

【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6年12月10日(2024.12.10)

【国際公開番号】WO2022/120370
 【公表番号】特表2023-552998(P2023-552998A)
 【公表日】令和5年12月20日(2023.12.20)
 【年通号数】公開公報(特許)2023-239
 【出願番号】特願2023-533999(P2023-533999)
 【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/09(2006.01)
 C 1 2 N 5/10(2006.01)
 C 1 2 N 5/0783(2010.01)
 C 1 2 N 15/62(2006.01)
 C 1 2 N 15/12(2006.01)
 A 6 1 P 35/00(2006.01)
 A 6 1 P 37/04(2006.01)
 A 6 1 K 35/17(2015.01)
 A 6 1 K 35/545(2015.01)
 C 1 2 N 15/13(2006.01)
 C 1 2 N 15/24(2006.01)
 A 6 1 K 38/20(2006.01)

20

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 0 0
 C 1 2 N 5/10 Z N A
 C 1 2 N 5/0783
 C 1 2 N 15/62 Z
 C 1 2 N 15/12
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 37/04
 A 6 1 K 35/17
 A 6 1 K 35/545
 C 1 2 N 15/13
 C 1 2 N 15/24
 A 6 1 K 38/20

30

【手続補正書】

【提出日】令和6年11月29日(2024.11.29)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

40

【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】

遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団であって、
 細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞傷害性シグナル伝達複合体
 を含む細胞傷害性受容体を発現する、遺伝子操作された免疫細胞を含み、
 細胞外リガンド結合ドメインは、標的腫瘍細胞によって発現される腫瘍マーカーを標的
 とし、

50

免疫細胞は、C I S タンパク質をコードする C I S H 遺伝子の 1 つ以上の標的位置で遺伝子編集され、編集は、C I S H 遺伝子における 1 つまたは複数の前記位置で編集されていない免疫細胞と比較して、C I S の減少した発現および/または機能をもたらす；

免疫細胞は、C B L B タンパク質をコードする C b 1 プロトオンコジーン B タンパク質 (C B L B) 遺伝子における 1 つ以上の標的位置で遺伝子編集され、編集は、C B L B 遺伝子における 1 つまたは複数の前記位置で編集されていない免疫細胞と比較して、C B L B タンパク質の減少した発現および/または機能をもたらす；

遺伝子操作および編集された免疫細胞は、C I S H 遺伝子および C B L B 遺伝子における前記遺伝子編集を含まない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの 1 つ以上を示す、遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

10

【請求項 2】

遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞が、トランスフォーミング増殖因子受容体ベータ 2 (T G F B R 2)、T I G I T、N K G 2 A、S O C S 2、B 2 M、P D - 1、T I M - 3、または T C R アルファをコードする遺伝子におけるさらなる標的部位で編集される、請求項 1 に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

【請求項 3】

配列番号 1 5 3 ~ 1 5 7 または 5 6 2 ~ 5 6 5 のいずれかのガイド配列を使用して、C I S H 遺伝子を標的化する、請求項 1 に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団

20

【請求項 4】

配列番号 1 6 4 ~ 1 6 6 または 5 5 2 ~ 5 5 5 のいずれかのガイド配列を使用して、C B L B 遺伝子を標的化する、請求項 1 に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

【請求項 5】

遺伝子操作された免疫細胞の少なくとも一部が、膜結合 I L - 1 5 を発現するように操作されている、請求項 1 に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

【請求項 6】

細胞傷害性シグナル伝達複合体が、O X 4 0 サブドメインと C D 3 ゼータサブドメインを含む、請求項 1 に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

30

【請求項 7】

配列番号 1 4 7 ~ 1 5 2 または 5 4 4 ~ 5 4 7 のいずれかのガイド配列を使用して、T G F B R 2 遺伝子を標的化する、請求項 2 に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

【請求項 8】

配列番号 5 0 7 ~ 5 1 0 のいずれかのガイド配列を使用して、T I G I T 遺伝子を標的化する、請求項 2 に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

【請求項 9】

遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞が、ナチュラルキラー (N K) 細胞、T 細胞、またはそれらの組み合わせを含む、請求項 1 に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

40

【請求項 10】

遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞が、ナチュラルキラー (N K) 細胞を含む、請求項 1 に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

【請求項 11】

細胞傷害性受容体が、標的腫瘍細胞によって発現される、C D 7 0、N K G 2 D、C D 1 9、B C M A、C D 3 8、G P R C 5 D、D L L 3、E G F R、P S M A、F L T 3 のリガンドのうちの 1 つ以上、またはそれらの任意の組み合わせを標的とする、請求項 1 に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

【請求項 12】

50

細胞が、C D 1 9 を標的とする細胞傷害性受容体複合体を発現するように操作されていない、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

【請求項 1 3】

細胞が、N K G 2 D 受容体のリガンドを標的とする細胞傷害性受容体複合体を発現するように操作されていない、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

【請求項 1 4】

(i) 配列番号 5 4 8 ~ 5 5 1 のいずれかのガイド配列が N K G 2 A 遺伝子を標的とするために使用される、(i i) 配列番号 5 5 6 ~ 5 6 1 のいずれかのガイド配列が S O C S 2 遺伝子を標的とするために使用される、_(i i i) 配列番号 1 9 9 ~ 2 0 8 のいずれかのガイド配列が B 2 M 遺伝子を標的とするために使用される、_(i v) 配列番号 5 1 1 ~ 5 1 4 のいずれかのガイド配列が P D - 1 遺伝子を標的とするために使用される、_(v) 配列番号 5 1 5 ~ 5 1 8 のいずれかのガイド配列が T I M - 3 遺伝子を標的とするために使用される、および (v i) 配列番号 5 6 6 ~ 5 6 8 のいずれかのガイド配列が T C R アルファ遺伝子を標的とするために使用される、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

10

【請求項 1 5】

(i) 配列番号 5 0 3 ~ 5 0 6 のいずれかのガイド配列が アデノシン A 2 受容体遺伝子を標的とするために使用される、_(i i) 配列番号 4 9 1 ~ 4 9 3 のいずれかのガイド配列が S M A D 3 遺伝子を標的とするために使用される、_(i i i) 配列番号 4 9 4 ~ 4 9 6 のいずれかのガイド配列が M A P K A P K 3 遺伝子を標的とするために使用される、_(i v) 配列番号 4 9 7 ~ 4 9 9 のいずれかのガイド配列が C E A C A M 1 遺伝子を標的とするために使用される、_(v) 配列番号 5 0 0 ~ 5 0 2 のいずれかのガイド配列が D D I T 4 遺伝子を標的とするために使用される、および (v i) 配列番号 5 1 9 ~ 5 2 2 のいずれかのガイド配列が C D 3 8 遺伝子を標的とするために使用される、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

20

【請求項 1 6】

遺伝子操作および編集された免疫細胞が、移植片対宿主疾患のリスクを減少させる同種異系がん細胞療法における使用に適している、請求項 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

30

【請求項 1 7】

対象におけるがんの処置における使用のための、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

【請求項 1 8】

遺伝子編集された免疫細胞集団を製造する方法であって、

免疫細胞集団を第 1 の遺伝子編集複合体と接触させ、

第 1 の遺伝子編集複合体が、C I S H 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、C I S H 遺伝子によってコードされる C I S タンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞の C I S H 遺伝子における 1 つ以上の標的部位で編集すること；なら

40

びに

免疫細胞集団を第 2 の遺伝子編集複合体と接触させ、

第 2 の遺伝子編集複合体が、C B L B 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、C B L B 遺伝子によってコードされる C B L B タンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞の C B L B 遺伝子における 1 つ以上の標的部位で編集することを含み、

遺伝子編集された免疫細胞は、前記遺伝子編集された 1 つまたは複数の標的部位を含まない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの 1 つ以上を示す、方法。

