

【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28年11月10日 (2016.11.10)

【公表番号】特表2013-538562(P2013-538562A)

【公表日】平成25年10月17日 (2013.10.17)

【年通号数】公開・登録公報2013-057

【出願番号】特願2013-520872(P2013-520872)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

A 0 1 K 67/027 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/46 (2006.01)

A 6 1 K 47/42 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/06 (2006.01)

A 6 1 K 35/12 (2015.01)

A 6 1 K 35/14 (2015.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/47

C 0 7 K 19/00

A 0 1 K 67/027

C 1 2 N 5/00 1 0 2

C 1 2 N 9/16 Z

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 37/54

A 6 1 K 47/42

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 37/06

A 6 1 K 35/12

A 6 1 K 35/14 C

【誤訳訂正書】

【提出日】平成28年9月23日 (2016.9.23)

【誤訳訂正 1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 0 4

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【 0 0 0 4 】

背景

MHC 抗原は、最初は移植反応において主要な役割を果たす蛋白として特徴付けされた。拒絶は移植された組織の表面上の組織適合性抗原に対して反応する T 細胞により媒介され、そしてこれらの抗原の最大の群は腫瘍組織適合性抗原 (MHC) である。これらの蛋白は全ての高等脊椎動物の表面で発現され、そしてマウスにおいては H - 2 抗原 (組織適

合性 - 2 抗原を意味する) 及びヒト細胞においては H L A 抗原 (ヒト白血球抗原を意味する) と称される。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 2 5

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 2 5】

追加の実施形態において、標的遺伝子は H L A 発現を調節する (例えばヒト細胞中の) 遺伝子である (H L A レギュレーター遺伝子)。ある特定の実施形態において、C T I I A、R F X 5 遺伝子、T A P 1、T A P 2 又はタパシン遺伝子、又はこれらの組み合わせを調節 (例えば活性化、抑制及び / 又は不活性化) のために標的とする。いくつかの実施形態においては、標的とされる遺伝子は H L A 遺伝子を調節することができるマイクロ R N A をコードする。本明細書に記載するベクターは又、ドナー配列を含んでよい。追加の実施形態において、ドナー配列は宿主細胞にとって内_在性ではないヒト H L A 遺伝子又は H L A レギュレーター遺伝子を含む。いくつかの実施形態においては、目的の H L A 遺伝子又は H L A レギュレーター遺伝子は内_在性の H L A 遺伝子又は H L A レギュレーター遺伝子の箇所に挿入され、他の実施形態においては、目的の H L A 遺伝子又は H L A レギュレーター遺伝子は無作為に選択された遺伝子座内に、又はゲノムワイドの送達後に別個の遺伝子座内に挿入される。いくつかの実施形態においては、H L A 導入遺伝子又は H L A レギュレーター導入遺伝子の挿入のための別個の遺伝子座は P P P 1 R 1 2 C 遺伝子座である (米国特許公開番号 2 0 0 8 0 2 9 9 5 8 0 参照)。他の実施形態において、H L A 導入遺伝子又は H L A レギュレーター導入遺伝子は C C R - 5 遺伝子座内に挿入される。いくつかの態様において、ドナーは目的の別の核酸を含む。例示に過ぎないが、このドナーは目的のポリペプチドをコードする遺伝子を含み得、又は、構造 R N A (s h R N A、m i R N A、R N A i 等) をコードする配列を含み得る。いくつかの実施形態において、目的の H L A 遺伝子又は H L A レギュレーター遺伝子が所望の様式 (例えばノックアウト、補正等) に操作されており、そしてドナー及び 1 つ以上の追加の Z F N 及び / 又は T A L E N が別の遺伝子座 (例えば A A V S 1) 内にドナーを挿入するために与えられている細胞が提供さる。

