

【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12月10日(2024.12.10)

【国際公開番号】WO2022/120334
 【公表番号】特表2023-553419(P2023-553419A)
 【公表日】令和5年12月21日(2023.12.21)
 【年通号数】公開公報(特許)2023-240
 【出願番号】特願2023-534338(P2023-534338)

【国際特許分類】

10

- C 1 2 N 15/62(2006.01)
- C 1 2 N 5/10(2006.01)
- C 0 7 K 19/00(2006.01)
- C 0 7 K 14/52(2006.01)
- C 1 2 N 15/11(2006.01)
- C 1 2 N 5/0786(2010.01)
- C 1 2 N 15/63(2006.01)
- C 1 2 N 15/09(2006.01)
- C 1 2 N 15/12(2006.01)
- C 1 2 N 15/24(2006.01)
- C 1 2 N 15/13(2006.01)
- A 6 1 P 35/00(2006.01)
- A 6 1 K 35/12(2015.01)
- A 6 1 K 35/15(2015.01)
- A 6 1 K 35/17(2015.01)
- A 6 1 K 45/00(2006.01)
- A 6 1 K 47/65(2017.01)

20

【F I】

- C 1 2 N 15/62 Z
- C 1 2 N 5/10 Z N A
- C 0 7 K 19/00
- C 0 7 K 14/52
- C 1 2 N 15/11 Z
- C 1 2 N 5/0786
- C 1 2 N 15/63 Z
- C 1 2 N 15/09 1 1 0
- C 1 2 N 15/09 1 0 0
- C 1 2 N 15/12
- C 1 2 N 15/24
- C 1 2 N 15/13
- A 6 1 P 35/00
- A 6 1 K 35/12
- A 6 1 K 35/15
- A 6 1 K 35/17
- A 6 1 K 45/00
- A 6 1 K 47/65

30

40

【手続補正書】

【提出日】令和6年11月29日(2024.11.29)

【手続補正1】

50

【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】

明細書に記載の発明。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0484

10

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0484】

上記の実施形態の広い発明概念から逸脱せずにそれを変更できることが当業者によって認識されている。したがって、本発明は開示された特定の実施形態に限定されないと理解され、本明細書によって定義されるような本発明の精神および範囲内に改変を包含することが意図される。

以下に、本願の当初の特許請求の範囲に記載の発明を列挙する。

[発明1]

(i) CD19抗原を標的とするキメラ抗原受容体(CAR)をコードする第1の外因性ポリヌクレオチド；

20

(ii) モノクローナル抗体特異的エピトープを含む不活性化細胞表面受容体とインターロイキン15(IL-15)とをコードする第2の外因性ポリヌクレオチドであって、前記不活性化細胞表面受容体と前記IL-15とが自己プロテアーゼペプチドによって作動可能に連結されている第2の外因性ポリヌクレオチド；ならびに

(iii) B2M、TAP1、TAP2、タパシン、RFXANK、CIITA、RFX5およびRFXAP遺伝子のうち1つまたは複数の欠失または発現低減を含む人工多能性幹細胞(iPSC)またはその派生細胞。

[発明2]

ヒト白血球抗原E(HLA-E)および/またはヒト白血球抗原G(HLA-G)をコードする第3の外因性ポリヌクレオチドをさらに含む、発明1に記載のiPSCまたは派生細胞。

30

[発明3]

前記外因性ポリヌクレオチドのうち1つまたは複数が、前記細胞の染色体上の1つまたは複数の座位に組み込まれており、前記1つまたは複数の座位が、AAVS1、CCR5、ROSA26、コラーゲン、HTRP、HL1、GAPDH、RUNX1、B2M、TAPI、TAP2、タパシン、NLRC5、RFXANK、CIITA、RFX5、RFXAP、TCR_aまたはb定常領域、NKG2A、NKG2D、CD38、CIS、CBL-B、SOCS2、PD1、CTLA4、LAG3、TIM3、およびTIGIT遺伝子からなる群から選択され、但し、前記外因性ポリヌクレオチドのうち少なくとも1つが、B2M、TAP1、TAP2、タパシン、RFXANK、CIITA、RFX5およびRFXAP遺伝子からなる群から選択される遺伝子の座位に組み込まれており、それにより前記遺伝子の欠失または発現低減をもたらす、発明1または2に記載のiPSCまたは派生細胞。

40

[発明4]

