【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4年11月25日(2022.11.25)

【国際公開番号】WO2019/210078
【公表番号】特表2021-521849(P2021-521849A)
【公表日】令和3年8月30日(2021.8.30)
【出願番号】特願2020-560338(P2020-560338)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ 15/09(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/11(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/12(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/55(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/864(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/88(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 5/10(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 5/0781(2010.01)
Ｃ１２Ｎ 5/0783(2010.01)
Ｃ１２Ｎ 5/0784(2010.01)
Ｃ１２Ｎ 5/0786(2010.01)
Ｃ１２Ｎ 5/0787(2010.01)
Ｃ１２Ｎ 15/67(2006.01)
Ａ６１Ｐ 43/00(2006.01)
Ａ６１Ｐ 29/00(2006.01)
Ａ６１Ｐ 37/06(2006.01)
Ａ６１Ｋ 48/00(2006.01)
Ａ６１Ｋ 38/47(2006.01)
Ａ６１Ｋ 35/17(2015.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ 15/09 １１０
Ｃ１２Ｎ 15/11 Ｚ
Ｃ１２Ｎ 15/12
Ｃ１２Ｎ 15/55
Ｃ１２Ｎ 15/864１００Ｚ
Ｃ１２Ｎ 15/88 Ｚ
Ｃ１２Ｎ 5/10
Ｃ１２Ｎ 5/0781
Ｃ１２Ｎ 5/0783
Ｃ１２Ｎ 5/0784
Ｃ１２Ｎ 5/0786
Ｃ１２Ｎ 5/0787
Ｃ１２Ｎ 15/67 Ｚ
Ａ６１Ｐ 43/00 １１１
Ａ６１Ｐ 29/00
Ａ６１Ｐ 37/06
Ａ６１Ｐ 43/00 １０５
Ａ６１Ｋ 48/00
Ａ６１Ｋ 38/47
Ａ６１Ｋ 35/17 Ｚ

【手続補正書】
【提出日】令和4年11月15日(2022.11.15)
【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】
リンパ球細胞を改変する方法であって、ヌクレアーゼまたはヌクレアーゼをコードする核酸とドナー鋳型をリンパ球細胞に送達する工程を含み、
前記ドナー鋳型が
（ａ）リンパ球細胞のFOXP3遺伝子座、AAVS1遺伝子座、またはTRAC遺伝子座内の配列と相同性を有する、第１の相同アーム；
（ｂ）前記第１の相同アームが相同性を有する遺伝子座と同じ遺伝子座内の配列と相同性を有する、第２の相同性アーム；
（ｃ）プロモーター；および
（ｄ）FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列
を含み、
前記プロモーターと前記FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列が、前記第１の相同アームと前記第２の相同アームの間に位置していることを特徴とする、方法。
【請求項２】
前記ヌクレアーゼが、RNA誘導型DNAエンドヌクレアーゼ、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、または転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（TALEN）である、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記RNA誘導型DNAエンドヌクレアーゼがCasエンドヌクレアーゼである、請求項２に記載の方法。
【請求項４】
前記CasエンドヌクレアーゼがCas9エンドヌクレアーゼである、請求項３に記載の方法。
【請求項５】
FOXP3遺伝子座、AACS1遺伝子座またはTRAC遺伝子座に相補的なスペーサー配列を含むガイドRNA（gRNA）を前記リンパ球細胞に送達する工程をさらに含み、
前記gRNAが、
ｉ）配列番号１～７、１５～２０、２７～２９および３３～３４のいずれかに示されるスペーサー配列、または配列番号１～７、１５～２０、２７～２９および３３～３４のいずれかと比較して３個以下のミスマッチを有する前記スペーサー配列のバリアント
を含む、請求項２に記載の方法。
【請求項６】
前記gRNAが、
ii）配列番号１～７のいずれかに示されるスペーサー配列、もしくは配列番号１～７のいずれかと比較して３個以下のミスマッチを有する前記スペーサー配列のバリアント；または
iii）配列番号２、３および５のいずれかに示されるスペーサー配列、もしくは配列番号２、３および５のいずれかと比較して３個以下のミスマッチを有する前記スペーサー配列のバリアント
を含む、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
前記第１の相同アームがFOXP3遺伝子座内の配列と相同性を有し、前記第２の相同ア

