【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2年2月13日(2020.2.13)

【公表番号】特表2019-500887(P2019-500887A)
【公表日】平成31年1月17日(2019.1.17)
【年通号数】公開・登録公報2019-002
【出願番号】特願2018-536123(P2018-536123)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　19/00　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　16/00　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　14/705　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/62　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/13　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/12　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　15/09　ＺＮＡＺ
Ｃ０７Ｋ　19/00
Ｃ０７Ｋ　16/00
Ｃ０７Ｋ　14/705
Ｃ１２Ｎ　15/62
Ｃ１２Ｎ　15/13
Ｃ１２Ｎ　15/12

【手続補正書】
【提出日】令和1年12月27日(2019.12.27)
【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】
細胞内での標的ポリヌクレオチドの発現を調節するためのシステムであって、
(a) 抗原に結合する際に修飾されるキメラ受容体ポリペプチドであって、受容体修飾がコンフォメーション変化または化学修飾を含む、キメラ受容体ポリペプチド;
(b) 該受容体修飾に応答して該受容体に結合するキメラアダプターポリペプチド;
(c) 切断認識部位に連結されたアクチュエータモエティを含む遺伝子調整ポリペプチド(GMP)であって、該切断認識部位の切断の際に該アクチュエータモエティが活性化されて標的ポリヌクレオチドと複合体形成する、GMP; および
(d) 該切断認識部位に近接している場合に該切断認識部位を切断する、切断モエティを含み、
ここで:
(i) 該GMPが該キメラ受容体ポリペプチドの細胞内領域の一部分を形成し、かつ該切断モエティが該キメラアダプターポリペプチドの一部分を形成する;
(ii) 該GMPが該キメラアダプターポリペプチドの一部分を形成し、かつ該切断モエティが該キメラ受容体ポリペプチドの細胞内領域の一部分を形成する; または
(iii) 該切断モエティが、該受容体修飾に応答して該キメラ受容体ポリペプチドに結合する第2アダプターポリペプチドと複合体形成し、かつ該GMPが該キメラアダプターポリペ

プチドの一部分を形成する、
前記システム。
【請求項２】
(a) 受容体がSEQ ID NO: 39を含まない;
(b) 標的ポリヌクレオチドがゲノムDNAである;
(c) 標的ポリヌクレオチドがRNAである;
(d) 修飾がリン酸化である;
(e) アクチュエータモエティがCasタンパク質であり、かつ前記システムが、Casタンパク質と複合体を形成するために活性なガイドRNAをさらに含み、任意で、Casタンパク質がDNA切断活性を実質的に欠く;
(f)(i) アクチュエータモエティが、ガイドRNAと複合体形成していてもよいRNA結合タンパク質(RBP)であり、かつ (ii) 前記システムが、該ガイドRNAと複合体を形成することができるCasタンパク質をさらに含み、任意で、Casタンパク質がDNA切断活性を実質的に欠く;
(g)(i) GMPがキメラアダプターポリペプチドの一部分を形成し、(ii) 切断認識部位の切断が、キメラアダプターポリペプチドを受容体から放出するのに有効であり、かつ (iii) 前記システムが、修飾された受容体に結合するGMPを含むさらなるキメラアダプターポリペプチドを含む;
(h) 受容体修飾が複数の修飾部位での修飾を含み、各修飾部位が、アダプターポリペプチドに結合するのに有効である;
(i) 切断認識部位がポリペプチド配列を含み、かつ切断モエティがプロテアーゼ活性を含む;
(j) 切断認識部位がジスルフィド結合を含み、かつ切断モエティが酸化還元酵素活性を含む;
(k) 切断認識部位が、インテイン配列の第2部分と反応してアクチュエータモエティを放出する、該インテイン配列の第1部分を含む;
(l) 受容体が膜貫通受容体である;
(m) 受容体が核内受容体である;
(n) アクチュエータモエティが、標的ポリヌクレオチドの物理的妨害によって、または標的ポリヌクレオチドの発現を抑制もしくは増強するのに有効なさらなる因子の動員によって、標的ポリヌクレオチドの発現を調節する;
(o) アクチュエータモエティが、標的ポリヌクレオチドの発現を増加させるのに有効なアクチベータを含む;
(p) アクチュエータモエティが、少なくとも1つの核局在化シグナル(NLS)に連結される;
(q) キメラ受容体ポリペプチドが、細胞の特定の領域へ受容体を輸送させる少なくとも1つの標的指向配列に連結され、任意で、
(i) 標的指向配列が、核、細胞質、ミトコンドリア、小胞体(ER)、クロロプラスト、アポプラスト、ペルオキシソームもしくは形質膜へ受容体を輸送させる;
(ii) 標的指向配列が、核外移行シグナル(NES)を含む; または
(iii) 標的指向配列が、形質膜を標的とするペプチドを含む;
(r) キメラアダプターポリペプチドが、細胞の特定の領域へアダプターを輸送させる少なくとも1つの標的指向配列に連結され、任意で、
(i) 標的指向配列が、核、細胞質、ミトコンドリア、小胞体(ER)、クロロプラスト、アポプラスト、ペルオキシソームもしくは形質膜へキメラアダプターポリペプチドを輸送させる;
(ii) 標的指向配列が、核外移行シグナル(NES)を含む;または
(iii) 標的指向配列が、形質膜を標的とするペプチドを含む;
(s) 受容体がポリペプチド折畳みドメインに連結される; あるいは
(t) キメラアダプターポリペプチドが、ポリペプチド折畳みドメインに連結される、