前記外因性ポリヌクレオチドのうち1つまたは複数が、CIITA、AAVS1およびB2M遺伝子の前記座位に組み込まれている、発明1または2に記載のiPSCまたは派生細胞。

[発明5]

B2MまたはCIITA遺伝子のうち1つまたは複数の欠失または発現低減を有する、

50

発明 1 ~ 4 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

[発明 6]

全末梢血単核細胞 (P B M C) からリプログラミングされている、発明 1 ~ 5 のいずれか一つに記載の i P S C 。

[発明 7]

リプログラミングされた T 細胞に由来する、発明 1 ~ 5 のいずれか一つに記載の人工多能性幹細胞。

[発明 8]

前記 C A R が、

(i) シグナルペプチド；

(i i) 前記 C D 1 9 抗原と特異的に結合する結合ドメインを含む細胞外ドメイン；

(i i i) ヒンジ領域；

(i v) 膜貫通ドメイン；

(v) 細胞内シグナル伝達ドメイン；および

(v i) 共刺激ドメイン

を含む、発明 1 ~ 7 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

[発明 9]

前記シグナルペプチドが、 G M C S F R シグナルペプチドを含む、発明 8 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 1 0]

前記細胞外ドメインが、前記 C D 1 9 抗原と特異的に結合する抗体に由来する s c F v を含む、発明 8 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 1 1]

前記ヒンジ領域が C D 2 8 ヒンジ領域を含む、発明 8 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 1 2]

前記膜貫通ドメインが、 C D 2 8 膜貫通ドメインを含む、発明 8 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 1 3]

前記細胞内シグナル伝達ドメインが、 C D 3 細胞内ドメインを含む、発明 8 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 1 4]

前記共刺激ドメインが、 C D 2 8 シグナル伝達ドメインを含む、発明 8 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 1 5]

前記 C A R が、

(i) 配列番号 1 と少なくとも 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む前記シグナルペプチド；

(i i) 配列番号 7 と少なくとも 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む前記細胞外ドメイン；

(i i i) 配列番号 2 2 と少なくとも 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む前記ヒンジ領域；

(i v) 配列番号 2 4 と少なくとも 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む前記膜貫通ドメイン；

(v) 配列番号 6 と少なくとも 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む前記細胞内シグナル伝達ドメイン；および

10

20

30

40

50

(v i) 配列番号 2 0 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む前記共刺激ドメイン

を含む、発明 8 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 1 6]

前記 C A R が、

(i) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む前記シグナルペプチド；

(i i) 配列番号 7 のアミノ酸配列を含む前記細胞外ドメイン；

(i i i) 配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む前記ヒンジ領域；

(i v) 配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含む前記膜貫通ドメイン；

(v) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む前記細胞内シグナル伝達ドメイン；および

(v i) 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含む前記共刺激ドメイン

を含む、発明 8 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 1 7]

前記不活性化細胞表面タンパク質が、イブリツモマブ、チウキセタン、ムロモナブ - C D 3、トシツモマブ、アブシキシマブ、バシリキシマブ、ブレンツキシマブ、ベドチン、セツキシマブ、インフリキシマブ、リツキシマブ、アレムツズマブ、ベバシズマブ、セルトリズマブ、ペゴル、ダクリズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、ゲムツズマブ、ナタリズマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、ポラツズマブ、ベドチン、ラニビズマブ、トシリズマブ、トラスツズマブ、ベドリズマブ、アダリムマブ、ベリムマブ、カナキヌマブ、デノスマブ、ゴリムマブ、イピリムマブ、オフアツムマブ、パニツムマブ、およびウス

テキヌマブによって特異的に認識されるエピトープから選択されるモノクローナル抗体特異的エピトープの群から選択される、発明 1 ~ 1 6 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

[発明 1 8]

前記不活性化細胞表面タンパク質が切断型上皮増殖因子 (t E G F R) バリエーションである、発明 1 7 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 1 9]

前記自己プロテアーゼペプチドが、ブタテシオウイルス - 1 2 A (P 2 A) ペプチドを含む、発明 1 ~ 1 8 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

[発明 2 0]

前記 B 2 M および / または C I I T A 遺伝子のうち 1 つまたは複数の欠失または発現低減を有する、発明 1 ~ 1 9 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

[発明 2 1]

前記 t E G F R バリエーションが、配列番号 7 1 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列からなる、発明 1 8 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 2 2]

