

【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 3 月 4 日 (2021.3.4)

【公表番号】特表 2020-505034 (P2020-505034A)

【公表日】令和 2 年 2 月 20 日 (2020.2.20)

【年通号数】公開・登録公報 2020-007

【出願番号】特願 2019-539186 (P2019-539186)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/12	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)
C 0 7 K	14/47	(2006.01)
C 0 7 K	14/705	(2006.01)
C 0 7 K	16/28	(2006.01)
C 1 2 N	15/62	(2006.01)
C 1 2 N	15/13	(2006.01)
C 1 2 N	15/867	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
A 6 1 K	35/12	(2015.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 K	35/76	(2015.01)
A 6 1 K	39/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/04	(2006.01)
A 6 1 P	37/06	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
A 6 1 K	47/68	(2017.01)
A 6 1 K	47/64	(2017.01)
A 6 1 K	49/08	(2006.01)
A 6 1 K	49/14	(2006.01)
A 6 1 K	49/16	(2006.01)
A 6 1 K	51/08	(2006.01)
A 6 1 K	51/10	(2006.01)
A 6 1 K	35/17	(2015.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N	15/12	
C 0 7 K	19/00	Z N A
C 0 7 K	14/47	
C 0 7 K	14/705	
C 0 7 K	16/28	
C 1 2 N	15/62	Z
C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/867	Z
C 1 2 N	5/10	
A 6 1 K	35/12	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	39/00	G

A 6 1 K	39/00	H
A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 K	39/395	E
A 6 1 K	39/395	G
A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	39/395	C
A 6 1 K	39/395	L
A 6 1 K	39/395	T
A 6 1 K	39/395	U
A 6 1 K	47/68	
A 6 1 K	47/64	
A 6 1 K	49/08	
A 6 1 K	49/14	
A 6 1 K	49/16	
A 6 1 K	51/08	
A 6 1 K	51/10	
A 6 1 K	35/17	Z
G 0 1 N	33/53	Y
G 0 1 N	33/53	U

## 【手続補正書】

【提出日】令和3年1月18日(2021.1.18)

## 【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】

(a) 機能的な細胞内シグナル伝達ドメインを欠如しているおよび/または細胞内シグナル伝達を媒介することができない細胞表面分子；ならびに

(b) ストレプトアビジン、ストレプトアビジン類似体またはストレプトアビジンムテインに結合することができる、細胞表面分子に連結された少なくとも1つの作用物質を含む、細胞表面コンジュゲート。

【請求項2】

(a) 機能的な細胞内シグナル伝達ドメインを欠如しているおよび/または細胞内シグナル伝達を媒介することができない細胞表面分子；ならびに

(b) 該細胞表面分子に連結され、かつ、試薬に可逆的に結合することができるおよび/または競合物質の存在下で競合し得る、少なくとも1つの作用物質であって、50アミノ酸未満の長さのペプチドである、作用物質を含む、細胞表面コンジュゲート。

【請求項3】

作用物質が、ストレプトアビジンまたはストレプトアビジンムテインまたは試薬に対して $10^{-4}$  M ~  $10^{-10}$  Mまたは約 $10^{-4}$  M ~ 約 $10^{-10}$  Mの平衡解離定数( $K_D$ )の結合親和性を示す、請求項1または2記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項4】

(a) 機能的な細胞内シグナル伝達ドメインを欠如しているおよび/または細胞内シグナル伝達を媒介することができない細胞表面分子；ならびに

(b) 試薬に対して $10^{-7}$  M超の平衡解離定数 ( $K_D$ ) または $10^7$  M $^{-1}$ 未満の平衡結合定数 ( $K_A$ ) の結合親和性を有する、該細胞表面分子に連結された少なくとも1つの作用物質を含む、細胞表面コンジュゲート。

【請求項 5】

細胞表面分子が、参照細胞表面分子と比較して修飾されており、任意で、参照細胞表面分子が、細胞内シグナル伝達ドメインを含む細胞表面受容体であり、修飾された細胞表面分子が、参照細胞表面分子と比較して変化した細胞内在化、酵素活性、またはリガンド結合を示す、請求項1～4のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項 6】

(a) 参照細胞表面分子と比較して修飾された細胞表面分子であって、修飾された細胞表面分子が、参照細胞表面分子と比較して変化した細胞内在化、酵素活性、またはリガンド結合を示す、細胞表面分子；ならびに

