

【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4年11月25日(2022.11.25)

【国際公開番号】WO2019/210042

【公表番号】特表2021-521856(P2021-521856A)

【公表日】令和3年8月30日(2021.8.30)

【出願番号】特願2020-560400(P2020-560400)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09(2006.01)

C 1 2 N 15/113(2010.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 5/0789(2010.01)

C 1 2 N 15/864(2006.01)

A 6 1 K 35/15(2015.01)

A 6 1 P 29/00(2006.01)

A 6 1 P 37/06(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 15/113 Z Z N A

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 5/0789

C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z

A 6 1 K 35/15 Z

A 6 1 P 29/00

A 6 1 P 37/06

20

【手続補正書】

【提出日】令和4年11月15日(2022.11.15)

【手続補正1】

30

【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】

遺伝子組換えCD34⁺細胞を作製する方法であって、ヌクレアーゼまたはヌクレアーゼをコードする核酸とドナー鋳型をCD34⁺細胞に送達する工程を含み、前記ドナー鋳型が

(a) CD34⁺細胞のFOXP3遺伝子、AAVS1遺伝子座またはTRA遺伝子内の配列と相同性を有する第1の相同アーム；

(b) 前記第1の相同アームが相同性を有する遺伝子または遺伝子座と同じ遺伝子または遺伝子座内の配列と相同性を有する、第2の相同アーム；

(c) プロモーター；および

(d) FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列を含み、

前記プロモーターと前記FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列が前記第1の相同アームと前記第2の相同アームの間に位置していることを特徴とする、方法。

40

【請求項2】

前記ヌクレアーゼがRNA誘導型DNAエンドヌクレアーゼ、ジンクフィンガーヌクレア

50

ーゼ、または転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ (TALEN) である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 RNA 誘導型 DNA エンドヌクレアーゼが Cas エンドヌクレアーゼである、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記 Cas エンドヌクレアーゼが Cas9 エンドヌクレアーゼである、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

FOXP3 遺伝子、AAVS1 遺伝子座または TRA 遺伝子に相補的なスペーサー配列を含むガイド RNA (gRNA) を前記 CD34⁺ 細胞に送達する工程をさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

10

【請求項 6】

前記 gRNA が、

i) 配列番号 1 ~ 7、15 ~ 20、および 27 ~ 29 のいずれかに示されるスペーサー配列、もしくは配列番号 1 ~ 7、15 ~ 20、および 27 ~ 29 のいずれかと比較して 3 個以下のミスマッチを有する前記スペーサー配列のバリエーション；

ii) 配列番号 1 ~ 7 のいずれかに示されるスペーサー配列、もしくは配列番号 1 ~ 7 のいずれかと比較して 3 個以下のミスマッチを有する前記スペーサー配列のバリエーション；ならびに / または

20

iii) 配列番号 2、3 および 5 のいずれかに示されるスペーサー配列、もしくは配列番号 2、3 および 5 のいずれかと比較して 3 個以下のミスマッチを有する前記スペーサー配列のバリエーション

を含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 7】

前記第 1 の相同アームが FOXP3 遺伝子座内の配列と相同性を有し、前記第 2 の相同アームが FOXP3 遺伝子座内の配列と相同性を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

(a) 前記 FOXP3 もしくはその機能性誘導体が、野生型ヒト FOXP3 である；

(b) 前記ドナー鋳型が、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターにコードされている；

30

および / または

(c) 前記プロモーターが、MND プロモーター、PGK プロモーター、もしくは EF1 プロモーター

である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記 FOXP3 またはその機能性誘導体をコードする配列が、前記細胞における発現のためにコドン最適化されている、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記 FOXP3 またはその機能性誘導体をコードする配列が、FOXP3 cDNA 配列である、請求項 9 に記載の方法。

40

【請求項 11】

前記 FOXP3 cDNA 配列が、配列番号 110 に示される核酸配列と少なくとも 90% の配列同一性を有する、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記ドナー鋳型が、選択マーカーをコードする配列をさらに含み、前記選択マーカーを発現する細胞と選択マーカーを発現しない細胞を分離する工程をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法によって作製された遺伝子組換え CD34⁺ 細胞。

50

【請求項 14】

前記FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列がFOXP3 cDNAであり、前記プロモーターがMNDプロモーターである、請求項13に記載の遺伝子組換えCD34⁺細胞。

