

【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 1 年 8 月 22 日 (2019.8.22)

【公表番号】特表 2018-525979 (P2018-525979A)

【公表日】平成 30 年 9 月 13 日 (2018.9.13)

【年通号数】公開・登録公報 2018-035

【出願番号】特願 2018-501179 (P2018-501179)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/864 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/12 (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 P 7/04 (2006.01)

A 6 1 K 35/761 (2015.01)

【F I】

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 15/12 Z N A

C 1 2 N 15/13

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 35/12

A 6 1 P 7/04

A 6 1 K 35/761

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 7 月 12 日 (2019.7.12)

【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】

核酸を分離細胞内に導入する方法であって、前記方法が、
成長因子受容体の少なくとも 1 つの阻害剤の存在下で、ドナー分子を含む、少なくとも 1
つのアデノ随伴ウイルスベクター (A A V) を前記細胞に投与することを含む、前記方法
。

【請求項 2】

前記成長因子阻害剤が、血小板由来成長因子受容体、上皮細胞増殖因子受容体 (E G F R)、線維芽細胞成長因子受容体 (F G F R)、M e t / 肝細胞成長因子受容体 (H G F R)、リポアラビノマンナン受容体 (L a m R)、V 5 インテグリン受容体、及び / または細胞間接着分子 1 受容体 (I c a m - 1) を阻害する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記ドナー分子が前記細胞で発現する導入遺伝子を含む、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記導入遺伝子が前記細胞の前記ゲノム内に組み込まれる、請求項 1 ~ 3 のいずれか一

項に記載の方法。

【請求項 5】

前記導入遺伝子がキメラ抗原受容体（CAR）をコードする、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

少なくとも 1 つのヌクレアーゼを前記細胞内に導入することを更に含み、前記導入遺伝子が、前記ヌクレアーゼによる 1 つ以上の遺伝子の開裂の後、前記細胞の 1 つ以上の遺伝子内に組み込まれ、前記方法が前記細胞の 1 つ以上の追加の遺伝子を不活性化する第 2 のヌクレアーゼを導入することを更に含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 7】

前記ヌクレアーゼが、プログラムされた細胞死 1（PD1）遺伝子、細胞傷害性 T リンパ球抗原 4（CTLA-4）遺伝子、2-ミクログロブリン（B2M）及び/または T 細胞受容体（TRAC）遺伝子を切断する、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記細胞が、造血幹細胞、T 細胞、B 細胞または NK 細胞である、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

対象の癌を治療するための、請求項 1～8 のいずれか一項に記載の方法に従って生産された分離細胞を含む組成物であって、ここで、前記細胞が CAR を発現するように、前記ドナー分子が前記 CAR をコードする配列を含む、組成物。

【請求項 10】

核酸を対象の細胞内に導入するための、ドナー分子を含む少なくとも 1 つのアデノ随伴ウイルスベクター（AAV）を含む組成物であって、少なくとも 1 つのステロイド及び/または少なくとも 1 つの B 細胞阻害剤と組み合わせて前記対象に投与されることを特徴とする、前記組成物。

【請求項 11】

核酸を対象の細胞内に導入するための、少なくとも 1 つのステロイドを含む組成物であって、ドナー分子を含む少なくとも 1 つのアデノ随伴ウイルスベクター（AAV）及び/または少なくとも 1 つの B 細胞阻害剤と組み合わせて前記対象に投与されることを特徴とする、前記組成物。

【請求項 12】

核酸を対象の細胞内に導入するための、少なくとも 1 つの B 細胞阻害剤を含む組成物であって、ドナー分子を含む少なくとも 1 つのアデノ随伴ウイルスベクター（AAV）及び/または少なくとも 1 つのステロイドと組み合わせて前記対象に投与されることを特徴とする、前記組成物。

【請求項 13】

前記ドナー分子が導入遺伝子をコードする配列を含む、請求項 10～12 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 14】

前記対象が哺乳動物であり、前記導入遺伝子が治療用タンパク質をコードし、更に前記哺乳動物が治療用タンパク質に寛容化される、請求項 10～13 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 15】

前記対象が血友病を有し、前記ドナー分子が VⅢⅢⅢ因子またはⅩ因子などの凝固因子をコードする、請求項 14 に記載の組成物。

【請求項 16】

核酸を細胞内に導入するための組み合わせ物であって、前記組み合わせ物が、核酸を含むドナー分子、およびヌクレアーゼ、を含み、

前記ヌクレアーゼが、前記ドナー分子の投与の 1～48 時間後またはその前の 4 時間以内に投与されることを特徴とし、更に前記ドナー分子が、前記ヌクレアーゼによる開裂後

、前記細胞の前記ゲノム内に組み込まれる、前記組み合わせ物。

【請求項 17】

1 つ以上の導入遺伝子を細胞のゲノム内に導入する方法において使用するための、少なくとも 1 つのヌクレアーゼを含む組成物であって、前記方法が、前記組成物を前記細胞内に導入することを含み、前記少なくとも 1 つのヌクレアーゼは、前記 1 つ以上の導入遺伝子が前記細胞の前記ゲノム内に組み込まれるように、前記細胞の前記ゲノムを切断し、更に (i) 前記組成物の前に前記ドナーベクターが前記細胞内に導入される場合、前記組成物は、前記ドナーベクターが導入された後、48 時間以内に前記細胞内に導入されて、(i i) 前記ドナーベクターの前に前記組成物が導入される場合、前記ドナーベクターは、前記組成物が導入された後、4 時間以内に前記細胞に導入される、前記組成物。

