

【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2年9月3日(2020.9.3)

【公表番号】特表2019-521695(P2019-521695A)

【公表日】令和1年8月8日(2019.8.8)

【年通号数】公開・登録公報2019-032

【出願番号】特願2019-504715(P2019-504715)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/70 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 Q 1/686 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6851 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6816 (2018.01)

C 1 2 Q 1/6888 (2018.01)

C 1 2 N 9/12 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/70

C 1 2 Q 1/02 Z N A

C 1 2 Q 1/686 Z

C 1 2 Q 1/6851 Z

C 1 2 Q 1/6816 Z

C 1 2 Q 1/6888 Z

C 1 2 N 9/12

C 1 2 N 9/16 Z

C 1 2 N 15/09 Z

【手続補正書】

【提出日】令和2年7月27日(2020.7.27)

【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】

(a) 試験サンプル中のパラメータのレベルを決定する工程であって、試験サンプルが、生物学的サンプルもしくはその部分であるか、またはこれらに起因し、レベルが、生物学的サンプル中のウイルスRNAの存在、非存在、または量もしくは濃度を示すかまたはこれらと相関し、生物学的サンプルが、ウイルスベクターで形質導入されており、かつ、異種タンパク質をコードする核酸を含有する少なくとも1つの細胞を含む、工程を含む方法であって、

生物学的サンプル中のウイルスRNAの存在、非存在、または量もしくは濃度が、生物学的サンプル中のまたは生物学的サンプルが起因するサンプル中の複製可能ウイルスの、存在もしくは非存在、またはリスクを示し；かつ／あるいは

ウイルスRNAが、複製可能ウイルスの複製能力に必要であるか、またはこれに必要である遺伝子産物もしくはその特異的に識別可能な部分をコードする、方法。

【請求項 2】

(b) (a) で決定されたパラメータのレベルを、パラメータについての第1参照値と比較する工程
をさらに含む、請求項1記載の方法。

【請求項 3】

前記比較が、生物学的サンプルまたはそれに起因するサンプル中のウイルスRNAの存在、非存在、濃度もしくは量、または前述のうちのいずれかのリスクを示す、請求項2記載の方法。

【請求項 4】

(a) で決定されたパラメータのレベルが第1参照値であるかまたはこれを上回る場合、生物学的サンプルは、複製可能ウイルスの存在を有する、存在を潜在的に有する、または存在についてのリスクがある、かつ／または、ウイルスRNAの存在または少なくとも閾値量を有すると見なされ、パラメータのレベルは、生物学的サンプル中のRNAの量と正に相関し；かつ／あるいは

(a) で決定されたパラメータのレベルが第1参照値であるかまたはこれを下回る場合、生物学的サンプルは、複製可能ウイルスの存在を有する、または存在についてのリスクがある、かつ／または、ウイルスRNAの存在または少なくとも閾値量を有すると見なされ、パラメータのレベルは、生物学的サンプル中のウイルスRNAの量と逆に相関し；(a) で決定されたパラメータのレベルが第1参照値を下回る場合、生物学的サンプルおよび／または少なくとも1つの細胞のうちの1つもしくは複数は、RCR陰性に見なされ、または複製可能ウイルスの存在を有さない、または存在についてのリスクがない、または存在を潜在的に含有しないと見なされ、パラメータのレベルは、生物学的サンプル中のRNAの量と正に相関し；かつ／あるいは

(a) で決定されたパラメータのレベルが第1参照値を上回る場合、生物学的サンプルおよび／または少なくとも1つの細胞のうちの1つもしくは複数は、複製可能ウイルスの存在を有さないまたは存在についてのリスクがない、かつ／または、ウイルスRNAの存在または少なくとも閾値量を有しないと見なされ、パラメータのレベルは、生物学的サンプル中のウイルスRNAの量と逆に相関する、
請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

【請求項 5】

パラメータおよび／またはレベルがサイクル閾値(Ct)値を含む、請求項1～4のいずれか一項記載の方法。

【請求項 6】

試験サンプルについてのCT値が、参照Ctスコアである第1参照値を下回る場合、ウイルスRNAまたはその発現が、生物学的サンプル中または試験サンプル中に存在するかまたは存在するリスクがあると決定される、請求項5記載の方法。

