

【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3年11月25日(2021.11.25)

【公表番号】特表2021-500028(P2021-500028A)

【公表日】令和3年1月7日(2021.1.7)

【年通号数】公開・登録公報2021-001

【出願番号】特願2020-522004(P2020-522004)

【国際特許分類】

C 1 2 N	5/0781	(2010.01)
C 1 2 P	21/08	(2006.01)
C 1 2 N	15/13	(2006.01)
C 1 2 N	15/11	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	15/85	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	5/0781	Z N A
C 1 2 P	21/08	
C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/11	Z
C 1 2 N	15/09	1 1 0
C 1 2 N	15/85	Z

【手続補正書】

【提出日】令和3年10月18日(2021.10.18)

【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】

B細胞を遺伝子操作して、選択された抗体を発現させる方法であって、該方法はB細胞に、

遺伝子構築物の挿入のために標的にされるB細胞における遺伝子領域を切断する遺伝子編集剤及び、

5'から3'に向かって

(i)重鎖プロモーターのヌクレオチド配列、

(ii)シグナルペプチドをコードするヌクレオチド配列、

(iii)選択された抗体の軽鎖をコードするヌクレオチド配列

(iv)(a)柔軟なリンカー又は自己切断ペプチドをコードするヌクレオチド配列又は

(b)スキッピングエレメントのヌクレオチド配列、

(v)選択された抗体の重鎖の可変領域をコードするヌクレオチド配列、及び

(vi)スライスジャンクションを含むヌクレオチド配列

を含む遺伝子構築物、を送達することを含み、

遺伝子領域は、

(A)配列番号1、

(B)配列番号2、

(C)配列番号3又は

(D)配列番号4

の配列を含み、

遺伝子編集剤による切断後、(A)、(B)、(C)又は(D)の遺伝子領域に遺伝子構築物が挿入され、それによりB細胞が選択された抗体を発現するように遺伝子操作して、選択された抗体を発現させる方法。

【請求項2】

B細胞の内因性可変重鎖コードゲノムが切り出されない、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

遺伝子編集剤が、ガイドRNA(gRNA)と会合したヌクレアーゼを含み、該ガイドRNA(gRNA)が、

遺伝子領域が(A)であるとき、配列番号88、89、290、291、292、293、294、295、296、297、298、299、300、301、302、303、304、305、306又は307の配列を有し、

遺伝子領域が(B)であるとき、配列番号308、309、310、311、312、313、314、315、316、317、318、319、320、321、322、323、324、325、326又は327の配列を有し、

遺伝子領域が(C)であるとき、配列番号87、328、329、330、331、332、333、334、335、336、337、338、339、340、341、342、343、344、345又は346の配列を有し、又は

遺伝子領域が(D)であるとき、配列番号347、348、349、350、351、352、353、354、355、356、357、358、359、360、361、362、363、364、365又は366の配列を有する、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

送達することが電気穿孔、ナノ粒子又はウイルス媒介送達を通じてである、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

gRNA及びヌクレアーゼが電気穿孔を通じて送達され、遺伝子構築物がウイルスベクターの一部として送達される、請求項3に記載の方法。

【請求項6】

ヌクレアーゼがCas9又はCpf1である、請求項3に記載の方法。

【請求項7】

重鎖プロモーターが、

遺伝子領域が(A)又は(B)のとき、配列番号111で表される配列を有し、又は

遺伝子領域が(C)又は(D)のとき、配列番号128で表される配列を有する、請求項1に記載の方法。

【請求項8】

シグナルペプチドが、

配列番号185、186、187、188、189、190、191又は192で表されるアミノ酸配列を有し、

配列番号193又は194で表されるアミノ酸配列を有し、

遺伝子領域が(A)又は(B)のとき、配列番号118で表されるアミノ酸配列を有し、又は

遺伝子領域が(C)又は(D)のとき、配列番号134で表されるアミノ酸配列を有する、

請求項1に記載の方法。

【請求項9】

柔軟なリンカーが配列番号116で表されるヌクレオチド配列によりコードされ、配列番号122、180、181、182、183又は184で表されるアミノ酸配列を有し、及び/又は50~80アミノ酸を含むGly-Serリンカーである、