【誤訳訂正 3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 3 0

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 3 0】

別の態様において、本明細書に記載する組成物及び方法は、例えば、何れかの H L A 関連障害 (即ち H L A ハプロタイプに関連するもの) の治療又は防止又は改善において使用できる。方法は典型的には、(a) H L A 又は H L A レギュレーター遺伝子が不活性化されるようにヌクレアーゼ (例えば Z F N 又は T A L E N) を用いて単離された細胞 (例えば T 細胞又はリンパ球) 中の内_在性 H L A 遺伝子又は H L A レギュレーターを切断すること ; 及び (b) 対象内に細胞を導入することにより H L A 関連障害を治療又は防止することを含む。ある特定の実施形態において、H L A 関連障害は対宿主性移植片病 (G V H D) である。ヌクレアーゼは m R N A として、蛋白質形態において、及び / 又はヌクレアーゼをコードする D N A 配列として導入することができる。ある特定の実施形態において、対象に導入される単離された細胞は更に、追加的なゲノム修飾、例えば組み込まれた外因性配列 (例えば切断された H L A 又は H L A 調節遺伝子又は異なる遺伝子、例えばセイフハーバー遺伝子内に) 及び / 又は追加の遺伝子、例えば 1 つ以上の T C R 遺伝子の不活性化 (例えばヌクレアーゼ媒介) を含む。外因性配列はベクター (例えば A d、A A V、L V) を介して、又はエレクトロポレーションのような手法を用いることにより、導入してよい

。いくつかの態様において、組成物は単離された細胞フラグメント及び／又は分化した細胞を含んでよい。

【誤訳訂正４】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】０２０２

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【０２０２】

実施例７：ＴＣＲノックアウト

上の実施例６において記載のＣＡＲ－１９修飾Ｔ細胞の使用は、内在性ＴＣＲ発現のため、同種異系の状況においては妨害される可能性があり得る。したがって、ＴＣＲ又はＴＣＲ定常鎖の何れかを攪乱するように設計されたＺＦＮ試薬を一次Ｔ細胞において試験した。ＺＦＮ対２５５３９／２５５４０をＴＣＲノックアウトのために使用し、そしてＺＦＮ対１６７８３／１６７８７をＴＣＲノックアウトのために使用した。これらの実験において、百万個の一次Ｔ細胞を上記の通りＺＦＮコードｍＲＮＡを用いてＡｍｍａｘ系を用いたヌクレオフェクションに付した。次に細胞をＦＡＣＳ及びＣｅｌ－Ｉ分析の両方に付した。

【誤訳訂正５】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項１】

非天然存在の亜鉛フィンガーＤＮＡ結合ドメインを含む単離されたポリペプチドであって、該亜鉛フィンガーＤＮＡ結合ドメインは、Ｆ１、Ｆ２、Ｆ３、Ｆ４、Ｆ５及びＦ６と標記され、そしてＮ末端からＣ末端にＦ１からＦ４又はＦ５又はＦ６と順位付けされる、４、５又は６つの亜鉛フィンガーＤＮＡ認識領域を含み、

さらに、該亜鉛フィンガーＤＮＡ認識領域、及び前記ポリペプチドの結合特性は、以下：

- (i)
- Ｆ１：ＱＳＳＨＬＴＲ（配列番号１）；
 - Ｆ２：ＲＳＤＨＬＴＴ（配列番号２）；
 - Ｆ３：ＲＳＤＴＬＳＱ（配列番号３）；
 - Ｆ４：ＲＳＡＤＬＳＲ（配列番号４）；
 - Ｆ５：ＱＳＳＤＬＳＲ（配列番号５）；及び
 - Ｆ６：ＲＳＤＡＬＴＱ（配列番号６）

であり、

ここで、前記ポリペプチドは、ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）Ａ２遺伝子内の配列番号９７で示される標的配列中の大文字で示される標的部位に結合し；

- (ii)
- Ｆ１：ＱＫＴＨＬＡＫ（配列番号７）；
 - Ｆ２：ＲＳＤＴＬＳＮ（配列番号８）；
 - Ｆ３：ＲＫＤＶＲＩＴ（配列番号９）；
 - Ｆ４：ＲＳＤＨＬＳＴ（配列番号１０）；及び
 - Ｆ５：ＤＳＳＡＲＫＫ（配列番号１１）、

ここで、前記ポリペプチドは、ＨＬＡＡ２遺伝子内の配列番号９８で示される標的配列中の大文字で示される標的部位に結合し；

- (iii)
- Ｆ１：ＱＮＡＨＲＫＴ（配列番号：１２）；
 - Ｆ２：ＲＳＤＳＬＬＲ（配列番号：１３）；
 - Ｆ３：ＲＮＤＤＲＫＫ（配列番号：１４）；
 - Ｆ４：ＲＳＤＨＬＳＴ（配列番号：１０）；及び

F 5 : D S S A R K K (配列番号 : 1 1) 、
 ここで、前記ポリペプチドは、H L A A 2 遺伝子内の配列番号 9 9 で示される標的配列
 中の大文字で示される標的部位に結合し ;

