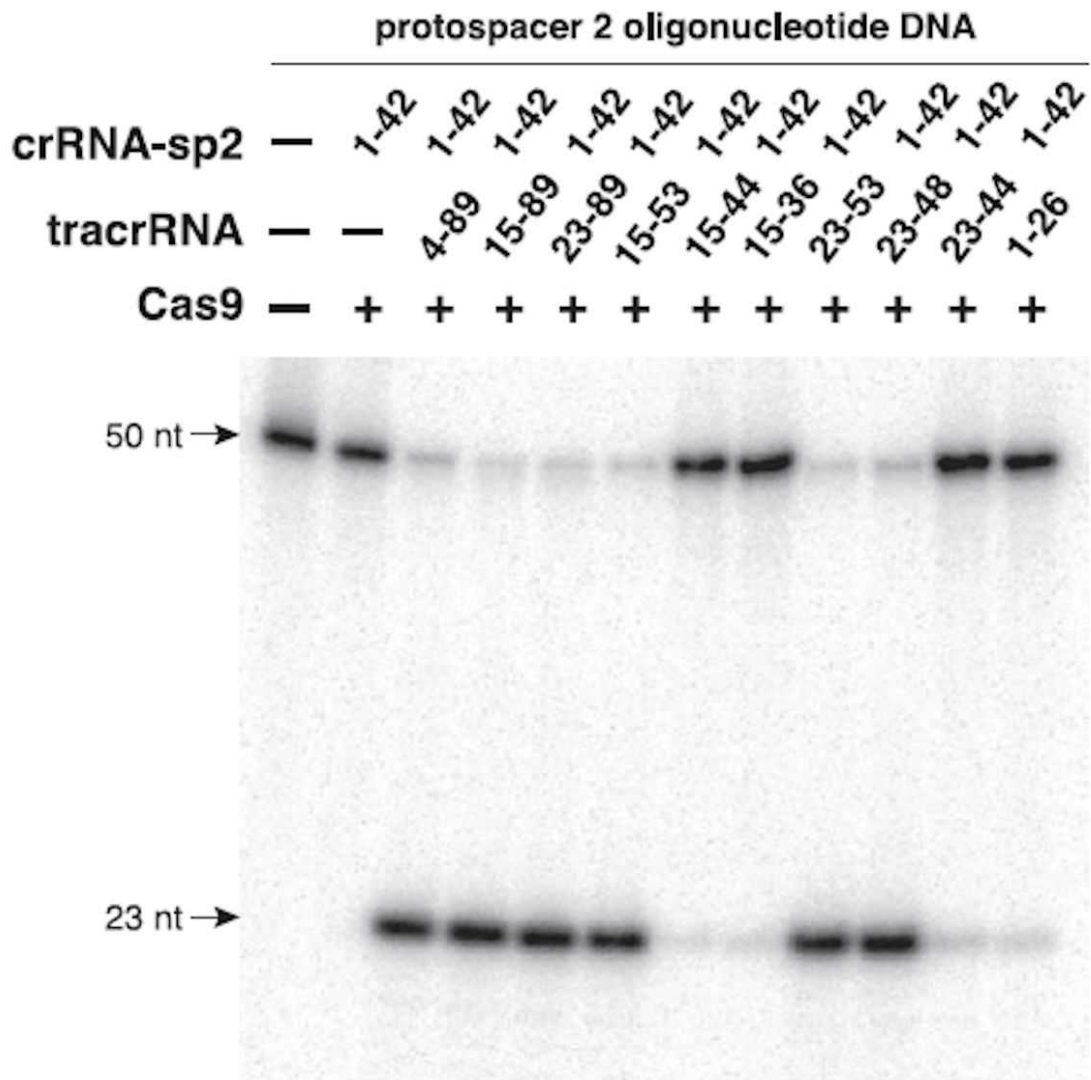
（CRISPR）／CRISPR関連（Cas）系は、侵入する核酸の抑制を誘導するために、CRISPR RNA（crRNA）を利用するウイルスやプラスミドに対する獲得免疫を、細菌や古細菌に提供するものである。ここで私たちは、この系の一部分において、成熟crRNAが、トランス活性化crRNA（tracrRNA）と塩基対を組むことで、標的DNAに二本鎖切断を導入するようにCRISPR関連タンパク質Cas9を誘導する2つのRNAからなる構造を形成することを示す。・・・このデュアル-tracrRNA:crRNAは、一本鎖RNAキメラとして設計されたときも、配列特異的なCas9による二本鎖DNA切断を誘導する。私たちの研究は、部位特異的なDNA切断のためにデュアル-RNAを使用するエンドヌクレアーゼのファミリーを明らかにし、RNAでプログラム可能なゲノム編集のためにこのシステムを利用する可能性を強調する。」（要約）

（1-2）「ここで私たちは、II型の系において、Cas9タンパク質が、標的二本鎖DNAを切断するために、活性化tracrRNAと標的指向crRNAの間の塩基対構造を必要とする酵素ファミリーを構成するものであることを示す。位置特異的な切断は、標的であるプロトスペーサーDNAとcrRNAの間の塩基対を形成する相補性と、標的DNAの領域に並置される短いモチーフ〔プロトスペーサー隣接モチーフ（PAM）と呼ばれる〕により定められる場所で生じる。」（第816頁中欄第25行～第35行）

