

【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3部門第2区分

【発行日】平成29年3月23日(2017.3.23)

【公表番号】特表2016-508518(P2016-508518A)

【公表日】平成28年3月22日(2016.3.22)

【年通号数】公開・登録公報2016-017

【出願番号】特願2015-558159(P2015-558159)

【国際特許分類】

C 0 7 K	14/705	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 K	35/17	(2015.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)

【F I】

C 0 7 K	14/705	Z N A
C 1 2 N	5/10	
C 1 2 N	15/00	A
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	35/17	A
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	43/00	1 0 5

【手続補正書】

【提出日】平成29年2月13日(2017.2.13)

【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】

ヘテロ二量体の条件付活性キメラ抗原受容体(CAR)であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 特異的結合対の第1のメンバーと、

ii) 第1の調節ドメインと、

iii) 二量体化対の第1のメンバーと、

iv) 特異的結合対の前記第1のメンバーと前記第1の調節ドメインとの間に介在する膜貫通ドメインと

を含む、第1のポリペプチド；及び

b) 第2のポリペプチドであって、

i) 膜貫通ドメインと、

ii) 第2の調節ドメインと、

iii) 前記二量体化対の第2のメンバーと、

iv) 細胞内シグナル伝達ドメインと

を含む、前記第2のポリペプチド

を含むか、または

a) 第1のポリペプチドであって、

i ) 特異的結合対の第 1 のメンバーと、  
i i ) 調節ドメインと、  
i i i ) 二量体化対の第 1 のメンバーと、  
i v ) 特異的結合対の前記第 1 のメンバーと前記調節ドメインとの間に介在する膜貫通ドメインと  
を含む、第 1 のポリペプチド；及び  
b ) 第 2 のポリペプチドであって、  
i ) 前記二量体化対の第 2 のメンバーと、  
i i ) 細胞内シグナル伝達ドメインと  
を含む、第 2 のポリペプチド  
を含む、前記ヘテロ二量体の条件付活性キメラ抗原受容体（C A R）。

#### 【請求項 2】

前記第 1 のポリペプチドが、前記特異的結合対の前記第 1 のメンバーと前記膜貫通ドメインとの間に介在するヒンジ領域を含む、請求項 1 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R。

#### 【請求項 3】

前記特異的結合対の前記第 1 のメンバーが、抗体もしくは抗体断片、リガンド、または受容体である、請求項 1 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R。

#### 【請求項 4】

前記ヒンジ領域が免疫グロブリン I g G ヒンジ領域または C D 8 由来のヒンジである、請求項 2 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R。

#### 【請求項 5】

前記第 1 及び第 2 の調節ドメインが、4 - 1 B B ( C D 1 3 7 )、C D 2 8、I C O S、B T L A、O X - 4 0、C D 2 7、C D 3 0、G I T R、H V E M、D A P 1 0、D A P 1 2、及び C D 2 8 から選択される、請求項 1 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R。

#### 【請求項 6】

前記細胞内シグナル伝達ドメインが、Z A P 7 0 及び C D 3 - ゼータから選択される、請求項 1 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R。

#### 【請求項 7】

前記細胞内シグナル伝達ドメインが免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ（I T A M）を含む、請求項 1 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R。

#### 【請求項 8】

前記二量体化対の前記第 1 及び第 2 のメンバーが、小分子二量体化剤の存在下でホモ二量体を形成する、請求項 1 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R。

#### 【請求項 9】

前記二量体化対の前記第 1 及び第 2 のメンバーが、小分子二量体化剤の存在下でヘテロ二量体を形成する、請求項 1 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R。

#### 【請求項 10】

前記二量体化対の前記第 1 及び第 2 のメンバーが、  
a ) F K 5 0 6 結合タンパク質（F K B P）及び F K B P、  
b ) F K B P 及びカルシニューリン触媒サブユニット A ( C n A )、  
c ) F K B P 及びシクロフィリン、  
d ) F K B P 及び F K B P - ラパマイシン関連タンパク質（F R B）、  
e ) ジャイレース B ( G y r B ) 及び G r y B、  
f ) ジヒドロ葉酸還元酵素（D H F R）及び D H F R、  
g ) D m r B 及び D m r B、  
h ) P Y L 及び A B I、  
i ) C r y 2 及び C I P、  
j ) G A I 及び G I D 1

