

【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7年7月7日(2025.7.7)

【公開番号】特開2024-174943(P2024-174943A)

【公開日】令和6年12月17日(2024.12.17)

【年通号数】公開公報(特許)2024-236

【出願番号】特願2024-152864(P2024-152864)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)
 C 12 N 15/12 (2006.01)
 C 12 N 15/62 (2006.01)
 C 12 N 15/63 (2006.01)
 C 12 N 15/86 (2006.01)
 C 12 N 5/10 (2006.01)
 C 12 N 5/0783 (2010.01)
 C 12 N 15/11 (2006.01)
 A 61 K 35/17 (2025.01)
 A 61 P 35/00 (2006.01)

10

【F I】

20

C 12 N 15/09 100
 C 12 N 15/12
 C 12 N 15/62 Z
 C 12 N 15/63 Z
 C 12 N 15/86 Z
 C 12 N 5/10
 C 12 N 5/0783
 C 12 N 15/11 Z
 A 61 K 35/17
 A 61 P 35/00

30

【手続補正書】

【提出日】令和7年6月27日(2025.6.27)

【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】

40

初代ヒトT細胞を操作する方法であって、
該T細胞に、

(a) TRACまたはTRBCの標的領域を切断して該T細胞のゲノム中に挿入部位を作り出す複合体を形成する、RNAガイドヌクレアーゼおよびTRACまたはTRBCの標的領域に特異的にハイブリダイズするガイドRNA、ならびに

(b)

(i) (1) 異種T細胞受容体アルファ(TCR- α)鎖遺伝子の可変領域および(2)異種T細胞受容体ベータ(TCR- β)鎖遺伝子の可変領域の少なくとも1つを含む、異種遺伝子、ならびに

(ii) 該標的領域に隣接するゲノム配列に相同である5'末端および3'末端を含む、DNA配列

50

を含むリボ核タンパク質複合体(RNP)-DNA鑄型複合体を導入する段階を含み、
これにより、該DNA配列を相同組み換え修復(HDR)によって該挿入部位に非ウイルス的に挿入する、
方法。

【請求項2】

初代ヒトT細胞を操作する方法であつて、

該T細胞に、

(a) TRACまたはTRBCの標的領域を切斷して該T細胞のゲノム中に挿入部位を作り出す複合体を形成する、(i)RNAガイドヌクレアーゼおよび(ii)TRACまたはTRBCの標的領域に特異的にハイブリダイズするガイドRNA

を含むRNP、ならびに

(b)

(i)(1)異種TCR-鎖遺伝子の可変領域および(2)異種TCR-鎖遺伝子の可変領域の少なくとも1つをコードする、異種遺伝子、ならびに

(ii)該標的領域に隣接するゲノム配列に相同である5'末端および3'末端を含む核酸配列を含むDNA鑄型

を導入する段階を含み、

これにより、該DNA配列を相同組み換え修復(HDR)によって該挿入部位に非ウイルス的に挿入する、

方法。

10

20

30

40

50

【請求項3】

前記T細胞が、前記少なくとも1つの核酸配列を前記T細胞に導入するためのウイルスベクターを含まない、請求項1または2記載の方法。

【請求項4】

前記DNA配列が、少なくとも500 bpのサイズである、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

【請求項5】

前記DNA配列が、少なくとも1.5 kbのサイズである、請求項1～4のいずれか一項記載の方法。

【請求項6】

前記少なくとも1つの核酸配列が、TRACのエクソン1、エクソン2、またはエクソン3中に挿入される、請求項1～5のいずれか一項記載の方法。

【請求項7】

前記少なくとも1つの核酸配列が、TRBCのエクソン1、エクソン2、またはエクソン3中に挿入される、請求項1～5のいずれか一項記載の方法。

【請求項8】

前記DNA鑄型が、二本鎖DNA鑄型である、請求項1～7のいずれか一項記載の方法。

【請求項9】

前記DNA鑄型が、一本鎖DNA鑄型である、請求項1～7のいずれか一項記載の方法。

【請求項10】

前記DNA鑄型が、線状DNA鑄型である、請求項1～9のいずれか一項記載の方法。

【請求項11】

核酸配列の5'末端および3'末端が、挿入部位に隣接するゲノム配列と相同であるヌクレオチド配列を含む、請求項1～10のいずれか一項記載の方法。

【請求項12】

RNAガイドヌクレアーゼが、挿入部位に二本鎖切斷を導入する、請求項11記載の方法。

【請求項13】

RNAガイドヌクレアーゼが、Cpf1ヌクレアーゼまたはCas9ヌクレアーゼである、請求項1～12のいずれか一項記載の方法。

【請求項14】

前記T細胞がCD8⁺T細胞またはCD4⁺T細胞である、請求項1～13のいずれか一項記載の方法。

【請求項15】

前記異種遺伝子が、

(1)(a)異種TCR-鎖遺伝子の可変領域、または(b)異種TCR-鎖遺伝子の可変領域および定常領域、ならびに

(2)(a)異種TCR-鎖遺伝子の可変領域、または(b)異種TCR-鎖遺伝子の可変領域および定常領域

の少なくとも一方を含む、請求項1～14のいずれか一項記載の方法。

【請求項16】

10

前記異種遺伝子が、

(1)(a)異種TCR-鎖遺伝子の可変領域、または(b)異種TCR-鎖遺伝子の可変領域および定常領域、ならびに

(2)(a)異種TCR-鎖遺伝子の可変領域、または(b)異種TCR-鎖遺伝子の可変領域および定常領域

のそれを含む、請求項15記載の方法。

【請求項17】

発現後、異種TCR-鎖および異種TCR-鎖が、抗原特異的T細胞受容体(TCR)を形成する、請求項16記載の方法。

20

【請求項18】

異種TCR-鎖遺伝子および異種TCR-鎖遺伝子が、リンカー配列によって機能的に連結されている、請求項17記載の方法。

【請求項19】

リンカー配列が、切断可能リンカー配列またはマルチシストロニック要素である、請求項18記載の方法。

【請求項20】

異種TCR-鎖遺伝子および異種TCR-鎖遺伝子が、TRACに挿入される、請求項19記載の方法。

【請求項21】

前記異種遺伝子の発現が、内因性プロモーターによって制御される、請求項1～20のいずれか一項記載の方法。

30

【請求項22】

内因性TRACおよび内因性TRBCの一方または両方の発現が、前記細胞において対照T細胞と比べて低減し、該対照T細胞が非ウイルス挿入を欠く初代ヒトT細胞である、請求項1～21のいずれか一項記載の方法。

40

50