

【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9月26日(2019.9.26)

【公開番号】特開2019-88334(P2019-88334A)

【公開日】令和1年6月13日(2019.6.13)

【年通号数】公開・登録公報2019-022

【出願番号】特願2019-52699(P2019-52699)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/12	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 N	15/63	(2006.01)
C 1 2 N	15/85	(2006.01)
A 6 1 L	27/60	(2006.01)
A 6 1 L	27/38	(2006.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)
A 6 1 P	17/00	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 K	35/12	(2015.01)
A 6 1 K	35/545	(2015.01)
A 6 1 K	35/36	(2015.01)
A 6 1 K	35/39	(2015.01)
A 6 1 K	35/28	(2015.01)
A 6 1 K	35/33	(2015.01)
A 6 1 K	35/30	(2015.01)
A 6 1 P	37/06	(2006.01)
C 1 2 N	15/113	(2010.01)
C 0 7 K	14/705	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/12	
C 1 2 N	5/10	Z N A
C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	15/85	Z
A 6 1 L	27/60	
A 6 1 L	27/38	1 0 0
A 6 1 L	27/38	
A 6 1 K	45/00	
A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	43/00	1 0 7
A 6 1 K	35/12	
A 6 1 K	35/545	
A 6 1 K	35/36	
A 6 1 K	35/39	
A 6 1 K	35/28	
A 6 1 K	35/33	
A 6 1 K	35/30	
A 6 1 P	37/06	
C 1 2 N	15/113	Z
C 0 7 K	14/705	

【手続補正書】

【提出日】令和1年8月14日(2019.8.14)

【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】

遺伝子改変を有さない哺乳動物細胞と比較して、低減された免疫原性および/または改善された免疫抑制を有する、前記遺伝子改変がされた哺乳動物細胞であって、

(i) 前記遺伝子改変がされた哺乳動物細胞は、

(a) 配列番号：2のアミノ酸配列との配列同一性が少なくとも95%であるアミノ酸配列を含むヒト白血球抗原-G(HLA-G)タンパク質をコードする核酸配列；ここで、HLA-Gタンパク質をコードする核酸配列は、HLA-Gタンパク質の334位アミノ酸としてアラニンを、335位アミノ酸としてアラニンをコードする；および

(b) 配列番号：3の核酸配列との配列同一性が少なくとも95%である核酸配列を含む3'非翻訳領域(UTR)

を含む、外因性核酸を含み、

(ii) コードされたHLA-Gタンパク質は、前記遺伝子改変がされた哺乳動物細胞により発現される、遺伝子改変がされた哺乳動物細胞。

【請求項2】

前記HLA-Gタンパク質は、少なくとも7週間発現される、請求項1に記載の遺伝子改変がされた哺乳動物細胞。

【請求項3】

前記HLA-Gタンパク質は、少なくとも20週間発現される、請求項2に記載の遺伝子改変がされた哺乳動物細胞。

【請求項4】

前記HLA-Gタンパク質は、少なくとも50週間発現される、請求項3に記載の遺伝子改変がされた哺乳動物細胞。

【請求項5】

前記UTRは、配列番号：4を含まない、請求項1に記載の遺伝子改変がされた哺乳動物細胞。

【請求項6】

延長因子-1アルファ(EF-1)プロモーターをさらに含み、前記HLA-Gタンパク質をコードする前記核酸配列は、作用可能に前記EF-1プロモーターに結合する、請求項1に記載の遺伝子改変がされた哺乳動物細胞。

【請求項7】

前記EF-1プロモーターは、配列番号：6の配列を含む、請求項6に記載の遺伝子改変がされた哺乳動物細胞。

【請求項8】

前記発現されたHLA-Gが、前記遺伝子改変がされた哺乳動物細胞の細胞表面上に存在する、請求項1に記載の遺伝子改変がされた細胞。

【請求項9】

前記改変がされた哺乳動物細胞は、ヒト細胞である、請求項1に記載の遺伝子改変がされた哺乳動物細胞。

【請求項10】

前記遺伝子改変がされた細胞は、幹細胞、前駆細胞、前記幹細胞もしくは前記前駆細胞のin vitro分化により得られる細胞、完全に分化した細胞、表皮前駆細胞、臍臍前駆細胞、造血幹細胞、ケラチノサイト、線維芽細胞、肝細胞、間葉系幹細胞、心筋細胞

