

【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1月24日(2019.1.24)

【公表番号】特表2018-500897(P2018-500897A)

【公表日】平成30年1月18日(2018.1.18)

【年通号数】公開・登録公報2018-002

【出願番号】特願2017-530596(P2017-530596)

【国際特許分類】

A 0 1 K	67/027	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 K	35/39	(2015.01)
A 6 1 K	35/545	(2015.01)
A 6 1 K	35/12	(2015.01)
A 6 1 L	27/38	(2006.01)
A 6 1 L	27/36	(2006.01)
A 6 1 P	3/10	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 K	39/00	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

A 0 1 K	67/027	Z N A
C 1 2 N	5/10	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	35/39	
A 6 1 K	35/545	
A 6 1 K	35/12	
A 6 1 L	27/38	1 0 0
A 6 1 L	27/36	1 0 0
A 6 1 L	27/38	3 0 0
A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 K	39/00	H
C 1 2 N	15/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成30年12月7日(2018.12.7)

【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】

ローラシア獣上目のメンバーである、または非ヒト靈長類である、遺伝子改変された動物であつて、

a) ヒト白血球抗原G(HLA-G)を含むタンパク質をコードする外因性ポリヌクレオチド配列、および

b) 糖タンパク質ガラクトシルトランスフェラーゼアルファ1, 3(GGT A1)の低

減されたタンパク質発現

を含み、

前記低減されたタンパク質発現は、遺伝子改変されていない対応する動物と比較したものである、遺伝子改変された動物。

【請求項 2】

前記 H L A - G が H L A - G 1 を含む、請求項 1 に記載の遺伝子改変された動物。

【請求項 3】

前記 H L A - G が - 2 - ミクログロブリン (B 2 M) 配列をさらに含む、請求項 1 に記載の遺伝子改変された動物。

【請求項 4】

前記遺伝子改変されていない対応する動物と比較して、推定シチジンーリン酸 - N - アセチルノイラミン酸ヒドロキシラーゼ様タンパク質 (C M A H) 、 N O D 様受容体ファミリー C A R D ドメイン含有 5 (N L R C 5) またはこれらの組み合わせの低減されたタンパク質発現をさらに含む、請求項 1 に記載の遺伝子改変された動物。

【請求項 5】

- 2 - ミクログロブリン (B 2 M) 、白血球抗原 E (H L A - E) を含むタンパク質をコードする外因性ポリヌクレオチド配列またはこれらの組み合わせをさらに含む、請求項 1 に記載の遺伝子改変された動物。

【請求項 6】

前記外因性ポリヌクレオチド配列が、前記 G G T A 1 をコードする遺伝子中に挿入される、請求項 1 に記載の遺伝子改変された動物。

【請求項 7】

ローラシア獣上目のメンバーを含み、ローラシア獣上目の前記メンバーが有蹄動物である、請求項 1 に記載の遺伝子改変された動物。

【請求項 8】

前記有蹄動物がブタである、請求項 7 に記載の遺伝子改変された動物。

【請求項 9】

前記遺伝子改変された動物が、 G G T A 1 、 C M A H 、 N L R C 5 をコードする遺伝子、またはこれらの組み合わせにおける破壊を含む、請求項 1 に記載の遺伝子改変された動物。

【請求項 10】

請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物から単離された、遺伝子改変された細胞、組織または臓器。

【請求項 11】

ローラシア獣上目のメンバーである、または非ヒト霊長類である、遺伝子改変された細胞であって、

a) ヒト白血球抗原 G (H L A - G) をコードする外因性ポリヌクレオチド配列、および

b) 糖タンパク質ガラクトシルトランスフェラーゼアルファ 1 , 3 (G G T A 1) の低減されたタンパク質発現

を含み、

前記低減されたタンパク質発現は、遺伝子改変されていない対応する細胞と比較したものである、遺伝子改変された細胞。

【請求項 12】

前記 H L A - G が H L A - G 1 である、請求項 11 に記載の遺伝子改変された細胞。

【請求項 13】

ローラシア獣上目の細胞を含み、前記ローラシア獣上目が有蹄動物である、請求項 11 に記載の遺伝子改変された細胞。

【請求項 14】

前記有蹄動物がブタである、請求項 13 に記載の遺伝子改変された細胞。

【請求項 15】

前記遺伝子改変されていない対応する動物と比較して、推定シチジンーリン酸 - N - アセチルノイラミン酸ヒドロキシラーゼ様タンパク質 (CMAH)、NOD様受容体ファミリー CARDドメイン含有5 (NLRC5) もしくはこれらの組み合わせの低減されたタンパク質発現をさらに含む、かつ／または - 2 - ミクログロブリン (B2M)、白血球抗原E (HLA-E) をコードする外因性ポリヌクレオチド配列、もしくはこれらの組み合わせをさらに含む、請求項11に記載の遺伝子改変された細胞。

【請求項 16】

前記外因性ポリヌクレオチド配列が、前記GGTA1をコードする遺伝子中に挿入される、かつ／または前記遺伝子改変された細胞がブタのものである、かつ／または前記遺伝子改変された細胞が、GGTA1、CMAH、NLRC-5をコードする遺伝子、もしくはこれらの組み合わせにおける破壊を含む、請求項11に記載の遺伝子改変された細胞。

【請求項 17】

状態の処置を必要とする対象において、前記対象における前記状態を処置するための、請求項10に記載の遺伝子改変された細胞、組織もしくは臓器、または請求項11に記載の遺伝子改変された細胞を含む組成物であって、前記組成物は、前記対象に移植されることを特徴とする、組成物。