前記 I L - 1 5 が、配列番号 7 2 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、発明 1 ~ 2 1 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

[発明 2 3]

前記自己プロテアーゼペプチドが、配列番号 7 3 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、発明 1 ~ 2 2 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

[発明 2 4]

前記 H L A - E が、配列番号 6 6 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % もしくは 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、または前記 H L A - G が、配列番号 6 9 と少なくとも 9 0 %、9 1 %

10

20

30

40

50

、 92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくは100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、発明2～23のいずれか一つに記載のiPSCまたは派生細胞。

[発明 25]

(i) 前記第1の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号62と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含み；

(i i) 前記第2の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号75と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含み；かつ

(i i i) 前記第3の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号67と少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、

発明1～24のいずれか一つに記載のiPSCまたは派生細胞。

[発明 26]

(i) 前記第1の外因性ポリヌクレオチドが、AAVS1遺伝子の座位に組み込まれており；

(i i) 前記第2の外因性ポリペプチドが、CIITA遺伝子の座位に組み込まれており；かつ

(i i i) 前記第3の外因性ポリペプチドが、B2M遺伝子の座位に組み込まれており；前記外因性ポリヌクレオチドの組込みが、CIITAおよびB2Mを欠失させるまたはその発現を低減し、好ましくは、前記第1の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号62のポリヌクレオチド配列を含み、前記第2の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号75のポリヌクレオチド配列を含み、前記第3の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号67のポリヌクレオチド配列を含む、

発明1～25のいずれか一つに記載のiPSCまたは派生細胞。

[発明 27]

ナチュラルキラー（NK）細胞またはT細胞である、発明1～26のいずれか一つに記載の派生細胞。

[発明 28]

ナチュラルキラー（NK）細胞である、発明27に記載の派生細胞。

[発明 29]

(i) 配列番号61のアミノ酸配列を有するキメラ抗原受容体（CAR）をコードする第1の外因性ポリヌクレオチド；

(i i) 配列番号71のアミノ酸配列を有する切断型上皮増殖因子（tEGFR）バリアント、配列番号73のアミノ酸配列を有する自己プロテアーゼペプチド、および配列番号72のアミノ酸配列を有するインターロイキン15（IL-15）をコードする第2の外因性ポリヌクレオチド；ならびに

(i i i) 任意選択で、配列番号66のアミノ酸配列を有するヒト白血球抗原E（HLA-E）をコードする第3の外因性ポリヌクレオチド

を含み、前記第1、第2および第3の外因性ポリヌクレオチドが、AAVS1、CIITAおよびB2M遺伝子の座位に組み込まれており、それにより、CIITAおよびB2Mを欠失させるまたはその発現を低減する、人工多能性幹細胞（iPSC）、ナチュラルキラー（NK）細胞またはT細胞。

[発明 30]

(i) 前記第1の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号62のポリヌクレオチド配列を含み；

(i i) 前記第2の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号75のポリヌクレオチド配列を含み；かつ

10

20

30

40

50

(i i i) 前記第 3 の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号 6 7 のポリヌクレオチド配列を含み、

前記第 1、第 2 および第 3 の外因性ポリヌクレオチドが、それぞれ A A V S 1、C I I T A および B 2 M 遺伝子の座位に組み込まれている、
発明 2 9 に記載の i P S C、NK 細胞または T 細胞。

[発明 3 1]

発明 1 ~ 3 0 のいずれか一つに記載の細胞を含む組成物。

[発明 3 2]

ペプチド、サイトカイン、チェックポイント阻害薬、マイトジェン、増殖因子、低分子 RNA、dsRNA (二本鎖 RNA)、siRNA、オリゴヌクレオチド、単核血球、対象となる一つもしくは複数のポリ核酸を含むベクター、抗体、化学療法剤もしくは放射性部分、または免疫調節薬 (I M i D) からなる群から選択される一つまたは複数の治療剤をさらに含む、またはそれと組み合わせて使用される、発明 3 1 に記載の組成物。

[発明 3 3]

それを必要とする対象におけるがんを治療する方法であって、発明 1 ~ 3 0 のいずれか一つに記載の細胞または発明 3 1 および 3 2 のいずれか一つに記載の組成物を、それを必要とする前記対象に投与することを含む方法。

[発明 3 4]

前記がんが非ホジキンリンパ腫 (N H L) である、発明 3 3 に記載の方法。

[発明 3 5]

