

【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11月19日(2020.11.19)

【公表番号】特表2019-532674(P2019-532674A)

【公表日】令和1年11月14日(2019.11.14)

【年通号数】公開・登録公報2019-046

【出願番号】特願2019-540313(P2019-540313)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/55	(2006.01)
C 1 2 N	9/16	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	15/63	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 K	38/46	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/55	
C 1 2 N	9/16	Z N A Z
C 1 2 N	15/09	1 0 0
C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 K	38/46	

【手続補正書】

【提出日】令和2年10月9日(2020.10.9)

【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】

ヒトT細胞受容体アルファ(TCR)遺伝子における標的部位を切断するI-OnuIホーミングエンドヌクレアーゼ(HE)バリアントを含むポリペプチドであって、前記I-OnuIバリアントは、配列番号7～8のいずれか1つに示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項2】

前記生物学的に活性な断片は、配列番号2に示されるアミノ酸配列を有する対応する野生型I-OnuI HEと比較して、1、2、3、4、5、6、7、または8個のN末端アミノ酸を欠失している、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項3】

前記生物学的に活性な断片は、配列番号2に示されるアミノ酸配列を有する対応する野生型I-OnuI HEと比較して、1、2、3、4、または5個のC末端アミノ酸を欠失している、請求項1に記載のポリペプチド。

【請求項4】

前記I-OnuI HEバリエントは、配列番号7～8のいずれか1つに示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、請求項1～3のいずれか1項に記載のポリペプチド。

【請求項5】

前記ポリペプチドは、配列番号17に示されるポリヌクレオチド配列に結合する、請求項1～4のいずれか1項に記載のポリペプチド。

【請求項6】

T A L E DNA結合ドメインをさらに含む、請求項1～5のいずれか1項に記載のポリペプチド。

【請求項7】

前記T A L E DNA結合ドメインは、11.5個のT A L E反復単位を含み、かつ配列番号19に示されるポリヌクレオチド配列に結合する、請求項6に記載のポリペプチド。

【請求項8】

前記T A L E DNA結合ドメインは、10.5個のT A L E反復単位を含み、かつ配列番号18に示されるポリヌクレオチド配列に結合する、請求項6に記載のポリペプチド。

【請求項9】

前記ポリペプチドは、配列番号20に示されるポリヌクレオチド配列に結合し、かつそれを切断する、請求項6～8のいずれか1項に記載のポリペプチド。

【請求項10】

(a) ペプチドリンカーおよび/またはウイルス自己切断型2Aペプチド、ならびに
(b) 3'-5'エキソヌクレアーゼまたはその生物学的に活性な断片
をさらに含む、請求項1～9のいずれか1項に記載のポリペプチド。

【請求項11】

前記3'-5'エキソヌクレアーゼは、T r e x 2またはその生物学的に活性な断片を含む、請求項10のいずれか1項に記載のポリペプチド。

【請求項12】

請求項1～11のいずれか1項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、
m R N Aまたはc D N A。

【請求項13】

請求項1～11のいずれか1項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項14】

請求項1～11のいずれか1項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、細胞。

【請求項15】

前記細胞は、造血細胞、T細胞、C D 3⁺、C D 4⁺、および/またはC D 8⁺細胞、
免疫エフェクター細胞、細胞傷害性Tリンパ球(C T L)、腫瘍浸潤リンパ球(T I L)
、ヘルパーT細胞、ナチュラルキラー(N K)細胞あるいはナチュラルキラーT(N K T)
細胞である、請求項14に記載の細胞。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0051

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0051】

特定の実施形態において、細胞の源は、末梢血単核球、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織（issue）、感染部位由来組織、腹水、胸水、脾臓組織、または腫瘍である。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

（項目1）

ヒトT細胞受容体アルファ（TCR）遺伝子における標的部位を切断するI-Onu Iホーミングエンドヌクレアーゼ（HE）バリアントを含むポリペプチドであって、前記バリアントは、配列番号1～5のいずれか1つ、またはその生物学的に活性な断片のアミノ酸置換：L26I、R28D、N32R、K34N、S35E、V37N、G38R、S40R、E42S、G44R、V68K、A70T、G73S、N75R、S78M、K80R、L138M、T143N、S159P、S176A、C180H、F182G、I186K、S188V、S190G、K191T、L192A、G193K、Q195Y、Q197G、V199R、S201A、T203S、K207R、Y223S、K225R、S233R、D236E、およびV238Eを含む、ポリペプチド。

（項目2）

ヒトT細胞受容体アルファ（TCR）遺伝子における標的部位を切断するI-Onu Iホーミングエンドヌクレアーゼ（HE）バリアントを含むポリペプチドであって、前記バリアントは、配列番号1～5のいずれか1つ、またはその生物学的に活性な断片のアミノ酸置換：L26I、R28D、N32R、K34N、S35E、V37N、G38R、S40R、E42S、G44R、V68K、A70T、G73S、N75R、S78M、K80R、L138M、T143N、S159P、S176A、E178D、C180H、F182G、I186K、S188V、S190G、K191T、L192A、G193K、Q195Y、Q197G、V199R、S201A、T203S、K207R、Y223S、K225R、S233R、D236E、およびV238Eを含む、ポリペプチド。

（項目3）

前記生物学的に活性な断片は、対応する野生型I-Onu I HEと比較して、1、2、3、4、5、6、7、または8個のN末端アミノ酸を欠失している、項目1または項目2に記載のポリペプチド。

（項目4）

前記生物学的に活性な断片は、対応する野生型I-Onu I HEと比較して、4個のN末端アミノ酸を欠失している、項目3に記載のポリペプチド。

（項目5）

前記生物学的に活性な断片は、対応する野生型I-Onu I HEと比較して、8個のN末端アミノ酸を欠失している、項目3に記載のポリペプチド。

（項目6）

前記生物学的に活性な断片は、対応する野生型I-Onu I HEと比較して、1、2、3、4、または5個のC末端アミノ酸を欠失している、項目1または項目2に記載のポリペプチド。