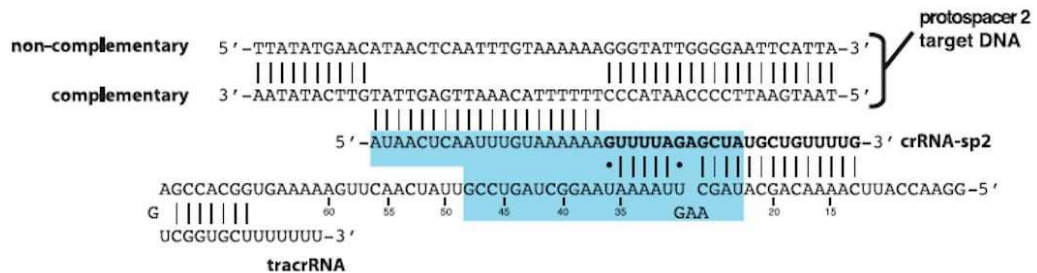
（1-3）「tracrRNAの全長が位置特異的なCas9に触媒されるDNA切断において必要かどうかを決定するために、全長の成熟（42ヌクレオチドの）crRNAと、5'あるいは3'末端を欠く様々な切断型のtracrRNAを用いて再構成されたCas9-tracrRNA:crRNA複合体を試験した。・・・野生型配列のヌクレオチド23から48を保持する大幅に切断された型のtracrRNAが、頑強なデュアルRNA誘導性のCas9に触媒されるDNA切断を支持することができた（図3A・・・）。」（第818頁左欄下から5行～中欄第8行）

（1-4）「図3 Cas9に触媒される標的DNAの切断は、tracrRNAの活性化ドメインを必要とし、crRNAのシード配列により制御される。（A）Cas9-tracrRNA:crRNA複合体は、42ヌクレオチド長のcrRNA-sp2と切断型のtracrRNA構成体を用いて再構築され、図1Bと同様に切断活性についてアッセイされた。・・・（C）Cas9仲介性DNA切断を誘導することができるtracrRNAとcrRNAの最小領域（青い陰が付された領域）・・・

A



C



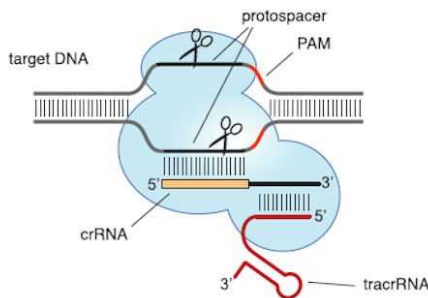
(1-5) 「私たちは、標的認識配列を5'末端に含み、その下流に tracrRNA と crRNA の間に生じる塩基対相互作用を保持するヘアピン構造を含む2つのバージョンのキメラRNAを設計した。・・・プラスミドDNAを用いた切断アッセイにおいて、長い方のキメラRNAは、切断

tracrRNA:*crRNA*複合体を用いた場合に観察された場合と同じような挙動でCas9によるDNA切断を誘導できることを観察によって確認した(図5B・・・)。・・・短い方のキメラRNAは、このアッセイでは効果的に機能しなかった。」(第820頁左欄第5行~第20行)

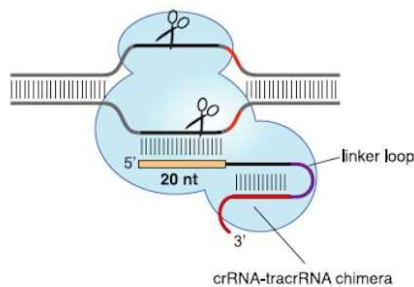
(1-6)「図5 Cas9は、*tracrRNA*と*crRNA*の特徴を組み合わせた単一のエンジニアリングされたRNA分子を使用して、プログラムすることができる。(A) (上) I型CRISPR/Casシステムにおいて、Cas9は、活性化している*tracrRNA*及び標的化*crRNA*により形成される2つのRNA構造により誘導されて、部位特異的に標的となった二本鎖DNAを切断する。(下) *crRNA*の3'末端を*tracrRNA*の5'末端に融合することにより生成されたキメラRNA。(B) プロトスペーサー4標的配列と野生型PAMを備えるプラスミドが、*tracrRNA* (4-89):*crRNA*-sp4複合体によって、あるいは、*crRNA*の3'末端をGAAAテトラループとともに*tracrRNA*の5'末端に付加することで設計されインビトロ転写されたキメラRNAによってプログラムされたCas9による切断の標的となった。切断反応はXmnIによる制限マッピングにより分析された。キメラRNA AとBの配列は、DNA標的指向配列(黄色)、*crRNA*リピート由来配列(オレンジ)、そして*tracrRNA*由来配列(水色)とともに示される。・・・

A

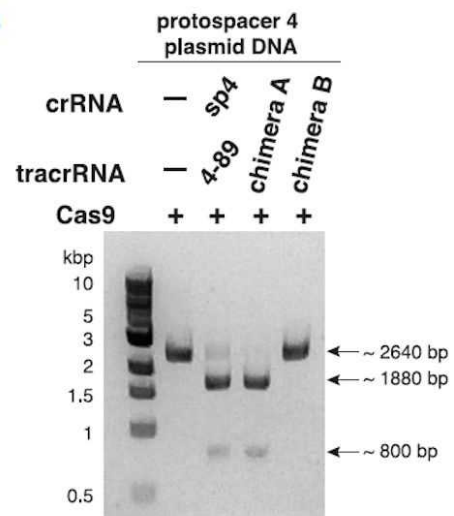
Cas9 programmed by *crRNA*:*tracrRNA* duplex



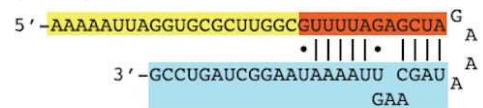
Cas9 programmed by single chimeric RNA



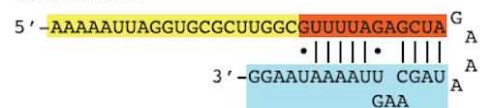
B



chimera A



chimera B



・・・」

(1-7)「ジンカーフィンガーヌクレアーゼや転写活性化様エフェクターヌクレアーゼは、ゲノムを操作するために設計された人工酵素として、大きな関心を集めた。私たちは、遺伝子ターゲティングとゲノム編集への応用に向けた大きな潜在能力をもたらし得るRNAによりプログラムされたCas9に基づく代替的な手法を提案する。」(第820頁右欄第2行~第9行)

