

【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30年6月7日(2018.6.7)

【公表番号】特表2017-514517(P2017-514517A)

【公表日】平成29年6月8日(2017.6.8)

【年通号数】公開・登録公報2017-021

【出願番号】特願2017-507920(P2017-507920)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 K 35/17 (2015.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 5/0783 (2010.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

A 6 1 K 35/17 Z

A 6 1 P 35/00

C 1 2 N 5/10 Z N A

C 1 2 N 5/0783

C 1 2 M 1/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成30年4月20日(2018.4.20)

【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】

(a) 閉鎖されたシステムにおいて第1の選択を行う段階であって、第1の選択が、初代ヒトT細胞を含有する試料から、(i) CD4+細胞および(ii) CD8+細胞の一方を富化することを含み、それによって、該富化が、第1の選択集団および選択されなかった集団を生成させる、段階；ならびに

(b) 閉鎖されたシステムにおいて第2の選択を行う段階であって、第2の選択が、選択されなかった集団から、(i) CD4+細胞および(ii) CD8+細胞のもう一方を富化することを含み、それによって、該富化が、第2の選択集団を生成させる、段階を含む、CD4+ T細胞およびCD8+ T細胞を富化するための方法。

【請求項2】

CD4+細胞とCD8+細胞の所望の比で第1の選択集団の細胞および第2の選択集団の細胞を組み合わせた段階をさらに含む、請求項1記載の方法。

【請求項3】

CD4+細胞およびCD8+細胞が富化されかつ第1の選択集団の細胞および第2の選択集団の細胞を含む富化された組成物を産生する、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

第1の選択集団の細胞を刺激条件にてインキュベートし、かつ第2の選択集団の細胞を刺激条件にてインキュベートする段階、および/または

遺伝子操作された抗原受容体を、第1の選択集団の細胞および第2の選択集団の細胞に導

入する段階

をさらに含む、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

【請求項5】

遺伝子操作された抗原受容体を第1の選択集団の細胞に導入する段階、および / または
遺伝子操作された抗原受容体を第2の選択集団の細胞に導入する段階、および
第1の選択集団の細胞を刺激条件にてインキュベートする段階、および / または、第2の
選択集団の細胞を刺激条件にてインキュベートする段階、
をさらに含む、請求項1～3のいずれか一項記載の方法であって、

第1の選択集団の細胞および / または第2の選択集団の細胞のインキュベートが、遺伝子
操作された抗原受容体を導入する前、間、および / または後に行われる、方法。

【請求項6】

(a) 閉鎖されたシステムにおいて第1の選択を行う段階であって、第1の選択が、初代ヒトT細胞を含有する試料から、(i) CD4⁺細胞および(ii) CD8⁺細胞の一方を富化することを含み、それによって富化が第1の選択集団および選択されなかった集団を生成させる、段階；ならびに

(b) 閉鎖されたシステムにおいて第2の選択を行う段階であって、第2の選択が、選択されなかった集団から、(i) CD4⁺細胞および(ii) CD8⁺細胞のもう一方を富化することを含み、それによって富化が第2の選択集団を生成させる、段階；

(c) 該第1の選択集団の細胞および該第2の選択集団の細胞を、任意で所望の比で含む培養開始組成物を培養槽内で刺激条件下にてインキュベートすることによって、被刺激細胞を生成させる段階；ならびに

(d) 遺伝子操作された抗原受容体を、(c)において生成した該被刺激細胞に導入する段階

を含む、遺伝子操作されたT細胞を産生するための方法であって、

それによって、遺伝子操作された抗原受容体を発現しているCD4⁺ T細胞およびCD8⁺ T細胞を含むアウトプット組成物を生成させる、方法。

【請求項7】

段階(c)の前に、第1および第2の選択細胞集団の細胞を組み合わせ、培養開始組成物を産生する段階をさらに含み、かつ / または培養開始組成物中のCD4⁺細胞およびCD8⁺細胞が、CD4⁺細胞とCD8⁺細胞の所望の比で存在する、請求項6記載の方法。

【請求項8】

組み合わせることが、閉鎖されたシステムにおいて行われ、かつ / または、段階の1つ
または複数が、自動化された様式で実施され、かつ / または閉鎖されたシステムが自動化
されている、請求項1～7のいずれか一項記載の方法。