【請求項 1 9】

50

—遺伝子編集された免疫細胞集団を製造する方法であって、

免疫細胞集団を第1の遺伝子編集複合体と接触させ、

第1の遺伝子編集複合体が、C I S H 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、C I S H 遺伝子によってコードされるC I S タンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞のC I S H 遺伝子における1つ以上の標的部位で編集すること；ならびに

免疫細胞集団を第2の遺伝子編集複合体と接触させ、

第2の遺伝子編集複合体が、T G F B R 2 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、T G F B R 2 遺伝子によってコードされるT G F B R 2 タンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞のT G F B R 2 遺伝子における1つ以上の標的部位で編集することを含み、

遺伝子編集された免疫細胞は、前記遺伝子編集された1つまたは複数の標的部位を含まない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの1つ以上を示す、方法。

【請求項20】

—遺伝子編集された免疫細胞集団を製造する方法であって、

免疫細胞集団を第1の遺伝子編集複合体と接触させ、

第1の遺伝子編集複合体が、C I S H 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、C I S H 遺伝子によってコードされるC I S タンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞のC I S H 遺伝子における1つ以上の標的部位で編集すること；ならびに

免疫細胞集団を第2の遺伝子編集複合体と接触させ、

第2の遺伝子編集複合体が、T I G I T 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、T I G I T 遺伝子によってコードされるT I G I T タンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞のT I G I T 遺伝子における1つ以上の標的部位で編集することを含み、

遺伝子編集された免疫細胞は、前記遺伝子編集された1つまたは複数の標的部位を含まない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの1つ以上を示す、方法。

【請求項21】

—遺伝子編集された免疫細胞集団を製造する方法であって、

免疫細胞集団を第1の遺伝子編集複合体と接触させ、

第1の遺伝子編集複合体が、C I S H 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、C I S H 遺伝子によってコードされるC I S タンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞のC I S H 遺伝子における1つ以上の標的部位で編集すること；ならびに

免疫細胞集団を第2の遺伝子編集複合体と接触させ、

第2の遺伝子編集複合体が、さらなる遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、さらなる遺伝子によってコードされるタンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞のさらなる遺伝子における1つ以上の標的部位で編集することを含み、

遺伝子編集された免疫細胞は、前記遺伝子編集された1つまたは複数の標的部位を含まない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの1つ以上を示す、方法。

【請求項22】

免疫細胞集団を、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞傷害性シグナル伝達複合体を含む細胞傷害性受容体をコードするポリヌクレオチドを含むベクターと接触させることをさらに含む、請求項18～21のいずれか一項に記載の方法。

【請求項23】

N K G 2 A、S O C S 2、B 2 M、P D - 1、T I M - 3、またはT C R アルファのうちの1つをコードする1つ以上の遺伝子においてさらなる編集を行うことをさらに含む、

10

20

30

40

50

請求項 20 ~ 22 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

細胞傷害性受容体が、標的腫瘍細胞によって発現される CD70、NKG2D、CD19、BCMA、CD38、GPRC5D、DLL3、EGFR、PSMA、FLT3 のリガンドのうちの一つ以上、またはそれらの任意の組み合わせを標的とする、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 25】

免疫細胞が、ナチュラルキラー（NK）細胞、T細胞、またはそれらの組み合わせを含む、請求項 18 ~ 24 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 26】

遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団であって、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞傷害性シグナル伝達複合体を含む細胞傷害性受容体を発現する、遺伝子操作された免疫細胞を含み、

細胞外リガンド結合ドメインは、CD70、NKG2D リガンド、CD19、BCMA、CD38、GPRC5D、CD138、DLL3、EGFR、PSMA、FLT3 および KREMEN2 からなる群より選択される腫瘍マーカーを標的とし、

遺伝子操作された免疫細胞の少なくとも一部は、膜結合 IL-15 を発現するように操作され、

免疫細胞は、編集されていない免疫細胞と比較して、編集された標的部位を含む遺伝子によってコードされるタンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞のゲノムにおける一つ以上の標的部位で遺伝子編集され、

前記タンパク質が、CISH、アデノシンA2受容体、SMAD3、MAPKAPK3、CEACAM1、DDIT4、TGFB R2R、NKG2A、SOCS2、CBLB、B2M、TIGIT、PD-1、TIM-3、CD38、TCRアルファ、およびそれらの任意の組み合わせからなる群より選択され、

遺伝子操作および編集された免疫細胞は、前記遺伝子編集された標的部位または複数の標的部位を含まない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの一つ以上を示す、遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

【請求項 27】

(i) 配列番号 562 ~ 565 のいずれかのガイド配列が C I S をコードする遺伝子を標的とするために使用される、(ii) 配列番号 491 ~ 493 のいずれかのガイド配列が S M A D 3 遺伝子を標的とするために使用される、(iii) 配列番号 494 ~ 496 のいずれかのガイド配列が M A P K A P K 3 遺伝子を標的とするために使用される、(iv) 配列番号 497 ~ 499 のいずれかのガイド配列が C E A C A M 1 遺伝子を標的とするために使用される、(v) 配列番号 500 ~ 502 のいずれかのガイド配列が D D I T 4 遺伝子を標的とするために使用される、(vi) 配列番号 544 ~ 547 のいずれかのガイド配列が T G F B R 2 遺伝子を標的とするために使用される、(vii) 配列番号 548 ~ 551 のいずれかのガイド配列が N K G 2 A 遺伝子を標的とするために使用される、(viii) 配列番号 556 ~ 561 のいずれかのガイド配列が S O C S 2 遺伝子を標的とするために使用される、(ix) 配列番号 552 ~ 555 のいずれかのガイド配列が C B L B 遺伝子を標的とするために使用される、(x) 配列番号 290 ~ 299 のいずれかのガイド配列が B 2 M 遺伝子を標的とするために使用される、(xi) 配列番号 507 ~ 510 のいずれかのガイド配列が T I G I T 遺伝子を標的とするために使用される、(xii) 配列番号 511 ~ 514 のいずれかのガイド配列が P D - 1 遺伝子を標的とするために使用される、(xiii) 配列番号 515 ~ 518 のいずれかのガイド配列が T I M - 3 遺伝子を標的とするために使用される、(xiv) 配列番号 519 ~ 522 のいずれかのガイド配列が C D 3 8 遺伝子を標的とするために使用される、および/または (xv) 配列番号 566 ~ 569 のいずれかのガイド配列が T C R アルファ遺伝子を標的とするために使用される、請求項 26 に記載の免疫細胞集団。

10

20

30

40

50

【請求項 28】

細胞外リガンド結合ドメインが、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、およびULBP6からなる群から選択される腫瘍マーカーに対する指向性を有する受容体を含む、請求項26または27に記載の免疫細胞集団。

【請求項 29】

NK細胞によって発現される細胞傷害性受容体が、(i) NKG2Dリガンド結合ドメイン、(ii) CD8膜貫通ドメイン、および(iii) OX40共刺激サブドメインとCD3ζ共刺激サブドメインを含むシグナル伝達複合体を含む、請求項26～28のいずれか一項に記載の免疫細胞集団。

10

【請求項 30】

細胞傷害性受容体が、標的腫瘍細胞によって発現されるNKG2D受容体リガンド、CD70、CD19、BCMA、CD38、GPRC5D、CD138、DLL3、EGFR、PSMA、FLT3、またはKREMEN2のうちの一つ以上を標的とする、請求項26～29のいずれか一項に記載の免疫細胞集団。

【請求項 31】

細胞傷害性シグナル伝達複合体が、OX40サブドメインまたは4-1BBドメイン、およびCD3ゼータサブドメインを含む、請求項26～30のいずれか一項に記載の免疫細胞集団。

【請求項 32】

免疫細胞が、ナチュラルキラー(NK)細胞、T細胞、誘導多能性幹細胞(iPSC)、iPSC由来NK細胞、NK-92細胞、またはそれらの組み合わせを含む、請求項26～31のいずれか一項に記載の免疫細胞集団。

