

【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1年6月27日(2019.6.27)

【公表番号】特表2018-516082(P2018-516082A)

【公表日】平成30年6月21日(2018.6.21)

【年通号数】公開・登録公報2018-023

【出願番号】特願2017-561975(P2017-561975)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/11	(2006.01)
A 6 1 K	35/17	(2015.01)
A 6 1 K	35/76	(2015.01)
A 6 1 K	35/761	(2015.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 K	31/7105	(2006.01)
A 6 1 K	31/713	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/02	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 N	5/0783	(2010.01)
C 1 2 N	15/113	(2010.01)
C 1 2 N	15/12	(2006.01)
C 1 2 N	15/90	(2006.01)
C 1 2 N	15/63	(2006.01)
C 1 2 N	15/62	(2006.01)
C 1 2 N	15/85	(2006.01)
C 1 2 N	15/861	(2006.01)
C 1 2 N	15/867	(2006.01)
C 1 2 N	15/864	(2006.01)
C 1 2 N	7/01	(2006.01)
C 1 2 N	15/55	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/11	Z
A 6 1 K	35/17	Z
A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	35/761	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	31/713	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	
C 1 2 N	5/10	Z N A
C 1 2 N	5/0783	
C 1 2 N	15/113	1 4 0 Z
C 1 2 N	15/12	
C 1 2 N	15/90	1 0 4 Z
C 1 2 N	15/63	1 0 0 Z
C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	15/62	Z

C 1 2 N	15/85	Z
C 1 2 N	15/861	Z
C 1 2 N	15/867	Z
C 1 2 N	15/864	1 0 0 Z
C 1 2 N	7/01	
C 1 2 N	15/55	
C 1 2 N	15/09	1 1 0
C 1 2 N	15/09	1 0 0

**【手続補正書】**

【提出日】令和1年5月21日(2019.5.21)

**【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) 抗原に特異的に結合する遺伝子操作された抗原受容体を、T細胞を含む細胞の集団に導入する工程、ならびに

(b) 前記T細胞を含む細胞の集団に、作用物質が導入されていない対応するT細胞を含む細胞の集団中のT細胞における1つまたは複数の条件下でのインキュベーション時のPD-L1の発現および/またはアップレギュレーションと比較して前記T細胞を含む集団中のT細胞におけるPD-L1の発現の低減を引き起こすことができかつ/またはPD-L1のアップレギュレーションを阻害することができる前記作用物質を、前記1つまたは複数の条件下でのインキュベーション時に導入する工程

を含み、工程(a)および(b)を同時にまたは任意の順序で逐次的に実行することによって、前記T細胞を含む細胞の集団中のT細胞に前記遺伝子操作された抗原受容体および前記作用物質を導入する、遺伝子操作されたT細胞を生成する方法。

**【請求項2】**

T細胞を含む細胞の集団に、作用物質が導入されていない対応するT細胞を含む細胞の集団における1つまたは複数の条件下でのインキュベーション時のPD-L1の発現および/またはアップレギュレーションと比較して前記集団中のT細胞におけるPD-L1の発現の低減を引き起こすことができかつ/またはPD-L1のアップレギュレーションを阻害することができる前記作用物質を、前記1つまたは複数の条件下でのインキュベーション時に導入する工程を含み、該T細胞が、抗原に特異的に結合する遺伝子操作された抗原受容体を含む、遺伝子操作されたT細胞におけるPD-L1の発現を調節する方法。

**【請求項3】**

抗原の存在を含む前記1つまたは複数の条件下でのインキュベーションが、前記作用物質が導入されていない対応するT細胞を含む集団において、PD-L1の発現および/またはアップレギュレーションを誘導する、請求項1または2記載の方法。

**【請求項4】**

前記抗原の存在下でのインキュベーションが、前記細胞を前記抗原と共にインピトロでインキュベートすることを含む、請求項3記載の方法。

**【請求項5】**

前記抗原の存在下でのインキュベーションが、それぞれ両端の値を含めて2時間～48時間、6時間～30時間、または12時間～24時間であるか、あるいは48時間未満、36時間未満、または24時間未満である、請求項4記載の方法。