【請求項 15】

請求項13または14に記載の遺伝子組換えCD34⁺細胞、および薬学的に許容される添加剤を含む、医薬組成物。

【請求項 16】

FOXP3をコードするFOXP3 cDNA配列と作動可能に連結されたプロモーターを含む核酸配列を含むCD34⁺細胞であって、
前記プロモーターとFOXP3 cDNA配列が、前記CD34⁺細胞のFOXP3遺伝子、AAVS1遺伝子座またはTRAC遺伝子内に位置していることを特徴とする、CD34⁺細胞。

10

【請求項 17】

T細胞受容体(TCR)をコードする核酸を含む、請求項13、14または16に記載のCD34⁺細胞。

【請求項 18】

キメラ抗原受容体(CAR)をコードする核酸を含む、請求項13、14または16に記載のCD34⁺細胞。

【請求項 19】

対象における疾患または状態の治療または予防用である、請求項13～14および16～18のいずれか1項に記載の細胞。

20

【請求項 20】

対象においてT細胞に分化することを特徴とする、請求項19に記載の細胞。

【請求項 21】

対象においてFOXP3⁺制御性T細胞に分化することを特徴とする、請求項19に記載の細胞。

【請求項 22】

前記疾患または状態が、炎症性疾患、自己免疫疾患、または固形臓器の移植に関連する状態である、請求項19に記載の細胞。

【請求項 23】

前記疾患が、IPEX症候群、移植片対宿主病(GVHD)、全身性エリテマトーデス、強皮症、溶結性貧血、血管炎、1型糖尿病、グレーブス病、炎症性腸疾患、関節リウマチ、多発性硬化症、グッドパスチャー症候群、筋疾患、重症複合免疫不全、ディ・ジョージ症候群、高IgE症候群、分類不能型免疫不全、慢性肉芽腫症、ウィスコット・アルドリッチ症候群、自己免疫性リンパ増殖症候群、高IgM症候群、白血球接着不全症、NF- κ B必須モジュレーター(NEMO)変異、選択的免疫グロブリンA欠損症、X連鎖無グロブリン血症、X連鎖リンパ増殖症、および/または毛細血管拡張性運動失調症である、請求項19に記載の細胞。

30

【請求項 24】

(a) CD34⁺細胞のFOXP3遺伝子、AAVS1遺伝子座、またはTRAC遺伝子内の配列と
相同性を有する、第1の相同アーム；
(b) 前記第1の相同アームが相同性を有する遺伝子座と同じ遺伝子座内の配列と相同性を有する、第2の相同性アーム；
(c) プロモーター；および
(d) FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列
を含み、
前記プロモーターと、前記FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列が、前記第1の相同アームと前記第2の相同アームの間に位置していることを特徴とする、核酸。

40

【請求項 25】

(a) 前記FOXP3もしくはその機能性誘導体が、野生型ヒトFOXP3である；

50

および/または

(b) 前記プロモーターが、MNDプロモーター、PGKプロモーター、もしくはEF1 プロモーター

である、請求項24に記載の核酸。

【請求項26】

前記FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列が、ヒト細胞における発現のためにコドン最適化されている、請求項25に記載の核酸。

【請求項27】

前記FOXP3またはその機能性誘導体をコードする配列が、FOXP3 cDNA配列である、請求項26に記載の核酸。

10

【請求項28】

前記FOXP3 cDNA配列が、配列番号110に示される核酸配列と少なくとも90%の配列同一性を含む、請求項27に記載の核酸。

【請求項29】

請求項24～28のいずれか1項に記載の核酸を含む、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター。

【請求項30】

請求項24～28のいずれか1項に記載の核酸を含む、脂質ナノ粒子。

【請求項31】

対象における炎症性疾患、自己免疫疾患、または固形臓器の移植に関連する状態の治療または予防用である、請求項29に記載のAAVベクター、または請求項30に記載の脂質ナノ粒子。

20

【請求項32】

IPEX症候群、移植片対宿主病(GVHD)、全身性エリテマトーデス、強皮症、溶結性貧血、血管炎、1型糖尿病、グレーブス病、炎症性腸疾患、関節リウマチ、多発性硬化症、グッドパスチャー症候群、筋疾患、重症複合免疫不全、ディ・ジョージ症候群、高IgE症候群、分類不能型免疫不全、慢性肉芽腫症、ウイスコット・アルドリッチ症候群、自己免疫性リンパ増殖症候群、高IgM症候群、白血球接着不全症、NF- κ B必須モジュレーター(NEMO)変異、選択的免疫グロブリンA欠損症、X連鎖無グロブリン血症、X連鎖リンパ増殖症、および/または毛細血管拡張性運動失調症の治療または予防用である、請求項31に記載のAAVベクターまたは脂質ナノ粒子。

30

40

50