（項目7）

前記生物学的に活性な断片は、対応する野生型I-Onu I HEと比較して、C末端アミノ酸を欠失している、項目6に記載のポリペプチド。

（項目8）

前記生物学的に活性な断片は、対応する野生型I-Onu I HEと比較して、2個のC末端アミノ酸を欠失している、項目6に記載のポリペプチド。

（項目9）

前記I-Onu I HEバリアントは、配列番号7～8のいずれか1つに示されるアミ

ノ酸配列またはその生物学的に活性な断片に少なくとも 99 % 同一であるアミノ酸配列を含む、項目 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 10)

前記 H E バリアントは、配列番号 7 に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 11)

前記 H E バリアントは、配列番号 8 に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 12)

前記ポリペプチドは、配列番号 17 に示されるポリヌクレオチド配列に結合する、項目 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 13)

D N A 結合ドメインをさらに含む、項目 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 14)

前記 D N A 結合ドメインは、T A L E D N A 結合ドメインおよび亜鉛フィンガー D N A 結合ドメインからなる群より選択される、項目 13 に記載のポリペプチド。

(項目 15)

前記 T A L E D N A 結合ドメインは、約 9 . 5 個の T A L E 反復単位、約 10 . 5 個の T A L E 反復単位、約 11 . 5 個の T A L E 反復単位、約 12 . 5 個の T A L E 反復単位、約 13 . 5 個の T A L E 反復単位、約 14 . 5 個の T A L E 反復単位、または約 15 . 5 個の T A L E 反復単位を含む、項目 14 に記載のポリペプチド。

(項目 16)

前記 T A L E D N A 結合ドメインは、11 . 5 個の T A L E 反復単位を含み、かつ配列番号 19 に示されるポリヌクレオチド配列に結合する、項目 14 または項目 15 に記載のポリペプチド。

(項目 17)

前記 T A L E D N A 結合ドメインは、10 . 5 個の T A L E 反復単位を含み、かつ配列番号 18 に示されるポリヌクレオチド配列に結合する、項目 14 または項目 15 に記載のポリペプチド。

(項目 18)

前記ポリペプチドは、配列番号 20 に示されるポリヌクレオチド配列に結合し、かつそれを切断する、項目 14 ~ 17 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 19)

前記亜鉛フィンガー D N A 結合ドメインは、2、3、4、5、6、7、または 8 個の亜鉛フィンガーモチーフを含む、項目 14 に記載のポリペプチド。

(項目 20)

ペプチドリンカーおよびエンドプロセシング酵素またはその生物学的に活性な断片をさらに含む、項目 1 ~ 19 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 21)

ウイルス自己切断型 2 A ペプチドおよびエンドプロセシング酵素またはその生物学的に活性な断片をさらに含む、項目 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目 22)

前記エンドプロセシング酵素またはその生物学的に活性な断片は、5 ' - 3 ' エキソヌクレアーゼ、5 ' - 3 ' アルカリエキソヌクレアーゼ、3 ' - 5 ' エキソヌクレアーゼ、5 ' フラップエンドヌクレアーゼ、ヘリカーゼ、またはテンプレート非依存性 D N A ポリメラーゼ活性を有する、項目 20 または項目 21 に記載のポリペプチド。

(項目 23)

前記エンドプロセシング酵素は、T r e x 2 またはその生物学的に活性な断片を含む、項目 20 ~ 22 のいずれか 1 項に記載のポリペプチド。

(項目24)

前記ポリペプチドは、配列番号10～12のいずれか1つに示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目1～23のいずれか1項に記載のポリペプチド。

(項目25)

前記ポリペプチドは、配列番号10に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目24に記載のポリペプチド。

(項目26)

前記ポリペプチドは、配列番号11に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目24に記載のポリペプチド。

(項目27)

前記ポリペプチドは、配列番号12に示されるアミノ酸配列またはその生物学的に活性な断片を含む、項目24に記載のポリペプチド。

(項目28)

項目1～27のいずれか1項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

(項目29)

項目1～27のいずれか1項に記載のポリペプチドをコードするmRNA。

(項目30)

項目1～27のいずれか1項に記載のポリペプチドをコードするcDNA。

(項目31)

項目1～27のいずれか1項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、ベクター。

(項目32)

項目1～27のいずれか1項に記載のポリペプチドを含む、細胞。

(項目33)

項目1～27のいずれか1項に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、細胞。

(項目34)

項目27に記載のベクターを含む細胞。

(項目35)

項目1～27のいずれか1項に記載のポリペプチドにより編集された細胞。

(項目36)

前記細胞は造血細胞である、項目32～35のいずれか1項に記載の細胞。

(項目37)

前記細胞はT細胞である、項目32～36のいずれか1項に記載の細胞。

(項目38)

前記細胞はCD3⁺、CD4⁺、および/またはCD8⁺細胞である、項目32～37のいずれか1項に記載の細胞。

(項目39)

前記細胞は免疫エフェクター細胞である、項目32～38のいずれか1項に記載の細胞。

。(項目40)

前記細胞は、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)、またはヘルパーT細胞である、項目32～39のいずれか1項に記載の細胞。

(項目41)

前記細胞はナチュラルキラー(NK)細胞またはナチュラルキラーティ(NKT)細胞である、項目32～39のいずれか1項に記載の細胞。

(項目42)

前記細胞の源は、末梢血単核球、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺問題(issue)、感染部位由来組織、腹水、胸水、脾臓組織、または腫瘍である、項目32～41のい

ずれか 1 項に記載の細胞。