**【請求項6】**

前記インキュベーションが、前記抗原の存在を含む条件下で前記T細胞を含む細胞の集

団を対象に投与することを含み、それによって、前記操作された抗原受容体が、該インキュベーションの少なくとも一部にわたって前記抗原に特異的に結合する、請求項3記載の方法。

【請求項7】

前記インキュベーションが、前記対象への細胞の投与後24時間、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日または10日の期間内に、前記作用物質が導入されていない対応するT細胞を含む細胞の集団において、PD-L1の発現および/またはアップレギュレーションを誘導する、請求項6記載の方法。

【請求項8】

前記集団中のT細胞におけるPD-L1の発現の低減および/またはアップレギュレーションの阻害が、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%もしくはそれ以上、または少なくとも約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%もしくはそれ以上である、請求項1~7のいずれか一項記載の方法。

【請求項9】

エクスピボで行われる、請求項1~8のいずれか一項記載の方法。

【請求項10】

前記導入する工程が、前記集団中のT細胞におけるPD-L1の発現の一時的な低減または妨害を引き起こすために前記集団中のT細胞における前記作用物質の一過性の発現を誘導する工程を含み、かつ/または前記低減または妨害が永続的でない、請求項1~9のいずれか一項記載の方法。

【請求項11】

前記作用物質の発現が条件的であり、前記発現が、条件的なプロモーターまたはエンハンサーまたはトランスクレベーターの制御下にある、請求項1~10のいずれか一項記載の方法。

【請求項12】

前記プロモーターが、誘導性プロモーターまたは抑制性のプロモーターである、請求項11記載の方法。

【請求項13】

前記作用物質が、前記細胞におけるPD-L1の発現の持続的な低減または妨害を引き起こすために前記集団中のT細胞において安定に発現される、請求項1~9のいずれか一項記載の方法。

【請求項14】

前記作用物質が、前記細胞におけるPD-L1の発現を低減する阻害性核酸分子である、請求項1~13のいずれか一項記載の方法。

【請求項15】

前記阻害性核酸分子がRNA干渉作用物質を含む、請求項14記載の方法。

【請求項16】

前記阻害性核酸が、低分子干渉RNA ( siRNA ) 、マイクロRNA適合shRNA、短鎖ヘアピンRNA ( shRNA ) 、ヘアピンsiRNA、前駆体マイクロRNA ( pre-miRNA ) もしくはマイクロRNA ( miRNA ) であるか、またはそれを含むか、またはそれをコードする、請求項14または15記載の方法。

【請求項17】

前記阻害性核酸分子が、PD-L1コード核酸に相補的な配列を含む、請求項15または16記載の方法。

【請求項18】

前記阻害性核酸分子が、PD-L1コード核酸に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む、請求項14記載の方法。

【請求項19】

前記低減を引き起こすことができかつ/またはアップレギュレーションを阻害することができる作用物質が、PD-L1をコードする遺伝子を破壊する、請求項1~13のいずれか一項

記載の方法。

【請求項 20】

前記破壊が、前記遺伝子をDNAレベルで破壊することを含み、かつ/または前記破壊が可逆的ではなく、かつ/または前記破壊が一過性ではない、  
請求項19記載の方法。

【請求項 21】

前記破壊が、前記遺伝子に特異的に結合またはハイブリダイズするDNA結合タンパク質またはDNA結合核酸を導入することを含む、請求項19または20記載の方法。

【請求項 22】

前記破壊が、(i) DNA標的化タンパク質とヌクレアーゼとを含む融合タンパク質または(ii) RNAガイド型ヌクレアーゼを導入することを含む、請求項21記載の方法。

【請求項 23】

前記DNA標的化タンパク質またはRNAガイド型ヌクレアーゼが、前記遺伝子に特異的なジンクフィンガータンパク質(ZFP)、TALタンパク質、またはクラスター化して規則的な配置の短い回文配列核酸(CRISPR)を含む、請求項22記載の方法。