(1-8) 「プラスミドDNA切断アッセイ

未処理の、あるいは制限酵素処理により鎖状化されたプラスミドDNA (300ng (~8nM)) は、精製されたCas9タンパク質 (50-500nM) とtracrRNA:crRNA複合体 (50-500nM, 1:1) とともに、Cas9プラスミド切断緩衝液 (20mM HEPES pH7.5, 150mM KCl, 0.5mM DTT, 0.1mM EDTA) 中で、10mM MgCl₂を加えて、あるいは加えずに、37°Cで60分間インキュベートした。」 (SUPPLEMENTARY MATERIALS AND METHODS)

(2) 周知例 1

同じく本願の第1優先日前に頒布された刊行物である、Gene Therapy, 2008, Vol. 15, p. 1463-1468は、ゲノム編集技術の1つであるジンクーフィンガーヌクレアーゼ (ZFN) に関する総説であって、以下の事項が記載されている。なお、英文であるから当審による訳文を記載する。

(2-1) 「ZFN誘導性切断は、2つの異なる様式の遺伝子編集に用いることができる。つまり、相同組換えと非相同末端結合 (NHEJ) である。NHEJはしばしば不正確で、局所的な挿入や欠失を生じるものであるが、遺伝子を不活性化することが目的であるケースにおいては十分であり得る。通常、遺伝子ターゲティングとして考えられる配列置換様式を実施するために、標的に対して高い相同性を有し特定の所望の置換配列を有するドナーDNAが、ZFNと一緒に送達される。相同的組換えが、このドナーをテンプレートとして利用すれば、標的において置換が導入される。」 (第1463頁右欄最終段落)

(2-2) 「公表された報告は、種々の生物の内因性染色体における、成功したZFN誘導性の14遺伝子のターゲティングについて述べている。哺乳類細胞で6遺伝子、ゼブラフィッシュで3遺伝子、ショウジョウバエで3遺伝子、線虫と植物細胞で1遺伝子ずつである。」 (第1464頁右欄第1行~第5行)

(2-3) 「このケースでは両方のZFNは、CMVプロモーターによりその発現が駆動される1つのバイシストロニックベクターにより送達された。」 (第1465頁左欄第42行~第44行)

(3) 周知例 2

同じく本願の第1優先日前に頒布された刊行物である、Methods, 2011, Vol. 53, p. 339-346には、以下の事項が記載されている。なお、英文であるから当審による訳文を記載する。

(3-1) 「相同組換えのより高い効率が、ジンクーフィンガーヌクレアーゼ (ZFNs) に基づく技術を用いることにより達成される。ZFNは、あらかじめ定められたゲノムの位置において、DNA二本鎖切断 (DSBs) を引き起こす分子はさみである。この酵素的に誘導されるDSBは、短い挿入や欠失につながり、誤りが生じやすい非相同末端結合 (NHEJ) か、外因性ドナーDNAと標的位置の間の相同組換えに基づく相同性指向修復 (HDR) により修復され得る。典型的には、ZFN誘導性のDSBは、相同組換えの効率を数千倍に高める。全体では、ZFNテクノロジーは、ショウジョウバエ、植物、ゼブラフィッシュ、ラット、そして、マウスあるいはヒトの多能性幹細胞を含め10以上の生物にうまく適用された。」 (第339頁右欄最終段落~第340頁左欄下から3行)

(4) 周知例 3

同じく本願の第1優先日前に頒布された刊行物である、Nature Biotechnology, 2011, Vol. 29, p. 143-148には、以下の事項が記載されてい

る。なお、英文であるから当審による訳文を記載する。

(4-1) 「これらの結果は、T A L Eヌクレアーゼキメラ (T A L E N s) の選択的ゲノム切断のため位置特異的エンドヌクレアーゼとしての潜在的な利用に関する関心に拍車をかけた。ここでは私たちは、内因性遺伝子の効率的な修復を仲介できるT A L E Nの開発を報告する。まず、私たちは、標的とされたエピソーマルレポーターと内因性遺伝子の制御を通して、哺乳類の細胞の環境におけるT A L E活性を示す」(第143頁右欄第8行～第13行)

(4-2) 「次に、これらのT A L E N sは、B g I I制限サイトをコードする46bpの挿入配列を標的位置に挿入するように設計されたドナーDNAフラグメントと共にK562細胞に導入された。それに続くPCRとB g I I消化は、16%ものアレイが挿入配列を有しているという効果的な編集を明らかにした(図5)。この結果は、ここに記載されるT A L E N構築物が相同性指向修復による正確なゲノム編集を誘導することを示す。」(第146頁右欄最終行～第147頁左欄第5行)

(5) 周知例4

同じく本願の第1優先日前に頒布された刊行物である、Nucleic Acids Research, 2011, Vol. 39, e82には、以下の事項が記載されている。なお、英文であるから当審による訳文を記載する。

(5-1) 「結果として、T A L Eフェクターは、DNAターゲティングツールとして大きな関心を集めた。特に、私たちと他のグループは、ゲノム編集のためにインビボにおけるDNA二本鎖切断(D S B s)を生成するため、T A L EフェクターをF o k Iヌクレアーゼの触媒ドメインと融合できることを示した。・・・D S B sはほぼ全ての細胞において、しばしば短い挿入や欠失をもたらす遺伝子破壊に利用され得る非相同末端結合(N H E J)と、遺伝子の挿入や置換のために用いられ得る相同組換え(H R)という、高度に保存された2つの過程のうちのいずれかにより修復される。」(第2頁左欄第5行～第19行)

(5-2) 「私たちは、このソフトウェアにより標的化されプラスミドを用いて組み立てたT A L E Nが酵母DNA切断アッセイにおいて活性であり、ヒト細胞とシロイヌナズナのプロトプラストにおける遺伝子ターゲティングに効果的であることを示す。」(第2頁右欄第35行～第40行)