(b) ストレプトアビジン、ストレプトアビジン類似体またはストレプトアビジンムテインに結合することができる、該細胞表面分子に連結された少なくとも1つの作用物質を含む、細胞表面コンジュゲート。

【請求項 7】

ストレプトアビジン、ストレプトアビジン類似体またはストレプトアビジンムテインに対する作用物質の結合が、可逆的である、またはビオチン、ビオチン類似体もしくはその生物学的に活性なフラグメントの存在下で競合し得る、請求項1、3、および6のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項 8】

少なくとも1つの作用物質が、  
細胞表面分子に直接的に連結されているか、または  
少なくとも1つのリンカーを通じて細胞表面分子に間接的に連結されている、  
請求項1～7のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項 9】

少なくとも1つの作用物質が、  
1～4個もしくは約1～4個または1～2個もしくは約1～2個の作用物質を含むか、または  
1つのみの作用物質を含む、  
請求項1～8のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項 10】

作用物質が、細胞表面分子の細胞外部分または領域に連結され、任意で、細胞外部分または領域が、細胞表面分子のN末端またはC末端にある、請求項1～9のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項 11】

細胞表面分子が、キメラ抗原受容体 (CAR) でない、請求項1～10のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項 12】

ストレプトアビジン類似体またはムテインが、  
(a) SEQ ID NO:1に示されるアミノ酸の配列のストレプトアビジン内での位置でいう44位～47位に対応する配列位置に、アミノ酸配列Val<sup>44</sup>-Thr<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>またはIle<sup>44</sup>-Gly<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>；  
(b) SEQ ID NO:3～6、27および28のいずれかに示されるアミノ酸の配列；  
(c) SEQ ID NO:3～6、27および28のいずれかに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくは少なくとも約85%、約86%、約87%、約88%、約89%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%またはそれ以上の配列同一性を示し、Val<sup>44</sup>-Thr<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>またはIle<sup>44</sup>-Gly<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>に対応するアミノ酸配列を含み、作

用物質に可逆的に結合する、アミノ酸の配列；

(d)作用物質に可逆的に結合する、(b)もしくは(c)の機能的フラグメント；

(e)SEQ ID NO:27もしくは28に示されるアミノ酸の配列；

(f)SEQ ID NO:27もしくは28に示されるアミノ酸の配列に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくは少なくとも約85%、約86%、約87%、約88%、約89%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%またはそれ以上の配列同一性を示し、Val<sup>44</sup>、Thr<sup>45</sup>、Ala<sup>46</sup>、Arg<sup>47</sup>、Glu<sup>117</sup>、Gly<sup>120</sup>、およびTyr<sup>121</sup>に対応するアミノ酸配列を含み、作用物質に可逆的に結合する、アミノ酸の配列；または

(g)作用物質に可逆的に結合する、(e)もしくは(f)の機能的フラグメント

を含む、請求項1~3および6~11のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項13】

ストレプトアビジン類似体またはムテインが、SEQ ID NO:1に示されるアミノ酸の配列のストレプトアビジン内での位置でいう117、120および/または121に対応する位置に1つまたは複数のアミノ酸置換をさらに含み、

任意で、

1つもしくは複数のアミノ酸置換が、Glu<sup>117</sup>、Asp<sup>117</sup>、Arg<sup>117</sup>、Ser<sup>120</sup>、Ala<sup>120</sup>、Gly<sup>120</sup>、Trp<sup>121</sup>、Tyr<sup>121</sup>もしくはPhe<sup>121</sup>の中から選択されるか；または

1つもしくは複数のアミノ酸置換が、Glu<sup>117</sup>、Gly<sup>120</sup>もしくはTyr<sup>121</sup>の1つもしくは複数から選択されるか；または

複数のアミノ酸置換が、Glu<sup>117</sup>、Gly<sup>120</sup>もしくはTyr<sup>121</sup>から選択される、

請求項12記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項14】

作用物質が、

Strep tag、Hisタグ、Flagタグ、Xpressタグ、Aviタグ、カルモジュリンタグ、ポリグルタメートタグ、HAタグ、Mycタグ、Nusタグ、Sタグ、Xタグ、SBPタグ、Softag、V5タグ、CBP、GST、MBP、GFP、チオレドキシントグもしくはそれらの任意の組み合わせ；または1つまたは複数のストレプトアビジン結合ペプチド