20

【請求項 33】

遺伝子操作および編集された免疫細胞が、移植片対宿主疾患のリスクを減少させる同種異系がん細胞療法における使用に適している、および/または遺伝子操作された免疫細胞間の細胞傷害活性のリスクを減少させる同種異系がん細胞療法における使用に適している、請求項26～32のいずれか一項に記載の免疫細胞集団。

【請求項 34】

がん免疫療法のための遺伝子操作された免疫細胞集団であって、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞傷害性シグナル伝達複合体を含む細胞傷害性受容体を発現する、遺伝子操作された免疫細胞を含み、遺伝子操作された免疫細胞の少なくとも一部は、膜結合IL-15を発現するように操作され、

30

遺伝子操作された免疫細胞は、(i) 切断型ヒトCD47、p15Eペプチド、HIVペプチド、およびHTLVペプチドのうちの一つ以上、(ii) 切断型ヒトCD47ドメインおよび少なくとも一つのp15Eペプチド、HIVペプチド、およびHTLVペプチド、(iii) 切断型ヒトCD47ドメインおよび少なくとも一つのHIVペプチド、(iv) 切断型ヒトCD47ドメインおよび少なくとも一つのHTLVペプチド、(v) 配列番号256、259、262、265、268、271のうちの一つ以上と少なくとも95%の配列同一性を有する配列、または(vi) ウイルスUL18タンパク質を含む少なくとも一つの免疫抑制エフェクターを発現するように操作され、

40

少なくとも一つの免疫抑制エフェクターは抑制細胞の望ましくない細胞傷害活性に対して抑制効果を発揮し、

遺伝子操作された免疫細胞は、前記免疫抑制エフェクターを含まない細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの一つ以上を示す、遺伝子操作された免疫細胞集団。

【請求項 35】

遺伝子操作されたNK細胞および遺伝子操作されたT細胞のうちの一つ以上を含む、請求項34に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

50

【請求項 36】

少なくとも1つの免疫抑制エフェクターが免疫細胞の細胞外膜に結合され、少なくとも1つの免疫抑制エフェクターが膜貫通タンパク質を含み、膜貫通タンパク質がCD8、CD4、CD3、CD3、CD3、CD3、CD28、CD137、グリコホリンA、グリコホリンD、ニコチン性アセチルコリン受容体、GABA受容体、FcRI、およびT細胞受容体から選択される、請求項34または35に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

【請求項 37】

免疫抑制エフェクターが、配列番号199~215、219、220、223、225、228、230、235、238、240、243、250、または253のうちの1つ以上と少なくとも95%の配列同一性を有する1つ以上のペプチドを含む、請求項34~36のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

【請求項 38】

遺伝子操作された免疫細胞集団を製造する方法であって、

免疫細胞集団を、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞傷害性シグナル伝達複合体を含む細胞傷害性受容体をコードするポリヌクレオチドと接触させること；

免疫細胞集団を、(i)切断型ヒトCD47、p15Eペプチド、HIVペプチド、およびHTLVペプチドのうちの2つ以上、(ii)切断型ヒトCD47ドメインおよび少なくとも1つのp15Eペプチド、HIVペプチド、およびHTLVペプチド、(iii)切断型ヒトCD47ドメインおよび少なくとも1つのHIVペプチド、(iv)切断型ヒトCD47ドメインおよび少なくともHTLVペプチド、(v)配列番号256、259、262、265、268、271のうちの1つ以上と少なくとも95%の配列同一性を有する配列、または(vi)ウイルスUL18タンパク質を含む少なくとも1つの免疫抑制エフェクターをコードするさらなるポリヌクレオチドと接触させることを含み、

少なくとも1つの免疫抑制エフェクターは抑制細胞の細胞傷害活性に対して抑制効果を発揮し、

遺伝子操作された免疫細胞は、前記少なくとも1つの免疫抑制エフェクターを含まない細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの1つ以上を示す、方法。

【請求項 39】

遺伝子操作された免疫細胞の混合集団の中でのフラトリサイドを減少させる方法であって、

混合免疫細胞集団由来の免疫細胞の第1の部分集団を、少なくとも1つの免疫抑制エフェクターをコードするポリヌクレオチドと接触させ、

免疫細胞の第1の部分集団による少なくとも1つの免疫抑制エフェクターの発現が、免疫細胞の第1の部分集団に対する指向性を有する免疫細胞の第2の部分集団の抑制活性を減少させること；ならびに

混合免疫細胞集団由来の第2の部分集団を、少なくともさらなる免疫抑制エフェクターをコードするポリヌクレオチドと接触させ、

免疫細胞の第2の部分集団による少なくともさらなる免疫抑制エフェクターの発現は、免疫細胞の第2の部分集団に対する指向性を有する免疫細胞の第1の部分集団の抑制活性を減少させることを含み、

第1の部分集団および第2の部分集団による免疫抑制エフェクターの発現は、遺伝子操作された免疫細胞集団の中でのフラトリサイドを減少させる、方法。

【請求項 40】

遺伝子操作された免疫細胞集団を操作する方法であって、

(a)免疫細胞の表面上のヒト白血球抗原(HLA)の発現を減少させるように、NK細胞とT細胞を含む免疫細胞の混合集団を遺伝子編集し、

免疫細胞の表面上のHLAの減少した発現が、編集された免疫細胞集団に対するT細胞

10

20

30

40

50

媒介性細胞傷害性を減少させ、

細胞の表面上の H L A の減少した発現が、編集された免疫細胞集団を編集された免疫細胞に対する N K 媒介性細胞傷害性に感受性にする事；ならびに

(b) 免疫細胞の混合集団に対する N K 媒介性細胞傷害性を減少させる 1 つ以上の免疫抑制エフェクターを発現するように、編集された細胞を遺伝子操作し、

1 つ以上の免疫抑制エフェクターは、ウイルス免疫抑制ペプチド、H L A ホモログであるウイルスタンパク質、H L A - E、H L A - G、細胞のファゴサイトーシスを減少させるヒトタンパク質またはその断片、ウイルス免疫抑制ペプチドおよび細胞のファゴサイトーシスを減少させるヒトタンパク質もしくはその断片を含むキメラコンストラクトのうちの 1 つ以上、またはそれらの組み合わせを含み、

減少された T 細胞媒介性細胞傷害性は、操作された N K 細胞に対する操作された T 細胞媒介性フラトリサイド型細胞傷害性を減少させ、対象への投与時に、操作された N K 細胞に対する宿主 T 細胞媒介性細胞傷害性を減少させ、

減少した N K 細胞媒介性細胞傷害性は、操作された T 細胞に対する操作された N K 細胞媒介性フラトリサイド型細胞傷害性を減少させ、投与時に、操作された N K 細胞および操作された T 細胞に対する宿主 N K 細胞媒介性細胞傷害性を減少させる、方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 0 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 0 5】

免疫療法は、疾患の処置における新たな技術的進歩を提供し、免疫細胞は、疾患または損傷細胞を特異的に識別し反応する特定の標的化および / またはエフェクター分子を発現するように操作されている。これは、少なくとも部分的には、全ての細胞が影響を受ける化学療法などのより伝統的なアプローチとは対照的に、疾患または損傷細胞を特異的に標的化する可能性に起因する有望な進歩を示し、所望の転帰は、患者が生存するのに十分な健全な細胞が生存することである。1 つの免疫療法アプローチは、免疫細胞におけるキメラ受容体の組換え発現であり、さらに、目的の異常細胞の効率的で持続的な標的認識および破壊を達成するために、治療細胞に対する有害な免疫応答を回避するために細胞を操作または遺伝子編集することである。

本開示は以下の態様を提供し得る。

[項 1]

遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団であって、

細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞傷害性シグナル伝達複合体を含む細胞傷害性受容体を発現する、遺伝子操作された免疫細胞を含み、

細胞外リガンド結合ドメインは、標的腫瘍細胞によって発現される腫瘍マーカーを標的とし、

免疫細胞は、C I S タンパク質をコードする C I S H 遺伝子の 1 つ以上の標的位置で遺伝子編集され、編集は、C I S H 遺伝子における 1 つまたは複数の位置で編集されていない免疫細胞と比較して、C I S の減少した発現および / または機能をもたらし；

免疫細胞は、C B L B タンパク質をコードする C b 1 プロトオンコジーン B タンパク質 (C B L B) 遺伝子における 1 つ以上の標的位置で遺伝子編集され、編集は、C B L B 遺伝子における 1 つまたは複数の位置で編集されていない免疫細胞と比較して、C B L B タンパク質の減少した発現および / または機能をもたらし；

遺伝子操作および編集された免疫細胞は、C I S H および C B L B 遺伝子における前記遺伝子編集を含まない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの 1 つ以上を示す、遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 2]

10

20

30

40

50

遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団であって、免疫細胞は、免疫細胞のゲノムにおける1つ以上のさらなる標的部位で編集されて、編集されていない免疫細胞と比較して、編集された標的部位を含む遺伝子によってコードされるタンパク質の減少したレベルの発現をもたらす、遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 3]

細胞が、トランスフォーミング増殖因子受容体ベータ2 (T G F B R 2) 遺伝子のさらなる標的部位で編集される、項2に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 4]

細胞が T I G I T 遺伝子のさらなる標的部位で編集される、項2に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

10

[項 5]

配列番号 1 5 3 ~ 1 5 7 または 5 6 2 ~ 5 6 5 のいずれかのガイド配列を使用して、C I S H 遺伝子を標的化する、項1に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 6]

配列番号 1 6 4 ~ 1 6 6 または 5 5 2 ~ 5 5 5 のいずれかのガイド配列を使用して、C B L B 遺伝子を標的化する、項1に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 7]

遺伝子操作された免疫細胞の少なくとも一部が、膜結合 I L - 1 5 を発現するように操作されている、項1に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

20

[項 8]

配列番号 1 4 7 ~ 1 5 2 または 5 4 4 ~ 5 4 7 のいずれかのガイド配列を使用して、T G F B R 2 遺伝子を標的化する、項3に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 9]

配列番号 5 0 7 ~ 5 1 0 のいずれかのガイド配列を使用して、T I G I T 遺伝子を標的化する、項4に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 1 0]

免疫細胞が、ナチュラルキラー (N K) 細胞、T細胞、またはそれらの組み合わせを含む、項1に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

30

[項 1 1]

細胞が、N K G 2 A、S O C S 2、B 2 M、P D - 1、T I M - 3、または T C R アルファをコードする遺伝子における1つ以上のさらなる標的部位でさらに編集されている、項2に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 1 2]

細胞が C D 7 0 遺伝子標的部位で編集されていない、項1に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 1 3]

細胞傷害性受容体が、標的腫瘍細胞によって発現される N K G 2 D、C D 1 9、C D 7 0、B C M A、C D 3 8、G P R C 5 D、D L L 3、E G F R、P S M A、F L T 3 のリガンドのうち1つ以上、またはそれらの任意の組み合わせを標的とする、項1に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

40

[項 1 4]

細胞が、C D 7 0 を標的とする細胞傷害性受容体複合体を発現するように操作されていない、項1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 1 5]

細胞が、C D 1 9 を標的とする細胞傷害性受容体複合体を発現するように操作されてい

50

ない、項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 1 6]

細胞が、NK G 2 D 受容体のリガンドを標的とする細胞傷害性受容体複合体を発現するように操作されていない、項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 1 7]

細胞が、(i) 配列番号 5 4 8 ~ 5 5 1 のいずれかのガイド配列が NK G 2 A 遺伝子を標的とするために使用される、NK G 2 A をコードする遺伝子、(i i) 配列番号 5 5 6 ~ 5 6 1 のいずれかのガイド配列が S O C S 2 遺伝子を標的とするために使用される、S O C S 2 をコードする遺伝子、(i i i) 配列番号 1 9 9 ~ 2 0 8 のいずれかのガイド配列が B 2 M 遺伝子を標的とするために使用される、B 2 M をコードする遺伝子、(i v) 配列番号 5 1 1 ~ 5 1 4 のいずれかのガイド配列が P D - 1 遺伝子を標的とするために使用される、P D - 1 をコードする遺伝子、(v) 配列番号 5 1 5 ~ 5 1 8 のいずれかのガイド配列が T I M - 3 遺伝子を標的とするために使用される、T I M - 3 をコードする遺伝子、および (v i) 配列番号 5 6 6 ~ 5 6 8 のいずれかのガイド配列が T C R アルファ遺伝子を標的とするために使用される、T C R アルファをコードする遺伝子のうちの 1 つ以上でさらに編集されている、前記項のいずれか一項に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 1 8]

細胞が、(i) 配列番号 5 0 3 ~ 5 0 6 のいずれかのガイド配列が アデノシン A 2 受容体遺伝子を標的とするために使用される、アデノシン A 2 受容体をコードする遺伝子、(i i) 配列番号 4 9 1 ~ 4 9 3 のいずれかのガイド配列が S M A D 3 遺伝子を標的とするために使用される、S M A D 3 をコードする遺伝子、(i i i) 配列番号 4 9 4 ~ 4 9 6 のいずれかのガイド配列が M A P K A P K 3 遺伝子を標的とするために使用される、M A P K A P K 3 をコードする遺伝子、(i v) 配列番号 4 9 7 ~ 4 9 9 のいずれかのガイド配列が C E A C A M 1 遺伝子を標的とするために使用される、C E A C A M 1 をコードする遺伝子、(v) 配列番号 5 0 0 ~ 5 0 2 のいずれかのガイド配列が D D I T 4 遺伝子を標的とするために使用される、D D I T 4 をコードする遺伝子、および (v i) 配列番号 5 1 9 ~ 5 2 2 のいずれかのガイド配列が C D 3 8 遺伝子を標的とするために使用される、C D 3 8 をコードする遺伝子のうちの 1 つ以上でさらに編集されている、前記項のいずれか一項に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 1 9]

遺伝子操作および編集された免疫細胞が、移植片対宿主疾患のリスクを減少させる同種異系がん細胞療法における使用に適している、前記項のいずれか一項に記載の遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 2 0]

前記項のいずれかに記載の免疫細胞集団の少なくとも一部を対象に投与することを含む、対象におけるがんを処置する方法。

[項 2 1]

がんを処置するための、項 1 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の遺伝子操作および編集された免疫細胞の使用。

[項 2 2]

がんを処置するための医薬を調製するための、項 1 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の遺伝子操作および編集された免疫細胞の使用。

[項 2 3]

がん免疫療法のための遺伝子編集された免疫細胞集団を製造する方法であって、免疫細胞集団を第 1 の遺伝子編集複合体と接触させ、第 1 の遺伝子編集複合体が、C I S H 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、C I S H 遺伝子によってコードされる C I S タンパク質の減少したレベルの発現をもたら

10

20

30

40

50

すように、免疫細胞の C I S H 遺伝子における 1 つ以上の標的部位で編集すること；ならびに

免疫細胞集団を第 2 の遺伝子編集複合体と接触させ、
第 2 の遺伝子編集複合体が、C B L B 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、C B L B 遺伝子によってコードされる C B L B タンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞の C B L B 遺伝子における 1 つ以上の標的部位で編集することを含み、

遺伝子編集された免疫細胞は、前記遺伝子編集された 1 つまたは複数の標的部位を含まない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの 1 つ以上を示す、方法。

[項 2 4]