(5-3) 「ヒトH P R T 1遺伝子を標的とする一組のT A L E Nを、X h o IとA f l I Iを用いて、哺乳動物発現ベクターp C D N A 3. 1 (-) (インビトロジェン)にサブクローニングした。これらの酵素はp T A L 3あるいはp T A L 4からT A L E N全体を切り出して、コード配列をCMV (サイトメガロウイルス)プロモーターの制御下に置いたものである。得られたプラスミドは、製造者が提供するプロトコルにしたがってリポフェクトアミン2000 (インビトロジェン)を用いてトランスフェクトすることで、H E K 2 9 3 T細胞に導入した。」(第6頁左欄下から第14行～下から第6行)

(6) 周知例5

同じく本願の第1優先日前に頒布された刊行物である、国際公開第2012/012738号には、以下の事項が記載されている。なお、英文であるから、訳文として当該刊行物の国内公表公報である特表2013-537410号公報の記載事項及び摘記箇所を示す。

(6-1) 「【請求項1】

細胞中の少なくとも1つの内因性染色体配列を編集する方法であって、

- a) 前記細胞内に、(i) 少なくとも1つの標的化エンドヌクレアーゼであって、前記染色体配列中の標的切断部位に二本鎖切断を導入することができる、標的化エンドヌクレアーゼ、または前記標的化エンドヌクレアーゼをコードする核酸、および(ii) 前記標的切断部位の少なくとも1つの側の染色体配列に対する実質的な配列同一性を有する第1の部分を含む少なくとも1つの一本鎖核酸を導入すること；ならびに
- b) 前記標的化エンドヌクレアーゼによって導入される前記二本鎖切断が、前記染色体配列が前記一本鎖核酸の配列と交換され、それによって前記染色体配列を編集する相同性指向プロセスによって修復される条件下に、前記細胞を維持することを含む、方法。

．．．
【請求項13】

前記標的化エンドヌクレアーゼが、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、メガヌクレアーゼ、転写活性化因子様エフェクター(TALE)ヌクレアーゼ、部位特異的ヌクレアーゼ、または人工標的DNA二本鎖切断誘導剤である、請求項1に記載の方法。」

(6-2) 「【0051】

．．．概して、標的化エンドヌクレアーゼをコードする核酸は、プロモーター調節領域に操作可能に結合されることになる。」

(6-3) 「【0064】

(d) 細胞

本方法は、上記に記載の標的化エンドヌクレアーゼ分子(複数可)および核酸(複数可)を細胞内に導入することを含む。様々な細胞が、本方法における使用に適している。概して、細胞は、真核細胞または単細胞真核生物であろう。」

(7) 周知例6

同じく本願の第1優先日前に頒布された刊行物である、特表2001-503971号には、以下の事項が記載されている。

(7-1) 「注目する遺伝子は大腸菌 β -ガラクトシダーゼ・リポーター遺伝子からなり、その発現は、X-Gal(4-クロロ-5-ブロモ-3-インドリル- β -D-グルクトピラノシド)での染色により容易に検出できる。これは、その3'部分に真核細胞核局在シグナルをコードする配列を与える。組換え β -ガラクトシダーゼの核局在により、Xgalによってもまた検出可能な宿主細胞の内生 β -ガラクトシダーゼとの交差反応により生ずるバックグラウンドノイズの問題の排除が可能となり、それゆえに固定されたプラスミドからの酵素活性の特異的検出が可能となる。(第23頁下から2行~第24頁第6行)

(8) 周知例7

同じく本願の第1優先日前に頒布された刊行物である、特開平10-80274号には、以下の事項が記載されている。

(8-1) 「【請求項1】核移行シグナル(NLS)遺伝子およびテトラサイクリン・トランスアクチベーター(tTA)遺伝子を含んでなる組み換え遺伝子。」

(9) 周知例8

同じく本願の第1優先日前に頒布された刊行物である、特表2002-538842号には、以下の事項が記載されている。

(9-1) 「【0147】

(核局在化シグナルの導入は t e t R 媒介抑制を促進する)
t e t R 分布が主に細胞質で観察されたので、核局在シグナル (NLS) を t e t R 遺伝子の 3' 末端に導入し、核への導入を促進し、そして結果的に t e t R 媒介の転写抑制を強化した。」

2 引用発明

上記 (1-1)、(1-2)、(1-5)、(1-6)、(1-8) (特に、図 5 A 下図) (以下、第 5 において (1-1) などという場合は、全て第 5 の 1 において摘記した (1-1) などを意味する。) から、引用文献 2 では、CRISPR-Cas 系を構成する t r a c r RNA と c r RNA に基づいて設計されたキメラ RNA と I I 型 Cas 9 タンパク質を用いた CRISPR-Cas 系により、緩衝液中で標的配列が開裂されることが実験により確認されている。よって、引用文献 2 には、エンジニアリングされた、天然に存在しない CRISPR-Cas 系であって、Cas 9 タンパク質及び前記 1 つ以上のキメラ RNA が、いっしょに天然に存在しない CRISPR-Cas 系が記載されているといえる。また、図 5 B に示されたキメラ A は、上述のキメラ RNA の 1 つの態様であり、t r a c r RNA 由来の 26 ヌクレオチドの長さの配列を有するものであるから、引用文献 2 には以下の発明 (以下、「引用発明 2」という。) が記載されていると認められる。

「エンジニアリングされた、天然に存在しないクラスター化等間隔短鎖回分リピート (CRISPR) - CRISPR 関連 (Cas)

(CRISPR-Cas) 系であって、
a) 標的認識配列を 5' 末端に含み、その下流に t r a c r RNA と c r RNA の間に生じる塩基対相互作用を保持するヘアピン構造を含み、前記標的認識配列が緩衝液中で標的配列にハイブリダイズするキメラ RNA であるキメラ A と、

b) I I 型 Cas 9 タンパク質、
を含み、
前記 t r a c r RNA が、26 のヌクレオチドの長さを有し、
それによって、前記 Cas 9 タンパク質が、前記標的配列を開裂し、
前記 Cas 9 タンパク質及び前記キメラ RNA が、いっしょに天然に存在しない、