から選択される、請求項 1 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R 。

【請求項 1 1】

i ) 前記第 1 及び第 2 の調節ドメインが 4 - 1 B B に由来し、

i i ) 前記二量体化対の前記第 1 及び第 2 のメンバーが F K B P 及び F R B であり、かつ

i i i ) 前記シグナル伝達ドメインが I T A M を含む、

請求項 1 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R 。

【請求項 1 2】

前記特異的結合対の前記第 1 のメンバーが、一本鎖 F v である、請求項 1 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R 。

【請求項 1 3】

前記特異的結合対の前記第 1 のメンバーが、細胞上、固体表面上、または脂質二重層に存在するエピトープに結合する、請求項 1 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R 。

【請求項 1 4】

前記細胞が癌細胞である、請求項 1 3 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R 。

【請求項 1 5】

請求項 1 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R を生成するように遺伝子改変された、哺乳類細胞。

【請求項 1 6】

幹細胞、前駆細胞、または幹細胞もしくは前駆細胞から誘導された細胞である、請求項 1 5 に記載の細胞。

【請求項 1 7】

T リンパ球または N K 細胞である、請求項 1 5 に記載の細胞。

【請求項 1 8】

請求項 1 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R をコードするヌクレオチド配列を含む、核酸。

【請求項 1 9】

前記ヌクレオチド配列が、T リンパ球特異的プロモーターまたは N K 細胞特異的プロモーターに機能的に連結される、請求項 1 8 に記載の核酸。

【請求項 2 0】

インビトロ転写 R N A である、請求項 1 8 に記載の核酸。

【請求項 2 1】

請求項 1 8 に記載の核酸を含む、組み換え発現ベクター。

【請求項 2 2】

T リンパ球を二量体化剤及び特異的結合対の第 2 のメンバーと接触させる工程を含む、T リンパ球をインビトロまたはエクスピボで活性化する方法であって、前記 T リンパ球が、請求項 1 に記載のヘテロ二量体の条件付活性 C A R を生成するように遺伝子改変され、前記二量体化剤及び特異的結合対の前記第 2 のメンバーの存在下で、前記ヘテロ二量体の条件付活性 C A R が二量体化して、前記 T リンパ球を活性化し、それにより活性化された T リンパ球を生成する、前記方法。

【請求項 2 3】

特異的結合対の前記第 2 のメンバーが抗原である、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記活性化された T リンパ球が標的細胞の死滅を媒介する、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記活性化された T リンパ球が、 I L - 2 及び / または I F N - 1 を生成する、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記標的細胞が癌細胞である、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記ヘテロ二量体の条件付活性C A Rの前記特異的結合対の前記第1のメンバーが、癌細胞上のエピトープに対して特異的な抗体である、請求項22に記載の方法。

【請求項28】

請求項15に記載の細胞を作製する方法であって、哺乳類細胞を、請求項1に記載のヘテロ二量体の条件付活性C A Rをコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクターで遺伝子改変する工程、または哺乳類細胞を、請求項1に記載のヘテロ二量体の条件付活性C A Rをコードするヌクレオチド配列を含むRNAで遺伝子改変する工程を含む、前記方法。

【請求項29】

前記遺伝子改変がエクスピボで実行される、請求項28に記載の方法。

【請求項30】

前記細胞が、Tリンパ球、幹細胞、NK細胞、前駆細胞、幹細胞由来の細胞、または前駆細胞由来の細胞である、請求項28に記載の方法。

【請求項31】

請求項1に記載のヘテロ二量体の条件付活性C A Rをコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクターで遺伝子改変されたTリンパ球を含み、二量体化剤と組み合わせて使用される、個体における癌を治療するための医薬組成物であって、

前記Tリンパ球が前記個体に由来し、

前記ヘテロ二量体の条件付活性C A Rの抗原結合ドメインが、前記個体における癌細胞上のエピトープに対して特異的であり、

前記二量体化剤が前記ヘテロ二量体の条件付活性C A Rの二量体化を誘導し、前記二量体化が前記遺伝子改変されたTリンパ球の活性化及び前記癌細胞の死滅を提供する、前記医薬組成物。

【請求項32】

前記二量体化剤がラパログである、請求項31に記載の医薬組成物。

【請求項33】

宿主細胞を二量体化剤及び特異的結合対の第2のメンバーとインビトロまたはエクスピボで接触させる工程を含む、宿主細胞の活性を調節する方法であって、Tリンパ球が、請求項1に記載のヘテロ二量体の条件付活性C A Rを生成するように遺伝子改変され、かつ前記二量体化剤及び特異的結合対の前記第2のメンバーの存在下で、前記ヘテロ二量体の条件付活性C A Rが二量体化して、宿主細胞の少なくとも1つの活性を調節する、前記方法。