がん免疫療法のための遺伝子編集された免疫細胞集団を製造する方法であって、
免疫細胞集団を第 1 の遺伝子編集複合体と接触させ、
第 1 の遺伝子編集複合体が、C I S H 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、C I S H 遺伝子によってコードされる C I S タンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞の C I S H 遺伝子における 1 つ以上の標的部位で編集すること；ならびに

免疫細胞集団を第 2 の遺伝子編集複合体と接触させ、
第 2 の遺伝子編集複合体が、T G F B R 2 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、T G F B R 2 遺伝子によってコードされる T G F B R 2 タンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞の T G F B R 2 遺伝子における 1 つ以上の標的部位で編集することを含み、

遺伝子編集された免疫細胞は、前記遺伝子編集された 1 つまたは複数の標的部位を含まない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの 1 つ以上を示す、方法。

[項 2 5]

がん免疫療法のための遺伝子編集された免疫細胞集団を製造する方法であって、
免疫細胞集団を第 1 の遺伝子編集複合体と接触させ、
第 1 の遺伝子編集複合体が、C I S H 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、C I S H 遺伝子によってコードされる C I S タンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞の C I S H 遺伝子における 1 つ以上の標的部位で編集すること；ならびに

免疫細胞集団を第 2 の遺伝子編集複合体と接触させ、
第 2 の遺伝子編集複合体が、T I G I T 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、T I G I T 遺伝子によってコードされる T I G I T タンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞の T I G I T 遺伝子における 1 つ以上の標的部位で編集することを含み、

遺伝子編集された免疫細胞は、前記遺伝子編集された 1 つまたは複数の標的部位を含まない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの 1 つ以上を示す、方法。

[項 2 6]

がん免疫療法のための遺伝子編集された免疫細胞集団を製造する方法であって、
免疫細胞集団を第 1 の遺伝子編集複合体と接触させ、
第 1 の遺伝子編集複合体が、C I S H 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、C I S H 遺伝子によってコードされる C I S タンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞の C I S H 遺伝子における 1 つ以上の標的部位で編集すること；ならびに

免疫細胞集団を第 2 の遺伝子編集複合体と接触させ、
第 2 の遺伝子編集複合体が、さらなる遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、さらなる遺伝子によってコードされるタンパク質の減少したレベルの発現をもたらすよう

10

20

30

40

50

に、免疫細胞のさらなる遺伝子における1つ以上の標的部位で編集することを含み、
 遺伝子編集された免疫細胞は、前記遺伝子編集された1つまたは複数の標的部位を含ま
 ない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、お
 よび増大した持続性のうちの1つ以上を示す、方法。

[項 2 7]

免疫細胞集団を、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞傷害性シ
 グナル伝達複合体を含む細胞傷害性受容体をコードするポリヌクレオチドを含むベクター
 と接触させることをさらに含む、項 2 3 ~ 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

[項 2 8]

細胞傷害性受容体が CD 7 0 を標的としない、項 2 7 に記載の方法。

10

[項 2 9]

CD 7 0 をコードする遺伝子を編集することを含まない、項 2 3 ~ 2 8 のいずれか一項
 に記載の方法。

[項 3 0]

細胞傷害性受容体が CD 1 9 を標的としない、項 2 7 に記載の方法。

[項 3 1]

細胞傷害性受容体が NKG 2 D リガンドを標的としない、項 2 7 に記載の方法。

[項 3 2]

NKG 2 A、SOCS 2、B 2 M、PD - 1、TIM - 3、または TCR アルファのう
 ちの1つをコードする1つ以上の遺伝子においてさらなる編集を行うことをさらに含む、
 項 2 5 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

20

[項 3 3]

細胞傷害性受容体が、標的腫瘍細胞によって発現される NKG 2 D、CD 1 9、CD 7
 0、BCMA、CD 3 8、GPRC 5 D、DLL 3、EGFR、PSMA、FLT 3 のリ
 ガンドのうちの1つ以上、またはそれらの任意の組み合わせを標的とする、項 2 7 に記載
 の方法。

[項 3 4]

免疫細胞が、ナチュラルキラー (NK) 細胞、T 細胞、またはそれらの組み合わせを含
 む、項 3 3 ~ 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

[項 3 5]

対象におけるがんを処置する方法であって、

遺伝子操作された免疫細胞集団を対象に投与することを含み、

免疫細胞は、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞傷害性シグナ
 ル伝達複合体を含む細胞傷害性受容体を発現し、

免疫細胞は、CIS タンパク質をコードする CISH 遺伝子の1つ以上の標的位置で遺
 伝子編集され、編集は、CISH 遺伝子における1つまたは複数の位置で編集されていな
 い免疫細胞と比較して、CIS の減少した発現および/または機能をもたらす；

免疫細胞は、CBLB 遺伝子、TGFB R 2 遺伝子、および/または TIGIT 遺伝子
 のうちの1つ以上で編集されて、CBLB 遺伝子、TGFB R 2 遺伝子、または TIGIT
 遺伝子で編集されていない免疫細胞と比較して、CBLB タンパク質、TGFB R 2 タ
 ンパク質、および/または TIGIT タンパク質の減少したレベルの発現または活性をも
 たらす、

40

遺伝子操作および編集された免疫細胞は、前記遺伝子編集された1つまたは複数の標的
 部位を含まない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞
 傷害性、および増大した持続性のうちの1つ以上を示す、方法。

[項 3 6]

免疫細胞を少なくとも1つのさらなる標的遺伝子で編集することをさらに含む、項 3 5
 に記載の方法。

[項 3 7]

少なくとも1つのさらなる標的遺伝子が、CD 7 0 をコードする遺伝子ではない、項 3

50

6に記載の方法。

[項 3 8]

細胞が、NK G 2 A、S O C S 2、B 2 M、P D - 1、T I M - 3、またはT C Rアルファをコードするさらなる標的遺伝子で編集される、項 3 5 ~ 3 7のいずれか一項に記載の方法。

[項 3 9]

免疫細胞によって発現される細胞傷害性受容体がC D 7 0を標的としない、項 3 5 ~ 3 8のいずれか一項に記載の方法。

[項 4 0]

免疫細胞によって発現される細胞傷害性受容体がC D 1 9を標的としない、項 3 5 ~ 3 9のいずれか一項に記載の方法。

[項 4 1]

免疫細胞によって発現される細胞傷害性受容体がNK G 2 Dを標的としない、項 3 5 ~ 4 0のいずれか一項に記載の方法。

[項 4 2]

免疫細胞によって発現される細胞傷害性受容体が、C D 1 9、C D 7 0、B C M A、C D 3 8、G P R C 5 D、D L L 3、E G F R、P S M A、F L T 3、K R E M E N 2の1つ以上のエピトープ、またはそれらの組み合わせに結合する、項 3 5 ~ 3 9のいずれか一項に記載の方法。

[項 4 3]

免疫細胞が、ナチュラルキラー（NK）細胞、T細胞、またはそれらの組み合わせを含む、項 3 5 ~ 4 2のいずれか一項に記載の方法。

[項 4 4]

免疫細胞が、NK細胞とT細胞の混合物、またはi P S C由来NK細胞とT細胞の混合物を含む、項 4 3に記載の方法。

[項 4 5]

投与される免疫細胞が、対象に対して同種異系である、項 3 5 ~ 4 4のいずれか一項に記載の方法。

[項 4 6]

I L 2を投与することをさらに含む、項 3 5 ~ 4 5のいずれか一項に記載の方法。

[項 4 7]

遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団であって、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞傷害性シグナル伝達複合体を含む細胞傷害性受容体を発現する、遺伝子操作された免疫細胞を含み、