請求項1に記載の方法。

【請求項10】

自己切断ペプチドが配列番号176、177、178又は179で表される配列を有し、又はスキッピングエレメントが内部リボソーム進入部位(IRES)である、請求項1に記載の方法。

【請求項11】

スプライスジャンクションを含むスクレオチド配列が、
遺伝子領域が（A）又は（B）のとき、配列番号124又は151で表され、又は
遺伝子領域が（C）又は（D）のとき、配列番号139で表される、
請求項1に記載の方法。

【請求項12】

遺伝子構築物が、配列番号195、196、197、198、199、200、201、202、203又は204で表される配列を有するタグをコードする、請求項1に記載の方法。

【請求項13】

遺伝子構築物が、アデノ随伴ウイルスベクターの一部である、請求項1に記載の方法。

【請求項14】

遺伝子構築物の挿入の後、

（A）の遺伝子領域が配列番号109で表される配列を含み、又は

（C）の遺伝子領域が配列番号108で表される配列を含む、

請求項1に記載の方法。

【請求項15】

選択された抗体が、

（a）配列番号138で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変重鎖及び、配列番号136で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変軽鎖、

（b）配列番号138で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変重鎖及び、配列番号205で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変軽鎖、

（c）配列番号123で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変重鎖及び、配列番号120で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変軽鎖、又は

（d）配列番号123で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変重鎖及び、配列番号206で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変軽鎖、

を含む、抗呼吸器合胞体ウイルス（RSV）抗体、

配列番号150で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変重鎖及び、配列番号149で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変軽鎖、を含む抗ヒト免疫不全ウイルス（HIV）抗体、

配列番号235で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変重鎖及び、配列番号236で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変軽鎖、を含む抗百日咳抗体、

配列番号159で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変重鎖及び、配列番号158で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変軽鎖、を含む抗インフルエンザ抗体、

配列番号168で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変重鎖及び、配列番号166で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変軽鎖、を含む抗エプスタイン・バーウィルス（EBV）抗体、又は

配列番号254で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変重鎖及び、配列番号255で表される配列と少なくとも90%の配列同一性を有する可変軽鎖、を含む抗腫瘍壞死因子（TNF）抗体

を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項16】

選択された抗体が、Kabat番号付けに従い、

配列番号207を含むCDRH1、配列番号208を含むCDRH2、配列番号209

を含むCDRH3、配列番号210を含むCDRL1、配列番号211を含むCDRL2及び配列番号212を含むCDRL3、

配列番号 213 を含む CDRH1、配列番号 214 を含む CDRH2、配列番号 215 を含む CDRH3、配列番号 216 を含む CDRL1、配列番号 217 を含む CDRL2 及び配列番号 218 を含む CDRL3、

配列番号 219 を含む CDRH1、配列番号 220 を含む CDRH2、配列番号 221 を含む CDRH3、QYGS を含む CDRL1、SGS を含む CDRL2 及び配列番号 222 を含む CDRL3、

配列番号 223 を含む CDRH1、配列番号 224 を含む CDRH2、配列番号 225 を含む CDRH3、配列番号 226 を含む CDRL1、配列番号 227 を含む CDRL2 及び配列番号 228 を含む CDRL3、

配列番号 229 を含む CDRH1、配列番号 230 を含む CDRH2、配列番号 231 を含む CDRH3、配列番号 232 を含む CDRL1、配列番号 233 を含む CDRL2 及び配列番号 234 を含む CDRL3、

配列番号 237 を含む CDRH1、配列番号 238 を含む CDRH2、配列番号 239 を含む CDRH3、配列番号 240 を含む CDRL1、配列番号 241 を含む CDRL2 及び配列番号 242 を含む CDRL3、

配列番号 243 を含む CDRH1、配列番号 244 を含む CDRH2、配列番号 245 を含む CDRH3、配列番号 246 を含む CDRL1、KTS を含む CDRL2 及び配列番号 247 を含む CDRL3、

配列番号 248 を含む CDRH1、配列番号 249 を含む CDRH2、配列番号 250 を含む CDRH3、配列番号 251 を含む CDRL1、配列番号 252 を含む CDRL2 及び配列番号 253 を含む CDRL3、