【請求項 18】

状態の処置を必要とする対象において、前記対象における前記状態を処置するためのワクチンであって、前記ワクチンは、前記対象において、前記遺伝子改変された細胞、組織または臓器に対する寛容を生じさせるのに十分な量で、請求項17に記載の組成物と組み合わせて前記対象に投与されることを特徴とする、ワクチン。

【請求項 19】

前記ワクチンが、アポトーシス性細胞を含み、任意選択で前記アポトーシス性細胞が、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド (ECDI) で固定された細胞である、請求項18に記載のワクチン。

【請求項 20】

前記アポトーシス性細胞が、前記移植される遺伝子改変された細胞、組織または臓器と同一の遺伝子改変された動物から単離される、請求項19に記載のワクチン。

【請求項 21】

NOD様受容体ファミリー CARDドメイン含有5 (NLRC5) をコードする遺伝子における破壊を含む、ローラシア獣上目のメンバーである、または非ヒト靈長類である、遺伝子改変された動物。

【請求項 22】

前記遺伝子改変された動物が主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) I分子を発現し、前記遺伝子改変された動物が、遺伝子改変されていない対応する動物と比較して、前記MHC I分子の低減した発現を有し、前記遺伝子改変された動物由来の細胞が、ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) と共に培養した場合に、遺伝子改変されていない対応する動物由来の細胞と比較して、in vitroでの混合リンパ球アッセイによって測定される、サイトカインインターロイキン6 (IL-6) のより低い産生、より低いCD8+T細胞免疫応答を誘導する、請求項21に記載の遺伝子改変された動物。

【請求項 23】

ローラシア獣上目のメンバーを含み、前記ローラシア獣上目の前記メンバーが有蹄動物である、請求項21に記載の遺伝子改変された動物。

【請求項 24】

前記有蹄動物がブタである、請求項23に記載の遺伝子改変された動物。

【請求項 25】

前記遺伝子改変された動物が、糖タンパク質ガラクトシルトランスフェラーゼアルファ1, 3 (GGTA1)、推定シチジンーリン酸 - N - アセチルノイラミン酸ヒドロキシラーゼ様タンパク質 (CMAH) をコードする遺伝子、またはこれらの組み合わせにおける

破壊をさらに含む、請求項 2 1 に記載の遺伝子改变された動物。

【請求項 2 6】

前記遺伝子改变された動物が、ヒトにおいて発現しない内因性遺伝子の低減したタンパク質発現をさらに含み、前記ヒトにおいて発現しない内因性遺伝子が、ガラクトシルトランスフェラーゼアルファ 1 , 3 (G G T A 1)、推定シチジンーリン酸 - N - アセチルノイラミン酸ヒドロキシラーゼ様タンパク質 (C M A H) である、請求項 2 1 に記載の遺伝子改变された動物。

【請求項 2 7】

ヒト白血球抗原 G (H L A - G) 配列を含むタンパク質をコードする外因性ポリヌクレオチド配列をさらに含む、請求項 2 1 に記載の遺伝子改变された動物。

【請求項 2 8】

前記 H L A - G が H L A - G 1 である、請求項 2 7 に記載の遺伝子改变された動物。

【請求項 2 9】

請求項 2 1 に記載の 2 つまたはそれ超の遺伝子改变された動物を含む、遺伝子改变された動物の集団。

【請求項 3 0】

請求項 2 1 に記載の遺伝子改变された動物から単離された、遺伝子改变された細胞、組織または臓器。

【請求項 3 1】

前記遺伝子改变された動物由來の前記遺伝子改变された細胞、組織または臓器が、 G G T A 1 をコードする遺伝子における破壊をさらに含む、請求項 3 0 に記載の遺伝子改变された細胞、組織または臓器。

【請求項 3 2】

遺伝子改变された動物細胞であって、前記遺伝子改变された動物細胞が N O D 様受容体ファミリー C A R D ドメイン含有 5 (N L R C 5) コードする遺伝子における破壊を含み、前記遺伝子改变された動物が M H C I 分子を発現し、前記遺伝子改变された動物細胞が、遺伝子改变されていない対応する動物細胞と比較して、前記 M H C I 分子の低減した発現を有し、前記遺伝子改变された動物細胞が、ヒト末梢血单核細胞 (P B M C) と共に培養した場合に、遺伝子改变されていない対応するブタ細胞と比較して、 i n v i t r o での混合リンパ球アッセイによって測定される、サイトカインインターロイキン 6 (I L - 6) のより低い産生、およびより低い C D 8 + T 細胞免疫応答を誘導する、遺伝子改变された動物細胞。

【請求項 3 3】

前記遺伝子改变された動物細胞が、 G G T A 1 をコードする遺伝子における破壊をさらに含む、請求項 3 2 に記載の遺伝子改变された動物細胞。

【請求項 3 4】

遺伝子改变された細胞、組織または臓器を含む、状態の処置を必要とする対象において状態を処置するための組成物であって、前記組成物は、前記被験体に投与されて前記状態を処置することを特徴とし、前記被験体は、寛容化ワクチンが投与されている、または寛容化ワクチンが続けて、もしくは同時に投与され、前記遺伝子改变された細胞、組織または臓器が、ブタ由来であり、 N L R C 5 をコードする遺伝子における破壊を含む、組成物。