請求項1記載のシステム。
【請求項３】
がん、感染症、または自己免疫疾患を治療するための医薬の製造のための、工学的に操作された細胞の使用であって、該工学的に操作された細胞が請求項1記載のシステムを発現する、使用。
【請求項４】
抗原が、(i) ウイルス感染、細菌感染、もしくは寄生虫感染、(ii) 炎症性疾患もしくは自己免疫疾患、または (iii) がんもしくは腫瘍と関連する、請求項3記載の使用。
【請求項５】
キメラ細胞内受容体であって、
(a) 抗原に特異的に結合する抗原相互作用ドメイン; および
(b) 抗原相互作用ドメインに連結されたアクチュエータモエティ
を含み、
ここで:
(i) キメラ細胞内受容体が抗原結合に応答して修飾され;
(ii) キメラ受容体ポリペプチドが、修飾に応答して細胞の核に移動し; かつ
(iii) アクチュエータモエティが、核内の標的ポリヌクレオチドと複合体形成する、
前記受容体。
【請求項６】
(a) アクチュエータモエティが、ガイドRNAと複合体を形成するCasタンパク質であり、任意で、Casタンパク質がDNA切断活性を実質的に欠く;
(b) アクチュエータモエティが、標的ポリヌクレオチドの物理的妨害によって、または標的ポリヌクレオチドの発現を抑制もしくは増強するのに有効なさらなる因子の動員によって、標的ポリヌクレオチドの発現を調節する;
(c) アクチュエータモエティが、標的ポリヌクレオチドの発現を増加させるのに有効なアクチベータを含む;
(d) 抗原がホルモンである;
(e) アクチュエータモエティが、少なくとも1つの核局在化シグナル(NLS)に連結される;
(f) 受容体が、細胞の特定の領域へ該受容体を輸送させる少なくとも1つの標的指向配列に連結され、任意で、
(i) 標的指向配列が、核、細胞質、ミトコンドリア、小胞体(ER)、クロロプラスト、アポプラスト、もしくはペルオキシソームへ受容体を輸送させる;
(ii) 標的指向配列が、核外移行シグナル(NES)を含む; または
(iii) 標的指向配列が、形質膜を標的とするペプチドを含む; あるいは
(g) 受容体がポリペプチド折畳みドメインに連結される、
請求項5記載のキメラ細胞内受容体。
【請求項７】
がん、感染症、または自己免疫疾患を治療するための医薬の製造のための、工学的に操作された細胞の使用であって、該工学的に操作された細胞が請求項5記載のキメラ細胞内受容体を発現する、使用。
【請求項８】
(a) 抗原相互作用ドメイン; および
(b) 切断認識部位に連結されたアクチュエータモエティを含む遺伝子調整ポリペプチド(GMP)
を含み、
ここで:
(i) キメラ受容体ポリペプチドが抗原結合に応答して修飾され;
(ii) 切断認識部位が、キメラ受容体ポリペプチドの修飾に応答して切断モエティにより切断され;