配列番号 256 を含む CDRH1、配列番号 257 を含む CDRH2、配列番号 258 を含む CDRH3、配列番号 259 を含む CDRL1、配列番号 260 を含む CDRL2 及び配列番号 261 を含む CDRL3、

配列番号 262 を含む CDRH1、配列番号 263 を含む CDRH2、配列番号 264 を含む CDRH3、配列番号 265 を含む CDRL1、配列番号 266 を含む CDRL2 及び配列番号 267 を含む CDRL3、又は

配列番号 268 を含む CDRH1、配列番号 269 を含む CDRH2、配列番号 270 を含む CDRH3、配列番号 271 を含む CDRL1、配列番号 272 を含む CDRL2 及び配列番号 273 を含む CDRL3、

を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 17】

選択された抗体が、抗呼吸器合胞体ウイルス (RSV) 抗体、抗ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 抗体、抗デングウイルス抗体、抗ボルデテラ・ペルツシス (Bordetella pertussis) 抗体、抗 C 型肝炎抗体、抗インフルエンザウイルス抗体、抗パラインフルエンザウイルス抗体、抗メタニユーモウイルス (MPV) 抗体、抗サイトメガロウイルス抗体、抗エピスタイン・バーウィルス抗体、抗単純ヘルペスウイルス抗体、抗クロストリジウム・ディフィシル (Clostridium difficile) 細菌毒素抗体、又は抗腫瘍壞死因子 (TNF) 抗体である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 18】

選択された抗体が、
バリビズマブ、AB1128 及び ab20745 から選択される抗 RSV 抗体である、
10E8、VRCC01、ab18633 及び 39/5.4A から選択される抗 HIV 抗体である、

抗体 55、DB2-3、ab155042 及び ab80914 から選択される抗デングウイルス抗体、

MAB8694 及び C7-50 から選択される抗 C 型肝炎抗体、

C102 を含む抗インフルエンザウイルス抗体、

MPE8 を含む抗 MPV 抗体、

MCMV5322A、MCMV3068A、LJP538 及び LJP539 から選択さ

れる抗 C M V 抗体、

H S V 8 - N 及び M B 6 6 から選択される抗 H S V 抗体、

アクトクスマブ及びベズロトクスマブから選択される抗クロストリジウム・ディフィシル抗体、又は

インフリキシマブ、アダリムマブ、エタネルセプト及びセルトリズマブから選択される抗 T N F 抗体、である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 9】

遺伝子構築物が、重鎖プロモーターの相同性アーム 5' 及びスプライスジャンクションの相同性アーム 3' を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 0】

遺伝子構築物が、配列番号 1 2 6 で表されるアミノ酸配列を有する抗 R S V 抗体をコードするコード配列を含む、配列番号 1 0 2 で表されるヌクレオチド配列、