発明 1 ~ 2 8 のいずれか一つに記載の派生細胞を製造する方法であって、前記 i P S C 細胞を細胞分化のための条件下で分化させて、それにより前記派生細胞を得ることを含む方法。

[発明 3 6]

前記 i P S C が、未改変 i P S C をゲノム操作することによって得られ、前記ゲノム操作することが標的化編集を含む、発明 3 5 に記載の方法。

[発明 3 7]

前記標的化編集が、C R I S P R、Z F N、T A L E N、ホーミングヌクレアーゼ、相同組換え、またはこれらの方法の任意の他の機能的パリエーションによって実行される欠失、挿入、またはイン/デルを含む、発明 3 6 に記載の方法。

[発明 3 8]

人工多能性幹細胞 (i P S C) を NK 細胞に分化させる方法であって、分化プロトコル下において培養の最終 2 4 時間に組換えヒト I L - 1 2 を含有する培地中で前記 i P S C を培養することを含めて、前記分化プロトコルに前記 i P S C を供することを含む方法。

[発明 3 9]

前記組換え I L - 1 2 が、I L 1 2 p 7 0 を含む、発明 3 8 に記載の方法。

[発明 4 0]

(i) C D 1 9 抗原を標的とするキメラ抗原受容体 (C A R) をコードする第 1 の外因性ポリヌクレオチド；

(i i) モノクローナル抗体特異的エピトープを含む不活性化細胞表面受容体とインターロイキン 1 5 (I L - 1 5) とをコードする第 2 の外因性ポリヌクレオチドであって、前記不活性化細胞表面受容体と前記 I L - 1 とが、自己プロテアーゼペプチドによって作動可能に連結されている、第 2 の外因性ポリヌクレオチド；ならびに

(i i i) B 2 M、T A P 1、T A P 2、タパシン、R F X A N K、C I I T A、R F X 5 および R F X A P 遺伝子のうち一つまたは複数の欠失または発現低減を含む、人工多能性幹細胞 (i P S C) に由来する C D 3 4 + 造血前駆細胞 (H P C) 。

[発明 4 1]

ヒト白血球抗原 E (H L A - E) および / またはヒト白血球抗原 G (H L A - G) をコードする第 3 の外因性ポリヌクレオチドをさらに含む、発明 4 0 に記載の C D 3 4 + H P C 。

10

20

30

40

50

[発明 4 2]

前記外因性ポリヌクレオチドのうち1つまたは複数が、前記細胞の染色体上の1つまたは複数の座位に組み込まれており、前記1つまたは複数の座位が、AAVS1、CCR5、ROSA26、コラーゲン、HTRP、HL1、GAPDH、RUNX1、B2M、TAPI、TAP2、タバシン、NLRC5、RFXANK、CIITA、RFX5、RFXAP、TCR aまたはb定常領域、NKG2A、NKG2D、CD38、CIS、CBL-B、SOCS2、PD1、CTLA4、LAG3、TIM3、およびTIGIT遺伝子からなる群から選択され、但し、前記外因性ポリヌクレオチドのうち少なくとも1つが、B2M、TAP1、TAP2、タバシン、RFXANK、CIITA、RFX5およびRFXAP遺伝子からなる群から選択される遺伝子の座位に組み込まれており、それにより前記遺伝子の欠失または発現低減をもたらす、発明40または41に記載のCD34+ HPC。

10

[発明 4 3]

前記外因性ポリヌクレオチドのうち1つまたは複数が、CIITA、AAVS1およびB2M遺伝子の前記座位に組み込まれている、発明42に記載のCD34+ HPC。

[発明 4 4]

B2MまたはCIITA遺伝子のうち1つまたは複数の欠失または発現低減を有する、発明40～43のいずれか一つに記載のCD34+ HPC。

[発明 4 5]

前記CARが、

(i) シグナルペプチド；

(ii) 前記CD19抗原と特異的に結合する結合ドメインを含む細胞外ドメイン；

(iii) ヒンジ領域；

(iv) 膜貫通ドメイン；

(v) 細胞内シグナル伝達ドメイン；および

(vi) CD28シグナル伝達ドメインを含む共刺激ドメインなどの共刺激ドメインを含む、発明40～44のいずれか一つに記載のCD34+ HPC。

20

[発明 4 6]

