

【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 9 月 24 日 (2020.9.24)

【公表番号】特表 2019-524140 (P2019-524140A)

【公表日】令和 1 年 9 月 5 日 (2019.9.5)

【年通号数】公開・登録公報 2019-036

【出願番号】特願 2019-507817 (P2019-507817)

【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 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)

C 4 0 B 40/06 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 5/10 Z N A

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 Q 1/6869 Z

C 4 0 B 40/06

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 37/02

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 8 月 13 日 (2020.8.13)

【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】

D g k 遺伝子および D g k 遺伝子から選択される少なくとも 1 つの人工的に操作された免疫調節遺伝子を有する人工的に設計された免疫細胞であって、

前記人工的に操作された免疫調節遺伝子は、1 または複数のインデルを含み、

前記インデルは、

1 b p から 3 0 b p のヌクレオチドの 1 または複数の欠失、および / または、

1 b p から 3 0 b p のヌクレオチドの 1 または複数の挿入であり、

前記インデルは、プロトスペーサー隣接モチーフ配列 (P A M 配列) に位置しているか、または P A M 配列の 5 ' 末端または 3 ' 末端に隣接する連続する 1 b p から 3 0 b p の範囲内に位置しており、

前記インデルは前記免疫調節遺伝子の核酸配列内に位置しており、

前記インデルは、D g k 遺伝子または D g k 遺伝子のエクソン領域に位置する、

人工的に設計された免疫細胞。

【請求項 2】

前記免疫細胞は、人工的に操作された D g k 遺伝子および D g k 遺伝子を含み、

前記人工的に操作された D g k 遺伝子および D g k 遺伝子は抑制活性を有する、

請求項 1 に記載の人工的に設計された免疫細胞。

【請求項 3】

前記インデルの少なくとも 1 つが、D g k 遺伝子のエクソン 6 領域、エクソン 7 領域、およびエクソン 8 領域から選択される D g k 遺伝子のエクソン領域の少なくとも 1 つに位置する、

請求項 1 または 2 に記載の人工的に設計された免疫細胞。

【請求項 4】

前記インデルの少なくとも 1 つが、D g k 遺伝子のエクソン 3 領域、エクソン 5 領域、エクソン 6 領域、エクソン 8 領域、エクソン 10 領域、エクソン 11 領域、およびエクソン 12 領域から選択される D g k 遺伝子のエクソン領域の少なくとも 1 つの標的配列に位置する、

請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の人工的に設計された免疫細胞。

【請求項 5】

前記免疫細胞は、T 細胞、NK 細胞、NK T 細胞、および幹細胞から分化した免疫細胞から成る群から選択される少なくとも 1 つの細胞である、

請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の人工的に設計された免疫細胞。

【請求項 6】

前記免疫細胞はキメラ抗原受容体をさらに含む、

請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の人工的に設計された免疫細胞。

【請求項 7】

D g k 遺伝子または D g k 遺伝子のエクソン領域に位置する 1 または複数のインデルを有する人工的に設計された免疫細胞を産生するための組成物であって、

(i) D g k 遺伝子または D g k 遺伝子のエクソン領域に位置する 1 または複数の標的配列に相補的結合を形成できるガイド核酸、またはこれをコードする核酸、および、

(i i) エディタータンパク質、またはこれをコードする核酸

を備え、

前記ガイド核酸が形成する前記相補的結合は、0 ~ 5 のミスマッチを含む、

人工的に設計された免疫細胞を産生するための組成物。

【請求項 8】

前記ガイド核酸および前記エディタータンパク質は、リボ核タンパク質の形態である、

請求項 7 に記載の人工的に設計された免疫細胞を産生するための組成物。

【請求項 9】

前記ガイド核酸は、同じ配列を有するか、

または、D g k 遺伝子のエクソン領域の配列番号 13 ~ 24 から選択される 1 または複数の標的配列と相補的結合を形成することができるか、および / または、D g k 遺伝子のエクソン領域の配列番号 109 ~ 125 から選択される 1 または複数の標的配列と相補的結合を形成することができる、

請求項 7 または 8 に記載の人工的に設計された免疫細胞を産生するための組成物。

【請求項 10】

前記ガイド核酸は、同じ配列を有するか、

または、D g k 遺伝子のエクソン領域の配列番号 19、20、21、および 23 から選択される 1 または複数の標的配列と相補的結合を形成することができるか、および / または、D g k 遺伝子のエクソン領域の配列番号 109、110、111、112、および 113 から選択される 1 または複数の標的配列と相補的結合を形成することができる、