配列番号 1 4 1 で表されるアミノ酸配列を有する抗 R S V 抗体をコードするコード配列を含む、配列番号 1 0 3 で表されるヌクレオチド配列、

配列番号 1 4 1 で表されるアミノ酸配列を有する抗 R S V 抗体をコードするコード配列を含む、配列番号 1 0 4 で表されるヌクレオチド配列、

配列番号 1 5 2 で表されるアミノ酸配列を有する抗 H I V 抗体をコードするコード配列を含む、配列番号 1 0 5 で表されるヌクレオチド配列、

配列番号 1 6 0 で表されるアミノ酸配列を有する抗インフルエンザ抗体をコードするコード配列を含む、配列番号 1 0 6 で表されるヌクレオチド配列、

配列番号 1 6 9 で表されるアミノ酸配列を有する抗 E B V 抗体をコードするコード配列を含む、配列番号 1 0 7 で表されるヌクレオチド配列、

を含む、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

遺伝子領域が (A) であるとき、

5' 相同性アームが配列番号 1 1 0 又は 1 5 3 で表され、3' 相同性アームが配列番号 1 2 5 で表され、

5' 相同性アームが配列番号 9 2 で表され、3' 相同性アームが配列番号 9 3 で表され、もしくは

5' 相同性アームが配列番号 9 4 で表され、3' 相同性アームが配列番号 9 5 で表され、又は

遺伝子領域が (C) であるとき、

5' 相同性アームが配列番号 1 2 7 で表され、3' 相同性アームが配列番号 1 4 0 で表され、

5' 相同性アームが配列番号 9 0 で表され、3' 相同性アームが配列番号 9 1 で表され、もしくは

5' 相同性アームが配列番号 1 4 2 で表され、3' 相同性アームが配列番号 1 4 3 で表される、

請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 2】

遺伝子領域が (A) を含むとき、遺伝子構築物は、

(i) 配列番号 1 1 0 で表される 5' 相同性アーム配列、

(i i) 配列番号 1 1 1 で表される配列を有する重鎖プロモーター、

(i i i) 配列番号 1 1 8 で表されるアミノ酸配列を有するシグナルペプチドをコードするコード配列、

(i v) 配列番号 2 8 5 で表されるアミノ酸配列を有する選択された抗体の軽鎖をコードするコード配列、

(v) 配列番号 1 2 2 で表されるアミノ酸配列を有する柔軟なリンカーをコードするコード配列、

(v i) 配列番号 1 2 3 で表されるアミノ酸配列を有する選択された抗体の重鎖の可変領域をコードするコード配列、
(v i i) 配列番号 1 2 4 で表される配列を有するスプライスジャンクション、及び
(v i i i) 配列番号 1 2 5 で表される 3' 相同性アーム配列、を含む、又は
遺伝子領域が (A) を含むとき、遺伝子構築物は、
(i) 配列番号 1 1 0 で表される 5' 相同性アーム配列、
(i i) 配列番号 1 1 1 で表される配列を有する重鎖プロモーター、
(i i i) 配列番号 1 1 8 で表されるアミノ酸配列を有するシグナルペプチドをコードするコード配列、
(i v) 配列番号 2 8 7 で表されるアミノ酸配列を有する選択された抗体の軽鎖をコードするコード配列、
(v) 配列番号 1 2 2 で表されるアミノ酸配列を有する柔軟なリンカーをコードするコード配列、
(v i) 配列番号 1 5 0 で表されるアミノ酸配列を有する選択された抗体の重鎖の可変領域をコードするコード配列、
(v i i) 配列番号 1 5 1 で表される配列を有するスプライスジャンクション、及び
(v i i i) 配列番号 1 2 5 で表される 3' 相同性アーム配列、を含む、又は
遺伝子領域が (A) を含むとき、遺伝子構築物は、
(i) 配列番号 1 5 3 で表される 5' 相同性アーム配列、
(i i) 配列番号 1 1 1 で表される配列を有する重鎖プロモーター、
(i i i) 配列番号 1 1 8 で表されるアミノ酸配列を有するシグナルペプチドをコードするコード配列、
(i v) 配列番号 2 8 8 で表されるアミノ酸配列を有する選択された抗体の軽鎖をコードするコード配列、
(v) 配列番号 1 2 2 で表されるアミノ酸配列を有する柔軟なリンカーをコードするコード配列、
(v i) 配列番号 1 5 9 で表されるアミノ酸配列を有する選択された抗体の重鎖の可変領域をコードするコード配列、
(v i i) 配列番号 1 5 1 で表される配列を有するスプライスジャンクション、及び
(v i i i) 配列番号 1 2 5 で表される 3' 相同性アーム配列、を含む、又は
遺伝子領域が (A) を含むとき、遺伝子構築物は、
(i) 配列番号 1 5 3 で表される 5' 相同性アーム配列、
(i i) 配列番号 1 1 1 で表される配列を有する重鎖プロモーター、
(i i i) 配列番号 1 1 8 で表されるアミノ酸配列を有するシグナルペプチドをコードするコード配列、
(i v) 配列番号 2 8 9 で表されるアミノ酸配列を有する選択された抗体の軽鎖をコードするコード配列、
(v) 配列番号 1 2 2 で表されるアミノ酸配列を有する柔軟なリンカーをコードするコード配列、
(v i) 配列番号 1 6 8 で表されるアミノ酸配列を有する選択された抗体の重鎖の可変領域をコードするコード配列、
(v i i) 配列番号 1 5 1 で表される配列を有するスプライスジャンクション、及び
(v i i i) 配列番号 1 2 5 で表される 3' 相同性アーム配列、を含む、又は
遺伝子領域が (C) を含むとき、遺伝子構築物は、
(i) 配列番号 1 2 7 で表される 5' 相同性アーム配列、
(i i) 配列番号 1 2 8 で表される配列を有する重鎖プロモーター、
(i i i) 配列番号 1 3 4 で表されるアミノ酸配列を有するシグナルペプチドをコードするコード配列、
(i v) 配列番号 2 8 6 で表されるアミノ酸配列を有する選択された抗体の軽鎖をコードするコード配列、