モノクローナル抗体特異的エピトープを含む不活性化細胞表面受容体と、インターロイキン15(IL-15)またはインターロイキン2(IL-2)などのサイトカインとをコードするポリヌクレオチドであって、前記モノクローナル抗体特異的エピトープと前記サイトカインとが、自己プロテアーゼペプチドによって作動可能に連結されている、ポリヌクレオチド。

30

[発明 4 7]

前記不活性化細胞表面受容体が、イブリツモマブ、チウキセタン、ムロモナブ-CD3、トシツモマブ、アブシキシマブ、バシリキシマブ、ブレンツキシマブ、ベドチン、セツキシマブ、インフリキシマブ、リツキシマブ、アレムツズマブ、ベバシズマブ、セルトリズマブ、ペゴル、ダクリズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、ゲムツズマブ、ナタリズマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、ポラツズマブ、ベドチン、ラニビズマブ、トシリズマブ、トラスツズマブ、ベドリズマブ、アダリムマブ、ベリムマブ、カナキヌマブ、デノスマブ、ゴリムマブ、イピリムマブ、オフアツムマブ、パニツムマブ、またはウステキヌマブによって特異的に認識されるエピトープを含む、発明46に記載のポリヌクレオチド。

40

[発明 4 8]

前記不活性化細胞表面受容体が、切断型上皮増殖因子(tEGFR)パリアントを含む、発明46～47のいずれか一つに記載のポリヌクレオチド。

[発明 4 9]

前記自己プロテアーゼペプチドが、ブタテシオウイルス-1 2A(P2A)ペプチドを含む、発明46～48のいずれか一つに記載のポリヌクレオチド。

[発明 5 0]

50

前記 t E G F R バリエントが、配列番号 7 1 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列からなる、発明 4 8 に記載のポリヌクレオチド。

[発明 5 1]

配列番号 7 2 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む I L - 1 5 を含有する、発明 4 6 ~ 5 0 のいずれか一つに記載のポリヌクレオチド。

[発明 5 2]

前記自己プロテアーゼペプチドが、配列番号 7 3 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、発明 4 6 ~ 5 1 のいずれか一つに記載のポリヌクレオチド。

10

[発明 5 3]

前記 t E G F R バリエントが、配列番号 7 1 のアミノ酸配列からなる、発明 5 0 に記載のポリヌクレオチド。

[発明 5 4]

前記 I L - 1 5 が、配列番号 7 2 のアミノ酸配列からなる、発明 5 1 に記載のポリヌクレオチド。

[発明 5 5]

前記自己プロテアーゼペプチドが、配列番号 7 3 のアミノ酸配列からなる、発明 5 2 に記載のポリヌクレオチド。

20

[発明 5 6]

配列番号 7 1 のアミノ酸配列を有する切断型上皮増殖因子 (t E G F R) バリエント、配列番号 7 3 のアミノ酸配列を有する自己プロテアーゼペプチド、および配列番号 7 2 のアミノ酸配列を有するインターロイキン 1 5 (I L - 1 5) をコードする作動可能に連結されたポリヌクレオチドからなる、発明 4 6 ~ 5 5 のいずれか一つに記載のポリヌクレオチド。

[発明 5 7]

セツキシマブ、マツズマブ、ネシツムマブ、パニツムマブ、ボラツズマブ ベドチン、リツキシマブおよびトラスツズマブからなる群から選択される抗体によって特異的に認識されるエピトープを含む不活性化細胞表面受容体と、I L - 1 5 とをコードするポリヌクレオチドであって、前記エピトープおよびサイトカインが、P 2 A 配列によって作動可能に連結されている、ポリヌクレオチド。

30

[発明 5 8]

前記不活性化細胞表面受容体が、配列番号 7 4、7 9、8 1、および 8 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、発明 5 7 に記載のポリヌクレオチド。

[発明 5 9]

発明 4 6 ~ 5 8 のいずれか一つに記載のポリヌクレオチドによってコードされるタンパク質。

[発明 6 0]

発明 4 6 ~ 5 8 のいずれか一つに記載のポリヌクレオチドを含む人工多能性幹細胞 (i P S C) またはその派生細胞。

40

[発明 6 1]

発明 4 6 ~ 5 8 のいずれか一つに記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

[発明 6 2]

(i) プロモーター；

(i i) ターミネーターおよび / または ポリアデニル化シグナル配列；

(i i i) 左側相同配列；ならびに

(i v) 右側相同配列

をさらに含む、発明 6 1 に記載のベクター。

50

[発明 6 3]

