

【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】平成31年4月18日(2019.4.18)

【公表番号】特表2018-520644(P2018-520644A)

【公表日】平成30年8月2日(2018.8.2)

【年通号数】公開・登録公報2018-029

【出願番号】特願2017-557212(P2017-557212)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/12	(2006.01)
C 0 7 K	7/04	(2006.01)
C 0 7 K	16/18	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 0 7 K	14/725	(2006.01)
C 1 2 Q	1/6851	(2018.01)
C 1 2 Q	1/02	(2006.01)
A 6 1 K	35/15	(2015.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/02	(2006.01)
A 6 1 K	38/08	(2019.01)
A 6 1 K	38/16	(2006.01)
A 6 1 K	35/76	(2015.01)
A 6 1 K	35/761	(2015.01)
A 6 1 K	35/763	(2015.01)
A 6 1 K	35/17	(2015.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
C 1 2 N	15/63	(2006.01)
C 1 2 P	21/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/12	Z N A
C 0 7 K	7/04	
C 0 7 K	16/18	
C 1 2 N	5/10	
C 0 7 K	14/725	
C 1 2 Q	1/6851	Z
C 1 2 Q	1/02	
A 6 1 K	35/15	Z
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	
A 6 1 K	38/08	
A 6 1 K	38/16	
A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	35/761	
A 6 1 K	35/763	
A 6 1 K	35/17	Z
A 6 1 K	39/395	E
A 6 1 K	39/395	T
C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 P	21/00	C

【手続補正書】

【提出日】平成31年3月6日(2019.3.6)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0395

【補正方法】変更

【補正の内容】**【0395】**

4 × 12 . 5 ng の異なるビオチンpMHCの存在下で、800,000個のビーズ / 200 μl を 96 ウェルプレート内で被覆し、洗浄して、引き続いて 200 μl の容量中で 600 ng のビオチン抗CD28を添加した。5 ng / ml の IL - 12 (PromoCell) を添加した 200 μl の TCM 中で、 1×10^6 の CD8+T 細胞を 2×10^5 個の洗浄被覆ビーズと、37 ℃ で 3 日間にわたり同時インキュベートすることで、96 ウェルプレート内で刺激を開始した。次に 80 U / ml の IL - 2 を添加した新鮮 TCM で培地の半分を交換し、37 ℃ で 4 日間にわたり培養を継続した。この刺激サイクルを合計 3 回実施した。条件当たり 8 種の異なる pMHC 分子を使用した pMHC 多量体読み取りでは、5 種の異なる蛍光色素への共役を包含するわずかな修正を加えて、以前記載されたような (Andersen et al., 2012) 二次元コンビナトリアルコーディングアプローチを使用した。最後に、Live/dead 近赤外染料 (Invitrogen, Karlsruhe, Germany)、CD8 - FITC 抗体クローン SK1 (BD, Heidelberg, Germany)、および蛍光性 pMHC 多量体による細胞の染色によって多量体解析を実施した。解析では、適切なレーザーおよびフィルターを装着した BD LSR II SORP 血球計数器を使用した。ペプチド特異的細胞を全 CD8+ 細胞の百分率として計算した。FlowJo ソフトウェア (Tree Star, Oregon, USA) を使用して、多量体解析の評価を実施した。特異的多量体 + CD8+ リンパ球の生体外初回刺激は、陰性対照刺激と比較することで (by by) 検出された。1人の健常ドナーの少なくとも 1 つの評価可能生体外刺激ウェルが、生体外刺激後に、特異的 CD8+ T 細胞株を含有することが判明したら、所与の抗原の免疫原性が検出された (すなわち、このウェルは、CD8+ T 細胞内に少なくとも 1 % の特異的多量体 + を含有し、特異的多量体 + 細胞の百分率は、陰性対照刺激の中央値の少なくとも 10 倍であった)。

【手続補正2】

【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】**

配列番号 22 および配列番号 22 と少なくとも 88 % 相同的なその変異配列、または、配列番号 1 ~ 配列番号 21 、配列番号 23 ~ 配列番号 191 、および配列番号 1 ~ 配列番号 21 、配列番号 23 ~ 配列番号 191 と少なくとも 88 % 相同的なその変異配列の群から選択されるアミノ酸配列を含んでなるペプチドおよびその薬学的に許容可能な塩であつて；前記変異体が主要組織適合性複合体 (MHC) 分子と結合し、および / または T 細胞を前記変異体ペプチドと交差反応させ；前記ペプチドが完全長ポリペプチドでない、ペプチド。

【請求項2】

MHC クラス I または II 分子に結合する能力を有し、前記 MHC に結合すると、CD4 および / または CD8 T 細胞によって認識ができるようになる、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項3】