【請求項 3 5】

前記遺伝子改变された細胞、組織または臓器が M H C I 分子を発現し、前記遺伝子改变された細胞、組織または臓器が、遺伝子改变されていない対応する細胞、組織または臓器と比較して、前記 M H C I 分子の低減した発現を有し、前記遺伝子改变された細胞、組織または臓器が、ヒト末梢血单核細胞 (P B M C) と共に培養した場合に、前記遺伝子改变されていない対応する細胞、組織または臓器と比較して、 i n v i t r o での混合リンパ球アッセイによって測定される、サイトカインインターロイキン 6 (I L - 6) のより低い産生、およびより低い C D 8 + T 細胞免疫応答を誘導する、請求項 3 4 に記載の組

成物。

【請求項 3 6】

T 細胞活性化、B 細胞活性化、樹状細胞活性化および / またはこれらの組み合わせを阻害する 1 つまたは複数の医薬品が、前記対象にさらに投与されることを特徴とする、請求項 3 4 に記載の組成物。

【請求項 3 7】

前記 1 つまたは複数の医薬品が、抗 CD40 剤または抗 CD40L 剤を含む、請求項 3 6 に記載の組成物。

【請求項 3 8】

前記ブタ由来の前記遺伝子改変された細胞、組織または臓器が、G G T A 1 をコードする遺伝子における破壊をさらに含む、請求項 3 4 に記載の組成物。

【請求項 3 9】

遺伝子改変されたブタを作製するための方法であって、
a) ブタ胎児線維芽細胞において、N L R C 5 をコードする遺伝子を、C R I S P R / C a s を使用して破壊するステップ；
b) 前記ブタ胎児線維芽細胞の核をブタ除核卵子に移入して、胚を生成するステップ；
ならびに
c) 前記胚を代理ブタに移入して、前記胚を前記代理ブタにおいて前記遺伝子改変されたブタへと成長させるステップ
を含み、

前記遺伝子改変されたブタがM H C I 分子を発現し、前記遺伝子改変されたブタが、遺伝子改変されていない対応するブタと比較して、前記M H C I 分子の低減した発現を有し、前記遺伝子改変されたブタ由来の細胞が、ヒト末梢血単核細胞 (P B M C) と共に培養した場合に、前記遺伝子改変されていない対応するブタ由来の細胞と比較して、in vitroでの混合リンパ球アッセイによって測定される、サイトカインインターロイキン 6 (I L - 6) のより低い産生、およびより低い C D 8 + T 細胞免疫応答を誘導する、方法。

【請求項 4 0】

前記ブタ胎児線維芽細胞の第 1 の細胞が、G G T A 1 をコードする遺伝子における破壊をさらに含む、請求項 3 9 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 5 0 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 5 0 0】

一部の実施形態を示し、記載してきたが、このような実施形態は、单なる例示で示される。多くの変動、変化および置き換えが、本発明から逸脱することなく、ここで当業者に思い浮かぶ。本明細書に記載される本発明の実施形態に対する種々の代替が、本発明を行うのに使用されることが理解されるべきである。

一実施形態では、例えば以下の項目が提供される。

(項目 1)

1 つまたは複数の第 1 の遺伝子の低減されたタンパク質発現を有する遺伝子改変された動物であって、前記遺伝子改変された動物は、ローラシア獣上目のメンバーであり、または非ヒト霊長類であり、前記 1 つまたは複数の第 1 の遺伝子は、

a) 主要組織適合遺伝子複合体 (M H C) I 特異的エンハンセオソームの成分、
b) M H C I 結合性ペプチドのトランスポーター、および / または
c) 補体成分 3 (C 3)
を含み、

前記低減されたタンパク質発現は、遺伝子改変されていない対応する動物と比較したものである、遺伝子改変された動物。

(項目2)

ローラシア獣上目のメンバーを含み、ローラシア獣上目の前記メンバーが有蹄動物である、項目1に記載の遺伝子改変された動物。

(項目3)

前記有蹄動物がブタである、項目2に記載の遺伝子改変された動物。

(項目4)

前記1つまたは複数の第1の遺伝子の前記タンパク質発現が、前記遺伝子改変された動物中には存在しない、項目1から3のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目5)

タンパク質発現の前記低減が、前記1つまたは複数の第1の遺伝子の機能を不活性化する、項目1から4のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目6)

2つまたはそれ超の前記第1の遺伝子の低減されたタンパク質発現を有する、項目1から5のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目7)

MHC I特異的エンハンセオソームの成分の低減されたタンパク質発現を含み、MHC I特異的エンハンセオソームの前記成分がNOD様受容体ファミリーCARDドメイン含有5(NLRC5)である、項目1から6のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目8)

MHC I結合性ペプチドのトランスポーターの低減されたタンパク質発現を含み、前記トランスポーターが抗原プロセシング関連トランスポーター1(TAP1)である、項目1から7のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目9)

C3の低減されたタンパク質発現を含む、項目1から8のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目10)

3つまたはそれ超の前記第1の遺伝子の低減されたタンパク質発現を含む、項目1から9のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目11)

1つまたは複数の第2の遺伝子の低減されたタンパク質発現をさらに含み、前記1つまたは複数の第2の遺伝子は、

a) ナチュラルキラー(NK)群2Dリガンド、

b) ヒトでは発現されない内因性遺伝子、

c) CXCKエモカイン受容体(CXCR)3リガンド、および/または

d) MHC IIトランスクレベーター(CITA)