【請求項 24】

前記作用物質が、前記遺伝子に特異的に結合する、または前記遺伝子を特異的に認識する、または前記遺伝子に特異的にハイブリダイズする、ジンクフィンガーヌクレアーゼ(ZFN)、TALエフェクターヌクレアーゼ(TALEN)、または、CRISPR-Cas9の組み合わせを含む、請求項19~23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 25】

前記導入が、前記DNA結合タンパク質をコードする配列を含む核酸、DNA結合核酸、および/または前記DNA結合タンパク質もしくはDNA結合核酸を含む複合体を導入することによって実行される、請求項21~24のいずれか一項記載の方法。

【請求項 26】

前記遺伝子への前記特異的結合が、前記遺伝子のエクソンの内部であり、かつ/または前記遺伝子の、コードされるポリペプチドのN末端をコードしている部分の内部である、請求項21~25のいずれか一項記載の方法。

【請求項 27】

前記導入が、前記遺伝子におけるフレームシフト変異および/または前記遺伝子のコード領域内での早期停止コドンの挿入を引き起こす、請求項21~26のいずれか一項記載の方法。

【請求項 28】

前記T細胞を含む細胞の集団に、さらなる作用物質が導入されていない対応するT細胞を含む細胞の集団における1つまたは複数の条件下でのインキュベーション時のPD-1の発現および/またはアップレギュレーションと比較して前記集団中のT細胞におけるPD-1の発現の低減を引き起こすことができかつ/またはPD-1のアップレギュレーションを阻害することができる前記さらなる作用物質を、前記1つまたは複数の条件下でのインキュベーション時に導入する工程

をさらに含み、前記PD-1の発現の低減および/またはアップレギュレーションの阻害が一時的または一過性である、請求項1~27のいずれか一項記載の方法。

【請求項 29】

前記さらなる作用物質が、前記細胞におけるPD-1の発現の条件的な低減または妨害を引き起こすために前記T細胞を含む細胞の集団において誘導性に発現または抑制される、請求項28記載の方法。

【請求項 30】

前記さらなる作用物質が、前記細胞におけるPD-1の発現を低減する阻害性核酸分子である、請求項28または29記載の方法。

【請求項 31】

前記阻害性核酸分子がRNA干渉作用物質を含む、請求項30記載の方法。

【請求項32】

前記阻害性核酸が、低分子干渉RNA(siRNA)、マイクロRNA適合shRNA、短鎖ヘアピンRNA(shRNA)、ヘアピンsiRNA、前駆体マイクロRNA(pre-miRNA)もしくはマイクロRNA(miRNA)であるか、またはそれを含むか、またはそれをコードする、請求項30または31記載の方法。

【請求項33】

前記阻害性核酸分子がPD-1コード核酸に相補的な配列を含む、請求項30～32のいずれか一項記載の方法。

【請求項34】

前記阻害性核酸分子が、PD-1コード核酸に相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む、請求項30記載の方法。

【請求項35】

前記T細胞が、CD4+T細胞またはCD8+T細胞である、請求項1～34のいずれか一項記載の方法。

【請求項36】

前記遺伝子操作された抗原受容体が機能的な非T細胞受容体である、請求項1～35のいずれか一項記載の方法。

【請求項37】

前記遺伝子操作された抗原受容体がキメラ抗原受容体(CAR)である、請求項1～36のいずれか一項記載の方法。

【請求項38】

前記CARが、前記抗原に特異的に結合する細胞外抗原認識ドメインと、ITAMを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、請求項37記載の方法。

【請求項39】

前記細胞内シグナル伝達ドメインがCD3-ゼータ(CD3 $\zeta$ )鎖の細胞内ドメインを含む、請求項38記載の方法。

【請求項40】

前記CARが補助刺激シグナル伝達領域をさらに含む、請求項38または39記載の方法。

【請求項41】

前記補助刺激シグナル伝達領域が、CD28または4-1BBのシグナル伝達ドメインを含む、請求項40記載の方法。

【請求項42】

前記T細胞がヒト細胞である、請求項1～41のいずれか一項記載の方法。

【請求項43】

請求項1～42のいずれか一項記載の方法によって生成される細胞。

【請求項44】

請求項43記載の細胞と薬学的に許容される担体とを含む薬学的組成物。