そのアミノ酸配列が、配列番号 2 2、または、配列番号 1 ~ 配列番号 2 1、配列番号 2 3 ~ 配列番号 1 9 1のいずれか1つに記載の一続きのアミノ酸を含んでなる、請求項1または2に記載のペプチドまたはその変異体。

【請求項4】

前記ペプチドまたはその変異体が、8~100、好ましくは8~30、より好ましくは8~16のアミノ酸の全長を有し、最も好ましくは前記ペプチドが、配列番号 2 2、または、配列番号 1 ~ 配列番号 2 1、配列番号 2 3 ~ 配列番号 1 9 1のいずれかに記載のアミノ酸配列からなり、またはそれから本質的になる、請求項1~3のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体。

【請求項5】

前記ペプチドが、修飾され、および/または非ペプチド結合を含む、請求項1~4のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体。

【請求項6】

前記ペプチドが、特にHLA-DR抗原関連不变鎖(Ii)のN末端アミノ酸を含んでなる融合タンパク質の一部である、請求項1~5のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体。

【請求項7】

請求項1~6のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体をエンコードする核酸であって、任意選択的に異種プロモーター配列と結合する、核酸。

【請求項8】

請求項7に記載の核酸を発現する能力がある、発現ベクター。

【請求項9】

請求項1~6のいずれか一項に記載のペプチド、請求項7に記載の核酸または請求項8に記載の発現ベクターを含んでなり、好ましくは樹状細胞などの抗原提示細胞である、組換え宿主細胞。

【請求項10】

医療において使用するための、請求項1~6のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体、請求項7に記載の核酸、請求項8に記載の発現ベクター、または請求項9に記載の宿主細胞。

【請求項11】

請求項1~6のいずれか一項に記載のペプチドを提示する、または請求項7に記載の核酸を発現する、または請求項8に記載の発現ベクターを有する、請求項9に記載の宿主細胞を培養するステップと、前記ペプチドまたはその変異体を前記宿主細胞またはその培養液から単離するステップとを含んでなる、請求項1~6のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体を製造する方法。

【請求項12】

T細胞を、適切な抗原提示細胞の表面に、または抗原提示細胞を模倣する人工コンストラクトの表面に発現される抗原負荷ヒトクラスIまたはII MHC分子に、前記T細胞を抗原特異的様式で活性化するのに十分な時間にわたり、生体外で接触させるステップを含んでなり、前記抗原が、請求項1~6のいずれか一項に記載のペプチドである、活性化Tリンパ球を製造するインビトロ法。

【請求項13】

請求項1~6のいずれか一項に記載のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドを提示する細胞を選択的に認識する、請求項12に記載の方法によって製造される活性化Tリンパ球。

【請求項14】

請求項13で定義される活性T細胞の有効数を患者に投与するステップを含んでなる、その標的細胞が、請求項1~6のいずれか一項に記載のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドを提示する患者において、標的細胞を死滅させる方法。

【請求項15】

抗体、特に、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のペプチドまたはその異変体を、好ましくは、MHC 分子と結合すると請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体を、特異的に認識する可溶性または膜結合抗体であって、前記抗体が、任意選択的に免疫刺激ドメインまたは毒素などのさらなるエフェクター機能を保有する、抗体。

【請求項 16】

がんを治療するためのまたはがん治療薬の製造における、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のペプチド、請求項 7 に記載の核酸、請求項 8 に記載の発現ベクター、請求項 9 に記載の細胞、請求項 13 に記載の活性化 T リンパ球、または請求項 15 に記載の抗体の使用。

【請求項 17】

前記がんが、ペプチド配列番号 22、または、配列番号 1 ~ 配列番号 21、配列番号 23 ~ 配列番号 191 がそれに由来するタンパク質の過剰発現を示す、肺がん、脳がん、肝臓がん、腎臓がん、結腸直腸がん、肝臓がん、脾臓がん、前立腺がん、白血病、乳がん、メルケル細胞がん、メラノーマ、卵巣がん、および食道がん、およびその他の腫瘍の群から選択される、請求項 16 に記載の使用。

【請求項 18】

(a) 請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体、請求項 7 に記載の核酸、請求項 8 に記載の発現ベクター、請求項 10 に記載の細胞、請求項 13 に記載の活性化 T リンパ球、または請求項 15 に記載の抗体を含有する医薬組成物を溶液または凍結乾燥形態で含んでなる容器；

(b) 任意選択的に、前記凍結乾燥製剤のための希釈剤または再構成溶液を含有する第 2 の容器；

(c) 任意選択的に、配列番号 22、または、配列番号 1 ~ 配列番号 21、配列番号 23 ~ 配列番号 265 からなる群から選択される少なくとももう 1 つのペプチド、および