【請求項9】

CD4⁺細胞とCD8⁺細胞の所望の比が、10:1もしくは約10:1から1:10もしくは約1:10の間、5:1もしくは約5:1から1:5もしくは約1:5の間、または2:1もしくは約2:1から1:2もしくは約1:2の間である、請求項2～8のいずれか一項記載の方法。

【請求項10】

CD4⁺細胞とCD8⁺細胞の所望の比が、1:1または約1:1である、請求項2～9のいずれか一項記載の方法。

【請求項11】

第1および / または第2の選択において細胞を富化することが、免疫親和性に基づく選択を含む、請求項1～10のいずれか一項記載の方法。

【請求項12】

第1の選択および第2の選択が、操作可能に接続される別々の分離槽内で実施される、請求項1～11のいずれか一項記載の方法。

【請求項13】

第1および / または第2の選択における免疫親和性に基づく選択が、

アフィニティクロマトグラフィーマトリックスに固定化または結合された抗体と細胞を

接触させる段階であって、該抗体が、CD4+細胞またはCD8+細胞の正または負の選択を行うために細胞表面マーカーと特異的に結合することが可能である、段階、および

CD4+細胞またはCD8+細胞の富化された細胞をアフィニティクロマトグラフィーマトリックスから収集する段階

を含む、請求項11または請求項12記載の方法。

【請求項14】

抗体が、アフィニティクロマトグラフィーマトリックス上に固定化された結合試薬と可逆的結合を形成することが可能な1種または複数種の結合パートナーを含む、その際、該抗体が、接触の間に該アフィニティクロマトグラフィーマトリックスと可逆的に結合され、かつ

該アフィニティクロマトグラフィーマトリックス上の該抗体によって特異的に結合された細胞表面マーカーを発現している細胞が、結合試薬と結合パートナーとの間の可逆的結合を破壊することによって該マトリックスから収集されることが可能である、

請求項13の方法。

【請求項15】

第1および/または第2の選択のクロマトグラフィーマトリックスが、カラムである分離槽内に充填されている、請求項13または請求項14記載の方法。

【請求項16】

CD8+細胞を富化することを含む第1および第2の選択の一方が、

セントラルメモリーT(T_{CM})細胞を富化すること、ならびに/または

CD28、CD62L、CCR7、CD127、およびCD27より選択されるマーカーを発現している細胞を富化すること

をさらに含む、請求項1～15のいずれか一項記載の方法。

【請求項17】

初代ヒトT細胞を含有する試料の細胞を、CD4と特異的に結合する第1の免疫親和性試薬およびCD8と特異的に結合する第2の免疫親和性試薬と、インキュベーション組成物中で、免疫親和性試薬が試料中の細胞表面のCD4分子およびCD8分子とそれぞれ特異的に結合する条件で、接触させる段階、ならびに

該第1および/または該第2の免疫親和性試薬と結合している細胞を回収することによって、CD4+細胞およびCD8+細胞を所望の比で含む、富化された組成物を生成させる段階を含む、CD4+ T細胞およびCD8+ T細胞を富化するための方法であって、

該第1および/または該第2の免疫親和性試薬が、インキュベーション組成物中に最適以下の収率濃度で存在し、その際、該富化された組成物が、インキュベーション組成物中の全CD4+細胞の70%未満および/またはインキュベーション組成物中のCD8+細胞の70%未満を含有する、方法。

【請求項18】

(a) 初代ヒトT細胞の試料を富化する段階であって、該富化する段階が

試料の細胞を、CD4と特異的に結合する第1の免疫親和性試薬およびCD8と特異的に結合する第2の免疫親和性試薬と、インキュベーション組成物中で、該免疫親和性試薬が該試料中の細胞の表面のCD4分子およびCD8分子とそれぞれ特異的に結合する条件で、接触させることと、

該第1および/または該第2の免疫親和性試薬と結合している細胞を回収することによって、CD4+細胞およびCD8+細胞を所望の比で含む、富化された組成物を生成させることと