細胞外リガンド結合ドメインは、標的腫瘍細胞によって発現される腫瘍マーカーを標的とし、

遺伝子操作された免疫細胞の少なくとも一部は、膜結合I L - 1 5を発現するように操作され、

免疫細胞は、編集されていない免疫細胞と比較して、編集された標的部位を含む遺伝子によってコードされるタンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞のゲノムにおける1つ以上の標的部位で遺伝子編集され、

遺伝子操作および編集された免疫細胞は、前記遺伝子編集された標的部位または複数の標的部位を含まない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの1つ以上を示す、遺伝子操作および遺伝子編集された免疫細胞集団。

[項 4 8]

免疫細胞が、編集されていない免疫細胞と比較して、減少したレベルのアデノシン受容体A 2発現をもたらすように、アデノシンA 2受容体をコードする遺伝子における標的部位で遺伝子編集され、配列番号5 0 3 ~ 5 0 6のいずれかのガイド配列が、アデノシン受容体A 2遺伝子を標的とするために使用される、項 4 7に記載の免疫細胞集団。

10

20

30

40

50

[項 4 9]

細胞が、C I S H、S M A D 3、M A P K A P K 3、C E A C A M 1、D D I T 4、T G F B R 2 R、N K G 2 A、S O C S 2、C B L B、B 2 M、T I G I T、P D - 1、T I M - 3、C D 3 8、および T C R アルファのうちの一つ以上をコードする遺伝子でさらに編集されている、項 4 7 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の免疫細胞集団。

[項 5 0]

細胞が、(i) 配列番号 5 6 2 ~ 5 6 5 のいずれかのガイド配列が C I S をコードする遺伝子を標的とするために使用される、C I S をコードする遺伝子、(i i) 配列番号 4 9 1 ~ 4 9 3 のいずれかのガイド配列が S M A D 3 遺伝子を標的とするために使用される、S M A D 3 をコードする遺伝子、(i i i) 配列番号 4 9 4 ~ 4 9 6 のいずれかのガイド配列が M A P K A P K 3 遺伝子を標的とするために使用される、M A P K A P K 3 をコードする遺伝子、(i v) C E A C A M 1 をコードする遺伝子、および配列番号 4 9 7 ~ 4 9 9 のいずれかのガイド配列、(v) 配列番号 5 0 0 ~ 5 0 2 のいずれかのガイド配列が D D I T 4 遺伝子を標的とするために使用される、D D I T 4 をコードする遺伝子、(v i) 配列番号 5 4 4 ~ 5 4 7 のいずれかのガイド配列が T G F B R 2 遺伝子を標的とするために使用される、T G F B R 2 をコードする遺伝子、(v i i) 配列番号 5 4 8 ~ 5 5 1 のいずれかのガイド配列が N K G 2 A 遺伝子を標的とするために使用される、N K G 2 A をコードする遺伝子、(v i i i) 配列番号 5 5 6 ~ 5 6 1 のいずれかのガイド配列が S O C S 2 遺伝子を標的とするために使用される、S O C S 2 をコードする遺伝子、(i x) 配列番号 5 5 2 ~ 5 5 5 のいずれかのガイド配列が C B L B 遺伝子を標的とするために使用される、C B L B をコードする遺伝子、(x) 配列番号 2 9 0 ~ 2 9 9 のいずれかのガイド配列が B 2 M 遺伝子を標的とするために使用される、B 2 M をコードする遺伝子、(x i) 配列番号 5 0 7 ~ 5 1 0 のいずれかのガイド配列が T I G I T 遺伝子を標的とするために使用される、T I G I T をコードする遺伝子、(x i i) 配列番号 5 1 1 ~ 5 1 4 のいずれかのガイド配列が P D - 1 遺伝子を標的とするために使用される、P D - 1 をコードする遺伝子、(x i i i) 配列番号 5 1 5 ~ 5 1 8 のいずれかのガイド配列が T I M - 3 遺伝子を標的とするために使用される、T I M - 3 をコードする遺伝子、(x i v) 配列番号 5 1 9 ~ 5 2 2 のいずれかのガイド配列が C D 3 8 遺伝子を標的とするために使用される、C D 3 8 をコードする遺伝子、および / または (x v) 配列番号 5 6 6 ~ 5 6 9 のいずれかのガイド配列が T C R アルファ遺伝子を標的とするために使用される、T C R アルファをコードする遺伝子でさらに編集される、項 4 9 に記載の免疫細胞集団。

[項 5 1]

細胞外リガンド結合ドメインが、M I C A、M I C B、U L B P 1、U L B P 2、U L B P 3、U L B P 4、U L B P 5、および U L B P 6 からなる群から選択される腫瘍マーカーに対する指向性を有する受容体を含む、項 4 7 ~ 5 0 のいずれか一項に記載の免疫細胞集団。

[項 5 2]

N K 細胞によって発現される細胞傷害性受容体が、(i) N K G 2 D リガンド結合ドメイン、(i i) C D 8 膜貫通ドメイン、および (i i i) O X 4 0 共刺激サブドメインと C D 3 z 共刺激サブドメインを含むシグナル伝達複合体を含む、項 4 7 ~ 5 1 のいずれか一項に記載の免疫細胞集団。

[項 5 3]

細胞傷害性受容体が、標的腫瘍細胞によって発現される N K G 2 D 受容体リガンド、C D 1 9、C D 7 0、B C M A、C D 3 8、G P R C 5 D、C D 1 3 8、D L L 3、E G F R、P S M A、F L T 3、または K R E M E N 2 のうちの一つ以上を標的とする、項 4 7 ~ 5 2 のいずれか一項に記載の免疫細胞集団。

[項 5 4]

細胞傷害性シグナル伝達複合体が、O X 4 0 サブドメインまたは 4 - 1 B B ドメイン、および C D 3 ゼータサブドメインを含む、項 4 7 ~ 5 3 のいずれか一項に記載の免疫細胞

集団。

[項 5 5]

免疫細胞が、ナチュラルキラー（NK）細胞、T細胞、誘導多能性幹細胞（iPSC）、iPSC由来NK細胞、NK-92細胞、またはそれらの組み合わせを含む、項47～54のいずれか一項に記載の免疫細胞集団。

[項 5 6]

遺伝子操作および編集された免疫細胞が、移植片対宿主疾患のリスクを減少させる同種異系がん細胞療法における使用に適している、および/または遺伝子操作された免疫細胞間の細胞傷害活性のリスクを減少させる同種異系がん細胞療法における使用に適している、項47～55のいずれか一項に記載の免疫細胞集団。

10

[項 5 7]

項47～56のいずれか一項に記載の免疫細胞集団の少なくとも一部を対象に投与することを含む、対象におけるがんを処置する方法。

[項 5 8]

がんを処置するためまたはがんを処置するための医薬を調製するための、項47～56のいずれか一項に記載の遺伝子操作および編集された免疫細胞の使用。

[項 5 9]

がん免疫療法のための遺伝子操作された免疫細胞集団を製造する方法であって、免疫細胞集団を、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞傷害性シグナル伝達複合体を含む細胞傷害性受容体をコードするポリヌクレオチドを含むベクターと接触させること；

20

免疫細胞集団を遺伝子編集複合体と接触させることを含み、

遺伝子編集複合体が免疫細胞のゲノムにおける1つ以上の標的部位で編集して、編集されていない免疫細胞と比較して、編集された標的部位を含む遺伝子によってコードされるタンパク質の減少したレベルの発現をもたらし、

遺伝子操作および編集された免疫細胞は、前記遺伝子編集された標的部位または複数の標的部位を含まない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの1つ以上を示す、方法。

[項 6 0]

編集が、CISH、ADARA2、SMAD3、MAPKAPK3、CEACAM1、DDIT4、TGFB2R、NKG2A、SOCS2、CBLB、B2M、TIGIT、PD-1、TIM-3、CD38、およびTCRアルファのうちの1つ以上をコードする遺伝子において行われる、項59に記載の方法。

30

[項 6 1]