【請求項 18】

核酸を細胞内に導入するための、核酸を含むドナー分子を含む組成物であって、前記組成物はヌクレアーゼと組み合わせる前記細胞に投与されることを特徴とし、前記ヌクレアーゼが、前記組成物の投与の 1 ~ 48 時間後またはその前の 4 時間以内に投与されることを特徴とし、更に前記ドナー分子が、前記ヌクレアーゼによる開裂後、前記細胞の前記ゲノム内に組み込まれる、前記組成物。

【請求項 19】

核酸を細胞内に導入するための、ヌクレアーゼを含む組成物であって、前記組成物は核酸を含むドナー分子と組み合わせる前記細胞に投与されることを特徴とし、前記組成物が、前記ドナー分子の投与の 1 ~ 48 時間後またはその前の 4 時間以内に投与されることを特徴とし、更に前記ドナー分子が、前記ヌクレアーゼによる開裂後、前記細胞の前記ゲノム内に組み込まれる、前記組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0039

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0039】

これら及び他の態様は、全体としての開示を踏まえて、当業者に容易に明らかである。
本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

(項目 1)

核酸を分離細胞内に導入する方法であって、前記方法が、
成長因子受容体結合の少なくとも 1 つの阻害剤の存在下で、ドナー分子を含む、少なくとも 1 つのアデノ随伴ウイルスベクター (A A V) を前記細胞に投与することを含む、前記方法。

(項目 2)

前記成長因子阻害剤が、上皮細胞増殖因子受容体 (E G F R)、線維芽細胞成長因子受容体 (F G F R)、M e t / 肝細胞成長因子受容体 (H G F R)、リボアラビノマンナン受容体 (L a m R)、V 5 インテグリン受容体、細胞間接着分子 1 受容体 (I c a m - 1) 及び / または血小板由来成長因子受容体に結合することを阻害する、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記ドナー分子が前記細胞で発現する導入遺伝子を含む、項目 1 または 2 に記載の方法。

(項目 4)

前記導入遺伝子が前記細胞の前記ゲノム内に組み込まれる、項目 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5)

前記導入遺伝子がキメラ抗原受容体（C A R）をコードする、項目 4 に記載の方法。

（項目 6）

少なくとも 1 つのヌクレアーゼを前記細胞内に導入することを更に含み、前記導入遺伝子が、前記ヌクレアーゼによる 1 つ以上の遺伝子の開裂の後、前記細胞の 1 つ以上の遺伝子内に組み込まれ、前記方法が前記細胞の 1 つ以上の追加の遺伝子を不活性化する第 2 のヌクレアーゼを導入することを更に含む、項目 4 に記載の方法。

（項目 7）

前記ヌクレアーゼが、プログラムされた細胞死 1（P D 1）遺伝子、細胞傷害性 T リンパ球抗原 4（C T L A - 4）遺伝子、2 - ミクログロブリン（B 2 M）及び / または T 細胞受容体（T R A C）遺伝子を切断する、項目 6 に記載の方法。

（項目 8）

前記細胞が、造血幹細胞、T 細胞、B 細胞または N K 細胞である、項目 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

（項目 9）

対象の癌を治療する方法であって、前記方法が、項目 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法に従って核酸を細胞内に導入することであって、そこで前記細胞が C A R を発現するように、ドナー分子が前記 C A R をコードする配列を含む、前記導入することと、前記対象に前記細胞を投与することと、を含む、前記方法。

（項目 10）

核酸を対象の細胞内に導入する方法であって、前記方法が、ドナー分子及び少なくとも 1 つのステロイド及び / または少なくとも 1 つの B 細胞阻害剤を含む、少なくとも 1 つのアデノ随伴ウイルスベクター（A A V）を対象に投与することを含む、前記方法。

（項目 11）

前記ドナー分子が導入遺伝子をコードする配列を含む、項目 10 に記載の方法。

（項目 12）

前記対象が哺乳動物であり、前記導入遺伝子が治療用タンパク質をコードし、更に前記哺乳動物が治療用タンパク質に寛容化される、項目 10 または項目 11 に記載の方法。

（項目 13）

前記対象が血友病を有し、前記ドナー分子が V I I I 因子または I X 因子などの凝固因子をコードする、項目 12 に記載の方法。

（項目 14）

核酸を細胞内に導入する方法であって、前記方法が、核酸を含むドナー分子を細胞内に投与することと、ヌクレアーゼを前記細胞に投与すること、を含み、前記ヌクレアーゼが、ドナー分子の 1 ~ 48 時間後またはその前の 4 時間以内に投与され、更に前記ドナー分子が、前記ヌクレアーゼによる開裂後、前記細胞の前記ゲノム内に組み込まれる、前記方法。

（項目 15）

1 つ以上の導入遺伝子を細胞のゲノム内に導入する方法であって、前記方法が、少なくとも 1 つのヌクレアーゼを前記細胞内に導入することを含み、前記少なくとも 1 つのヌクレアーゼは、前記 1 つ以上の導入遺伝子が前記細胞の前記ゲノム内に組み込まれるように、前記細胞の前記ゲノムを切断し、更に（i）前記少なくとも 1 つのヌクレアーゼの前に前記ドナーベクターが前記細胞内に導入される場合、前記少なくとも 1 つのヌクレアーゼは、前記ドナーベクターが導入された後、48 時間以内に前記細胞内に導入されて、（i i）前記ドナーベクターの前に前記少なくとも 1 つのヌクレアーゼが導入される場合、前記ドナーベクターは、前記少なくとも 1 つのヌクレアーゼが導入された後、4 時間以内に前記細胞に導入される、前記方法。