を含み、該第1および/または該第2の免疫親和性試薬が、該インキュベーション組成物中に最適以下の収率濃度で存在し、その際、該富化された組成物が、該インキュベーション組成物中の全CD4+細胞の70%未満および/または該インキュベーション組成物中のCD8+細胞の70%未満を含有する、段階；ならびに

(b) 該富化された組成物の細胞を培養槽内で刺激条件にてインキュベートすることによって、被刺激細胞を生成させる段階；ならびに

(c) 遺伝子操作された抗原受容体を(b)における複数の被刺激細胞に導入することによって、遺伝子操作された抗原受容体を発現しているCD4⁺ T細胞およびCD8⁺ T細胞を含むアウトプット組成物を生成させる段階を含む、遺伝子操作されたT細胞を産生するための方法。

【請求項 19】

(a)において富化すること、または接触させることおよび/または回収することが、閉鎖されたシステムにおいて行われる、請求項17または請求項18記載の方法。

【請求項 20】

CD4⁺細胞とCD8⁺細胞の所望の比が、10:1もしくは約10:1から1:10もしくは約1:10の間、5:1もしくは約5:1から1:5もしくは約1:5の間、または2:1もしくは約2:1から1:2もしくは約1:2の間、任意で、CD4⁺細胞とCD8⁺細胞の所望の比が1:1または約1:1である、請求項17~19のいずれか一項記載の方法。

【請求項 21】

第1の選択および/または第2の選択を行う前に、試料中のCD4⁺ T細胞とCD8⁺ T細胞の比を決定する段階、ならびに

CD4⁺細胞およびCD8⁺細胞を所望の比で含む組成物を産生するように、該試料中のCD4⁺ T細胞とCD8⁺ T細胞の該比に基づき、第1および/または第2の選択を調整する段階を含む、

請求項2~5および7~16のいずれか一項記載の方法。

【請求項 22】

第1および/または第2の選択が、アフィニティークロマトグラフィーマトリックスを含む免疫親和性に基づく選択を含み、

該第1および/または該第2の選択を調整する段階が、該第1および/または該第2の選択において所望の比を達成するために十分な量の該アフィニティークロマトグラフィーマトリックスを選ぶことを含む、

請求項21記載の方法。

【請求項 23】

試料の細胞を、第1および第2の免疫親和性試薬と接触させる前に、試料中のCD4⁺ T細胞とCD8⁺ T細胞の比を決定する段階；ならびに

CD4⁺細胞およびCD8⁺細胞を所望の比で含む富化された組成物を産生するように、該試料中のCD4⁺ T細胞とCD8⁺ T細胞の比に基づき、該第1および/または該第2の免疫親和性試薬の濃度を選ぶ段階

を含む、請求項17~20のいずれか一項記載の方法。

【請求項 24】

試料が、対象から得られる、請求項1~23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 25】

試料が、血液または血液由来試料、白血球試料、アフェレーシス試料、末梢血単核細胞(PBMC)試料、または白血球アフェレーシス試料である、請求項1~24のいずれか一項記載の方法。

【請求項 26】

組成物を培養槽内で刺激条件にてインキュベートすることが、遺伝子操作された抗原受容体を導入する前、間、および/または後に行われる、請求項6~16および18~25のいずれか一項記載の方法。

【請求項 27】

刺激条件が、TCR複合体の1種または複数種の成分の1種または複数種の細胞内シグナル伝達ドメインを活性化することが可能な薬剤を含み、任意で、刺激条件が抗CD3抗体を含む、および/または