(i v) F 1 : S S E L L N E (配列番号 : 2 3) ;
 F 2 : T S S H L S R (配列番号 : 2 4) ;
 F 3 : Q S G D R N K (配列番号 : 2 5) ;
 F 4 : R S A N L A R (配列番号 : 2 6) ; 及び
 F 5 : R S D N L R E (配列番号 : 2 7) 、

ここで、前記ポリペプチドは、H L A B 遺伝子内の配列番号 1 0 2 で示される標的配列
 中の大文字で示される標的部位に結合し ; ,

(v) F 1 : Q S G D L T R (配列番号 2 8) ;
 F 2 : R S D D L T R (配列番号 1 6) ;
 F 3 : D Q S T L R N (配列番号 2 9) ;
 F 4 : D R S N L S R (配列番号 3 0) ; 及び
 F 5 : D A F T R T R (配列番号 3 1) 、

ここで、前記ポリペプチドは、H L A B 遺伝子内の配列番号 1 0 3 で示される標的配列
 中の大文字で示される標的部位に結合し ;

(v i) F 1 : R S D N L S E (配列番号 3 2) ;
 F 2 : A S K T R K N (配列番号 3 3) ;
 F 3 : T S G N L T R (配列番号 3 4) ; 及び
 F 4 : R S D A L A R (配列番号 3 5) 、

ここで、前記ポリペプチドは、H L A B 遺伝子内の配列番号 1 0 4 で示される標的配列
 中の大文字で示される標的部位に結合し ;

(v i i) F 1 : D R S A L S R (配列番号 : 1 9) ;
 F 2 : Q S G N L A R (配列番号 : 3 6) ;
 F 3 : D R S A L S R (配列番号 : 1 9) ; 及び
 F 4 : Q S G H L S R (配列番号 : 1 8) 、

ここで、前記ポリペプチドは、H L A B 遺伝子内の配列番号 1 0 5 で示される標的配列
 中の大文字で示される標的部位に結合し ;

(v i i i) F 1 : R S D N L S E (配列番号 : 3 2) ;
 F 2 : A S K T R K N (配列番号 : 3 3) ;
 F 3 : Q S G H L S R (配列番号 : 1 8) ;
 F 4 : T S G H L S R (配列番号 : 3 7) ; 及び
 F 5 : Q S G H L S R (配列番号 : 1 8) 、

ここで、前記ポリペプチドは、H L A B 遺伝子内の配列番号 1 0 6 で示される標的配列
 中の大文字で示される標的部位に結合し ;

(i x) F 1 : R S A D L T R (配列番号 : 3 8) ;
 F 2 : Q S G D L T R (配列番号 : 2 8) ;
 F 3 : Q S G N L A R (配列番号 : 3 6) ; 及び
 F 4 : Q S G D L T R (配列番号 : 2 8) 、

ここで、前記ポリペプチドは、H L A B 遺伝子内の配列番号 1 0 7 で示される標的配列
 中の大文字で示される標的部位に結合し ;

(x) F 1 : Q S G H L S R (配列番号 : 1 8) ;
 F 2 : R S D H L S T (配列番号 : 1 0) ;
 F 3 : Q S A D R T K (配列番号 : 3 9) ;
 F 4 : T S G S L S R (配列番号 : 4 0) ; 及び
 F 5 : Q S A D R T K (配列番号 : 3 9) 、

ここで、前記ポリペプチドは、H L A C 遺伝子内の配列番号 1 0 8 で示される標的配列
 中の大文字で示される標的部位に結合し ;

(x i) F 1 : Q S G D L T R (配列番号 : 2 8) ;

F 2 : R S D H L S T (配列番号 : 1 0) ;
 F 3 : Q S A D R T K (配列番号 : 3 9) ;
 F 4 : R S D N L S A (配列番号 : 4 1) ; 及び
 F 5 : R S D N R T T (配列番号 : 4 2) ;

ここで、前記ポリペプチドは、H L A C 遺伝子内の配列番号 1 0 9 で示される標的配列中の大文字で示される標的部位に結合し ;

(x i i) F 1 : Q R S N L V R (配列番号 : 4 3) ;
 F 2 : D R S A L A R (配列番号 : 4 4) ;
 F 3 : Q S S D L R R (配列番号 : 2 0) ;
 F 4 : R S D D L T R (配列番号 : 1 6) ; 及び
 F 5 : R S D D L T R (配列番号 : 1 6) ;