CRISPR-Cas 系。」

3 対比

本願発明の「ガイド配列」に関して、本願明細書【0060】には、「一般に、ガイド配列は、標的配列とハイブリダイズし、標的配列への CRISPR 複合体の配列特異的結合を指向するために標的ポリヌクレオチド配列との十分な相補性を有する任意のポリヌクレオチド配列である」と記載されている。

また、前記第 4 の 3 (1) イに示したとおり、本願発明の「t r a c r 配列」と「t r a c r メイト配列」は、互いにハイブリダイズして、「ガイド配列」や「Cas 9」とともに、「CRISPR 複合体」を形成するものであり、「t r a c r 配列」と「t r a c r メイト配列」が単一転写物内に含有される場合は、互いにハイブリダイゼーションすることでヘアピン構造を形成するものといえる。

一方、引用発明 2 のキメラ RNA も、「標的認識配列を 5' 末端に含み、その下流に t r a c r RNA と c r RNA の間に生じる塩基対相互作用を保持するヘアピン構造」を含むものであって、Cas 9 タンパク質と複合体を形成し、「標的認識配列」が「標的配列にハイブリダイズする」ことで「前記標的配列の開裂する」ものである。

よって、引用発明 2 の「a) 標的認識配列を 5' 末端に含み、その下流に t r a c r RNA と c r RNA の間に生じる塩基対相互作用を保持するヘアピン構造を含み、前記標的認識配列が・・・標的配列にハイブリダイズするキメラ RNA であるキメラ A」は、本願発明の「標的配列にハイブリダイズ

する1つ以上のCRISPR-Cas系ガイドRNA」であって、「ガイド配列、tracr配列及びtracrメイト配列を含む」ガイドRNAに相当する。

以上のことから、本願発明と引用発明2の一致点と相違点は、次のとおりである。

【一致点】

「エンジニアリングされた、天然に存在しないクラスター化等間隔短鎖回分リピート(CRISPR)-CRISPR関連(Cas)(CRISPR-Cas)系であって、
a) 標的配列にハイブリダイズする1つ以上のCRISPR-Cas系ガイドRNAであって、ガイド配列、tracr配列及びtracrメイト配列を含むガイドRNAと、
b) I I型Cas9タンパク質、
を含み、
それによって、前記Cas9タンパク質が、前記標的配列を開裂し、前記Cas9タンパク質及び前記1つ以上のガイドRNAが、いっしょに天然に存在しない、
CRISPR-Cas系。」

【相違点1】

本願発明は、ガイドRNAが、「真核細胞中のポリヌクレオチド遺伝子座中の標的配列にハイブリダイズ」し、I I型Cas9タンパク質が、「核局在化シグナル(NLS)を含む」ことによって、ガイドRNAが、「真核細胞中の前記ポリヌクレオチド遺伝子座」を標的とし、Cas9タンパク質がこれを開裂するのに対して、引用発明2では、標的配列が緩衝液中に存在し、Cas9タンパク質が核局在化シグナルを有していない点。

【相違点2】

本願発明は、「前記ポリヌクレオチド遺伝子座の配列が、改変されるのに対して、引用発明2では、標的配列を開裂するにとどまる点。

【相違点3】

本願発明は、CRISPR-Cas系ガイドRNAを「コードする1つ以上のヌクレオチド配列に作動可能に結合している第1の調節エレメント」と、I I型Cas9タンパク質を「コードするヌクレオチド配列に作動可能に結合している第2の調節エレメント」を含む「1つ以上のベクターを含み；成分(a)及び(b)が、前記系の同じ又は異なるベクター上に位置」する、CRISPR-Cas「ベクター」系であるのに対して、引用発明2では、「キメラRNA」と「Cas9タンパク質」を用いるCRISPR-Cas系である点。

【相違点4】

本願発明は、前記tracr配列が、「30以上のヌクレオチドの長さ」を有するのに対して、引用発明2は、それに対応する前記tracrRNAが、「26のヌクレオチドの長さ」を有する点。

4 判断

(1) 相違点1について

上記(1-1)、(1-7)のとおり、引用文献2には、CRISPR/Cas系が遺伝子ターゲティングとゲノム編集への応用に向けた大きな潜在能力をもたらす得ることに加えて、CRISPR/Cas系に基づく手法が、ゲノムを操作するために設計された人工酵素であるジンクフィンガーヌクレアーゼや転写活性化様エレメントヌクレアーゼの代替方法となり得ることも記載されている。

ここで、上記（２－２）、（３－１）、（４－１）、（５－２）、（６－３）のとおり、本願第１優先日当時、ゲノム編集の主たる対象は真核細胞であって、ジンクフィンガーヌクレアーゼや転写活性化様エレメンツヌクレアーゼが真核細胞中の標的DNA、すなわち、核内のゲノムを切断するものであることは周知であるから、引用発明２のCRISPR-Cas系も真核細胞中のゲノムに対して機能させようと試みることは当業者にとって、ごく自然な発想にすぎない。

そして、それを具現化するにあたって、真核細胞の核内のゲノムにCRISPR-Cas系を到達させるために、タンパク質を核内に移行させるための常套手段（上記（７－１）、（８－１）、（９－１）参照）である核局在化シグナルをCas9タンパク質に付加することは、当業者が格別の創意工夫なくし得たことである。

（２）相違点２について

ゲノム編集とは標的遺伝子を改変してゲノム情報を書き換えることであって、ヌクレアーゼによるDNA切断に引き続き、非相同末端結合やテンプレートによる相同組換えによりその配列を改変することは一般的な手法にすぎないから（上記（２－１）、（３－１）、（４－２）、（５－１）参照）、上記（１－１）、（１－７）のとおり、引用文献２に引用発明２のCRISPR-Cas系のゲノム編集への応用が示唆されている以上、DNA切断の後に、そのような手法により真核細胞中のポリヌクレオチド遺伝子座の配列を改変することが当業者にとって発明力を要するほどのことではないことは明らかである。