ームがFOXP3遺伝子座内の配列と相同性を有する、請求項１に記載の方法。
【請求項８】
（ａ）前記FOXP3もしくはその機能性誘導体が、野生型ヒトFOXP3である；
（ｂ）前記ドナー鋳型が、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターにコードされている；および／または
（ｃ）前記プロモーターが、MNDプロモーター、PGKプロモーター、もしくはEF1αプロモーター
である、請求項１に記載の方法。
【請求項９】
前記FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列が、前記細胞における発現のためにコドン最適化されている、請求項１に記載の方法。
【請求項１０】
前記FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列が、FOXP3 cDNA配列である、請求項９に記載の方法。
【請求項１１】
前記FOXP3 cDNA配列が、配列番号６８に示される核酸配列と少なくとも９０％の配列同一性を含む、請求項１０に記載の方法。
【請求項１２】
前記ドナー鋳型が、選択マーカーをコードする配列をさらに含み、前記選択マーカーを発現する細胞と選択マーカーを発現しない細胞を分離する工程をさらに含む、請求項１に記載の方法。
【請求項１３】
請求項１～１２のいずれか１項に記載の方法によって作製された遺伝子組換えリンパ球細胞。
【請求項１４】
Ｔ細胞である、請求項１３に記載の遺伝子組換えリンパ球細胞。
【請求項１５】
FOXP3+制御性Ｔ細胞である、請求項１４に記載の遺伝子組換えリンパ球細胞。
【請求項１６】
Ｔ細胞受容体を発現している、請求項１４または１５に記載の遺伝子組換えリンパ球細胞。
【請求項１７】
キメラ抗原受容体（CAR）を発現している、請求項１４または１５に記載の遺伝子組換えリンパ球細胞。
【請求項１８】
CD4+Ｔ細胞である、請求項１４～１７のいずれか１項に記載の遺伝子組換えリンパ球細胞。
【請求項１９】
CD8+Ｔ細胞である、請求項１４～１７のいずれか１項に記載の遺伝子組換えリンパ球細胞。
【請求項２０】
前記FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列がFOXP3 cDNAであり、前記プロモーターがMNDプロモーターである、請求項１４～１９のいずれか１項に記載の遺伝子組換えリンパ球細胞。
【請求項２１】
請求項１３～２０のいずれか１項に記載の遺伝子組換えリンパ球細胞、および薬学的に許容される添加剤を含む、医薬組成物。
【請求項２２】
FOXP3をコードするFOXP3 cDNA配列と作動可能に連結されたプロモーターを含む核酸配列を含むリンパ球細胞であって、

前記プロモーターとFOXP3 cDNA配列が、前記細胞のFOXP3遺伝子座、AAVS1遺伝子座またはTRAC遺伝子座内に位置していることを特徴とする、リンパ球細胞。
【請求項２３】
医薬用である、請求項１３～２０のいずれか１項または請求項２２に記載の細胞。
【請求項２４】
炎症性疾患、自己免疫疾患、または固形臓器の移植に関連する状態の治療または予防用である、請求項２３に記載の細胞。
【請求項２５】
IPEX症候群、移植片対宿主病（GVHD）、全身性エリテマトーデス、強皮症、溶結性貧血、血管炎、１型糖尿病、グレーヴス病、炎症性腸疾患、関節リウマチ、多発性硬化症、グッドパスチャー症候群、筋疾患、重症複合免疫不全、ディ・ジョージ症候群、高IgE症候群、分類不能型免疫不全、慢性肉芽腫症、ウィスコット・アルドリッチ症候群、自己免疫性リンパ増殖症候群、高IgM症候群、白血球接着不全症、NF-κB必須モジュレーター（NEMO）変異、選択的免疫グロブリンA欠損症、X連鎖無γグロブリン血症、X連鎖リンパ増殖症、および／または毛細血管拡張性運動失調症の治療または予防用である、請求項２３に記載の細胞。
【請求項２６】
（ａ）リンパ球細胞のFOXP3遺伝子座、AAVS1遺伝子座、またはTRAC遺伝子座内の配列と相同性を有する、第１の相同アーム；
（ｂ）前記第１の相同アームが相同性を有する遺伝子座と同じ遺伝子座内の配列と相同性を有する、第２の相同性アーム；
（ｃ）プロモーター；および
（ｄ）FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列
を含み、
前記プロモーターと、前記FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列が、前記第１の相同アームと前記第２の相同アームの間に位置していることを特徴とする、核酸。
【請求項２７】
（ａ）前記FOXP3もしくはその機能性誘導体が、野生型ヒトFOXP3である；
および／または
（ｂ）前記プロモーターが、MNDプロモーター、PGKプロモーター、もしくはEF1αプロモーター
である、請求項２６に記載の核酸。
【請求項２８】
前記FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列が、ヒト細胞における発現のためにコドン最適化されている、請求項２７に記載の核酸。
【請求項２９】
前記FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列が、FOXP3 cDNA配列である、請求項２８に記載の核酸。
【請求項３０】
前記FOXP3 cDNA配列が、配列番号６８に示される核酸配列と少なくとも９０％の配列同一性を含む、請求項２９に記載の核酸。
【請求項３１】
請求項２６～３０のいずれか１項に記載の核酸を含む、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクター。
【請求項３２】
請求項２６～３０のいずれか１項に記載の核酸を含む、脂質ナノ粒子。
【請求項３３】
対象における炎症性疾患、自己免疫疾患、または固形臓器の移植に関連する状態の治療または予防用である、請求項３１に記載のAAVベクター、または請求項３２に記載の脂質ナノ粒子。

【請求項３４】
IPEX症候群、移植片対宿主病（GVHD）、全身性エリテマトーデス、強皮症、溶結性貧血、血管炎、１型糖尿病、グレーヴス病、炎症性腸疾患、関節リウマチ、多発性硬化症、グッドパスチャー症候群、筋疾患、重症複合免疫不全、ディ・ジョージ症候群、高IgE症候群、分類不能型免疫不全、慢性肉芽腫症、ウィスコット・アルドリッチ症候群、自己免疫性リンパ増殖症候群、高IgM症候群、白血球接着不全症、NF-κB必須モジュレーター（NEMO）変異、選択的免疫グロブリンA欠損症、X連鎖無γグロブリン血症、X連鎖リンパ増殖症、および／または毛細血管拡張性運動失調症の治療または予防用である、請求項３３に記載のAAVベクターまたは脂質ナノ粒子。