(iii) アクチュエータモエティが切断認識部位でキメラ受容体ポリペプチドから切断された後に、標的ポリヌクレオチドと複合体形成し; かつ
(iv) キメラ受容体ポリペプチドが、SEQ ID NO: 39を含まない、
キメラ受容体ポリペプチド。
【請求項９】
(a) 切断認識部位が、抗原相互作用ドメインとアクチュエータモエティとに挟まれている;
(b) 抗原相互作用ドメインが、キメラ受容体ポリペプチドの細胞外領域の一部分を形成し、かつGMPが、該キメラ受容体ポリペプチドの細胞内領域の一部分を形成する;
(c) アクチュエータモエティが、切断認識配列の切断後に細胞核に移動する;
(d) キメラ受容体ポリペプチドが、抗原結合に応答して細胞核に移動する核内受容体である;
(e) アクチュエータモエティが、ガイドRNAと複合体を形成するCasタンパク質であり、任意で、Casタンパク質がDNA切断活性を実質的に欠く;
(f) アクチュエータモエティが、Casタンパク質と複合体を形成することができるガイドRNAと複合体形成していてもよいRNA結合タンパク質(RBP)であり、任意で、Casタンパク質がDNA切断活性を実質的に欠く;
(g) 切断認識部位が、プロテアーゼの認識配列であるポリペプチド配列を含む;
(h) 切断認識部位が、インテイン配列の第2部分と反応してアクチュエータモエティを放出する、該インテイン配列の第1部分を含む;
(i) 切断認識部位がジスルフィド結合を含む;
(j) 受容体が膜貫通受容体である;
(k) 受容体が核内受容体である;
(l) アクチュエータモエティが、標的ポリヌクレオチドの物理的妨害によって、または標的ポリヌクレオチドの発現を抑制もしくは増強するのに有効なさらなる因子の動員によって、標的ポリヌクレオチドの発現を調節する;
(m) アクチュエータモエティが、標的ポリヌクレオチドの発現を増加させるのに有効なアクチベータを含む;
(n) アクチュエータモエティが、少なくとも1つの核局在化シグナル(NLS)に連結される;
(o) 受容体が、細胞の特定の領域へ該受容体を輸送させる少なくとも1つの標的指向配列に連結され、任意で、
(i) 標的指向配列が、核、細胞質、ミトコンドリア、小胞体(ER)、クロロプラスト、アポプラスト、ペルオキシソームもしくは形質膜へ受容体を輸送させる;
(ii) 標的指向配列が、核外移行シグナル(NES)を含む; または
(iii) 標的指向配列が、形質膜を標的とするペプチドを含む; あるいは
(p) 受容体がポリペプチド折畳みドメインに連結される、
請求項8記載のキメラ受容体ポリペプチド。
【請求項１０】
(a) 抗原に結合する際に修飾を受けた受容体に結合する受容体結合モエティ; および
(b) 該受容体結合モエティに連結された遺伝子調整ポリペプチド(GMP)であり、切断認識部位に連結されたアクチュエータモエティを含む、GMP
を含み、
ここで:
(i) 該切断認識部位が、受容体結合に応答して切断モエティにより切断可能であり; かつ
(ii) 該アクチュエータモエティが、該切断認識部位の切断に応答して標的ポリヌクレオチドと複合体形成するように作動可能である、
キメラアダプターポリペプチド。
【請求項１１】