を含み、

前記低減されたタンパク質発現は、遺伝子改変されていない対応する動物と比較したものである、項目1から10のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目12)

前記1つまたは複数の第2の遺伝子の前記タンパク質発現が、前記遺伝子改変された動物中には存在しない、項目11に記載の遺伝子改変された動物。

(項目13)

タンパク質発現の前記低減が、前記1つまたは複数の第2の遺伝子の機能を不活性化する、項目11または12に記載の遺伝子改変された動物。

(項目14)

NK群2Dリガンドの低減されたタンパク質発現を含み、前記NK群2Dリガンドが、MHCクラスIポリペプチド関連配列A(MICA)またはMHCクラスIポリペプチド

関連配列 B (M I C B) である、項目 11 から 13 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目 15)

ヒトでは発現されない内因性遺伝子の低減されたタンパク質発現を含み、ヒトでは発現されない前記内因性遺伝子が、糖タンパク質ガラクトシルトランスフェラーゼアルファ 1 , 3 (G G T A 1) 、推定シチジンーリン酸 - N - アセチルノイラミン酸ヒドロキシラーゼ様タンパク質 (C M A H) または 1 , 4 N - アセチルガラクトサミニルトランスフェラーゼ (B 4 G A L N T 2) である、項目 11 から 14 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目 16)

C X C R 3 リガンドの低減されたタンパク質発現を含み、前記 C X C R 3 リガンドが、C - X - C モチーフケモカイン 10 (C X C L 10) である、項目 11 から 15 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目 17)

1 つもしくは複数のタンパク質またはそれらの機能的断片をコードする 1 つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドをさらに含み、前記 1 つまたは複数のタンパク質は、

- a) M H C I 形成サプレッサー、
- b) 補体活性化のレギュレーター、
- c) N K 細胞に対する阻害性リガンド、
- d) B 7 ファミリーメンバー、
- e) C D 4 7 、
- f) セリンプロテアーゼ阻害剤、および / または
- g) ガレクチン

を含む、項目 1 から 16 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目 18)

前記 1 つまたは複数のタンパク質がヒトタンパク質である、項目 17 に記載の遺伝子改変された動物。

(項目 19)

M H C I 形成サプレッサーをコードする 1 つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドを含み、前記 M H C I 形成サプレッサーが感染細胞タンパク質 47 (I C P 47) である、項目 17 または 18 に記載の遺伝子改変された動物。

(項目 20)

補体活性化のレギュレーターをコードする 1 つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドを含み、前記補体活性化のレギュレーターが、表面抗原分類 46 (C D 46) 、表面抗原分類 55 (C D 55) または表面抗原分類 59 (C D 59) である、項目 17 から 19 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目 21)

N K 細胞に対する阻害性リガンドをコードする 1 つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドを含み、N K 細胞に対する前記阻害性リガンドが、白血球抗原 E (H L A - E) 、ヒト白血球抗原 G (H L A - G) または - 2 - ミクログロブリン (B 2 M) である、項目 17 から 20 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目 22)

H L A - G をコードする 1 つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドを含み、前記 H L A - G が、H L A - G 1 、H L A - G 2 、H L A - G 3 、H L A - G 4 、H L A - G 5 、H L A - G 6 または H L A - G 7 である、項目 21 に記載の遺伝子改変された動物。

(項目 23)

前記 H L A - G が H L A - G 1 である、項目 22 に記載の遺伝子改変された動物。

(項目 24)

B 7 ファミリーメンバーをコードする 1 つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドを含み、前記 B 7 ファミリーメンバーがプログラム死 - リガンドである、項目 17 から 23 のい

すれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目25)

前記プログラム死-リガンドが、プログラム死-リガンド1(PD-L1)またはプログラム死-リガンド2(PD-L2)である、項目24に記載の遺伝子改変された動物。

(項目26)

前記1つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドが、PD-L1およびPD-L2の両方をコードする、項目25に記載の遺伝子改変された動物。

(項目27)

セリンプロテアーゼ阻害剤をコードする1つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドを含み、前記セリンプロテアーゼ阻害剤がセリンプロテアーゼ阻害剤9(Spi9)である、項目17から26のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目28)

ガレクチンをコードする1つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドを含み、前記ガレクチンがガレクチン-9である、項目17から27のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目29)

a) C3の低減されたタンパク質発現；

b) CXCL10、GGTA1、CMAHおよび／もしくはB4GALNT2の低減されたタンパク質発現；ならびに／または

c)

i) HLA-G1、HLA-Eもしくはそれらの機能的断片、

ii) PD-L1もしくはその機能的断片、

iii) PD-L2もしくはその機能的断片、および／または

iv) CD47もしくはその機能的断片

をコードする1つまたは複数の外因性ポリヌクレオチド

を含む、項目1から28のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目30)

前記1つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドが、遍在性プロモーターに隣接して挿入される、項目17から29のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目31)

前記遍在性プロモーターがRos26プロモーターである、項目30に記載の遺伝子改変された動物。

(項目32)

前記1つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドが、標的化遺伝子のプロモーターに隣接して、または前記標的化遺伝子内に挿入される、項目17から31のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目33)

前記標的化遺伝子が、前記第1の遺伝子のうちの1つまたは前記第2の遺伝子のうちの1つである、項目32に記載の遺伝子改変された動物。

(項目34)

前記1つまたは複数の第1の遺伝子の前記タンパク質発現が、CRISPR/cas系を使用して低減される、項目1から33のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目35)

