

【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 (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)。

【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 ) 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 エキ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 - 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 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 8】

請求項 1 5 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 R N A で遺伝子改変する工程を含む、前記方法。

【請求項 2 9】

前記遺伝子改変がエクスピボで実行される、請求項 2 8 に記載の方法。

【請求項 3 0】

前記細胞が、T リンパ球、幹細胞、N K 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 2 8 に記載の方法。

【請求項 3 1】

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 3 2】

前記二量体化剤がラパログである、請求項 3 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 3】

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 3 4】

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 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

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 3 3 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】0 0 0 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 0 5】

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 - ラバ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) 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キ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キ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。