

【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 1 2 N 15/09(2006.01)

C 1 2 N 15/12(2006.01)

C 1 2 N 15/62(2006.01)

C 1 2 N 15/63(2006.01)

C 1 2 N 15/86(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 5/0783(2010.01)

C 1 2 N 15/11(2006.01)

A 6 1 K 35/17(2025.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 0 0

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 15/62 Z

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 15/86 Z

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 5/0783

C 1 2 N 15/11 Z

A 6 1 K 35/17

A 6 1 P 35/00

20

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- )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- )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鋳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、(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

10

(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鋳型

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。

20

【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。

30

【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鋳型が、二本鎖DNA鋳型である、請求項1～7のいずれか一項記載の方法。

【請求項 9】

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

【請求項 10】

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

40

【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断を導入する、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】

50

前記T細胞がCD8<sup>+</sup>T細胞またはCD4<sup>+</sup>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】

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

のそれぞれを含む、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。

【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。

【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。

10

20

30

40

50