前記1つまたは複数の第2の遺伝子の前記タンパク質発現が、CRISPR/cas系を使用して低減される、項目11から34のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

。

(項目36)

a) NK細胞に対する阻害性リガンドまたはその機能的断片をコードする外因性ポリヌクレオチド、および

b) 内因性遺伝子の低減されたタンパク質発現

を含む、ローラシア獸上目のメンバーである、または非ヒト靈長類である、遺伝子改変された動物であって、

前記低減されたタンパク質発現は、遺伝子改変されていない対応する動物と比較したものである、遺伝子改変された動物。

(項目37)

NK細胞に対する前記阻害性リガンドが、HLA-EまたはHLA-Gである、項目36に記載の遺伝子改変された動物。

(項目38)

NK細胞に対する前記阻害性リガンドがHLA-Gであり、前記HLA-Gが、HLA-G1、HLA-G2、HLA-G3、HLA-G4、HLA-G5、HLA-G6またはHLA-G7である、項目37に記載の遺伝子改変された動物。

(項目39)

前記HLA-GがHLA-G1である、項目38に記載の遺伝子改変された動物。

(項目40)

前記内因性遺伝子が、ヒトでは発現されない遺伝子である、項目36から39のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目41)

前記内因性遺伝子が、GGTA1、CMAHおよび/またはB4GALNT2である、項目36から40のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目42)

a) PD-L1もしくはその機能的断片、

b) PD-L2もしくはその機能的断片、および/または

c) CD47もしくはその機能的断片

をコードする外因性ポリヌクレオチドをさらに含む、項目36から41のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目43)

前記外因性ポリヌクレオチドが、遍在性プロモーターに隣接して挿入される、項目36から42のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目44)

前記遍在性プロモーターがRosa26プロモーターである、項目43に記載の遺伝子改変された動物。

(項目45)

前記外因性ポリヌクレオチドが、前記内因性遺伝子のプロモーターに隣接して、または前記内因性遺伝子内に挿入される、項目36から44のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目46)

前記内因性遺伝子の前記タンパク質発現が、CRISPR/cas系を使用して低減される、項目36から45のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物。

(項目47)

項目1から46のいずれか一項に記載の2つまたはそれ超の動物を含む、遺伝子改変された動物の集団。

(項目48)

少なくとも2つまたはそれ超の動物が、同一の表現型を有する、項目47に記載の遺伝子改変された動物の集団。

(項目49)

少なくとも2つまたはそれ超の動物が、同一の遺伝子型を有する、項目47または48に記載の遺伝子改変された動物の集団。

(項目50)

項目1から46のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物から単離された、脾臓または脾島。

(項目51)

項目1から46のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物から単離された、遺伝子改変された細胞、組織または臓器。

(項目52)

1つまたは複数の第1の遺伝子の低減されたタンパク質発現を含む、ローラシア獣上目のメンバーまたは非ヒト靈長類由来の遺伝子改変された細胞であって、前記1つまたは複数の第1の遺伝子は、

- a) MHC I特異的エンハンセオソームの成分、
- b) MHC I結合性ペプチドのトランスポーター、および／または
- c) C3

を含み、

前記低減されたタンパク質発現は、遺伝子改変されていない対応する細胞と比較したものである、遺伝子改変された細胞。

(項目53)

MHC I特異的エンハンセオソームの成分の低減されたタンパク質発現を含み、MHC I特異的エンハンセオソームの前記成分がNLR C5である、項目52に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目54)

MHC I結合性ペプチドのトランスポーターの低減されたタンパク質発現を含み、MHC I結合性ペプチドの前記トランスポーターがTAP1である、項目52または53に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目55)

C3の低減されたタンパク質発現を含む、項目52から54のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目56)

1つまたは複数の第2の遺伝子の低減されたタンパク質発現をさらに含み、前記1つまたは複数の第2の遺伝子が、

- a) NK群2Dリガンド、
- b) ヒトでは発現されない内因性遺伝子、
- c) CXCR3リガンド、および／または
- d) CITA

を含み、

前記低減されたタンパク質発現は、遺伝子改変されていない対応する細胞と比較したものである、項目52から55のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目57)

NK群2Dリガンドの低減されたタンパク質発現を含み、前記NK群2Dリガンドが、MIC Aおよび／またはMIC Bである、項目56に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目58)

ヒトでは発現されない内因性遺伝子の低減されたタンパク質発現を含み、ヒトでは発現されない前記内因性遺伝子が、GGTA1、CMAHおよび／またはB4GALT2である、項目56または57に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目59)

CXCR3リガンドの低減されたタンパク質発現を含み、前記CXCR3リガンドがCXCL10である、項目56から58のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目60)

1つもしくは複数のタンパク質またはそれらの機能的断片をコードする1つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドをさらに含み、前記1つもしくは複数のタンパク質またはそれらの機能的断片が、

- a) MHC I形成サプレッサー、
- b) 補体活性化のレギュレーター、

c) NK細胞に対する阻害性リガンド、

d) B7ファミリーメンバー、

e) CD47、

f) セリンプロテアーゼ阻害剤、および／または

g) ガレクチン

を含む、項目52から59のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目61)

前記1つもしくは複数のタンパク質またはそれらの機能的断片がヒトタンパク質である
、項目60に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目62)

MHCⅠ形成サプレッサーをコードする1つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドを含
み、前記MHCⅠ形成サプレッサーがICP47である、項目60または61に記載の遺
伝子改変された細胞。