(a) アクチュエータモエティが、切断認識配列の切断後に細胞核に移動するように作動可能である;
(b) アクチュエータモエティが、ガイドRNAと複合体を形成するCasタンパク質であり、任意で、Casタンパク質がDNA切断活性を実質的に欠く;
(c) アクチュエータモエティが、Casタンパク質と複合体を形成することができるガイドRNAと複合体形成していてもよいRNA結合タンパク質(RBP)であり、任意で、Casタンパク質がDNA切断活性を実質的に欠く;
(d) 切断認識部位が、プロテアーゼの認識配列であるポリペプチド配列を含む;
(e) 切断認識部位が、インテイン配列の第2部分と反応してアクチュエータモエティを放出する、該インテイン配列の第1部分を含む;
(f) 切断認識部位がジスルフィド結合を含む;
(g) アクチュエータモエティが、標的ポリヌクレオチドの物理的妨害によって、または標的ポリヌクレオチドの発現を抑制もしくは増強するのに有効なさらなる因子の動員によって、標的ポリヌクレオチドの発現を調節する;
(h) アクチュエータモエティが、標的ポリヌクレオチドの発現を増加させるのに有効なアクチベータを含む;
(i) アクチュエータモエティが、少なくとも1つの核局在化シグナル(NLS)に連結される; あるいは
(j) アダプターポリペプチドが、細胞の特定の領域へアダプターを輸送させる少なくとも1つの標的指向配列に連結され、任意で、
(i) 標的指向配列が、核、細胞質、ミトコンドリア、小胞体(ER)、クロロプラスト、アポプラスト、ペルオキシソームもしくは形質膜へアダプターを輸送させる;
(ii) 標的指向配列が、核外移行シグナル(NES)を含む; または
(iii) 標的指向配列が、形質膜を標的とするペプチドを含む、
請求項10記載のキメラアダプターポリペプチド。

【請求項１２】

細胞内での標的ポリヌクレオチドの発現を調節するためのシステムであって、
(a) 抗原に結合する際に修飾されるキメラ受容体ポリペプチドであって、受容体修飾がコンフォメーション変化または化学修飾を含む、キメラ受容体ポリペプチド;
(b) 該受容体修飾に応答して該受容体に結合するキメラアダプターポリペプチド;
(c) ペプチド切断ドメインに連結されたアクチュエータモエティであって、該ペプチド切断ドメインの切断の際にアクチュエータモエティが活性化されて該標的ポリヌクレオチドと複合体形成する、アクチュエータモエティ; および
(d) 該ペプチド切断ドメインに近接している場合に該ペプチド切断ドメインを切断する切断モエティ
を含み、
ここで:
(i) 該切断モエティが該受容体の細胞内部分を形成し、かつ該ペプチド切断ドメインに連結された該アクチュエータモエティが該キメラアダプターポリペプチドの一部分を形成する;
(ii) 該切断モエティが、該受容体修飾に応答して該受容体に結合する第2アダプターポリペプチドと複合体形成し、かつ該ペプチド切断ドメインに連結された該アクチュエータモエティが該キメラアダプターポリペプチドの一部分を形成する; または
(iii) 該切断モエティが該アダプターポリペプチドの一部分を形成し、かつ該ペプチド切断ドメインに連結された該アクチュエータモエティが該受容体の細胞内部分を形成する、
前記システム。