（３）相違点３について

細胞の内部で所望のタンパク質や核酸を機能させようとする場合に、それらを発現するベクターを用いることは常套手段である。上記（１）のとおり、引用発明２のCRISPR-Cas系を真核細胞中のゲノムに対して機能させようとするのが当業者にとってごく自然な発想にすぎない以上、当該系を構成する成分、すなわちCas9タンパク質及びキメラRNAをベクター系とすることは、当業者が適宜なし得たことである。実際、本願優先日前から、ゲノム編集のための成分をベクター系で細胞に導入することが一般的であった（上記（２－３）、（５－３）、（６－２））。

（４）相違点４について

上記（１－５）、（１－６）のとおり、引用文献２には、キメラA（tracrRNAは26ヌクレオチド長）は、Cas9によるDNA切断を誘導できるのに対して、それより短い方のキメラB（tracrRNAは18ヌクレオチド長）は、効果的に切断を行うことはできなかったことが示されている。

ここで、キメラAを構成する26ヌクレオチド長からなるtracrRNAは、上記（１－３）、（１－４）において、Cas9によるDNA切断を誘導できる最小領域であることが示されたものである（特に、図3Cを参照）。そして、上記（１－４）の図3Aには、上記最小領域のほか、「15-53」、「23-89」、「15-89」の領域からなるさらに長いtracrRNAも、crRNAと共に用いることでCas9によるDNA切断を誘導できることが示されている。

してみれば、引用発明１の「tracrRNA」を多少長くして30ヌクレオチド長程度のものであることは、当業者が適宜なし得たことである。

そして、tracr配列を30ヌクレオチド程度とすることで、新たな効果を奏すると認めることはできないことは、第４の４（２）で述べたとおりであるから、本願発明が奏する効果が格別なものとは認められない。

（５）小括

以上のとおりであるから、本願発明は、引用文献２に記載された発明及び本願優先日前の周知技術に基づいて、当業者が容易に発明をすることができたものである。

5 審判請求人の主張について

審判請求人が平成29年11月1日付け手続補正書による補正後の審判請求書においてする主張と、それに対する合議体の判断は次のとおりである。

(1) 審判請求人の主張

ア 引用文献2の

引用文献2では、*tracrRNA*の「23-48」の領域がCas9によるDNA切断を誘導できる最小領域であることが記載され、さらに「Cas9エンドヌクレアーゼは、目的の任意のdsDNA配列を標的としつつ開裂するように単一転写物としてエンジニアリングされたガイドRNAとともにプログラムに組み込まれ得る。この系は、効率的で用途が広く、かつガイドキメラRNA中のDNA標的-結合配列を変化させることによってプログラム可能である。」(第820ページ中央欄、最下行から第5行目から右欄2行目まで)と結論づけられていることから、キメラRNA中のガイドRNAを標的配列に従って変化させる必要がある一方で、*tracrRNA*を変化させる動機付けがない。

イ 引用文献2の真核細胞中への適用に関する開示について

引用文献2は、インビトロでの単純なDNA開裂を開示するにすぎず、CRISPR-Casタンパク質-ガイドRNA複合体が真核細胞中で形成若しくは維持され得るか否かに関する情報を含まない。

引用文献2はまた、真核細胞中での使用に重要なエレメントを開示も示唆もしていない。例えば、引用文献2は、核局在化シグナル(NLS)を含むCRISPR-Cas系、真核細胞中のCRISPR-Cas系ポリヌクレオチド又はCas9タンパク質の発現に関する調節エレメント、該調節エレメント及びCRISPR-Cas系ヌクレオチド配列を含むベクター系を開示も示唆もしていない。

ウ 成功の合理的な予測について

真核細胞と原核細胞は、遺伝子発現機構、タンパク質折りたたみ、RNAi経路の存在、RNAによる細胞毒性、細胞区画化、クロマチン構造、Mg²⁺濃度、リボヌクレアーゼ等の点で相違していること、RNA成分及びタンパク質成分を含んだtargetron系が研究の16年後にすら真核細胞において日常的に機能するように適合させられなかったこと等から、CRISPR-Cas9が真核細胞中での使用に成功するという合理的な予測をもつことはできなかった。

エ 同時代の証拠について

以下の同時代の証拠は、当業者が成功するという予測をもたなかったことを示す。なお、審判請求人は、平成29年11月1日付けで審判請求書を補正すると同時に手続補正書として参考資料1~16を提出したが、「同時代の証拠」のそれぞれがいずれの参考資料に基づくものであるか明示していない。

(エー1) Dr. Dana Carroll

「真核細胞中のこの系の活性とはどうなのか? ジンクフィンガー及びTALEモジュールは、両方が、クロマチンの状況においてそれらの標的を結合する天然の転写因子に由来する。これは、CRISPR成分には当てはまらない。Cas9がクロマチン標的に対して効率的に機能するのか又は必要とされるDNA-RNAハイブリッドが、その状況において安定化され得るのかは、何ら保証がない。この構造は、リボヌクレアーゼH及び/又はFEN1(その両方もが、DNA複製の間にRNAプライマーの除去において機能する)による、RNA加水分解の基質であり得る。真核生物においてこの系を適用しようと試みるだけで、これらの懸念事項に取り組むことになるであろう。」

(エー２) Dr. Doudna (引用文献２の著者の一人)

「我々の２０１２年の論文は、大きな成功を収めたが、問題があった。我々は、CRISPR/Cas9が真核生物(植物及び動物細胞)において機能するかどうか確信が持てなかった」

(エー３) Jinek (引用文献２の著者の一人)

「しかし、このような細菌の系が真核細胞において機能するか否かは既知ではなかった。」

(エー４) Melissa Pandika

「Doudnaは、CRISPRをヒト細胞において機能させるにあたって『多くの挫折』を経験した。しかし彼女は、成功したならば、CRISPRが『極めて影響の大きな発見』、そして場合によっては強力ですらある遺伝子治療技術になるであろうことを知っていた。」