、神経幹細胞、ニューロン、または星状膠細胞である、請求項 1 に記載の遺伝子改変がされた哺乳動物細胞。

【請求項 1 1】

前記遺伝子改変がされた細胞は、ヒト胚性幹細胞、ヒト間葉系幹細胞、ヒト胚性表皮前駆細胞、またはヒト皮膚線維芽細胞である、請求項 1 に記載の遺伝子改変がされた哺乳動物細胞。

【請求項 1 2】

請求項 1 1 に記載の遺伝子改変がされた哺乳動物細胞を含む、皮膚移植、修復、または再生組成物。

【請求項 1 3】

前記遺伝子改変を有さない前記哺乳動物細胞と比較して、前記遺伝子改変がされた細胞の前記低減された免疫原性および／または改善された免疫抑制が、(1)前記遺伝子改変を有さない前記哺乳動物細胞と比較した、前記遺伝子改変がされた細胞に対するNK-92細胞毒性の低減、(2)前記遺伝子改変を有さない前記哺乳動物細胞と比較した、前記遺伝子改変がされた細胞によるin vitro末梢血単核細胞増殖の低減、または(3)ヒト化NOD scid gamma(NSG)マウスにおける、前記遺伝子改変を有さない前記哺乳動物細胞と比較した、前記遺伝子改変がされた細胞による腫瘍形成のサイズおよび重量の増加、のいずれかにより決定される、請求項 1 に記載の遺伝子改変がされた細胞。

【請求項 1 4】

請求項 1 に記載の遺伝子改変がされた哺乳動物細胞を含む人工組織。

【請求項 1 5】

前記外因性核酸は、発現ベクターである、請求項 1 に記載の遺伝子改変がされた哺乳動物細胞。

【請求項 1 6】

前記哺乳動物発現ベクターは、トランスポゾンベクターである、請求項 1 5 に記載の遺伝子改変がされた哺乳動物細胞。

【請求項 1 7】

前記ベクターは、レポータータンパク質をコードする核酸配列をさらに含む、請求項 1 5 に記載の遺伝子改変がされた哺乳動物細胞。

【請求項 1 8】

必要とする対象に投与される、請求項 1 に記載の遺伝子改変がされた細胞の集団を含む細胞または組織組成物であって、前記対象に注入され、埋め込まれ、または移植され、前記対象は、前記遺伝子改変がされた細胞の集団と比較して、少なくとも1つのミスマッチ古典的HLAクラスIまたはHLAクラスII分子を有し、前記遺伝子改変がされた細胞の集団は、前記遺伝子改変を有さない同じ型の細胞と比較して、低減された免疫原性および／または改善された免疫抑制を示す、組成物。

【請求項 1 9】

前記少なくとも1つのミスマッチ古典的HLAクラスIまたはHLAクラスII分子は、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DP、HLA-DQ、およびHLA-DRからなる群から選択される、請求項 1 8 に記載の組成物。

【請求項 2 0】

前記対象は、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DP、HLA-DQ、およびHLA-DRに関して、前記遺伝子改変がされた細胞とのマッチを有さない、請求項 1 8 に記載の組成物。

【請求項 2 1】

前記低減された免疫原性および／または改善された免疫抑制は、NK-92細胞毒性アッセイ、ヒト化NSG腫瘍成長アッセイ、および／または末梢血単核細胞増殖アッセイにより決定される、請求項 1 8 に記載の組成物。

【請求項 2 2】

前記遺伝子改変がされた細胞の集団は、ヒト皮膚線維芽細胞の集団、ヒト表皮前駆細胞

の集団、ヒト胚性幹細胞の集団、またはヒト間葉系幹細胞の集団を含む、請求項 1 8 に記載の組成物。

【請求項 2 3】

前記遺伝子改変がされた細胞の集団は、*in vitro* で分化した遺伝子改変がされたヒト胚性幹細胞を含む、請求項 1 8 に記載の組成物。

【請求項 2 4】

前記遺伝子改変がされた細胞の集団は、少なくとも 2 、 4 、 6 、 8 、 10 、 12 、 14 、 16 、 18 、 20 、 24 、 36 、 48 、または 52 週間、前記対象の免疫系により拒絶されない、請求項 1 8 に記載の組成物。