細胞外リガンド結合ドメインが、標的腫瘍細胞によって発現されるMICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、およびULBP6、CD19、CD70、BCMA、CD38、GPRC5D、CD138、DLL3、EGFR、PSMA、FLT3、またはKREMEN2からなる群から選択される腫瘍マーカーに対する指向性を有する受容体を含む、項59または60に記載の方法。

[項 6 2]

細胞傷害性シグナル伝達複合体が、OX40サブドメインまたは4-1BBドメイン、およびCD3ゼータサブドメインを含む、項59～61のいずれか一項に記載の方法。

40

[項 6 3]

細胞傷害性シグナル伝達複合体をコードするポリヌクレオチドが、膜結合IL15をニシストロン性にコードする、項59～62のいずれか一項に記載の方法。

[項 6 4]

ベクターがレトロウイルスベクターを含む、項59～63のいずれか一項に記載の方法。

[項 6 5]

免疫細胞が、ナチュラルキラー（NK）細胞、T細胞、誘導多能性幹細胞（iPSC）、iPSC由来NK細胞、NK-92細胞、またはそれらの組み合わせを含む、項59～

50

6 4 のいずれか一項に記載の方法。

[項 6 6]

対象におけるがんを処置する方法であって、

遺伝子操作された免疫細胞集団を対象に投与することを含み、

免疫細胞は、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞傷害性シグナル伝達複合体を含む細胞傷害性受容体を発現し、

細胞傷害性シグナル伝達複合体は、OX - 4 0 サブドメインおよびCD 3 ゼータサブドメインを含み、

細胞は膜結合IL - 1 5 を発現するように操作され、

免疫細胞は、編集されていない免疫細胞と比較して、編集された標的部位を含む遺伝子によってコードされるタンパク質の減少したレベルの発現をもたらすように、免疫細胞のゲノムにおける1つ以上の標的部位で遺伝子編集され、

遺伝子操作および編集された免疫細胞は、前記遺伝子編集された1つまたは複数の標的部位を含まない免疫細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの1つ以上を示す、方法。

[項 6 7]

細胞が、C I S H、A D A R 2 A、S M A D 3、M A P K A P K 3、C E A C A M 1、D D I T 4、T G F B R 2 R、N K G 2 A、S O C S 2、C B L B、B 2 M、T I G I T、P D - 1、T I M - 3、C D 3 8、およびTCRアルファのうちの2つ以上をコードする遺伝子で編集される、項 6 6 に記載の方法。

[項 6 8]

細胞傷害性受容体が、(i) 標的腫瘍細胞によって発現されるNK G 2 D リガンド結合ドメイン、またはCD 1 9、CD 7 0、B C M A、C D 3 8、G P R C 5 D、C D 1 3 8、D L L 3、E G F R、P S M A、F L T 3、もしくはK R E M E N 2 のうちの1つ以上のエピトープに結合する結合ドメイン、(i i) CD 8 膜貫通ドメイン、および(i i i) O X 4 0 共刺激サブドメインおよびCD 3 z 共刺激サブドメインを含むシグナル伝達複合体を含む、項 6 6 または 6 7 に記載の方法。

[項 6 9]

免疫細胞が、ナチュラルキラー(NK) 細胞、T 細胞、誘導多能性幹細胞(i P S C)、i P S C 由来NK 細胞、NK - 9 2 細胞、またはそれらの組み合わせを含む、項 6 6 ~ 6 8 のいずれか一項に記載の方法。

[項 7 0]

投与される免疫細胞が、対象に対して同種異系である、項 6 6 ~ 6 9 のいずれか一項に記載の方法。

[項 7 1]

がん免疫療法のための遺伝子操作された免疫細胞集団であって、

細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞傷害性シグナル伝達複合体を含む細胞傷害性受容体を発現する、遺伝子操作された免疫細胞を含み、

遺伝子操作された免疫細胞の少なくとも一部は、膜結合IL - 1 5 を発現するように操作され、

遺伝子操作された免疫細胞は少なくとも1つの免疫抑制エフェクターを発現するように操作され、

少なくとも1つの免疫抑制エフェクターは抑制細胞の望ましくない細胞傷害活性に対して抑制効果を発揮し、

遺伝子操作された免疫細胞は、前記免疫抑制エフェクターを含まない細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの1つ以上を示す、遺伝子操作された免疫細胞集団。

[項 7 2]

遺伝子操作されたNK 細胞および遺伝子操作されたT 細胞のうちの1つ以上を含む、項 7 1 に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

10

20

30

40

50

[項 7 3]

抑制細胞が、宿主細胞、または操作されていないナチュラルキラー細胞、操作されていないT細胞、または操作された抑制細胞のうちの一つ以上を含む、項71または72に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

[項 7 4]

前記免疫抑制エフェクターを含まない細胞が、操作されていない細胞または操作された細胞のいずれかである、項71～73のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

[項 7 5]

遺伝子操作された免疫細胞がまた、ベータ-2ミクログロブリン(B2M)の発現を減少させるために遺伝子編集され、B2Mの減少した発現が、内因性レベルのB2Mを発現する免疫細胞と比較して、宿主対移植片拒絶を減少させる同種異系がん免疫療法において免疫細胞を使用することを可能にする、項71～74のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

[項 7 6]

少なくとも一つの免疫抑制エフェクターが、レトロウイルスに由来してもよく、レトロウイルスのエンベロープタンパク質に由来してもよいウイルス由来ペプチドを含む、項71～75のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

[項 7 7]

少なくとも一つの免疫抑制エフェクターが免疫細胞の細胞外膜に結合され、少なくとも一つの免疫抑制エフェクターが膜貫通タンパク質を含み、膜貫通タンパク質がCD8、CD4、CD3、CD3、CD3、CD3、CD28、CD137、グリコホリンA、グリコホリンD、ニコチン性アセチルコリン受容体、GABA受容体、FcRI、およびT細胞受容体から選択される、項72～76のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

[項 7 8]

免疫抑制エフェクターが、配列番号199～215、219、220、223、225、228、230、235、238、240、243、250、または253のうちの一つ以上と少なくとも95%の配列同一性を有する一つ以上のペプチドを含む、項71～76のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

[項 7 9]

少なくとも一つの免疫抑制エフェクターが、ヒトタンパク質の少なくとも一部および/またはヒトタンパク質複合体の少なくとも一部を含む、項71～76のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

[項 8 0]

免疫抑制エフェクターが、配列番号248、245、273、276、278、279、286、287、288、および289のうちの一つ以上と少なくとも95%の配列同一性を有するペプチドを含む、項79に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

[項 8 1]

少なくとも一つの免疫抑制エフェクターが、少なくとも一つのウイルス由来ペプチド、ならびにヒトタンパク質の少なくとも一部および/またはヒトタンパク質複合体の少なくとも一部を含むキメラコンストラクトを含む、項71～76のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

[項 8 2]

キメラ免疫抑制エフェクターコンストラクトが、(i)切断型ヒトCD47、p15Eペプチド、HIVペプチド、およびHTLVペプチドのうちの一つ以上、(ii)切断型ヒトCD47ドメインおよび少なくとも一つのp15Eペプチド、HIVペプチド、およびHTLVペプチド、(iii)切断型ヒトCD47ドメインおよび少なくとも一つのHIVペプチド、(iv)切断型ヒトCD47ドメインおよび少なくとも一つのHTLVペプチド、(v)配列番号256、259、262、265、268、271のうちの一つ

10

20

30

40

50

以上と少なくとも95%の配列同一性を有する配列、(v i) ウイルスUL18タンパク質を含む、項81に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

[項 8 3]

キメラ免疫抑制エフェクターコンストラクトが、ウイルスUL18タンパク質を含み、配列番号280と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を有するか、またはキメラ免疫抑制エフェクターコンストラクトが、ウイルスUL18タンパク質およびヒトB2Mドメインを含み、配列番号283または285と少なくとも95%の配列同一性を有する配列を含む、項82に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