(項目63)

補体活性化のレギュレーターをコードする1つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドを
含み、前記補体活性化のレギュレーターが、CD46、CD55および／またはCD59
である、項目60から62のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目64)

NK細胞に対する阻害性リガンドをコードする1つまたは複数の外因性ポリヌクレオチ
ドを含み、NK細胞に対する前記阻害性リガンドが、HLA-E、HLA-Gおよび／ま
たはB2Mである、項目60から63のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目65)

NK細胞に対する前記阻害性リガンドがHLA-Gであり、前記HLA-Gが、HLA
-G1、HLA-G2、HLA-G3、HLA-G4、HLA-G5、HLA-G6およ
び／またはHLA-G7である、項目64に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目66)

前記HLA-GがHLA-G1である、項目65に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目67)

B7ファミリーメンバーをコードする1つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドを含
み、前記B7ファミリーメンバーがプログラム死-リガンドである、項目60から66のい
ずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目68)

前記プログラム死-リガンドが、プログラム死-リガンド1(PD-L1)および／ま
たはプログラム死-リガンド2(PD-L2)である、項目67に記載の遺伝子改変され
た細胞。

(項目69)

前記プログラム死-リガンドが、PD-L1およびPD-L2の両方である、項目68
に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目70)

セリンプロテアーゼ阻害剤をコードする1つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドを含
み、前記セリンプロテアーゼ阻害剤がセリンプロテアーゼ阻害剤9(Spi9)である、
項目60から69のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目71)

ガレクチンをコードする1つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドを含み、前記ガレク
チンがガレクチン-9である、項目60から70のいずれか一項に記載の遺伝子改変され
た細胞。

(項目72)

a) C3の低減されたタンパク質発現；

b) CXCL10、GGTA1、CMAHおよび／もしくはB4GALNT2の低減さ
れたタンパク質発現；ならびに／または

c)

i) H L A - G 1、H L A - E もしくはそれらの機能的断片、

i i) P D - L 1 もしくはその機能的断片、

i i i) P D - L 2 もしくはその機能的断片、および / または

i v) C D 4 7 もしくはその機能的断片

をコードする外因性ポリヌクレオチド

を含む、項目 5 3 から 7 1 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 7 3)

前記 1 つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドが、遍在性プロモーターに隣接して挿入される、項目 6 0 から 7 2 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 7 4)

前記遍在性プロモーターが R o s a 2 6 プロモーターである、項目 7 3 に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 7 5)

前記 1 つまたは複数の外因性ポリヌクレオチドが、標的化遺伝子のプロモーターに隣接して、または前記標的化遺伝子内に挿入される、項目 6 0 から 7 4 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 7 6)

前記標的化遺伝子が、前記第 1 の遺伝子のうちの 1 つまたは前記第 2 の遺伝子のうちの 1 つである、項目 7 5 に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 7 7)

前記 1 つまたは複数の第 1 の遺伝子の前記タンパク質発現が、C R I S P R / c a s 系を使用して低減される、項目 5 2 から 7 6 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 7 8)

前記 1 つまたは複数の第 2 の遺伝子の前記タンパク質発現が、C R I S P R / c a s 系を使用して低減される、項目 5 6 から 7 7 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 7 9)

a) N K 細胞に対する阻害性リガンドまたはその機能的断片をコードする外因性ポリヌクレオチド、および

b) 内因性遺伝子の低減されたタンパク質発現

を含む、ローラシア獣上目のメンバーまたは非ヒト靈長類由来の遺伝子改変された細胞であって、

前記低減されたタンパク質発現は、遺伝子改変されていない対応する細胞と比較したものである、遺伝子改変された細胞。

(項目 8 0)

N K 細胞に対する前記阻害性リガンドが、H L A - E または H L A - G である、項目 7 9 に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 8 1)

N K 細胞に対する前記阻害性リガンドが H L A - G であり、前記 H L A - G が、H L A - G 1、H L A - G 2、H L A - G 3、H L A - G 4、H L A - G 5、H L A - G 6 または H L A - G 7 である、項目 8 0 に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 8 2)

前記 H L A - G が H L A - G 1 である、項目 8 1 に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 8 3)

前記内因性遺伝子が、ヒトでは発現されない、項目 7 9 から 8 2 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 8 4)

前記内因性遺伝子が、G G T A 1、C M A H および / または B 4 G A L N T 2 である、

項目 7 9 から 8 3 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 8 5)

- a) P D - L 1 もしくはその機能的断片、
- b) P D - L 2 もしくはその機能的断片、および / または
- c) C D 4 7 もしくはその機能的断片

をコードする外因性ポリヌクレオチドをさらに含む、項目 7 9 から 8 4 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 8 6)

前記外因性ポリヌクレオチドが、遍在性プロモーターに隣接して挿入される、項目 7 9 から 8 5 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 8 7)

前記遍在性プロモーターが R o s a 2 6 プロモーターである、項目 8 6 に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 8 8)

前記外因性ポリヌクレオチドが、前記内因性遺伝子のプロモーターに隣接して、または前記内因性遺伝子内に挿入される、項目 7 9 から 8 7 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 8 9)

前記内因性遺伝子の前記タンパク質発現が、C R I S P R / c a s 系を使用して低減される、項目 7 9 から 8 8 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 9 0)

