

【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、

( i i ) シグナルペプチドをコードするヌクレオチド配列、

( i i i ) 選択された抗体の軽鎖をコードするヌクレオチド配列

( i v ) ( 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

( v i ) 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、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ヌクレオチド配列が、  
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・バーウイルス（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、を含む抗腫瘍壊死因子（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 2 1 3 を含む C D R H 1、配列番号 2 1 4 を含む C D R H 2、配列番号 2 1 5 を含む C D R H 3、配列番号 2 1 6 を含む C D R L 1、配列番号 2 1 7 を含む C D R L 2 及び配列番号 2 1 8 を含む C D R L 3、

配列番号 2 1 9 を含む C D R H 1、配列番号 2 2 0 を含む C D R H 2、配列番号 2 2 1 を含む C D R H 3、Q Y G S を含む C D R L 1、S G S を含む C D R L 2 及び配列番号 2 2 2 を含む C D R L 3、

配列番号 2 2 3 を含む C D R H 1、配列番号 2 2 4 を含む C D R H 2、配列番号 2 2 5 を含む C D R H 3、配列番号 2 2 6 を含む C D R L 1、配列番号 2 2 7 を含む C D R L 2 及び配列番号 2 2 8 を含む C D R L 3、

配列番号 2 2 9 を含む C D R H 1、配列番号 2 3 0 を含む C D R H 2、配列番号 2 3 1 を含む C D R H 3、配列番号 2 3 2 を含む C D R L 1、配列番号 2 3 3 を含む C D R L 2 及び配列番号 2 3 4 を含む C D R L 3、

配列番号 2 3 7 を含む C D R H 1、配列番号 2 3 8 を含む C D R H 2、配列番号 2 3 9 を含む C D R H 3、配列番号 2 4 0 を含む C D R L 1、配列番号 2 4 1 を含む C D R L 2 及び配列番号 2 4 2 を含む C D R L 3、

配列番号 2 4 3 を含む C D R H 1、配列番号 2 4 4 を含む C D R H 2、配列番号 2 4 5 を含む C D R H 3、配列番号 2 4 6 を含む C D R L 1、K T S を含む C D R L 2 及び配列番号 2 4 7 を含む C D R L 3、

配列番号 2 4 8 を含む C D R H 1、配列番号 2 4 9 を含む C D R H 2、配列番号 2 5 0 を含む C D R H 3、配列番号 2 5 1 を含む C D R L 1、配列番号 2 5 2 を含む C D R L 2 及び配列番号 2 5 3 を含む C D R L 3、

配列番号 2 5 6 を含む C D R H 1、配列番号 2 5 7 を含む C D R H 2、配列番号 2 5 8 を含む C D R H 3、配列番号 2 5 9 を含む C D R L 1、配列番号 2 6 0 を含む C D R L 2 及び配列番号 2 6 1 を含む C D R L 3、

配列番号 2 6 2 を含む C D R H 1、配列番号 2 6 3 を含む C D R H 2、配列番号 2 6 4 を含む C D R H 3、配列番号 2 6 5 を含む C D R L 1、配列番号 2 6 6 を含む C D R L 2 及び配列番号 2 6 7 を含む C D R L 3、又は

配列番号 2 6 8 を含む C D R H 1、配列番号 2 6 9 を含む C D R H 2、配列番号 2 7 0 を含む C D R H 3、配列番号 2 7 1 を含む C D R L 1、配列番号 2 7 2 を含む C D R L 2 及び配列番号 2 7 3 を含む C D R L 3、

を含む、請求項 1 に記載の方法。

#### 【請求項 1 7】

選択された抗体が、抗呼吸器合胞体ウイルス ( R S V ) 抗体、抗ヒト免疫不全ウイルス ( H I V ) 抗体、抗デングウイルス抗体、抗ボルデテラ・ペルツシス ( B o r d e t t e l l a p e r t u s s i s ) 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、抗メタニューモウイルス ( M P V ) 抗体、抗サイトメガロウイルス抗体、抗エプスタイン・バーウイルス抗体、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 ( C l o s t r i d i u m d i f f i c i l e ) 細菌毒素抗体、又は抗腫瘍壊死因子 ( T N F ) 抗体である、請求項 1 に記載の方法。

#### 【請求項 1 8】

選択された抗体が、  
パリピズマブ、A B 1 1 2 8 及び a b 2 0 7 4 5 から選択される抗 R S V 抗体である、  
1 0 E 8、V R C 0 1、a b 1 8 6 3 3 及び 3 9 / 5 . 4 A から選択される抗 H I V 抗体である、

抗体 5 5、D B 2 - 3、a b 1 5 5 0 4 2 及び a b 8 0 9 1 4 から選択される抗デングウイルス抗体、

M A B 8 6 9 4 及び C 7 - 5 0 から選択される抗 C 型肝炎抗体、

C 1 0 2 を含む抗インフルエンザウイルス抗体、

M P E 8 を含む抗 M P V 抗体、

M C M V 5 3 2 2 A、M C M V 3 0 6 8 A、L J P 5 3 8 及び L J P 5 3 9 から選択さ

れる抗CMV抗体、

HSV8-N及びMB66から選択される抗HSV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TNF抗体、である、請求項1に記載の方法。

【請求項19】

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20】

遺伝子構築物が、

配列番号126で表されるアミノ酸配列を有する抗RSV抗体をコードするコード配列を含む、配列番号102で表されるヌクレオチド配列、

配列番号141で表されるアミノ酸配列を有する抗RSV抗体をコードするコード配列を含む、配列番号103で表されるヌクレオチド配列、

配列番号141で表されるアミノ酸配列を有する抗RSV抗体をコードするコード配列を含む、配列番号104で表されるヌクレオチド配列、

配列番号152で表されるアミノ酸配列を有する抗HIV抗体をコードするコード配列を含む、配列番号105で表されるヌクレオチド配列、

配列番号160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106で表されるヌクレオチド配列、

配列番号169で表されるアミノ酸配列を有する抗EBV抗体をコードするコード配列を含む、配列番号107で表されるヌクレオチド配列、  
を含む、請求項19に記載の方法。

【請求項21】

遺伝子領域が(A)であるとき、

5'相同性アームが配列番号110又は153で表され、3'相同性アームが配列番号125で表され、

5'相同性アームが配列番号92で表され、3'相同性アームが配列番号93で表され、もしくは

5'相同性アームが配列番号94で表され、3'相同性アームが配列番号95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127で表され、3'相同性アームが配列番号140で表され、

5'相同性アームが配列番号90で表され、3'相同性アームが配列番号91で表され、もしくは

5'相同性アームが配列番号142で表され、3'相同性アームが配列番号143で表される、

請求項19に記載の方法。

【請求項22】

遺伝子領域が(A)を含むとき、遺伝子構築物は、

(i)配列番号110で表される5'相同性アーム配列、

(ii)配列番号111で表される配列を有する重鎖プロモーター、

(iii)配列番号118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285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、

( 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 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、

(vi) 配列番号 1 3 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、

(vii) 配列番号 1 3 9 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 1 4 0 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 4 2 で表される 5' 相同性アーム配列、

(ii) 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、

(iii) 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、

(iv) 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 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、

(vi) 配列番号 1 3 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、

(vii) 配列番号 1 3 9 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 1 4 3 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、B 1 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、B 1 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。