【請求項 7】

(a) 試験サンプル中の第1パラメータの第1レベルを決定する工程であって、該第1レベルまたは第1パラメータが、第1ウイルスRNAの、生物学的サンプルにおける存在、非存在、量または濃度と相関する、工程；

(b) 試験サンプル中の第2パラメータの第2レベルを決定する工程であって、該第2レベルまたは第2パラメータが、第1ウイルスRNAとは異なる第2ウイルスRNAの、生物学的サンプルにおける存在、非存在、量または濃度と相関する、工程
を含む方法であって、

異種核酸、異種遺伝子産物、および／もしくは異種タンパク質をコードする核酸を含有する少なくとも1つの細胞が、ウイルスベクターで形質導入されており、かつ、生物学的試験サンプルが、ウイルスベクターで形質導入されており、かつ、異種タンパク質をコードする核酸を含有する少なくとも1つの細胞を含み；

第1試験サンプルおよび第2試験サンプルの両方が個々に、生物学的サンプルもしくはその部分に起因するか、または、生物学的サンプルもしくはその部分に起因するRNAを含有

する；かつ

生物学的サンプル中の、第1ウイルスRNAもしくは遺伝子または第2ウイルスRNAもしくは遺伝子の、存在、非存在、または量もしくは濃度、ならびに／または、第1および第2ウイルスRNAもしくは遺伝子の両方の存在、非存在、または量もしくは濃度は、生物学的サンプル中のまたは生物学的サンプルが起因するサンプル中の複製可能ウイルスの、存在もしくは非存在、またはリスクを示し；かつ／あるいは

第1ウイルスRNA、第2ウイルスRNA、ならびに／または第1および第2ウイルスRNAの両方が、複製可能ウイルスの複製能力に必要であるか、またはこれに必要である遺伝子産物もしくはその特異的に識別可能な部分をコードする、方法。

【請求項 8】

(c) (a) および／または (b) で決定された第1および／または第2パラメータのレベルを第1および／または第2参照値と比較する工程であって、比較が、生物学的サンプルまたはそれに起因するサンプル中のウイルスRNAの存在、非存在、濃度もしくは量、または前述のうちのいずれかのリスクを示す、工程をさらに含む、請求項7記載の方法。

【請求項 9】

ウイルスRNAがenv、gag、pol、もしくはrev由来であり、かつ／または、第1ウイルスRNAがenv、gag、pol、もしくはrev由来であり、かつ／または、第1ウイルス遺伝子がenv、gag、pol、もしくはrevであり；かつ／あるいは

ウイルスRNAがenv、gag、pol、もしくはrev由来であり、かつ／または、第2ウイルスRNAがenv、gag、pol、もしくはrev由来であり、かつ／または、第2ウイルス遺伝子がenv、gag、pol、もしくはrevである、
請求項1～8のいずれか一項記載の方法。

【請求項 10】

(a) 生物学的サンプル中の第1ウイルスRNAの量または存在もしくは非存在を示すかまたはこれらと相関する、試験サンプル中の第1パラメータのレベルを決定し、かつ同じまたは異なる試験サンプルである試験サンプル中の第2パラメータのレベルを決定する工程であって、第1ウイルスRNAが、env遺伝子である第1ウイルス遺伝子由来であり、第2ウイルスパラメータが、生物学的サンプル中の第2ウイルスRNAの存在、非存在、または量を示すかまたはこれらと相関し、第2ウイルスRNAが、gag、pol、およびrev遺伝子より選択される遺伝子由来であり、生物学的サンプルが、異種遺伝子産物を含むウイルスベクターで形質導入が行われた細胞を含み、かつ／または、異種遺伝子産物を有する細胞を含む、工程を含む方法であって、

異種核酸、異種遺伝子産物、および／もしくは異種タンパク質をコードする核酸を含有する少なくとも1つの細胞が、ウイルスベクターで形質導入されており；

生物学的サンプル中の、第1ウイルスRNAもしくは遺伝子または第2ウイルスRNAもしくは遺伝子の存在、非存在、または量もしくは濃度、ならびに／または、第1および第2ウイルスRNAもしくは遺伝子の両方の存在、非存在、または量もしくは濃度は、生物学的サンプル中のまたは生物学的サンプルが起因するサンプル中の複製可能ウイルスの、存在もしくは非存在、またはリスクを示し；かつ／または、