(v) 配列番号 122 で表されるアミノ酸配列を有する柔軟なリンカーをコードするコード配列、

(vi) 配列番号 138 で表されるアミノ酸配列を有する選択された抗体の重鎖の可変領域をコードするコード配列、

(vii) 配列番号 139 で表される配列を有するスプライスジャンクション、及び

(viii) 配列番号 140 で表される 3' 相同性アーム配列、を含む、又は

遺伝子領域が (C) を含むとき、遺伝子構築物は、

(i) 配列番号 142 で表される 5' 相同性アーム配列、

(ii) 配列番号 128 で表される配列を有する重鎖プロモーター、

(iii) 配列番号 134 で表されるアミノ酸配列を有するシグナルペプチドをコードするコード配列、

(iv) 配列番号 286 で表されるアミノ酸配列を有する選択された抗体の軽鎖をコードするコード配列、

(v) 配列番号 122 で表されるアミノ酸配列を有する柔軟なリンカーをコードするコード配列、

(vi) 配列番号 138 で表されるアミノ酸配列を有する選択された抗体の重鎖の可変領域をコードするコード配列、

(vii) 配列番号 139 で表される配列を有するスプライスジャンクション、及び

(viii) 配列番号 143 で表される 3' 相同性アーム配列、を含む、

請求項 19 に記載の方法。

【請求項 23】

B 細胞が、抗体産生 B 細胞、記憶 B 細胞、ナイーブ B 細胞、B1 B 細胞又は周辺帯 B 細胞である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 24】

遺伝子操作され、選択された抗体を発現する B 細胞であって、該 B 細胞には、
遺伝子構築物の挿入のために標的にされる B 細胞における遺伝子領域を切断する遺伝子編集剤、及び

5' から 3' に向かって

(i) 重鎖プロモーターのヌクレオチド配列、

(ii) シグナルペプチドをコードするヌクレオチド配列、

(iii) 選択された抗体の軽鎖をコードするヌクレオチド配列

(iv) (a) 柔軟なリンカー又は自己切断ペプチドをコードするヌクレオチド配列又は
(b) スキッピングエレメントのヌクレオチド配列、

(v) 選択された抗体の重鎖の可変領域をコードするヌクレオチド配列、及び

(vi) スプライスジャンクションを含むヌクレオチド配列

を含む遺伝子構築物、が送達され、

遺伝子領域は、

(A) 配列番号 1、

(B) 配列番号 2、

(C) 配列番号 3 又は

(D) 配列番号 4

の配列を含み、

遺伝子編集剤による切断後、(A)、(B)、(C) 又は (D) の遺伝子領域に遺伝子構築物が挿入された B 細胞。

【請求項 25】

B 細胞が、抗体分泌 B 細胞、記憶 B 細胞、ナイーブ B 細胞、B1 B 細胞又は周辺帯 B 細胞である、請求項 24 に記載の B 細胞。

【請求項 26】

抗感染効果を必要とする対象において抗感染効果を提供するための、治療有効量の請求項 24 に記載の B 細胞を含む医薬組成物。

【請求項 27】

ワクチン接種の必要を取り除く、請求項 26 に記載の医薬組成物。

【請求項 28】

ワクチン接種プロトコールに取って代わる、請求項 26 に記載の医薬組成物。

【請求項 29】

対象が免疫抑制された対象である、請求項 26 に記載の医薬組成物。

【請求項 30】

対象が、骨髄移植、造血幹細胞移植又は遺伝子改変造血幹細胞の投与を含む処置レジメンの一部として免疫抑制された対象である、請求項 26 に記載の医薬組成物。

【請求項 31】

抗炎症効果を必要とする対象において抗炎症効果を提供するための、治療有効量の請求項 24 に記載の B 細胞を含む医薬組成物。