【請求項 2 5】

(i) 配列番号：2 のアミノ酸配列との配列同一性が少なくとも 95 % であるアミノ酸配列を含む HLA - G タンパク質をコードする第 1 の核酸配列；ここで、HLA - G タンパク質をコードする核酸配列は、HLA - G タンパク質の 334 位アミノ酸としてアラニンを、335 位アミノ酸としてアラニンをコードする；および

(i i) 配列番号：3 の核酸配列との配列同一性が少なくとも 95 % である核酸配列を含む 3'UTR を含む第 2 の核酸配列を含む、単離された核酸。

【請求項 2 6】

前記第 2 の核酸配列は、配列番号：4 を含まない、請求項 2 5 に記載の単離された核酸。

【請求項 2 7】

請求項 2 5 に記載の単離された核酸および前記第 1 の核酸配列に作用可能に結合したプロモーターを含む哺乳動物発現ベクターであって、前記プロモーターは、幹細胞内、または前記幹細胞の分化により生成された細胞内でサイレンシングされていない、哺乳動物発現ベクター。

【請求項 2 8】

前記プロモーターは、チャイニーズハムスター EF - 1 プロモーターの核酸配列を含む、請求項 2 7 に記載の哺乳動物発現ベクター。

【請求項 2 9】

レポータータンパク質をコードする第 3 の核酸配列をさらに含む、請求項 2 7 に記載の哺乳動物発現ベクター。

【請求項 3 0】

前記哺乳動物発現ベクターは、トランスポゾンベクターである、請求項 2 7 に記載の哺乳動物発現ベクター。

【請求項 3 1】

(a) チャイニーズハムスター EF - 1 プロモーター；

(b) 前記プロモーターに作用可能に結合し、配列番号：2 のアミノ酸配列との配列同一性が少なくとも 95 % であるアミノ酸配列を含む HLA - G タンパク質をコードする核酸配列；ここで、HLA - G タンパク質をコードする核酸配列は、HLA - G タンパク質の 334 位アミノ酸としてアラニンを、335 位アミノ酸としてアラニンをコードする；および

(c) 配列番号：3 の核酸配列との配列同一性が少なくとも 95 % である核酸配列を含む 3'UTR を含む核酸配列を含む、哺乳動物発現ベクター。

【請求項 3 2】

請求項 3 1 に記載の哺乳動物発現ベクターを含む、遺伝子改変がされた哺乳動物細胞。

【請求項 3 3】

遺伝子改変を有さない哺乳動物細胞と比較して、低減された免疫原性および / または改善された免疫抑制を有する、前記遺伝子改変がされた哺乳動物細胞を製造する方法であつて、

(a) 配列番号：2のアミノ酸配列との配列同一性が少なくとも95%であるアミノ酸配列を含むH L A - G タンパク質をコードする核酸配列；ここで、H L A - G タンパク質をコードする核酸配列は、H L A - G タンパク質の334位アミノ酸としてアラニンを、335位アミノ酸としてアラニンをコードする；および

(b) 配列番号：3の核酸配列との配列同一性が少なくとも95%である核酸配列を含む3' U T R

を含む外因性核酸で哺乳動物細胞を遺伝子改変することを含み、

ここで、前記遺伝子改変がされた細胞の前記低減された免疫原性および／または改善された免疫抑制が、

(1) 前記遺伝子改変を有さない前記哺乳動物細胞と比較した、前記遺伝子改変がされた細胞に対するN K - 92細胞毒性の低減、

(2) 前記遺伝子改変を有さない前記哺乳動物細胞と比較した、前記遺伝子改変がされた細胞によるin vitro末梢血単核細胞増殖の低減、または

(3) ヒト化N S Gマウスにおける、前記遺伝子改変を有さない前記哺乳動物細胞と比較した、前記遺伝子改変がされた細胞による腫瘍形成のサイズおよび重量の増加のいずれかにより決定される、方法。