(２) 判断

ア 審判請求人の主張アについて

審判請求人が指摘する引用文献２の「Cas9エンドヌクレアーゼは、目的の任意のdsDNA配列を標的としかつ開裂するように単一転写物としてエンジニアリングされたガイドRNAとともにプログラムに組み込まれ得る。この系は、効率的で用途が広く、かつガイドキメラRNA中のDNA標的-結合配列を変化させることによってプログラム可能である。」なる記載は、キメラRNAを用いた系が効率的である旨を述べるものであり、キメラRNAに含まれるtracrRNAを改良することを阻害する趣旨のものとはいえない。また、その他にもtracr配列の長さなど、キメラRNAの構造を調整することを妨げる事情は見いだせない。

イ 審判請求人の主張イ、ウについて

審判請求人の主張は、CRISPR-Cas9の真核細胞への適用が成功するという合理的な予測がなかったという点にとどまるものである。上記４で述べたとおり、引用発明２のCRISPR-Cas系を真核細胞中のゲノムに対して機能させようと試みることに十分な動機付けがある以上、単にその成功に合理的な予測がなかったという点のみをもって、当業者がそのような試みを行うことを妨げるような阻害要因があったということはできない。

また、引用文献２に、核局在化シグナルや、調節エレメント、ベクター系が開示されていないとしても、上記４で述べたとおり、引用発明２のCRISPR-Cas系を真核細胞中のゲノムに対して機能させようと試みることは十分な動機付けがある以上、それを具現化するにあたって、周知技術を適用して、核局在化シグナルをCas9タンパク質に付与することや、キメラRNAをコードするDNAを、Cas9タンパク質をコードするDNAと同じ又は異なるベクターに導入させることでベクター系とすることは、当業者が特段の創意工夫なくし得ることである。そして、実際にそのような周知技術を適用するに際し格別の技術的困難性があったと認めるに足る根拠は見いだせない。

ウ 審判請求人の主張エについて

審判請求人が平成２９年１月１日に手続補足書として提出した参考資料３は上記(エー１)の根拠資料と認められるところ、当該資料の最終段落には「CRISPR系が次の次の標的切断試薬を提供するかはまだ分からないが、試してみる価値が明らかにある」(訳文は当審が作成した。)と記載されている。当該記載は、むしろ、CRISPR-Cas9を真核細胞に適用しようとすることに動機付けがあることを示している。また、審判請求人が挙げた上記(エー１)の記載についても、CRISPR-Cas9が真核生物において機能するかについて保証がないという指摘にとどまるものである。

また、上記(エー２)、(エー３)についても、その根拠となる資料が不

明ではあるものの、いずれもCRISPR-Cas9が真核生物において機能するか確信が持てなかった、あるいは、機能するか否かは既知ではなかったという指摘にとどまるものである。

次に、上記（エー４）については、同手続補足書として提出した参考資料１２がその根拠資料と認められる。そして、審判請求人が挙げる「Doudnaは、CRISPRをヒト細胞において機能させるにあたって『多くの挫折』を経験した。しかし彼女は、成功したならば、CRISPRが『極めて影響の大きな発見』、そして場合によっては強力ですらある遺伝子治療技術になるであろうことを知っていた」という点についても、「彼女は、成功したならば、CRISPRが『極めて影響の大きな発見』、そして場合によっては強力ですらある遺伝子治療技術になるであろうことを知っていた」ということは、むしろ、CRISPR-Cas9を真核細胞への適用を試みることに動機付けがあったことを示しているといえる。

以上のように、審判請求人が同時代の証拠として挙げるものは、いずれも引用発明２のCRISPR-Cas系が真核細胞中のゲノムで機能することの合理的な予測がないという指摘にとどまるものであり、上記イでも述べたとおり、引用発明２のCRISPR-Cas系を真核細胞中のゲノムに対して機能させようと試みることに十分な動機付けがある以上、単にその成功に合理的な予測がなかったという点のみをもって、当業者がそのような試みを行うことを妨げるような阻害要因があったということとはできない。

エ 以下に示す参考文献１、２は、発行日は本願第１優先日よりも後ではあるものの、その投稿日が本願第１優先日よりも前、あるいはほぼ同時期であり、本願出願人ら以外の独立した複数の研究グループが投稿した論文である。そして、これらの論文や先願１出願当初明細書等には、核局在化シグナルを付加したCas9タンパク質を用いたCRISPR-Cas9ベクター系により、真核細胞の核内での標的配列の切断を行ったことが記載されている。このことは、引用発明２のCRISPR-Cas系を真核細胞中のゲノムに対して機能させようと試みることに十分な動機付けがあり、仮に、本願優先日前に、CRISPR-Cas9系が真核生物において機能することを合理的に予測することができなかつたとしても、それが阻害要因となるものではなく、さらに、核局在化シグナルを付加したCas9タンパク質を用いたCRISPR-Cas9ベクター系を用いることが、CRISPR-Cas系を真核細胞に適用する際の手法として、当業者がごく普通に採用するものであったことを示すものといえる。そして、本願発明に、それを超える格別の創意工夫が見いだせない以上、進歩性を否定するよりほかない。

参考文献１：Science, Vol. 339, p. 823-826（投稿日：2012年10月26日、発行日：2013年1月3日）

参考文献２：eLife, Vol. 2, e00471, p. 1-9（投稿日：2012年12月15日、発行日：2013年1月29日）

オ 上記ア～エのとおりであるから、審判請求人の主張は採用することができない。

6 まとめ

よって、出願人の主張はいずれも採用できず、本願発明は、引用文献２に記載された発明及び本願優先日前の周知技術に基づいて、当業者が容易に発明をすることができたものであるから、特許法第２９条第２項の規定により、特許を受けることができないものである。