臍、腎臓、眼、肝臓、小腸、肺または心臓細胞である、項目 5 2 から 8 9 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 9 1)

臍島細胞である、項目 5 2 から 8 9 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 9 2)

前記臍島細胞が臍 細胞である、項目 9 1 に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 9 3)

脾臓、肝臓、末梢血、リンパ節、胸腺または骨髄細胞である、項目 5 2 から 9 2 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 9 4)

ブタ細胞である、項目 5 2 から 9 3 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 9 5)

萌芽期組織、非ヒト胎仔動物、周産期非ヒト動物、新生仔非ヒト動物、離乳前非ヒト動物、若年成体非ヒト動物または成体非ヒト動物由来である、項目 5 2 から 9 4 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目 9 6)

項目 5 1 から 9 5 のいずれか一項に記載の細胞を含む注射可能な組成物を含む、対象において、移植された細胞、組織または臓器に対する寛容を生じさせることにおける使用に適切なワクチン。

(項目 9 7)

項目 5 1 から 9 6 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞を含む寛容化ワクチン。

(項目 9 8)

前記遺伝子改変された細胞が、アポトーシス性細胞である、項目 9 6 または 9 7 に記載のワクチン。

(項目 9 9)

前記遺伝子改変された細胞が、固定された細胞である、項目 9 6 から 9 8 のいずれか一項に記載のワクチン。

(項目 1 0 0)

固定されていない細胞をさらに含む、項目 96 から 99 のいずれか一項に記載のワクチン。

(項目 101)

前記固定された細胞および前記固定されていない細胞が、遺伝的に同一である、項目 100 に記載のワクチン。

(項目 102)

前記固定された細胞が、化学物質によって固定され、および／または前記固定された細胞が、前記対象において免疫細胞のアネルギーを誘導する、項目 99 から 101 のいずれか一項に記載のワクチン。

(項目 103)

前記遺伝子改変された細胞が、1 - エチル - 3 - (3 -ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド (ECDI) で固定された細胞である、項目 96 から 102 のいずれか一項に記載のワクチン。

(項目 104)

項目 52 から 95 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞を含む、組織または臓器。

(項目 105)

項目 52 から 95 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞を含む、脾臓または脾島。

(項目 106)

項目 52 から 95 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。

(項目 107)

状態の処置を必要とする対象に移植して、前記対象において状態を処置することにおける使用のための、遺伝子改変された細胞、遺伝子改変された細胞を含む組織または臓器であって、前記対象は、ワクチンの使用によって、前記遺伝子改変された細胞、組織または臓器に対して寛容化される、遺伝子改変された細胞、組織または臓器。

(項目 108)

前記対象に、T 細胞活性化、B 細胞活性化および／または樹状細胞活性化を阻害する 1 つまたは複数の医薬品が投与される、項目 107 に記載の遺伝子改変された細胞、組織または臓器。

(項目 109)

状態の処置を必要とする対象において状態を処置するための方法であって、

a) 項目 51 から 95 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞または項目 104 から 108 のいずれか一項に記載の細胞、組織もしくは臓器を前記対象に移植するステップ；

b) 項目 96 から 103 のいずれか一項に記載のワクチンを前記対象に投与するステップ；および／あるいは

c) T 細胞活性化、B 細胞活性化および／または樹状細胞活性化を阻害する 1 つまたは複数の医薬品を前記対象に投与するステップ

を含む、方法。

(項目 110)

状態の処置を必要とする対象において状態を処置するための方法であって、

a) ワクチンを前記対象に投与するステップ；および

b) 遺伝子改変された細胞、遺伝子改変された細胞を含む組織または臓器を前記対象に移植するステップ

を含む、方法。

(項目 111)

T 細胞活性化、B 細胞活性化および／または樹状細胞活性化を阻害する 1 つまたは複数の医薬品を前記対象に投与するステップをさらに含む、項目 110 に記載の方法。

(項目112)

移植される前記遺伝子改変された細胞が、項目52から95のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞である、項目110もしくは111に記載の方法または項目107もしくは108に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目113)

前記ワクチンが、項目96から103のいずれか一項に記載のワクチンである、項目110から112のいずれか一項に記載の方法または項目107もしくは108に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目114)

前記ワクチンが、前記対象の体重1kg当たり、0.001から1.0までのエンドトキシン単位または約0.001から1.0までのエンドトキシン単位を含む、項目110から113のいずれか一項に記載の方法または項目107もしくは108に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目115)

前記ワクチンが、1μl当たり1からまたは約1から10までの凝集体を含む、項目110から114のいずれか一項に記載の方法または項目107もしくは108に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目116)

前記ワクチンが、前記移植の7日前および前記移植の1日後に投与される、項目110から115のいずれか一項に記載の方法または項目107もしくは108に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目117)

前記ワクチンが、前記対象の体重1kg当たり、 1×10^8 からまたは約 1×10^8 から 4×10^8 までの脾細胞または脾臓B細胞を少なくとも含む、項目110から116のいずれか一項に記載の方法または項目107もしくは108に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目118)

前記脾細胞または脾臓B細胞が、80%からまたは約80%から100%までのCD21陽性SLAクラスII陽性B細胞を含む、項目117に記載の方法または遺伝子改変された細胞。

(項目119)

前記ワクチンが静脈内で提供される、項目110から118のいずれか一項に記載の方法または項目107もしくは108に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目120)

前記移植された細胞、組織または臓器が、前記対象に移植された後少なくとも7日間にわたって機能的である、項目110から119のいずれか一項に記載の方法または項目107もしくは108に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目121)