ここで、前記ポリペプチドは、H L A C 遺伝子内の配列番号 1 1 0 で示される標的配列中の大文字で示される標的部位に結合し ; 又は

(x i i i) F 1 : R S D D L T R (配列番号 : 1 6) ;
 F 2 : D R S D L S R (配列番号 : 1 7) ;
 F 3 : Q S G H L S R (配列番号 : 1 8) ;
 F 4 : R S D H L S A (配列番号 : 4 5) ; 及び
 F 5 : E S R Y L M V (配列番号 : 4 6) ;

ここで、前記ポリペプチドは、H L A C 遺伝子内の配列番号 1 1 1 で示される標的配列中の大文字で示される標的部位に結合する、
 である、ポリペプチド。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の単離されたポリペプチド、及び活性化ドメイン、リプレッションドメイン及びヌクレアーゼドメインから成る群より選ばれる機能性ドメインを含む融合蛋白質。

【請求項 3】

機能性ドメインが H L A A、H L A B、又は H L A C 遺伝子の 1 つ以上の発現を調節する、請求項 2 に記載の融合蛋白質。

【請求項 4】

請求項 2 又は 3 に記載の融合蛋白質をコードするポリヌクレオチド。

【請求項 5】

請求項 2 又は 3 に記載の融合蛋白質、又は請求項 4 に記載のポリヌクレオチドを含む単離された細胞。

【請求項 6】

細胞が幹細胞、前駆細胞、T 細胞、NK 細胞、幹細胞の部分分化子孫細胞又は幹細胞の完全分化子孫細胞よりなる群から選択される、請求項 5 に記載の単離された細胞。

【請求項 7】

エキスピボで細胞における H L A クラス 1 遺伝子の 1 つ以上を不活性化する方法であって、

請求項 4 に記載のポリヌクレオチドを細胞に導入し、それによって請求項 2 又は 3 に記載の融合蛋白質を発現し ;

請求項 2 又は 3 に記載の融合蛋白質を用いて H L A クラス 1 遺伝子を切断し、ここで機能性ドメインは H L A クラス 1 遺伝子 1 つ以上が不活性化されるようにヌクレアーゼを含むものであること、
 を含む、方法。

【請求項 8】

切断が H L A クラス 1 遺伝子 1 つ以上の内部に欠失をもたらす、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

請求項 5 に記載の細胞を含む、対象における H L A 関連障害を治療するための医薬組成

物であって、

該単離された細胞中の内在性 H L A クラス 1 遺伝子が、H L A 又は H L A 調節遺伝子が不活性化されるように請求項 7 記載の方法に従って切断され；及び

対象に該細胞が導入され、それによって H L A 関連障害が治療又は予防される、医薬組成物。

【請求項 1 0】

対象に導入される単離された細胞が更に、細胞のゲノム内への外因性配列の組み込み、追加の 1 つ以上の遺伝子の不活性化、及びこれらの組み合わせよりなる群から選択される追加的ゲノム修飾を含む、請求項 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 1】

追加のゲノム修飾が外因性配列の組み込みを含み、そして更に、切断された H L A クラス 1 遺伝子内に外因性配列が組み込まれる、請求項 1 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 2】

追加のゲノム修飾が外因性配列の組み込みを含み、そして更に外因性配列がポリペプチドである、癌マーカーに対して特異的なキメラ抗原受容体 (C A R) をコードする、請求項 1 0 又は 1 1 記載の医薬組成物。

【請求項 1 3】

追加のゲノム修飾が、T C R 及び / 又は T C R 鎖をコードする遺伝子から選択される 1 つ以上の内在性 T C R 遺伝子の不活性化を含む、請求項 1 0 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 1 4】

障害が対宿主性移植片病 (G V H D) である、請求項 9 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 1 5】

ポリヌクレオチドが m R N A 又は D N A である、請求項 9 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 1 6】

細胞が T 細胞又は幹細胞である、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 7】

幹細胞が誘導多能性幹細胞 (i P S C)、ヒト胚性幹細胞 (h E S)、間葉性幹細胞 (M S C) 又はニューロン幹細胞よりなる群から選択される、請求項 1 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 8】

請求項 5 に記載の細胞を含む、細胞移植片を必要とする患者を治療するための医薬組成物であって、

該細胞中の H L A クラス I 遺伝子の 1 つ以上が不活性化され；及び、

該細胞又は細胞のフラグメントが、それを必要としている患者内に移植される、医薬組成物。

【請求項 1 9】

細胞又は細胞フラグメントが T 細胞、幹細胞及び血小板よりなる群から選択される、請求項 1 8 に記載の医薬組成物。