であるまたはそれを含む、請求項2~5および7~13のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項15】

ストレプトアビジン結合ペプチドが、配列

Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 8) または Trp-Arg-His-

Pro-Gln-Phe-Gly-Gly (SEQ ID NO:7)

を含むか、または

作用物質が、配列

Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>3</sub>-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-

Glu-Lys (SEQ ID NO: 17), Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>2</sub>-Trp-Ser-His-

Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 18) および Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-

(GlyGlyGlySer)<sub>2</sub>Gly-Gly-Ser-Ala-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 19)

を含む、

請求項14記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項16】

参照細胞表面分子が、上皮成長因子受容体ファミリーのメンバーである、請求項5~15のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項17】

参照細胞表面分子が、上皮成長因子受容体 (EGFR)、erbB-2受容体チロシンタンパク質

キナーゼ (errb2、HER2)、erbB-3受容体チロシンタンパク質キナーゼ、erbB-4受容体チロシンタンパク質キナーゼ、肝細胞成長因子受容体 (HGFR/c-MET) またはインスリン様成長因子受容体-1 (IGF-1 R) である、請求項5～16のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項 18】

修飾された細胞表面分子が、機能的な細胞内シグナル伝達ドメインを欠如しているおよび/または細胞内シグナル伝達を媒介することができない；

修飾された細胞表面分子が、参照細胞表面分子と比較して細胞内シグナル伝達ドメインまたはトラフィックドメインのすべてまたは一部を欠如するよう短縮されている；

修飾された細胞表面分子が、参照細胞表面分子と比較して変化した細胞内在化、酵素活性および/またはリガンド結合を示す；

修飾された細胞表面分子が、参照細胞表面分子の1つまたは複数の細胞外ドメインを含む；

修飾された細胞表面分子が、参照細胞表面分子の天然リガンドおよび/または基質に結合することができる；

修飾された細胞表面分子が、参照細胞表面分子の天然リガンドおよび/または基質に対して減弱化されているまたはそれらに結合しない；あるいは

修飾された細胞表面分子が、参照細胞表面分子の少なくとも1つの細胞外ドメインを含むが、参照細胞表面分子の天然リガンドおよび/または基質によって認識される1つまたは複数の他の細胞外ドメインを欠如している、

請求項5～17のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項 19】

少なくとも1つの細胞外ドメインが、参照細胞表面分子に特異的に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントによって認識されるエピトープを含む、請求項18記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項 20】

参照細胞表面分子が参照野生型EGFRであり、修飾された細胞表面分子が、修飾されたEGFRである、請求項5～19のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項 21】

修飾されたEGFRが、セツキシマブまたはその抗原結合フラグメントによって特異的に認識されるエピトープを含む；

修飾されたEGFRが、参照野生型EGFRのEGFRドメインI、EGFRドメインII、EGFR膜近傍ドメインおよびEGFRチロシンキナーゼドメインの1つまたは複数のドメインを欠如している；

修飾されたEGFRが、参照野生型EGFRのEGFRドメインI、EGFRドメインII、EGFR膜近傍ドメインおよびEGFRチロシンキナーゼドメインのドメインのすべてを欠如している；あるいは

修飾されたEGFRが、参照野生型EGFRのサブドメインIIIおよびサブドメインIVからなるまたはそれらから本質的になる細胞外ドメインを含む、

請求項20記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項 22】

修飾されたEGFRが、SEQ ID NO:44もしくは46に示されるアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO:44もしくは46に対して少なくとも85%、90%もしくは95%もしくは約85%、約90%もしくは約95%の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含む、請求項20または21記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項 23】

参照細胞表面分子が参照野生型HER2であり、修飾された細胞表面分子が、修飾されたHER2である、請求項5～19のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項 24】

修飾されたHER2が、トラスツズマブまたはその抗原結合フラグメントによって特異的に認識されるエピトープを含む；

修飾されたHER2が、参照野生型HER2のHER2ドメインI、HER2ドメインII、HER2ドメインIIIの1つまたは複数を欠如している；

修飾されたHER2が、参照野生型HER2のHER2ドメインI、HER2ドメインIIおよびHER2ドメインIIIのドメインのすべてを欠如している；あるいは

修飾されたHER2が、参照野生型HER2のドメインIVからなるまたはそれから本質的になる細胞外ドメインを含む、

請求項23記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項25】

修飾されたHER2が、SEQ ID NO:92に示されるアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO:92に対して少なくとも85%、90%もしくは95%もしくは約85%、約90%もしくは約95%の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含む、請求項23または24記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項26】