前記移植するステップが異種移植するステップである、項目109から120のいずれか一項に記載の方法または項目107もしくは108に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目122)

前記医薬品が、第1の用量の抗CD40抗体を含む、項目110から121のいずれか一項に記載の方法または項目107もしくは108に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目123)

前記第1の用量が、前記移植の約8日前に前記対象に与えられる、項目122に記載の方法または遺伝子改変された細胞。

(項目124)

前記第1の用量が、前記対象の体重1kg当たり30mgからまたは約30mgから70mgまでの抗CD40抗体を含む、項目123に記載の方法または遺伝子改変された細胞。

(項目125)

1つまたは複数のさらなる免疫抑制剤を前記対象に投与するステップをさらに含む、項目109から124のいずれか一項に記載の方法。

(項目126)

前記対象に投与するための1つまたは複数のさらなる免疫抑制剤をさらに含む、項目107または108に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目127)

前記1つまたは複数のさらなる免疫抑制剤が、B細胞枯渇化抗体、mTORM阻害剤、TNF-アルファ阻害剤、IL-6阻害剤、補体C3もしくはC5阻害剤、および/またはナイトロジエンマスターードアルキル化剤を含む、項目125に記載の方法または項目126に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目128)

前記さらなる免疫抑制剤のうちの1つが、ナイトロジエンマスターードアルキル化剤である、項目127に記載の方法または遺伝子改変された細胞。

(項目129)

前記ナイトロジエンマスターードアルキル化剤のうちの1つが、シクロホスファミドである、項目128に記載の方法または遺伝子改変された細胞。

(項目130)

前記シクロホスファミドが、前記ワクチンの前記投与の2日後または3日後に投与される、項目129に記載の方法または遺伝子改変された細胞。

(項目131)

前記シクロホスファミドが、50mg/kg/日からまたは約50mg/kg/日から60mg/kg/日までの用量で投与される、項目129または130に記載の方法または遺伝子改変された細胞。

(項目132)

前記対象がヒト対象である、項目110から131のいずれか一項に記載の方法または項目107もしくは108に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目133)

前記対象が非ヒト動物である、項目110から131のいずれか一項に記載の方法または項目107もしくは108に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目134)

前記非ヒト動物が、ネコまたはイヌである、項目133に記載の方法または遺伝子改変された細胞。

(項目135)

前記状態が疾患である、項目109から134のいずれか一項に記載の方法または項目107もしくは108に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目136)

前記疾患が糖尿病である、項目135に記載の方法または遺伝子改変された細胞。

(項目137)

前記糖尿病が、1型糖尿病、2型糖尿病、外科的糖尿病、囊胞性線維症関連糖尿病および/またはミトコンドリア糖尿病である、項目136に記載の方法または遺伝子改変された細胞。

(項目138)

グラフトに対してレシピエントを免疫寛容化するための方法であって、項目96から103のいずれか一項に記載のワクチンを前記レシピエントに提供するステップを含む、方法。

(項目139)

状態の処置を必要とする対象において状態を処置するための方法であって、項目52から95のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞を前記対象に移植するステップを含む、方法。

(項目140)

状態の処置を必要とする対象に移植して、前記対象において状態を処置することにおける使用のための、項目52から95のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞、または項目52から95のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞を含む組織もしくは臓器であって、前記対象は、項目96から103のいずれか一項に記載のワクチンによって、前記遺伝子改変された細胞、組織または臓器に対して寛容化され、T細胞活性化、B細胞活性化および／または樹状細胞活性化を阻害する1つまたは複数の医薬品が、前記対象に投与される、遺伝子改変された細胞、または遺伝子改変された細胞を含む組織もしくは臓器。

(項目141)

前記移植するステップが異種移植するステップである、項目140に記載の遺伝子改変された細胞。

(項目142)

状態の処置を必要とする対象に投与して、前記対象において状態を処置することにおける使用のための、項目52から95のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞、または項目52から95のいずれか一項に記載の遺伝子改変された細胞を含む組織もしくは臓器。

(項目143)

グラフトに対してレシピエントを免疫寛容化することにおける使用のための、項目96から103のいずれか一項に記載のワクチン。

(項目144)

項目1から46のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物を作製するための方法であって、

a) MHCⅠ特異的エンハンセオソームの成分、MHCⅠ結合性ペプチドのトランスポーターおよび／またはC3のうちの1つまたは複数の低減された発現を有する細胞を取得するステップ；

b) 前記細胞から胚を生成するステップ；ならびに

c) 前記胚を、前記遺伝子改変された動物へと成長させるステップを含む、方法。

(項目145)

前記細胞が接合体である、項目144に記載の方法。

(項目146)

項目1から46のいずれか一項に記載の遺伝子改変された動物を作製するための方法であって、

a) MHCⅠ特異的エンハンセオソームの成分、MHCⅠ結合性ペプチドのトランスポーターおよび／またはC3のうちの1つまたは複数の低減された発現を有する第1の細胞を取得するステップ；

b) 前記第1の細胞の核を第2の細胞に移入して、胚を生成するステップ；ならびに

c) 前記胚を、前記遺伝子改変された動物へと成長させるステップを含む、方法。

(項目147)

前記低減が、遺伝子編集によって実施される、項目144から146のいずれか一項に記載の方法。

(項目148)

前記遺伝子編集が、CRISPR/cas系を使用して実施される、項目147に記載の方法。