請求項 9 に記載の人工的に設計された免疫細胞を産生するための組成物。

【請求項 11】

前記組成物は、D g k 遺伝子のエクソン領域に位置する標的配列に相補的結合を形成することができるガイド核酸、および D g k 遺伝子のエクソン領域に位置する標的配列に相補的結合を形成することができるガイド核酸を含む、

請求項 7 から 10 のいずれか一項に記載の人工的に設計された免疫細胞を産生するための組成物。

【請求項 1 2】

ガイドドメイン、第 1 相補ドメイン、リンカードメイン、および、第 2 相補ドメインを備えるガイド核酸であって、

前記ガイドドメインは、同じ配列を有するか、

または D g k 遺伝子のエクソン領域の配列番号 1 3 ~ 2 4 から選択される 1 または複数の標的配列と相補的結合を形成することができるか、および / または、D g k 遺伝子のエクソン領域の配列番号 1 0 9 ~ 1 2 5 から選択される 1 または複数の標的配列と相補的結合を形成することができる、

ガイド核酸。

【請求項 1 3】

前記ガイドドメインは同じ配列を有するか、

または D g k 遺伝子のエクソン領域の配列番号 1 9、2 0、2 1、および 2 3 から選択される 1 または複数の標的配列と相補的結合を形成することができるか、および / または、D g k 遺伝子のエクソン領域の配列番号 1 0 9、1 1 0、1 1 1、1 1 2、および 1 1 3 から選択される 1 または複数の標的配列と相補的結合を形成することができる、

請求項 1 2 に記載のガイド核酸。

【請求項 1 4】

D g k 遺伝子または D g k 遺伝子のエクソン領域に位置する 1 または複数のインデルを有する人工的に操作された免疫細胞を作成する方法であって、

人体から単離された免疫細胞を、

(a) D g k 遺伝子または D g k 遺伝子のエクソン領域に位置する 1 または複数の標的配列に相補的結合を形成することができるガイド核酸、および

(b) ストレプトコッカス・ピオゲネス由来 C a s 9 タンパク質、カンピロバクター・ジェジュニ由来 C a s 9 タンパク質、ストレプトコッカス・サーモフィラス由来 C a s 9 タンパク質、ストレプトコッカス・アウレウス由来 C a s 9 タンパク質、ナイセリア・メニンジティディス由来 C a s 9 タンパク質および C p f 1 タンパク質から成る群から選択される少なくとも 1 つであるエディタータンパク質

から選択される少なくとも 1 つに接触させる段階と、

前記免疫細胞の D g k 遺伝子または D g k 遺伝子の 1 または複数の核酸配列に 1 または複数のインデルを誘導する段階を備え、

前記インデルは、

1 b p から 3 0 b p のヌクレオチドの 1 または複数の欠失、および / または

1 b p から 3 0 b p のヌクレオチドの 1 または複数の挿入であり、

前記インデルは、プロトスペーサー隣接モチーフ配列 (P A M 配列) 内に位置しているか、前記 P A M 配列の 5 ' 末端または 3 ' 末端に隣接する 1 b p ~ 3 0 b p の範囲内に位置しており、

前記インデルは免疫調節遺伝子の核酸配列内に位置しており、

前記インデルは、D g k 遺伝子または D g k 遺伝子のエクソン領域に位置する、方法。

【請求項 1 5】

前記ガイド核酸は、同じ配列を有するか、

または、D g k 遺伝子のエクソン領域の配列番号 1 9、2 0、2 1、および 2 3 から選択される 1 または複数の標的配列と相補的結合を形成することができるか、および / または、D g k 遺伝子のエクソン領域の配列番号 1 0 9、1 1 0、1 1 1、1 1 2、および 1 1 3 から選択される 1 または複数の標的配列と相補的結合を形成することができる、

請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記接触させる段階は、エレクトロポレーション、リボソーム、プラスミド、ウイルスベクター、ナノ粒子およびタンパク質移行ドメイン融合タンパク質法から選択される 1 または複数の方法によって実行される、

請求項 1 4 または 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記ウイルスベクターは、レトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルス、アデノ
随伴ウイルス（AAV）、ワクチニアウイルス、ポックスウイルス、単純疱疹ウイルスの
群から選択される少なくとも 1 つである、

請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 8】

（a）請求項 1 2 に記載のガイド核酸、および、

（b）ストレプトコッカス・ピオゲネス由来 Cas9 タンパク質、カンピロバクター・
ジェジュニ由来 Cas9 タンパク質、ストレプトコッカス・サーモフィラス由来 Cas9
タンパク質、ストレプトコッカス・アウレウス由来 Cas9 タンパク質、ナイセリア・メ
ニンジティディス由来 Cas9 タンパク質および Cpf1 タンパク質から成る群から選択
される 1 または複数のタンパク質を含むエディタータンパク質

を備える遺伝子操作キット。