【請求項34】

前記活性が、増殖、細胞生存、アポトーシス、遺伝子発現、または免疫活性化である、請求項33に記載の方法。

【請求項35】

特異的結合対の前記第2のメンバーが抗原である、請求項33に記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0005

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0005】

本開示は、ヘテロ二量体の条件付活性キメラ抗原受容体(C A R)、及び該C A Rをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。本開示は、該C A Rを生成するように遺伝子改変された細胞を提供する。本開示のC A Rは、様々な方法において使用され得、これらも開示される。

[本発明1001]

ヘテロ二量体の条件付活性キメラ抗原受容体(C A R)であって、

a) 第1のポリペプチドであって、

i) 特異的結合対の第1のメンバーと、

i i ) 第1の調節ドメインと、  
i i i ) 二量体化対の第1のメンバーと、  
i v ) 特異的結合対の前記第1のメンバーと前記第1の調節ドメインとの間に介在する膜貫通ドメインと  
を含む、第1のポリペプチド；及び  
b ) 第2のポリペプチドであって、  
i ) 膜貫通ドメインと、  
i i ) 第2の調節ドメインと、  
i i i ) 前記二量体化対の第2のメンバーと、  
i v ) 細胞内シグナル伝達ドメインと  
を含む、前記第2のポリペプチド  
を含むか、または  
a ) 第1のポリペプチドであって、  
i ) 特異的結合対の第1のメンバーと、  
i i ) 調節ドメインと、  
i i i ) 二量体化対の第1のメンバーと、  
i v ) 特異的結合対の前記第1のメンバーと前記調節ドメインとの間に介在する膜貫通ドメインと  
を含む、第1のポリペプチド；及び  
b ) 第2のポリペプチドであって、  
i ) 前記二量体化対の第2のメンバーと、  
i i ) 細胞内シグナル伝達ドメインと  
を含む、第2のポリペプチド  
を含む、前記ヘテロ二量体の条件付活性キメラ抗原受容体（C A R）。

[本発明1002]

前記第1のポリペプチドが、前記特異的結合対の前記第1のメンバーと前記膜貫通ドメインとの間に介在するヒンジ領域を含む、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性C A R。

[本発明1003]

前記特異的結合対の前記第1のメンバーが、抗体もしくは抗体断片、リガンド、または受容体である、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性C A R。

[本発明1004]

前記ヒンジ領域が免疫グロブリンI g Gヒンジ領域またはC D 8由来のヒンジである、本発明1002のヘテロ二量体の条件付活性C A R。

[本発明1005]

前記第1及び第2の調節ドメインが、4 - 1 B B (C D 137)、C D 28、I C O S、B T L A、O X - 40、C D 27、C D 30、G I T R、H V E M、D A P 10、D A P 12、及びC D 28から選択される、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性C A R。

[本発明1006]

前記細胞内シグナル伝達ドメインが、Z A P 70及びC D 3 - ゼータから選択される、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性C A R。

[本発明1007]

前記細胞内シグナル伝達ドメインが免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ（I T A M）を含む、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性C A R。

[本発明1008]

前記二量体化対の前記第1及び第2のメンバーが、小分子二量体化剤の存在下でホモ二量体を形成する、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性C A R。

[本発明1009]

前記二量体化対の前記第1及び第2のメンバーが、小分子二量体化剤の存在下でヘテロ二量体を形成する、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性C A R。

[本発明1010]

前記二量体化対の前記第1及び第2のメンバーが、

- a) F K 506結合タンパク質 ( F K B P ) 及び F K B P 、
- b) F K B P 及びカルシニューリン触媒サブユニットA ( C n A ) 、
- c) F K B P 及びシクロフィリン、
- d) F K B P 及び F K B P - ラパマイシン関連タンパク質 ( F R B ) 、
- e) ジャイレースB ( G y r B ) 及び G r y B 、
- f) ジヒドロ葉酸還元酵素 ( D H F R ) 及び D H F R 、
- g) D m r B 及び D m r B 、
- h) P Y L 及び A B I 、
- i) C r y 2 及び C I P 、
- j) G A I 及び G I D 1

から選択される、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性 C A R 。

[本発明1011]

i) 前記第1及び第2の調節ドメインが 4 - 1 B B に由来し、

i i) 前記二量体化対の前記第1及び第2のメンバーが F K B P 及び F R B であり、かつ

i i i) 前記シグナル伝達ドメインが I T A M を含む、

本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性 C A R 。

[本発明1012]

前記特異的結合対の前記第1のメンバーが、一本鎖 F v である、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性 C A R 。