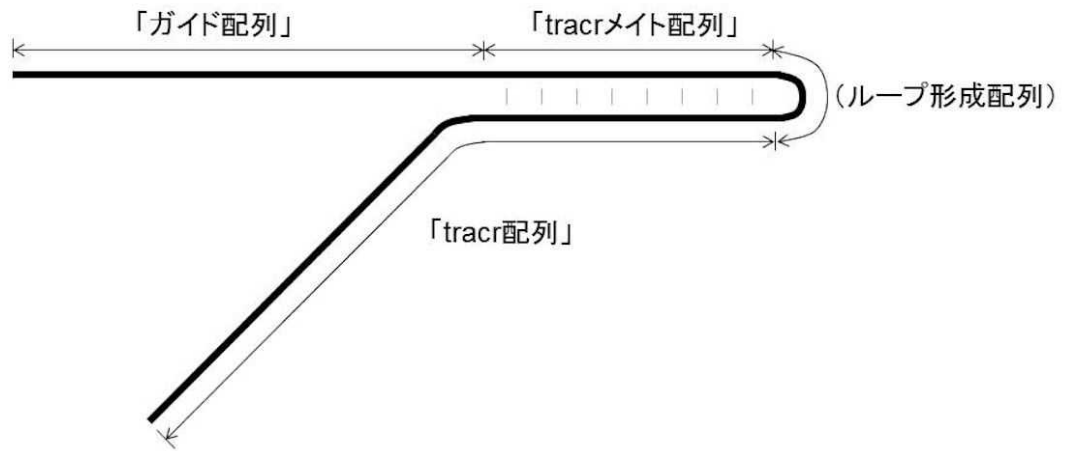
第６ むすび

以上のとおり、本願発明は、特許法第２９条の２の規定、及び、同法第２９条第２項の規定により特許を受けることができないから、他の請求項に

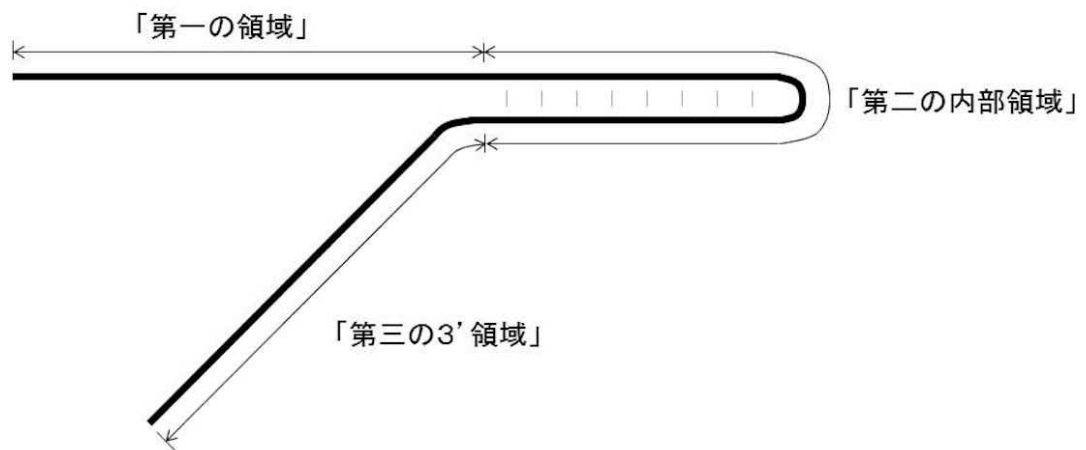
係る発明について検討するまでもなく、本願は拒絶されるべきものである。

よって、結論のとおり審決する。

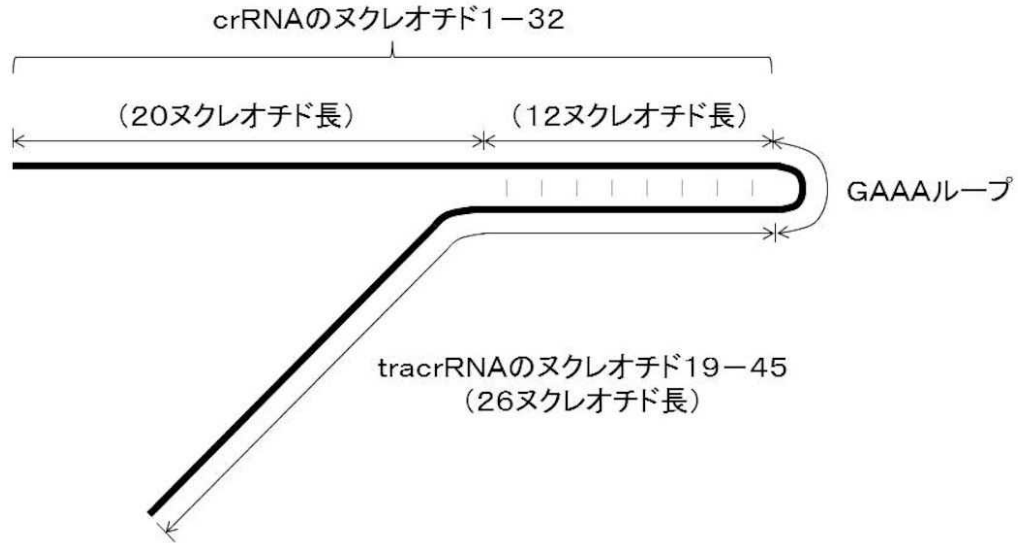
図A 本願発明の「ガイドRNA」



図B 引用発明1の「ガイドRNA」



図C 先願1実施例ガイドRNA



平成30年 9月14日

審判長 特許庁審判官 長井 啓子
 特許庁審判官 山中 隆幸
 特許庁審判官 小暮 道明

(行政事件訴訟法第46条に基づく教示)
 この審決に対する訴えは、この審決の謄本の送達があった日から30日
 (附加期間がある場合は、その日数を附加します。)以内に、特許庁長官を
 被告として、提起することができます。

審判長 長井 啓子
 出訴期間として在外者に対し90日を附加する。

[審決分類] P18 . 161-Z (C12N)
 121

審判長	特許庁審判官	長井 啓子	9123
	特許庁審判官	小暮 道明	9358
	特許庁審判官	山中 隆幸	3227