(d) 任意選択的に、(i) 前記溶液の使用、または(ii) 前記凍結乾燥製剤の再構成および/または使用のための取扱説明書を含んでなるキット。

【請求項 19】

(i) 純衝液、(ii) 希釈剤、(v) フィルター、(vi) 針、または(v) シリンジの 1 つまたは複数をさらに含んでなる、請求項 18 に記載のキット。

【請求項 20】

前記ペプチドが、配列番号 22、または、配列番号 1 ~ 配列番号 21、配列番号 23 ~ 配列番号 191 からなる群から選択される、請求項 18 または 19 に記載のキット。

【請求項 21】

a) 前記個々の患者からの腫瘍サンプルによって提示される、腫瘍関連ペプチド (TUMAP) を同定するステップと；

b) a) で同定された前記ペプチドを、正常組織との比較で腫瘍における免疫原性および/または過剰提示について予備選別されたペプチド貯蔵庫と比較するステップと；

c) 少なくとも 1 つのペプチドを、前記患者において同定された TUMAP と一致する前記貯蔵庫から選択するステップと；

d) ステップ c) に基づいて、個別化ワクチンを調合するステップとを含んでなる、個別化抗がんワクチンを製造する方法。

【請求項 22】

前記 TUMAP が、

a 1) 前記腫瘍サンプルからの発現データを前記腫瘍サンプルの組織型に対応する正常組織サンプルからの発現データと比較して、前記腫瘍サンプルにおいて過剰発現されまたは異常に発現されるタンパク質を同定するステップと；

a 2) 前記発現データを、前記腫瘍サンプル中の MHC クラス I / またはクラス II 分子と結合している MHC リガンドの配列と相關させて、前記腫瘍によって過剰発現されまたは異常に発現されるタンパク質に由来する MHC リガンドを同定するステップと

によって同定される、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 3】

結合ペプチドを前記腫瘍サンプルから単離された MHC 分子から溶出させて、前記溶出したリガンドを配列決定することで、MHC リガンドの配列が同定される、請求項 2 1 または 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記腫瘍サンプルの組織型に対応する前記正常組織が、前記同一患者から得られる、請求項 2 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記貯蔵庫に包含される前記ペプチドが、

a a . 正常組織または組織群と比較して悪性組織で過剰発現される遺伝子を同定するステップを含んでなる、マイクロアレイまたは配列決定ベース発現プロファイリングなどの高度並列法によって、ゲノム規模メッセンジャー RNA (mRNA) 発現解析を実施するステップと；

a b . ステップ a a で検出された、選択的に発現されまたは過剰発現される遺伝子によってコードされる、ペプチドを選択するステップと；

a c . 健常ドナーまたは前記患者からのヒト T 細胞を使用した生体外免疫原性アッセイを含んでなる、前記選択されたペプチドによる生体内 T 細胞応答の誘導を判定するステップと；または

b a . HLA リガンドを前記腫瘍サンプルから質量分析を使用して同定するステップと；

b b . 正常組織または組織群と比較して悪性組織で過剰発現される遺伝子を同定するステップを含んでなる、マイクロアレイまたは配列決定ベース発現プロファイリングなどの高度並列法によって、ゲノム規模メッセンジャー RNA (mRNA) 発現解析を実施するステップと；

b c . 前記同定された HLA リガンドを前記遺伝子発現データと比較するステップと；

b d . ステップ b c で検出された、選択的に発現されまたは過剰発現される遺伝子によってコードされる、ペプチドを選択するステップと；

b e . ステップ b d から選択された TUMAP を腫瘍組織上で再検出し、健常組織上の検出欠如または希な検出が、 mRNA レベルにおける過剰発現の関連性を裏付けるステップと；

b f . 健常ドナーまたは前記患者からのヒト T 細胞を使用した生体外免疫原性アッセイを含んでなる、前記選択されたペプチドによる生体内 T 細胞応答の誘導を判定するステップと

に基づいて同定される、請求項 2 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記貯蔵庫に包含される前記ペプチドの免疫原性が、生体外免疫原性アッセイ、個々の HLA 結合についての患者免疫モニタリング、MHC 多量体染色、ELISPOT アッセイおよび / または細胞内サイトカイン染色を含んでなる方法によって判定される、請求項 2 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記貯蔵庫が、配列番号 2 2、または、配列番号 1 ~ 配列番号 2 1、配列番号 2 3 ~ 配列番号 2 6 5 からなる群から選択される複数のペプチドを含んでなる、請求項 2 1 ~ 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記個々の患者からの正常な対応する組織と比較して前記腫瘍サンプルに特有の少なくとも 1 つの変異を同定するステップと、前記ワクチンに包含するために、または細胞療法を作成するために、前記変異に関連があるペプチドを選択するステップとをさらに含んでなる、請求項 2 1 ~ 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記少なくとも 1 つの変異が、全ゲノム配列決定によって同定される、請求項 2 8 に記載の方法。