第1ウイルスRNA、第2ウイルスRNA、ならびに／または第1および第2ウイルスRNAの両方が、複製可能ウイルスの複製能力に必要であるか、またはこれに必要である遺伝子産物もしくはその特異的に識別可能な部分をコードする、方法。

【請求項 11】

第1および第2ウイルス遺伝子をコードするウイルスRNAのレベルが、試験サンプル中で検出不可能である、かつ／または、生物学的サンプル中に存在するともしくは閾値レベルを超えて存在すると決定されない場合、生物学的サンプルが複製可能ウイルス陰性と見なされる、請求項7～10のいずれか一項記載の方法。

【請求項 12】

決定する工程が、ウイルス遺伝子または第1もしくは第2ウイルス遺伝子の配列に特異的な1つまたは複数のオリゴヌクレオチドプライマーを使用して逆転写酵素定量的PCR(RT-qPCR)を行うことを含む、請求項7～11のいずれか一項記載の方法。

【請求項13】

パラメータがウイルスRNAの存在または非存在である、請求項1～12のいずれか一項記載の方法。

【請求項14】

参照値が、閾値レベルまたは最小検出可能レベルであるかまたはこれらに対応する、請求項1～13のいずれか一項記載の方法。

【請求項15】

第1および第2ウイルス遺伝子をコードするウイルスRNAのレベルが、試験サンプル中で検出不可能である、かつ／または、生物学的サンプル中に存在するともしくは閾値レベルを超えて存在すると決定されない場合、生物学的サンプルが複製可能ウイルス陰性に見られる、請求項7～14のいずれか一項記載の方法。

【請求項16】

複製可能ウイルスがレトロウイルスであるかまたはこれを含み、かつ／または、ウイルスRNAがレトロウイルスによって発現される、請求項1～15のいずれか一項記載の方法。

【請求項17】

レトロウイルスがガンマレトロウイルスである、請求項16記載の方法。

【請求項18】

レトロウイルスがレンチウイルスである、請求項16記載の方法。

【請求項19】

生物学的サンプルがヒト由来であり、または、1つまたは複数の細胞が、初代ヒト細胞である、請求項1～18のいずれか一項記載の方法。

【請求項20】

異種核酸が、組換え受容体であるかまたはこれらをコードする、請求項1～19のいずれか一項記載の方法。

【請求項21】

組換え受容体がキメラ受容体またはトランスジェニックT細胞受容体である、請求項20記載の方法。

【請求項22】

決定する工程が、ウイルス遺伝子の配列に特異的な1つまたは複数のオリゴヌクレオチドプライマーを使用して逆転写酵素定量的PCR(RT-qPCR)を行うことを含む、請求項1～21のいずれか一項記載の方法。

【請求項23】

決定する工程が、第1および第2ウイルスRNAの配列に特異的な1つまたは複数のオリゴヌクレオチドプライマーを使用して逆転写酵素定量的PCR(RT-qPCR)を行うことを含む、請求項7～22のいずれか一項記載の方法。

【請求項24】

第1ウイルス遺伝子がGaLV envであり、第1ウイルス遺伝子の配列に特異的な1つまたは複数のオリゴヌクレオチドプライマーが、それぞれSEQ ID NO: 4～5に記載の配列を含むフォワードおよびリバースプライマーを含む；かつ／または

第2ウイルス遺伝子がMMuLV gagであり、第2ウイルス遺伝子の配列に特異的な1つまたは複数のオリゴヌクレオチドプライマーが、それぞれSEQ ID NO: 16～17、SEQ ID NO: 19～20、またはSEQ ID NO: 22～23に記載の配列を含むフォワードおよびリバースプライマーを含む、請求項23記載の方法。

【請求項25】

ウイルス遺伝子がGaLV envであり、ウイルス遺伝子の配列に特異的な1つまたは複数のオリゴヌクレオチドプライマーが、それぞれSEQ ID NO: 4～5に記載の配列を含むフォワードおよびリバースプライマーを含む；かつ／または

ウイルス遺伝子がMMLV gagであり、ウイルス遺伝子の配列に特異的な1つまたは複数のオリゴヌクレオチドプライマーが、それぞれSEQ ID NO: 16～17、SEQ ID NO: 19～20、またはSEQ ID NO: 22～23に記載の配列を含むフォワードおよびリバースプライマーを含む、請求項23記載の方法。