【請求項34】

前記遺伝子改変がされた哺乳動物細胞が、H L A - G タンパク質を少なくとも7週間発現する、請求項33に記載の方法。

【請求項35】

前記遺伝子改変がされた哺乳動物細胞が、H L A - G タンパク質を少なくとも20週間発現する、請求項34に記載の方法。

【請求項36】

前記遺伝子改変がされた哺乳動物細胞が、H L A - G タンパク質を少なくとも50週間発現する、請求項35に記載の方法。

【請求項37】

前記U T Rは、配列番号：4を含まない、請求項33に記載の方法。

【請求項38】

前記遺伝子改変がされた哺乳動物細胞が、H L A - G タンパク質を、前記遺伝子改変がされた哺乳動物細胞の細胞表面上に発現する、請求項33に記載の方法。

【請求項39】

前記遺伝子改変がされた哺乳動物細胞が、ヒト細胞である、請求項33に記載の方法。

【請求項40】

前記遺伝子改変がされた細胞が、幹細胞、前駆細胞、前記幹細胞または前記前駆細胞のin vitro分化により得られる細胞、完全に分化した細胞、表皮前駆細胞、臍臍前駆細胞、造血幹細胞、ケラチノサイト、線維芽細胞、肝細胞、間葉系幹細胞、心筋細胞、神経幹細胞、ニューロン、および星状膠細胞からなる群から選択される、請求項33に記載の方法。

【請求項41】

前記遺伝子改変がされた細胞が、ヒト胚性幹細胞、ヒト間葉系幹細胞、ヒト胚性表皮前駆細胞、およびヒト皮膚線維芽細胞からなる群から選択される、請求項33に記載の方法。

【請求項42】

前記H L A - G タンパク質をコードする前記核酸配列を含む核酸が、E F - 1 プロモーターをさらに含み、前記H L A - G タンパク質をコードする前記核酸配列が、作用可能に前記E F - 1 プロモーターに結合する、請求項33に記載の方法。

【請求項43】

前記E F - 1 プロモーターが、配列番号：6の配列を含む、請求項42に記載の方法。

【請求項44】

前記外因性核酸が、発現ベクターである、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記発現ベクターが、トランスポゾンベクターである、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記発現ベクターが、レポータータンパク質をコードする核酸配列をさらに含む、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 7】

請求項 3 3 に記載の方法により製造される遺伝子改変がされた哺乳動物細胞を含む、人工組織、皮膚移植、皮膚修復または皮膚再生組成物を製造する方法。

【請求項 4 8】

外因性核酸で哺乳動物細胞を遺伝子改変することが、外因性核酸で哺乳動物細胞を一過性にトランスフェクトすることすることを含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 4 9】

外因性核酸で哺乳動物細胞を遺伝子改変することが、外因性核酸で哺乳動物細胞を安定にトランスフェクトすることすることを含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記遺伝子改変がされた哺乳動物細胞を、抗生物質耐性および／またはフローサイトメトリーを用いて選択する、請求項 3 3 に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 6】

別の実施形態において、本発明の外因性ヒト 2 - ミクログロブリン (2 m) 分子および e H L A - G 導入遺伝子を含む遺伝子改変された哺乳動物細胞の集団を、細胞治療方法を必要とする対象に投与することを含む、細胞治療方法が提供される。

本発明の実施形態を、以下にさらに記載する：

[項 1]

遺伝子改変を有さない哺乳動物細胞と比較して、低減された免疫原性および／または改善された免疫抑制を有する、前記遺伝子改変された哺乳動物細胞であって、

(i) 前記遺伝子改変された哺乳動物細胞は、(a) コンセンサス野生型ヒト H L A - G と少なくとも 9 5 % 同一であるアミノ酸配列を有し、小胞体 - ゴルジ再循環経路において H L A - G の保持を低減する 1 つ以上のアミノ酸突然変異を含む H L A - G タンパク質をコードする、核酸配列と、(b) コンセンサス野生型ヒト H L A - G 遺伝子の 3 ' 非翻訳領域 (U T R) 配列と少なくとも 8 5 % 同一であり、配列番号 4 を含まない 3 ' 非翻訳領域とを含む、外因性核酸を含み、