参照細胞表面分子が参照野生型PSMAであり、修飾された細胞表面分子が、修飾されたPSMAである、請求項5～19のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項27】

修飾されたPSMAが、参照野生型PSMAと比較して、細胞内領域に1つまたは複数のアミノ酸修飾を含む、請求項26記載の細胞表面コンジュゲート。

【請求項28】

請求項1～27のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲートをコードする核酸配列を含む、ポリヌクレオチド。

【請求項29】

核酸配列が第1の核酸配列であり、ポリヌクレオチドが、組換え受容体をコードする第2の核酸配列をさらに含み、組換え受容体が、キメラ抗原受容体(CAR)であるまたはそれを含む、請求項28記載のポリヌクレオチド。

【請求項30】

請求項28または29記載のポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項31】

請求項28もしくは29記載のポリヌクレオチドまたは請求項30記載のベクターを細胞に導入する工程を含む、改変された細胞を製造する方法。

【請求項32】

請求項31記載の方法によって製造された、改変された細胞。

【請求項33】

請求項28もしくは29記載のポリヌクレオチドまたは請求項30記載のベクターを含む、改変された細胞。

【請求項34】

請求項1～27のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲートを含む、改変された細胞。

【請求項35】

キメラ抗原受容体(CAR)である組換え受容体をさらに含む、請求項34記載の改変された細胞。

【請求項36】

免疫細胞、任意でT細胞またはNK細胞であり、任意でT細胞がCD8+ T細胞またはCD4+ T細胞である、請求項32～35のいずれか1項記載の改変された細胞。

【請求項37】

請求項32～36のいずれか1項記載の改変された細胞を含む、組成物。

【請求項38】

薬学的に許容される賦形剤をさらに含む、請求項37記載の組成物。

【請求項39】

疾患または障害を処置するための医薬の製造における、請求項32～36のいずれか1項記載の改変された細胞または請求項37もしくは請求項38記載の組成物の使用。

【請求項40】

疾患または障害を処置するための、請求項32～36のいずれか1項記載の改変された細胞または請求項37もしくは請求項38記載の組成物。

【請求項41】

細胞表面コンジュゲートを発現する細胞を同定する方法であって、請求項1～27のいずれか1項記載の細胞表面コンジュゲートを発現するもしくは発現する可能性のある細胞を含む組成物、請求項32～36のいずれか1項記載の改変された細胞、または請求項37もしくは請求項38記載の組成物を、該細胞表面コンジュゲートの作用物質を認識することができる結合分子と接触させる工程を含む、方法。

【請求項42】

細胞表面分子を発現する細胞が、インビボ画像化を通じて検出される、請求項41記載の方法。

【請求項43】

細胞表面コンジュゲートを形質導入された細胞を同定する方法であって、

(a) 細胞表面コンジュゲートをコードする請求項28もしくは29記載のポリヌクレオチドまたは請求項30記載のベクターを形質導入された細胞を含む組成物、請求項32～36のいずれか1項記載の改変された細胞、または請求項37もしくは請求項38記載の組成物を、該細胞表面コンジュゲートの作用物質を認識することができる結合分子と接触させる工程；および

(b) 該結合分子に結合した細胞を同定する工程を含む、方法。

【請求項44】

細胞表面コンジュゲートを形質導入された細胞を選択する方法であって、

(a) 細胞表面コンジュゲートをコードする請求項28もしくは29記載のポリヌクレオチドもしくは請求項30記載のベクターを形質導入された細胞を含む組成物、請求項32～36のいずれか1項記載の改変された細胞、または請求項37もしくは請求項38記載の組成物を、該細胞表面コンジュゲートの作用物質を認識することができる結合分子と接触させる工程；および

(b) 該結合分子に結合した細胞を単離する工程を含む、方法。

【請求項45】

細胞傷害性作用物質にコンジュゲートされたストレプトアビジンまたはストレプトアビジン類似体もしくはムテインを含む、分子。

【請求項46】

請求項32～36のいずれか1項記載の細胞または請求項37もしくは請求項38記載の組成物を以前に投与された対象に、請求項45記載の分子を投与する工程を含む、細胞を死滅させる方法。