[本発明1013]

前記特異的結合対の前記第1のメンバーが、細胞上、固体表面上、または脂質二重層に存在するエピトープに結合する、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性 C A R 。

[本発明1014]

前記細胞が癌細胞である、本発明1013のヘテロ二量体の条件付活性 C A R 。

[本発明1015]

本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性 C A R を生成するように遺伝子改変された、哺乳類細胞。

[本発明1016]

幹細胞、前駆細胞、または幹細胞もしくは前駆細胞から誘導された細胞である、本発明1015の細胞。

[本発明1017]

T リンパ球または N K 細胞である、本発明1015の細胞。

[本発明1018]

本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性 C A R をコードするヌクレオチド配列を含む、核酸。

[本発明1019]

前記ヌクレオチド配列が、T リンパ球特異的プロモーターまたは N K 細胞特異的プロモーターに機能的に連結される、本発明1018の核酸。

[本発明1020]

インビトロ転写 R N A である、本発明1018の核酸。

[本発明1021]

本発明1018の核酸を含む、組み換え発現ベクター。

[本発明1022]

T リンパ球を二量体化剤及び特異的結合対の第2のメンバーと接触させる工程を含む、T リンパ球を活性化する方法であって、前記 T リンパ球が、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性 C A R を生成するように遺伝子改変され、前記二量体化剤及び特異的結合対の前記第2のメンバーの存在下で、前記ヘテロ二量体の条件付活性 C A R が二量体化して、前記 T リンパ球を活性化し、それにより活性化された T リンパ球を生成する、前記方法。

[本発明1023]

特異的結合対の前記第2のメンバーが抗原である、本発明1022の方法。

[本発明1024]

前記接触がインビボで生じる、本発明1022の方法。

[本発明1025]

前記活性化されたTリンパ球が標的細胞の死滅を媒介する、本発明1022の方法。

[本発明1026]

前記活性化されたTリンパ球が、IL-2及び/またはIFN- $\gamma$ を生成する、本発明1022の方法。

[本発明1027]

前記標的細胞が癌細胞である、本発明1025の方法。

[本発明1028]

前記ヘテロ二量体の条件付活性CARの前記特異的結合対の前記第1のメンバーが、癌細胞上のエピトープに対して特異的な抗体である、本発明1022の方法。

[本発明1029]

本発明1015の細胞を作製する方法であって、哺乳類細胞を、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性CARをコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクターで遺伝子改変する工程、または哺乳類細胞を、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性CARをコードするヌクレオチド配列を含むRNAで遺伝子改変する工程を含む、前記方法。

[本発明1030]

前記遺伝子改変がエクスピボで実行される、本発明1029の方法。

[本発明1031]

前記細胞が、Tリンパ球、幹細胞、NK細胞、前駆細胞、幹細胞由来の細胞、または前駆細胞由来の細胞である、本発明1029の方法。

[本発明1032]

個体における癌を治療する方法であって、

i) 前記個体から得られたTリンパ球を、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性CARをコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクターで遺伝子改変する工程であって、前記ヘテロ二量体の条件付活性CARの抗原結合ドメインが、前記個体における癌細胞上のエピトープに対して特異的であり、かつ前記遺伝子改変がエクスピボで実行される、工程；

i i) 前記遺伝子改変されたTリンパ球を前記個体に導入する工程；ならびに

i i i) 前記個体に、有効量の二量体化剤を投与する工程であって、前記二量体化剤が前記ヘテロ二量体の条件付活性CARの二量体化を誘導し、前記二量体化が前記遺伝子改変されたTリンパ球の活性化及び前記癌細胞の死滅を提供し、それにより前記癌を治療する工程

を含む、前記方法。

[本発明1033]

前記二量体化剤がラパログである、本発明1032の方法。

[本発明1034]

宿主細胞を二量体化剤及び特異的結合対の第2のメンバーと接触させる工程を含む、宿主細胞の活性を調節する方法であって、Tリンパ球が、本発明1001のヘテロ二量体の条件付活性CARを生成するように遺伝子改変され、かつ前記二量体化剤及び特異的結合対の前記第2のメンバーの存在下で、前記ヘテロ二量体の条件付活性CARが二量体化して、宿主細胞の少なくとも1つの活性を調節する、前記方法。

[本発明1035]

前記活性が、増殖、細胞生存、アポトーシス、遺伝子発現、または免疫活性化である、本発明1034の方法。

[本発明1036]

特異的結合対の前記第2のメンバーが抗原である、本発明1034の方法。