(i i) コードされた H L A - G タンパク質は、少なくとも 7 週間、前記遺伝子改変された哺乳動物細胞により発現される、遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項 2]

前記 H L A - G タンパク質は、少なくとも 2 0 週間発現される、上記項 1 の遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項 3]

前記 H L A - G タンパク質は、少なくとも 5 0 週間発現される、上記項 2 に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項 4]

小胞体 - ゴルジ再循環経路において H L A - G の保持を低減する前記 1 つ以上のアミノ酸突然変異は、K 3 3 4 A 突然変異、K 3 3 5 A 突然変異、または両方の突然変異を含む、上記項 1 に記載の遺伝子改変された細胞。

[項 5]

前記核酸配列は、配列番号：2のアミノ酸配列を有するH L A - Gタンパク質をコードする、上記項1に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項6]

延長因子-1アルファ(E F - 1)プロモーターをさらに含み、前記H L A - Gタンパク質をコードする前記核酸配列は、作用可能に前記E F - 1プロモーターに結合する、上記項1に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項7]

前記E F - 1プロモーターは、配列番号：7の配列を含む、上記項6に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項8]

前記3'UTRは、配列番号：3を含む、上記項1に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項9]

前記核酸配列は、配列番号：2のアミノ酸配列を有するH L A - Gタンパク質をコードし、前記3'UTRが、配列番号：3を含み、前記H L A - Gタンパク質をコードする前記核酸に作用可能に結合した配列番号：7を含むE F - 1プロモーターをさらに含む、上記項1に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項10]

前記発現されたH L A - Gが、前記遺伝子改変された哺乳動物細胞の細胞表面上に存在する、上記項1に記載の遺伝子改変された細胞。

[項11]

前記改変された哺乳動物細胞は、ヒト細胞である、上記項1に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項12]

前記遺伝子改変された細胞は、幹細胞、前駆細胞、前記幹細胞もしくは前記前駆細胞のin vitro分化により得られる細胞、完全に分化した細胞、表皮前駆細胞、臍臍前駆細胞、造血幹細胞、ケラチノサイト、線維芽細胞、幹細胞、間葉系幹細胞、心筋細胞、神経幹細胞、ニューロン、または星状膠細胞である、上記項1に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項13]

前記遺伝子改変された細胞は、ヒト胚性幹細胞、ヒト間葉系幹細胞、またはヒト胚性表皮前駆細胞である、上記項1に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項14]

前記遺伝子改変された細胞は、ヒト皮膚線維芽細胞である、上記項1に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項15]

前記遺伝子改変を有さない前記哺乳動物細胞と比較して、前記遺伝子改変された細胞の前記低減された免疫原性および/または改善された免疫抑制が、(1)前記遺伝子改変を有さない前記哺乳動物細胞と比較した、前記遺伝子改変された細胞のNK-92細胞毒性の低減、(2)前記遺伝子改変を有さない前記哺乳動物細胞と比較した、前記遺伝子改変された細胞のin vitro末梢血单核細胞増殖の低減、ならびに(3)ヒト化NSGマウスにおける、前記遺伝子改変を有さない前記哺乳動物細胞と比較した、前記遺伝子改変された細胞による腫瘍形成のサイズおよび重量の増加により決定される、上記項1に記載の遺伝子改変された細胞。

[項16]

上記項1に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞を含む人工組織。

[項17]

上記項13または上記項14に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞を含む皮膚移植、修復、または再生組成物。

[項18]

前記外因性核酸は、発現ベクターである、上記項1に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項19]

前記哺乳動物発現ベクターは、トランスポゾンベクターである、上記項18に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項20]

前記ベクターは、レポータータンパク質をコードする核酸配列をさらに含む、上記項18に記載の遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項21]

単離された核酸であって、

(i)ヒトHLA-Gと少なくとも95%同一であるアミノ酸配列をコードする第1の核酸配列であって、前記アミノ酸配列は、小胞体-ゴルジ再循環経路においてHLA-Gの保持を低減する突然変異を含む、第1の核酸配列と、