前記左側相同配列が、配列番号 8 4 のポリヌクレオチド配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、発明 6 2 に記載のベクター。

[発明 6 4]

前記右側相同配列が、配列番号 8 5 のポリヌクレオチド配列と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、発明 6 2 または 6 3 に記載のベクター。

[発明 6 5]

配列番号 8 6 と少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、発明 6 1 ~ 6 4 のいずれか一つに記載のベクター。

[発明 6 6]

(i) キメラ抗原受容体 (C A R) をコードする第 1 の外因性ポリヌクレオチド；
(i i) モノクローナル抗体特異的エピトープを含む不活性化細胞表面受容体と、インターロイキン 1 5 (I L - 1 5) とをコードする第 2 の外因性ポリヌクレオチドであって、前記不活性化細胞表面受容体と前記 I L - 1 5 とが、自己プロテアーゼペプチドによって作動可能に連結されている、第 2 の外因性ポリヌクレオチド；ならびに

(i i i) B 2 M、T A P 1、T A P 2、タパシン、R F X A N K、C I I T A、R F X 5 および R F X A P 遺伝子のうち 1 つまたは複数の欠失または発現低減を含む人工多能性幹細胞 (i P S C) またはその派生細胞。

[発明 6 7]

ヒト白血球抗原 E (H L A - E) および / またはヒト白血球抗原 G (H L A - G) をコードする第 3 の外因性ポリヌクレオチドをさらに含む、発明 6 6 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 6 8]

前記外因性ポリヌクレオチドのうち 1 つまたは複数が、前記細胞の染色体上の 1 つまたは複数の座位に組み込まれており、前記 1 つまたは複数の座位が、A A V S 1、C C R 5、R O S A 2 6、コラーゲン、H T R P、H 1 1、G A P D H、R U N X 1、B 2 M、T A P 1、T A P 2、タパシン、N L R C 5、R F X A N K、C I I T A、R F X 5、R F X A P、T C R a または b 定常領域、N K G 2 A、N K G 2 D、C D 3 8、C I S、C B L - B、S O C S 2、P D 1、C T L A 4、L A G 3、T I M 3、および T I G I T 遺伝子からなる群から選択され、但し、前記外因性ポリヌクレオチドのうち少なくとも 1 つが、B 2 M、T A P 1、T A P 2、タパシン、R F X A N K、C I I T A、R F X 5 および R F X A P 遺伝子からなる群から選択される遺伝子の座位に組み込まれており、それにより前記遺伝子の欠失または発現低減をもたらす、発明 6 6 または 6 7 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 6 9]

前記外因性ポリヌクレオチドのうち 1 つまたは複数が、前記 C I I T A、A A V S 1 および B 2 M 遺伝子の前記座位に組み込まれている、発明 6 6 または 6 7 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 7 0]

B 2 M または C I I T A 遺伝子のうち 1 つまたは複数の欠失または発現低減を有する、発明 6 6 ~ 6 9 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

[発明 7 1]

前記 C A R が、
(i) シグナルペプチド、
(i i) 抗原と特異的に結合する結合ドメインを含む細胞外ドメイン、
(i i i) ヒンジ領域、

10

20

30

40

50

(i v) 膜貫通ドメイン、

(v) 細胞内シグナル伝達ドメイン、および

(v i) 共刺激ドメイン

を含む、発明 6 6 ~ 7 0 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

[発明 7 2]

前記シグナルペプチドが、G M C S F R シグナルペプチドを含む、発明 7 1 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 7 3]

前記細胞外ドメインが、前記抗原と特異的に結合する V H H ドメインを含む、発明 7 1 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 7 4]

前記ヒンジ領域が、C D 2 8 ヒンジ領域を含む、発明 7 1 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 7 5]

前記膜貫通ドメインが、C D 2 8 膜貫通ドメインを含む、発明 7 1 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 7 6]

前記細胞内シグナル伝達ドメインが、C D 3 細胞内ドメインを含む、発明 7 1 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 7 7]

前記共刺激ドメインが、C D 2 8 シグナル伝達ドメインを含む、発明 7 1 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 7 8]

前記 C A R が、

(i) 配列番号 1 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む前記シグナルペプチド；

(i i) 配列番号 2 2 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む前記ヒンジ領域；

(i i i) 配列番号 2 4 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む前記膜貫通ドメイン；