【請求項１３】

細胞内での標的ポリヌクレオチドの発現を調節するためのシステムであって、
(a) 抗原に結合する際に修飾されるキメラ受容体ポリペプチド受容体であって、受容体

修飾がコンフォメーション変化または化学修飾を含む、キメラ受容体ポリペプチド;
(b) 該受容体修飾に応答して該受容体に結合するキメラアダプターポリペプチド;
(c) ペプチド切断ドメインに連結されたアクチュエータモエティであって、該ペプチド切断ドメインの切断の際にアクチュエータモエティが活性化されて該標的ポリヌクレオチドと複合体形成する、アクチュエータモエティ; および
(d) 該ペプチド切断ドメインに近接している場合に該ペプチド切断ドメインを切断する組換えプロテアーゼドメイン
を含み、
ここで:
(i) 該組換えプロテアーゼドメインが該受容体の細胞内部分を形成し、かつ該ペプチド切断ドメインに連結された該アクチュエータモエティが該キメラアダプターポリペプチドの一部分を形成する;
(ii) 該組換えプロテアーゼドメインが、該受容体修飾に応答して該受容体に結合する第2アダプターポリペプチドと複合体形成し、かつ該ペプチド切断ドメインに連結された該アクチュエータモエティが該キメラアダプターポリペプチドの一部分を形成し; または
(iii) 該組換えプロテアーゼドメインが該キメラアダプターポリペプチドの一部分を形成し、かつ該ペプチド切断ドメインに連結された該アクチュエータモエティが該受容体の細胞内部分を形成する、
前記システム。
【請求項１４】
(a) 抗原に結合する細胞外抗原相互作用ドメイン;
(b) 膜貫通ドメイン; および
(c) Casタンパク質を含む細胞内遺伝子調整ドメイン
を含み、
ここで、ペプチド切断ドメインが該遺伝子調整ドメインのアミノ末端に位置し;
ここで、該抗原に該細胞外抗原相互作用ドメインが結合する際に、該遺伝子調整ドメインが、該ペプチド切断ドメインの切断によってキメラ受容体ポリペプチドから放出される、
前記キメラ受容体ポリペプチド。
【請求項１５】
(a) キメラ受容体ポリペプチドが、抗原に結合する際に受容体修飾を受ける;
(b) 膜貫通ドメインがNotch受容体タンパク質の一部分、またはその任意の誘導体、バリアントもしくはフラグメントを含み、任意で、膜貫通ドメインが、SEQ ID NO: 39またはそのフラグメントに対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む;
(c) Casタンパク質がDNA切断活性を実質的に欠く;
(d) Casタンパク質がCas9タンパク質である;
(e) 遺伝子調整ドメインが、標的ポリヌクレオチドの発現を増加させるのに有効なアクチベータドメインをさらに含む;
(f) 遺伝子調整ドメインが、標的ポリヌクレオチドの発現を減少させるのに有効なリプレッサドメインをさらに含む;
(g) 遺伝子調整ドメインが、該遺伝子調整ドメインが受容体から放出された後に細胞の特定の領域へ該遺伝子調整ドメインを輸送させる少なくとも1つの標的指向配列をさらに含み、任意で、少なくとも1つの標的指向配列が、核局在化配列(NLS)を含む;
(h) 受容体が、細胞の特定の領域へ該受容体を輸送させる少なくとも1つの標的指向配列に連結される;
(i) 受容体が、ポリペプチド折畳みドメインに連結される; あるいは
(j) ペプチド切断ドメインが、プロテアーゼの認識配列を含む、
請求項14記載のキメラ受容体ポリペプチド。
【請求項１６】
GMPがキメラ受容体ポリペプチドの細胞内領域の一部分を形成し、かつ切断モエティが

キメラアダプターポリペプチドの一部分を形成する、請求項3記載の使用。
【請求項１７】
GMPがキメラアダプターポリペプチドの一部分を形成し、かつ切断モエティがキメラ受容体ポリペプチドの細胞内領域の一部分を形成する、請求項3記載の使用。
【請求項１８】
切断モエティが、受容体修飾に応答してキメラ受容体ポリペプチドに結合する第2アダプターポリペプチドと複合体形成し、かつGMPがキメラアダプターポリペプチドの一部分を形成する、請求項3記載の使用。