【請求項 2 6】

決定する工程が、ウイルス遺伝子の配列に特異的な加水分解プローブの使用を含む、請求項1～25のいずれか一項記載の方法。

【請求項 2 7】

ウイルス遺伝子がGaLV envウイルス遺伝子であり、GaLV envウイルス遺伝子の配列に特異的な加水分解プローブが、SEQ ID NO: 6に記載の配列を含む、請求項26記載の方法。

【請求項 2 8】

ウイルス遺伝子がMMLV gagウイルス遺伝子であり、MMLV gagウイルス遺伝子の配列に特異的な加水分解プローブが、SEQ ID NO: 18、21、または24に記載の配列を含む、請求項27記載の方法。

【請求項 2 9】

パラメータが、

ウイルスRNAの、またはそれから発現される産物の、またはRNAに対応するウイルス遺伝子から発現される産物の、相対コピー数または相対重量である量または相対量であるかまたはこれらを含み、あるいは、

ウイルスRNAの、またはそれから発現される産物の、またはRNAに対応するウイルス遺伝子から発現される産物の、濃度または相対濃度であるかまたはこれらを含む、請求項1～28のいずれか一項記載の方法。

【請求項 3 0】

第1パラメータおよび／または第2パラメータが、サイクル閾値(Ct)値であるかまたはこれを含む、請求項7～29のいずれか一項記載の方法。

【請求項 3 1】

試験サンプルについてのCT値が、第1参照Ctスコアである第1参照値を下回る場合、第1ウイルスRNAまたはその発現が、生物学的サンプル中または試験サンプル中に存在すると決定される；かつ／または

試験サンプルについてのCT値が、第2参照Ctスコアである第2参照値を下回る場合、第2ウイルスRNAまたはその発現が、生物学的サンプル中または試験サンプル中に存在すると決定される、請求項30記載の方法。

【請求項 3 2】

前記少なくとも1つの細胞が複数のT細胞を含む、請求項1～31のいずれか一項記載の方法。

【請求項 3 3】

前記複数の細胞が、未分画T細胞、単離CD8⁺ T細胞、または単離CD4⁺ T細胞を含む、請求項32記載の方法。

【請求項 3 4】

SEQ ID NO: 1～24または35～41のいずれかに記載の配列を含むオリゴヌクレオチドを含む、プライマー。

【請求項 3 5】

蛍光部分または標識をさらに含む、請求項34記載のプライマー。

【請求項 3 6】

請求項34または請求項35に記載の1つまたは複数のプライマーを含む、キット。

【請求項 3 7】

ヌクレアーゼフリー水、逆転写酵素、ポリメラーゼ、デオキシヌクレオチド三リン酸、緩衝液、およびDNアーゼのうちの1つまたは複数を含む、請求項36記載のキット。

【請求項 3 8】

前記方法が、試験サンプル中のウイルスRNAを検出することができ、該サンプル中で、

または試験サンプルもしくは生物学的サンプル中の1000万個の細胞当たり、少なくとも5個もしくは少なくとも10個もしくは少なくとも20個もしくは少なくとも50個もしくは少なくとも100個の細胞；かつ／あるいは

前記方法が、試験サンプルおよび／または生物学的サンプル中の、僅か1.5 pg、1 pg、もしくは0.75 pg、もしくはそれ未満、または僅か約1.5 pg、約1 pg、もしくは約0.75 pg、もしくはそれ未満のウイルス標的である量の標的RNAを検出することができる、請求項1～33のいずれか一項記載の方法。

【請求項 39】

1つもしくは複数の細胞および／または生物学的サンプルがプロセスから収集され、該プロセスにおいて、形質導入細胞が、細胞を増大させる条件下で、37℃または約37℃でかつ／または1つまたは複数の刺激剤の存在下で、培養されている、請求項1～33および38のいずれか一項記載の方法。

【請求項 40】

形質導入細胞が、少なくとも1日間、2日間、3日間、4日間、5日間、6日間、7日間、8日間、9日間、10日間、11日間、12日間、13日間、もしくは14日間、または、2～14日間、2～10日間、4～14日間、4～10日間、もしくは7～10日間、または約2～14日間、約2～10日間、約4～14日間、約4～10日間、もしくは約7～10日間、培養されている、請求項39記載の方法。