【請求項 3 0】

T 細胞受容体、好ましくは可溶性または膜結合 T 細胞受容体であって、H L A リガンドと反応性であり、前記リガンドが配列番号 2 2 、または、配列番号 1 ~ 配列番号 2 1 、配列番号 2 3 ~ 配列番号 1 9 1 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 7 5 % の同一性を有する、T 細胞受容体。

【請求項 3 1】

前記アミノ酸配列が、配列番号 2 2 、または、配列番号 1 ~ 配列番号 2 1 、配列番号 2 3 ~ 配列番号 1 9 1 と少なくとも 8 8 % 同一である、請求項 3 0 に記載の T 細胞受容体。

【請求項 3 2】

前記アミノ酸配列が、配列番号 2 2 、または、配列番号 1 ~ 配列番号 2 1 、配列番号 2 3 ~ 配列番号 1 9 1 のいずれかからなる、請求項 3 0 または 3 1 に記載の T 細胞受容体。

【請求項 3 3】

前記 T 細胞受容体が可溶性分子として提供され、任意選択的に、免疫刺激ドメインまたは毒素などのさらなるエフェクター機能を保有する、請求項 3 0 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の T 細胞受容体。

【請求項 3 4】

請求項 3 0 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の T C R をエンコードする核酸であって、任意選択的に異種プロモーター配列と結合する、核酸。

【請求項 3 5】

請求項 3 4 に記載の核酸を発現する能力がある、発現ベクター。

【請求項 3 6】

請求項 3 4 に記載の核酸、または請求項 1 5 に記載の抗体をコードする核酸、または請求項 3 5 に記載の発現ベクターを含んでなる、好ましくは T 細胞または N K 細胞である、宿主細胞。

【請求項 3 7】

請求項 3 6 に記載の宿主細胞を培養するステップと、前記 T 細胞受容体を前記宿主細胞および / またはその培養液から単離するステップとを含んでなる、請求項 3 0 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の T 細胞受容体を製造する方法。

【請求項 3 8】

a) 配列番号 2 2 、または、配列番号 1 ~ 配列番号 2 1 、配列番号 2 3 ~ 配列番号 1 9 1 からなる群から選択されるペプチド、または薬学的に許容可能なその塩；

b) a) に記載のペプチドおよび / またはペプチド M H C 複合体と反応性の T 細胞受容体；

c) a) に記載のペプチドと、H L A - D R 抗原関連不变鎖 (I i) の N 末端のアミノ酸 1 ~ 8 0 とを含んでなる融合タンパク質；

d) a) ~ c) のいずれかをコードする核酸、または前記核酸を含んでなる発現ベクター；

e) d) の発現ベクターを含んでなる宿主細胞；

f) T 細胞を、抗原特異的様式で T 細胞を活性化するのに十分な時間にわたり、適切な抗原提示細胞の表面に発現される a) に記載のペプチドと生体外で接触させるステップを含んでなる方法、ならびにこれらの活性化 T 細胞を自己または他の患者に移入する方法によって得られる、活性化 T リンパ球；

g) a) に記載のペプチドおよび / またはペプチド - M H C 複合体および / または a) に記載のペプチドを提示する細胞と反応性であり、例えば、免疫活性化ドメインまたは毒素との融合によって潜在的に修飾される、抗体、または可溶性 T 細胞受容体；

h) 配列番号 2 2 、または、配列番号 1 ~ 配列番号 2 1 、配列番号 2 3 ~ 配列番号 1 9 1 からなる群から選択されるペプチドを認識し、および / または配列番号 2 2 、または、配列番号 1 ~ 配列番号 2 1 、配列番号 2 3 ~ 配列番号 2 6 5 からなる群から選択されるペ

プチドとMHC分子との複合体を認識する、アブタマー；

i) a) ~ h) のいずれかに記載のコンジュゲートされまたは標識されたペプチドまたはスキヤフォールド

からなる群から選択される、少なくとも1つの活性成分と、薬学的に許容可能な担体、および任意選択的に、薬学的に許容可能な賦形剤および／または安定剤を含んでなる医薬組成物。

【請求項39】

請求項1～6のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体、好ましくはMHC分子と結合している請求項1～6のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体を特異的に認識する、アブタマー。

【請求項40】

配列番号22、または、配列番号1～配列番号21、配列番号23～265から選択される、少なくとも3つのペプチド、または薬学的に許容可能なそれぞれの塩を含んでなる、請求項38に記載の医薬組成物。