(ii)前記ヒトHLA-G遺伝子の3'非翻訳領域配列と少なくとも95%同一であり、前記第1の核酸配列に作用可能に結合した第2の核酸配列であって、その3'非翻訳領域内に突然変異結合部位を含むmRNAへの同族microRNAの結合を阻害する少なくとも1つの突然変異を含む、第2の核酸配列とを含む、単離された核酸。

[項22]

前記第1の核酸配列は、配列番号：2のアミノ酸配列をコードする、上記項21に記載の単離された核酸。

[項23]

前記第2の核酸配列は、配列番号：4を含まない、上記項21に記載の単離された核酸。

[項24]

前記第2の核酸配列は、配列番号：3を含む、上記項21に記載の単離された核酸。

[項25]

上記項21に記載の単離された核酸および前記第1の核酸配列に作用可能に結合したプロモーターを含む哺乳動物発現ベクターであって、前記プロモーターは、幹細胞内、または前記幹細胞の分化により生成された細胞内でサイレンシングされていない、哺乳動物発現ベクター。

[項26]

前記プロモーターは、チャイニーズハムスターEF-1プロモーターの核酸配列を含む、上記項25に記載の哺乳動物発現ベクター。

[項27]

レポータータンパク質をコードする第3の核酸配列をさらに含む、上記項25に記載の哺乳動物発現ベクター。

[項28]

前記哺乳動物発現ベクターは、トランスポゾンベクターである、上記項25に記載の哺乳動物発現ベクター。

[項29]

(a)チャイニーズハムスターEF-1プロモーター、(b)前記プロモーターに作用可能に結合し、配列番号：2のアミノ酸配列を有するヒトHLA-Gをコードする核酸配列、および(c)配列番号：3を含む3'UTR配列を含む、哺乳動物発現ベクター。

[項30]

上記項29に記載の哺乳動物発現ベクターを含む、遺伝子改変された哺乳動物細胞。

[項31]

細胞または組織修復または再生を必要とする対象へのその普遍的方法であって、上記項1に記載の遺伝子改変された細胞の集団を含む細胞または組織組成物を前記対象に注入する、埋め込む、または移植することを含み、前記対象は、前記遺伝子改変された細胞の集団と比較して、少なくとも1つのミスマッチ古典的HLAクラスIまたはHLAクラスI

I 分子を有し、前記遺伝子改変された細胞の集団は、前記遺伝子改変を有さない同じ型の細胞と比較して、低減された免疫原性および／または改善された免疫抑制を示す、普遍的方法。

[項 3 2]

前記少なくとも 1 つのミスマッチ古典的 HLA クラス I または HLA クラス I I 分子は、HLA - A、HLA - B、HLA - C、HLA - DP、HLA - DQ、および HLA - DR からなる群から選択される、上記項 3 1 に記載の方法。

[項 3 3]

前記対象は、HLA - A、HLA - B、HLA - C、HLA - DP、HLA - DQ、および HLA - DR に関して、前記遺伝子改変された細胞とのマッチを有さない、上記項 3 1 に記載の方法。

[項 3 4]

前記低減された免疫原性および／または改善された免疫抑制は、NK - 92 細胞毒性アッセイ、ヒト化 NSG 腫瘍成長アッセイ、および／または末梢血単核細胞増殖アッセイにより決定される、上記項 3 1 に記載の方法。

[項 3 5]

前記遺伝子改変された細胞の集団は、ヒト皮膚線維芽細胞の集団を含む、上記項 3 1 に記載の方法。

[項 3 6]

前記遺伝子改変された細胞の集団は、ヒト表皮前駆細胞の集団を含む、上記項 3 1 に記載の方法。

[項 3 7]

前記遺伝子改変された細胞の集団は、ヒト胚性幹細胞の集団を含む、上記項 3 1 に記載の方法。

[項 3 8]

前記遺伝子改変された細胞の集団は、ヒト間葉系幹細胞の集団を含む、上記項 3 1 に記載の方法。

[項 3 9]

前記遺伝子改変された細胞の集団は、in vitro で分化した遺伝子改変されたヒト胚性幹細胞を含む、上記項 3 1 に記載の方法。

[項 4 0]

前記遺伝子改変された細胞の集団は、少なくとも 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、24、36、48、または 52 週間、前記対象の免疫系により拒絶されない、上記項 3 1 に記載の方法。