(i v) 配列番号 6 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む前記細胞内シグナル伝達ドメイン；および

(v) 配列番号 2 0 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む前記共刺激ドメイン

を含む、発明 7 1 または 7 3 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 7 9]

前記 C A R が、

(i) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む前記シグナルペプチド；

(i i) 前記抗原と特異的に結合する s c F V または V H H ドメインを含む細胞外ドメイン；

(i i i) 配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む前記ヒンジ領域；

(i v) 配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含む前記膜貫通ドメイン；

(v) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む前記細胞内シグナル伝達ドメイン；および

(v i) 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含む前記共刺激ドメイン

を含む、発明 7 1 に記載の i P S C または派生細胞。

10

20

30

40

50

[発明 8 0]

前記不活性化細胞表面タンパク質が、イブリツモマブ、チウキセタン、ムロモナブ - C D 3、トシツモマブ、アブシキシマブ、バシリキシマブ、ブレンツキシマブ、ベドチン、セツキシマブ、インフリキシマブ、リツキシマブ、アレムツズマブ、ベバシズマブ、セルトリズマブ、ペゴル、ダクリズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、ゲムツズマブ、ナタリズマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、ポラツズマブ、ベドチン、ラニビズマブ、トシリズマブ、トラスツズマブ、ベドリズマブ、アダリムマブ、ベリムマブ、カナキヌマブ、デノスマブ、ゴリムマブ、イピリムマブ、オフアツムマブ、パニツムマブ、およびウステキヌマブによって特異的に認識されるエピトープから選択されるモノクローナル抗体特異的エピトープの群から選択される、発明 6 6 ~ 7 9 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

10

[発明 8 1]

前記不活性化細胞表面タンパク質が、切断型上皮増殖因子 (t E G F R) バリエーションを含む、発明 6 6 ~ 8 0 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

[発明 8 2]

前記自己プロテアーゼペプチドが、ブタテシオウイルス - 1 2 A (P 2 A) ペプチドを含む、発明 6 6 ~ 8 0 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

[発明 8 3]

前記 B 2 M および / または C I I T A 遺伝子のうち 1 つまたは複数の欠失または発現低減を有する、発明 6 6 ~ 8 0 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

20

[発明 8 4]

前記 t E G F R バリエーションが、配列番号 7 1 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列からなる、発明 8 1 に記載の i P S C または派生細胞。

[発明 8 5]

前記 I L - 1 5 が、配列番号 7 2 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、発明 6 6 ~ 8 0 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

[発明 8 6]

前記自己プロテアーゼペプチドが、配列番号 7 3 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、発明 6 6 ~ 8 5 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

30

[発明 8 7]

前記 H L A - E が、配列番号 6 6 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % もしくは 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、または前記 H L A - G が、配列番号 6 9 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % もしくは 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、発明 6 7 ~ 7 6 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

40

[発明 8 8]

(i) 前記第 2 の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号 7 5 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含み；かつ

(i i) 前記第 3 の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号 6 7 と少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む、

発明 6 7 ~ 8 7 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

[発明 8 9]

(i) 前記第 1 の外因性ポリヌクレオチドが、A A V S 1 遺伝子の座位に組み込まれて

50

おり；

(i i) 前記第 2 の外因性ポリペプチドが、C I I T A 遺伝子の座位に組み込まれており；かつ

(i i i) 前記第 3 の外因性ポリペプチドが、B 2 M 遺伝子の座位に組み込まれており；ここで、前記外因性ポリヌクレオチドの組み込みが、C I I T A および B 2 M を欠失させるまたはその発現を低減し、好ましくは、前記第 1 の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号 6 2 のポリヌクレオチド配列を含み、前記第 2 の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号 7 5 のポリヌクレオチド配列を含み、かつ前記第 3 の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号 6 7 のポリヌクレオチド配列を含む、

発明 6 6 ~ 8 8 のいずれか一つに記載の i P S C または派生細胞。

10

[発明 9 0]

ナチュラルキラー (N K) 細胞または T 細胞である、発明 6 6 ~ 8 9 のいずれか一つに記載の派生細胞。

[発明 9 1]

