

【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 1 月 14 日 (2021.1.14)

【公表番号】特表 2019-536447 (P2019-536447A)

【公表日】令和 1 年 12 月 19 日 (2019.12.19)

【年通号数】公開・登録公報 2019-051

【出願番号】特願 2019-522944 (P2019-522944)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/17 (2015.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

C 1 2 N 15/864 (2006.01)

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

C 1 2 N 5/0781 (2010.01)

C 1 2 N 5/0783 (2010.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 5/10 Z N A

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 35/17 A

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 35/76

A 6 1 K 31/7088

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 5/0781

C 1 2 N 5/0783

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 11 月 25 日 (2020.11.25)

【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】

遺伝子改変されたヒト初代リンパ球の集団を産生する方法であって、

e x v i v o で、初代リンパ球の集団に、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート ( C R I S P R ) 系を導入するステップであって、初代リンパ球の前記集団は、ヒト対象から得られたものであり、前記 C R I S P R 系は、前記集団の複数の初代リンパ球における遺伝子中に二本鎖切断を導入するヌクレアーゼを含み、前記二本鎖切断は、前記遺伝子の発現を抑制する、ステップ；および

前記 C R I S P R 系の前記導入後に、e x v i v o で、初代リンパ球の前記集団に、トランス遺伝子を含むアデノ随伴ウイルス ( A A V ) ベクターを導入することによって、

遺伝子改変された初代リンパ球の集団を産生するステップであって、前記トランス遺伝子が、前記集団の少なくとも約 20 % の初代リンパ球に組み込まれる、ステップを含む、方法。

**【請求項 2】**

前記トランス遺伝子が、初代リンパ球の前記集団中の少なくとも約 25 %、30 %、40 % または 50 % の初代リンパ球に組み込まれる、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3】**

前記 AAV ベクターの導入の約 5 ~ 15 日後に測定して、遺伝子改変された初代リンパ球の前記集団中のうちの少なくとも約 20 %、30 %、40 % または 50 % の遺伝子改変された初代リンパ球が、前記トランス遺伝子を発現する、請求項 1 または 2 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 4】**

遺伝子改変された初代リンパ球の前記集団が、前記 AAV ベクターの導入の 1、2、3、4、7、10 または 14 日後に測定して、少なくとも約 70 % の生細胞を含む、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記 AAV ベクターが、組換え AAV ( rAAV ) ベクター、ハイブリッド AAV ベクター、キメラ AAV ベクターおよび自己相補的 AAV ( scAAV ) ベクターからなる群から選択される、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 6】**

前記 AAV ベクターが、キメラ AAV ベクターである、請求項 5 に記載の方法。

**【請求項 7】**

前記 AAV ベクターが、少なくとも 1 つの AAV カプシド遺伝子配列中に改変を含む、請求項 6 に記載の方法。

**【請求項 8】**

前記ヌクレアーゼが、Cas9、Cpf1、c2c1、c2c3 および Cas9 HiFi からなる群から選択される、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記遺伝子が、免疫学的チェックポイント遺伝子である、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記遺伝子が、CISH 遺伝子である、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 11】**

前記二本鎖切断が、前記 CISH 遺伝子のエクソン 2 またはエクソン 3 中にある、請求項 10 に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記二本鎖切断が、配列番号 75、配列番号 76、配列番号 77、配列番号 78、配列番号 79、配列番号 80、配列番号 81、配列番号 82、配列番号 83、配列番号 84、配列番号 85 および配列番号 86 からなる群から選択される配列に対して少なくとも 80 % の配列同一性を含む配列中の切断を含む、請求項 10 または 11 に記載の方法。

**【請求項 13】**

前記二本鎖切断が、配列番号 82 に対して少なくとも 80 % の同一性を含む配列中の切断を含む、請求項 10 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 14】**

前記二本鎖切断が、配列番号 82 の配列中の切断を含む、請求項 10 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 15】**

初代リンパ球の前記集団が、T細胞、B細胞、NK細胞または腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) である、請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 16】**

前記トランス遺伝子が、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）またはキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする、請求項１から１５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１７】

前記トランス遺伝子が、前記遺伝子中の前記二本鎖切断に組み込まれる、請求項１から１６のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１８】

前記トランス遺伝子が、ＴＲＡＣまたはＴＣＲＢ遺伝子中の二本鎖切断に組み込まれる、請求項１から１７のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１９】

がんの処置における使用のための組成物であって、請求項１から１８のいずれか一項に記載の方法によって産生された遺伝子改変されたヒト初代リンパ球の集団を含む組成物。

【請求項２０】

前記がんが、消化器がん、乳がん、リンパ腫、または前立腺がんである、請求項１９に記載の組成物。