刺激条件が、抗CD3抗体、および抗CD28抗体、抗4-1BB抗体、および/またはサイトカインの存在を含む、

請求項4~16および18~26のいずれか一項記載の方法。

【請求項 28】

遺伝子操作された抗原受容体が、T細胞受容体（TCR）または機能的非TCR抗原受容体を含む、または

遺伝子操作された抗原受容体が、キメラ抗原受容体（CAR）を含む、

請求項4～16および18～27のいずれか一項記載の方法。

【請求項 29】

請求項1～28のいずれか一項記載の方法によって產生される細胞および薬学的に許容される担体を含む組成物

【請求項 30】

対象における疾患または状態を処置するために使用するための、請求項29記載の組成物。

【請求項 31】

対象における疾患または障害を処置するための医薬の製造のための、請求項29記載の組成物の使用。

【請求項 32】

遺伝子操作された抗原受容体が、疾患または状態に関連する抗原と特異的に結合する、請求項30記載の組成物または請求項31記載の使用。

【請求項 33】

疾患または状態が、がんである、請求項30～32のいずれか一項記載の組成物または使用。

【請求項 34】

a) 表面上に固定化された第1の結合剤を含む第1のアフィニティクロマトグラフィーマトリックスであって、結合剤が、第1の細胞型上に存在する第1の細胞表面マーカーと特異的に結合し、第1のアフィニティマトリックスが、第2の細胞表面マーカーと特異的に結合する第2の結合剤を含まず、ここで、

該第1のアフィニティクロマトグラフィーマトリックスが、細胞試料を含む貯蔵リザーバに操作可能に接続され、アウトプット槽に操作可能に接続される、

第1のアフィニティクロマトグラフィーマトリックス；

b) 表面上に固定化された第2の結合剤を含む第2のアフィニティクロマトグラフィーマトリックスであって、第2の結合剤が、第2の細胞型上に存在する第2の細胞表面マーカーと特異的に結合し、ここで、

該第1のアフィニティクロマトグラフィーマトリックスが、第2のアフィニティクロマトグラフィーマトリックスに操作可能に接続され、および

該第2のアフィニティクロマトグラフィーマトリックスが、アウトプット槽に操作可能に接続され、廃棄物槽に操作可能に連結される、

第2のアフィニティクロマトグラフィーマトリックス；

c) アウトプット槽；ならびに

d) 廃棄物槽

を含む、ターゲット細胞の精製のための閉鎖された装置システムであって、

閉鎖されたシステム内で、

(i) 該第1のアフィニティクロマトグラフィーマトリックスと結合し、そこから回収された細胞、および

(ii) 該第1のアフィニティクロマトグラフィーマトリックスを通過し、それと結合せず、該第2のクロマトグラフィーマトリックスと結合し、そこから回収された細胞の、該アウトプット槽内における単一組成物での収集を可能にするように構成された、閉鎖された装置システム。

【請求項 35】

第1のアフィニティクロマトグラフィーマトリックスが、CD4+アフィニティクロマトグラフィーマトリックスまたはCD8+アフィニティクロマトグラフィーマトリックスの一方であり、

第2のアフィニティクロマトグラフィーマトリックスが、CD4+アフィニティクロマトグラフィーマトリックスまたはCD8+アフィニティクロマトグラフィーマトリックスのもう一方である、

請求項34記載の閉鎖された装置システム。

【請求項 36】

e) 表面上に固定化された第3の結合剤を含む第3のアフィニティクロマトグラフィーマトリックスであって、結合剤が、第3の細胞表面マーカーと特異的に結合し、第3の結合剤が、第3の細胞表面マーカーを発現している細胞と結合することが可能であり、ここで、

第3の操作可能な接続が、第3のアフィニティクロマトグラフィーマトリックスを第1のマトリックスとさらに操作可能に接続している、

第3のアフィニティクロマトグラフィーマトリックス
をさらに含む、請求項34または請求項35記載の閉鎖された装置システム。

【請求項 37】

アフィニティクロマトグラフィーマトリックスのうち1つまたは複数または全てが、1種または複数種の競合試薬を含む溶出緩衝液リザーバとさらに操作可能に接続されている、
および / または

第1、第2および / または第3のアフィニティクロマトグラフィーマトリックスが競合剤除去チャンバーに操作可能に接続されている、

請求項34～37のいずれか一項記載の閉鎖された装置システム。

【請求項 38】

結合剤のうち1種または複数種または全てが、アフィニティクロマトグラフィーマトリックスと可逆的に結合している、請求項34～37のいずれか一項記載の閉鎖された装置システム。

【請求項 39】

請求項1～28のいずれか一項記載の方法によって產生される細胞および、第1の選択集団の細胞および第2の選択集団の細胞を所望の比で移動させるための説明書を含むキット。

【請求項 40】

養子細胞療法において使用するための、請求項39記載のキット。