(i) キメラ抗原受容体 (C A R) をコードする第 1 の外因性ポリヌクレオチド；

(i i) 配列番号 7 1 のアミノ酸配列を有する切断型上皮増殖因子 (t E G F R) バリアント、配列番号 7 3 のアミノ酸配列を有する自己プロテアーゼペプチド、および配列番号 7 2 のアミノ酸配列を有するインターロイキン 1 5 (I L - 1 5) をコードする第 2 の外因性ポリヌクレオチド；ならびに

(i i i) 任意選択で、配列番号 6 6 のアミノ酸配列を有するヒト白血球抗原 E (H L A - E) をコードする第 3 の外因性ポリヌクレオチド

20

を含み、

前記第 1、第 2 および第 3 の外因性ポリヌクレオチドが、A A V S 1、C I I T A および B 2 M 遺伝子の座位に組み込まれており、それにより C I I T A および B 2 M を欠失させるまたはその発現を低減する、

i P S C、ナチュラルキラー (N K) 細胞または T 細胞。

[発明 9 2]

(i) 前記第 2 の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号 7 5 のポリヌクレオチド配列を含み；かつ

(i i) 前記第 3 の外因性ポリヌクレオチドが、配列番号 6 7 のポリヌクレオチド配列を含み、

30

前記第 1、第 2 および第 3 の外因性ポリヌクレオチドが、それぞれ A A V S 1、C I I T A および B 2 M 遺伝子の座位に組み込まれている、

発明 9 1 に記載の i P S C、N K 細胞または T 細胞。

[発明 9 3]

発明 6 6 ~ 9 2 のいずれか一つに記載の細胞を含む組成物。

[発明 9 4]

ペプチド、サイトカイン、チェックポイント阻害薬、マイトジェン、増殖因子、低分子 RNA、d s RNA (二本鎖 RNA)、s i RNA、オリゴヌクレオチド、単核血球、対象となる一つもしくは複数のポリ核酸を含むベクター、抗体、化学療法剤もしくは放射性部分、または免疫調節薬 (I M i D) からなる群から選択される一つまたは複数の治療剤をさらに含む、またはそれと組み合わせて使用される、発明 9 3 に記載の組成物。

40

[発明 9 5]

それを必要とする対象におけるがんを治療する方法であって、発明 6 6 ~ 9 2 のいずれか一つに記載の細胞または発明 9 3 および 9 4 のいずれか一つに記載の組成物を、それを必要とする前記対象に投与することを含む方法。

[発明 9 6]

前記がんが非ホジキンリンパ腫 (N H L) である、発明 9 5 に記載の方法。

[発明 9 7]

発明 6 6 ~ 9 0 のいずれか一つに記載の派生細胞を製造する方法であって、前記 i P S

50

Cを細胞分化のための条件下で分化させて、それにより前記派生細胞を得ることを含む方法。

[発明 9 8]

前記 i P S C が、未改変 i P S C をゲノム操作することによって得られ、前記ゲノム操作することが、標的化編集を含む、発明 9 7 に記載の方法。

[発明 9 9]

前記標的化編集が、C R I S P R、Z F N、T A L E N、ホーミングヌクレアーゼ、相同組換え、またはこれらの方法の任意の他の機能的バリエーションによって実行される欠失、挿入、またはイン/デルを含む、発明 9 8 に記載の方法。

[発明 1 0 0]

発明 6 6 ~ 9 0 のいずれか一つに記載の i P S C 細胞を N K 細胞に分化させる方法であって、分化プロトコル下において培養の最終 2 4 時間に組換えヒト I L - 1 2 p 7 0 を含む培地中で前記 i P S C 細胞を培養することを含めて、前記分化プロトコルに前記 i P S C 細胞を供することを含む方法。

[発明 1 0 1]

(i) キメラ抗原受容体 (C A R) をコードする第 1 の外因性ポリヌクレオチド
(i i) モノクローナル抗体特異的エピトープを含む不活性化細胞表面受容体とインターロイキン 1 5 (I L - 1 5) とをコードする第 2 の外因性ポリヌクレオチドであって、前記不活性化細胞表面受容体と前記 I L - 1 5 とが、自己プロテアーゼペプチドによって作動可能に連結されている、第 2 の外因性ポリヌクレオチド；ならびに

(i i i) B 2 M、T A P 1、T A P 2、タパシン、R F X A N K、C I I T A、R F X 5 および R F X A P 遺伝子のうち 1 つまたは複数の欠失または発現低減を含む、人工多能性幹細胞 (i P S C) に由来する C D 3 4 + 造血前駆細胞 (H P C) 。

10

20

30

40

50