[項 8 4]

免疫抑制エフェクターコンストラクトが、膜貫通ドメインと細胞外リガンド結合ドメインの間か、細胞外リガンド結合ドメイン内か、細胞外リガンド結合ドメインがs c F vを含み、キメラ免疫抑制エフェクターコンストラクトがs c F vのリンカー領域に組み込まれる場合は、s c F vのリンカー領域の中にか、細胞外リガンド結合ドメインから遠位に位置する細胞傷害性受容体のN末端領域内か、または細胞傷害性受容体の細胞外領域内の複数の位置で、細胞傷害性受容体に組み込まれる、項71~83のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

10

[項 8 5]

少なくとも1つのキメラ免疫抑制エフェクターコンストラクトが免疫細胞の細胞外膜に結合されている、項71~83のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞集団。

[項 8 6]

細胞傷害性受容体が少なくとも1つの免疫抑制エフェクターを含み、遺伝子操作された免疫細胞が少なくとも1つの膜結合免疫抑制エフェクターを発現する、項71~85のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞。

20

[項 8 7]

免疫細胞が、遺伝子操作されたナチュラルキラー(NK)細胞、遺伝子操作されたT細胞、またはそれらの組み合わせを含む、項71~86のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞。

[項 8 8]

遺伝子操作された免疫細胞が、移植片対宿主疾患のリスクを減少させる同種異系がん細胞療法における使用に適している、項71~87のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞。

30

[項 8 9]

遺伝子操作された免疫細胞が、遺伝子操作された免疫細胞間の細胞傷害活性のリスクを減少させる同種異系がん細胞療法における使用に適している、項71~88のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞。

[項 9 0]

細胞傷害性受容体が、標的腫瘍細胞によって発現されるNK G 2 D受容体リガンド、C D 1 9、C D 7 0 およびC D 3 8 のうちの1つ以上を標的とする、項71~89のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞。

[項 9 1]

細胞傷害性シグナル伝達複合体が、O X 4 0 サブドメインまたは4 - 1 B B ドメイン、およびC D 3 ゼータサブドメインを含む、項71~90のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞。

40

[項 9 2]

項71~91のいずれか一項に記載の遺伝子操作された免疫細胞を対象に投与することを含む、対象におけるがんを処置する方法。

[項 9 3]

がんを処置するためまたはがんを処置するための医薬を調製するための、項71~91のいずれかに記載の遺伝子操作された免疫細胞の使用。

[項 9 4]

50

がん免疫療法のための遺伝子操作された免疫細胞集団を製造する方法であって、
免疫細胞集団を、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞傷害性シグナル伝達複合体を含む細胞傷害性受容体をコードするポリヌクレオチドと接触させること；

免疫細胞集団を、少なくとも1つの免疫抑制エフェクターをコードするさらなるポリヌクレオチドと接触させることを含み、

少なくとも1つの免疫抑制エフェクターは抑制細胞の細胞傷害活性に対して抑制効果を発揮し、

遺伝子操作された免疫細胞は、前記少なくとも1つの免疫抑制エフェクターを含まない細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの1つ以上を示す、方法。

10

[項 9 5]

がん免疫療法のための遺伝子操作された免疫細胞集団を操作する方法であって、

免疫細胞集団を、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞傷害性シグナル伝達複合体を含む細胞傷害性受容体をコードし、少なくとも1つの免疫抑制エフェクターをコードするポリヌクレオチドと接触させることを含み、

少なくとも1つの免疫抑制エフェクターは抑制細胞の細胞傷害活性に対して抑制効果を発揮し、

遺伝子操作された免疫細胞は、前記少なくとも1つの免疫抑制エフェクターを含まない細胞と比較して、増大した拡大能力、標的細胞に対する増大した細胞傷害性、および増大した持続性のうちの1つ以上を示す、方法。

20

[項 9 6]

ポリヌクレオチドが、膜結合 I L 1 5 をさらにコードする、項 9 4 または 9 5 に記載の方法。

[項 9 7]

免疫細胞集団を、膜結合免疫抑制エフェクターをコードするポリヌクレオチドと接触させることをさらに含み、項 9 4 ~ 9 6 のいずれか一項に記載の方法。

[項 9 8]

がん免疫療法のための遺伝子操作された免疫細胞の混合集団の中でのフラトリサイドを減少させる方法であって、

30

混合免疫細胞集団由来の免疫細胞の第1の部分集団を、少なくとも1つの免疫抑制エフェクターをコードするポリヌクレオチドと接触させ、

免疫細胞の第1の部分集団による少なくとも1つの免疫抑制エフェクターの発現が、免疫細胞の第1の部分集団に対する指向性を有する免疫細胞の第2の部分集団の抑制活性を減少させること；ならびに

混合免疫細胞集団由来の第2の部分集団を、少なくともさらなる免疫抑制エフェクターをコードするポリヌクレオチドと接触させ、

免疫細胞の第2の部分集団による少なくともさらなる免疫抑制エフェクターの発現は、免疫細胞の第2の部分集団に対する指向性を有する免疫細胞の第1の部分集団の抑制活性を減少させることを含み、

40

第1の部分集団および第2の部分集団による免疫抑制エフェクターの発現は、遺伝子操作された免疫細胞集団の中でのフラトリサイドを減少させる、方法。

[項 9 9]

遺伝子操作された免疫細胞集団を、同種異系がん免疫療法の増強のために操作する方法であって、

免疫細胞の表面上のヒト白血球抗原 (H L A) の発現を減少させるように、N K 細胞と T 細胞を含む免疫細胞の混合集団を遺伝子編集し、

免疫細胞の表面上の H L A の減少した発現が、編集された免疫細胞集団に対する T 細胞媒介性細胞傷害性を減少させ、

細胞の表面上の H L A の減少した発現が、編集された免疫細胞集団を編集された免疫細胞

50

胞に対するNK媒介性細胞傷害性に感受性にすること；ならびに

免疫細胞の混合集団に対するNK媒介性細胞傷害性を減少させる1つ以上の免疫抑制エフェクターを発現するように、編集された細胞を遺伝子操作し、

1つ以上の免疫抑制エフェクターは、ウイルス免疫抑制ペプチド、HLAホモログであるウイルスタンパク質、HLA-E、HLA-G、細胞のファゴサイトーシスを減少させるヒトタンパク質またはその断片、ウイルス免疫抑制ペプチドおよび細胞のファゴサイトーシスを減少させるヒトタンパク質もしくはその断片を含むキメラコンストラクトのうちの1つ以上、またはそれらの組み合わせを含み、

減少されたT細胞媒介性細胞傷害性は、操作されたNK細胞に対する操作されたT細胞媒介性フラトリサイド型細胞傷害性を減少させ、投与時に、操作されたNK細胞に対する宿主T細胞媒介性細胞傷害性を減少させ、

10

減少したNK細胞媒介性細胞傷害性は、操作されたT細胞に対する操作されたNK細胞媒介性フラトリサイド型細胞傷害性を減少させ、投与時に、操作されたNKおよび操作されたT細胞に対する宿主NK細胞媒介性細胞傷害性を減少させ、それにより、同種異系の対象への投与時に免疫細胞の操作混合集団の持続性の増大を可能にし、同種異系がん免疫療法の増強を可能にする、方法。

[項 1 0 0]

C I S H 遺伝子、B 2 M 遺伝子、C D 7 0 遺伝子、アデノシン受容体遺伝子、N K G 2 A 遺伝子、C I I T A 遺伝子、T G F B R 遺伝子のうちの1つ以上、またはそれらの任意の組み合わせの発現を変更するように、遺伝子操作された免疫細胞のDNAを遺伝子編集

20

することをさらに含む、項 9 8 または 9 9 のいずれか一項に記載の方法。

30

40

50