

【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3部門第2区分

【発行日】令和4年3月30日(2022.3.30)

【公開番号】特開2022-40287(P2022-40287A)

【公開日】令和4年3月10日(2022.3.10)

【年通号数】公開公報(特許)2022-043

【出願番号】特願2022-5510(P2022-5510)

【国際特許分類】

A 6 1 K 35/17(2015.01)	10
A 6 1 K 35/15(2015.01)	
A 6 1 K 35/28(2015.01)	
A 6 1 K 35/26(2015.01)	
A 6 1 K 35/51(2015.01)	
A 6 1 K 35/13(2015.01)	
A 6 1 K 48/00(2006.01)	
A 6 1 P 43/00(2006.01)	
A 6 1 P 37/04(2006.01)	
A 6 1 P 37/02(2006.01)	
A 6 1 P 35/00(2006.01)	20
A 6 1 P 31/00(2006.01)	
A 6 1 P 37/06(2006.01)	
A 6 1 P 29/00(2006.01)	
C 1 2 N 5/10(2006.01)	
C 1 2 N 5/0786(2010.01)	
C 1 2 N 5/0783(2010.01)	
C 1 2 N 15/867(2006.01)	
C 1 2 N 15/62(2006.01)	

【F I】

A 6 1 K 35/17	Z	30
A 6 1 K 35/15	Z	
A 6 1 K 35/28		
A 6 1 K 35/26		
A 6 1 K 35/51		
A 6 1 K 35/13		
A 6 1 K 48/00		
A 6 1 P 43/00	1 0 5	
A 6 1 P 37/04		
A 6 1 P 37/02		
A 6 1 P 35/00		40
A 6 1 P 31/00		
A 6 1 P 37/06		
A 6 1 P 29/00		
C 1 2 N 5/10	Z N A	
C 1 2 N 5/0786		
C 1 2 N 5/0783		
C 1 2 N 15/867	Z	
C 1 2 N 15/62	Z	

【手続補正書】

50

【提出日】令和4年3月18日(2022.3.18)

【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】

T細胞治療薬を製造するための方法であって、

(a) T細胞および抗原提示細胞(APC)を含む末梢血単核細胞(PBMC)の集団を、

i) 外因性インターロイキン-2(IL-2)、ii) 可溶性抗CD3抗体またはそのCD3結合性断片、およびiii) 可溶性抗CD28抗体またはそのCD28結合性断片を含む細胞培養培地中で、形質導入前の12時間～24時間にわたって培養するステップであって、前記培養が前記T細胞を活性化および刺激する、ステップと、

(b) ステップa)で活性化された前記PBMCの集団を、抗B細胞成熟抗原(BCMA)キメラ抗原受容体(CAR)をコードするポリヌクレオチドを含むレンチウイルスベクターを用いて形質導入するステップと、

(c) 前記PBMCの集団を外因性IL-2を含む細胞成長培地中で培養して、前記形質導入したT細胞を増大させるステップと

を含み、それにより、前記T細胞治療薬を製造する、方法。

10

20

30

40

【請求項2】

(a) 前記PBMCが白血球アフェレーシスを含む方法により採取または得られる、

(b) 前記PBMCが沈降を含む方法により単離される；または

(c) 前記PBMCが半自動フロースルー遠心分離機を使用して実施される沈降を含む方法により単離される、

請求項1に記載の方法。

【請求項3】

(a) 前記PBMCの集団を、緩衝液または細胞培養培地中で洗浄するステップ；

(b) 前記PBMCの集団を、IL-2を含有するT細胞成長培地(TCGM)中で洗浄するステップ；または

(c) 前記PBMCの集団を、250IU/mLのIL-2を含有するT細胞成長培地(TCGM)中で洗浄するステップ

をさらに含む、請求項1または請求項2に記載の方法。

【請求項4】

(a) 前記PBMCの集団を、50ng/mLの濃度の可溶性抗CD3抗体、および、可溶性抗CD28抗体とともに培養する；または

(b) 前記PBMCの集団を、可溶性抗CD3抗体、および、50ng/mLの濃度の可溶性抗CD28抗体とともに培養する、

請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

前記IL-2の濃度が約250IU/mLである、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項6】

(a) 前記PBMCの集団を、50ng/mLの濃度の可溶性抗CD3抗体、および、可溶性抗CD28抗体とともに培養する；または

(b) 前記PBMCの集団を、可溶性抗CD3抗体、および、50ng/mLの濃度の可溶性抗CD28抗体とともに培養する、

請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

(a) ステップa)の前記PBMCを、形質導入前に約16時間～約32時間培養する；

50

(b) ステップa) の前記PBM Cを、形質導入前に約20時間～約24時間培養する；  
 (c) ステップa) の前記PBM Cを、形質導入前に少なくとも18時間培養する；または

(d) ステップa) の前記PBM Cを、形質導入前に少なくとも24時間培養する、  
 請求項1に記載の方法。

**【請求項8】**

$1 \times 10^9$  T U ~  $2 \times 10^9$  T Uのレンチウイルスベクターを使用して、 $1 \times 10^8$  個の  
 播種PBM Cへの形質導入を行う、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項9】**

(a) 前記レンチウイルスベクターを、総培養体積の20% v / vまで希釈する； 10

(b) 前記レンチウイルスベクターを、総培養体積の40%～50% v / vまで希釈する  
 ；

(c) 前記PBM Cの集団を18～48時間にわたって形質導入する；

(d) 前記PBM Cの集団を18～36時間にわたって形質導入する；または

(e) 前記PBM Cの集団を24時間にわたって形質導入する、

請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項10】**

前記CARが、

(a) BCMAに結合する抗体またはその抗原結合性断片を含む細胞外ドメイン；

(b) CD8；CD4、CD28、CD45、PD1およびCD152からなる群より選択されるポリペプチドに由来する膜貫通ドメイン； 20

(c) CD28、CD54(ICAM)、CD134(OX40)、CD137(41B-B)、CD152(CTLA4)、CD273(PD-L2)、CD274(PD-L1)およびCD278(ICOS)からなる群より選択される1種または複数種の細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン；ならびに

(d) CD3シグナル伝達ドメイン

をさらに含む、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項11】**

前記抗BCMA CARが、以下の特徴：

(a) BCMAに結合する前記抗体または抗原結合性断片が単鎖可変断片(scfv)である； 30

(b) 前記膜貫通ドメインがCD8またはCD28に由来する；

(c) 前記1種または複数種の細胞内共刺激シグナル伝達ドメインが、CD28、CD134およびCD137からなる群より選択される；

(d) 前記CARがヒンジ領域ポリペプチドをさらに含む；

(e) 前記CARがIgG1またはCD8ヒンジ領域ポリペプチドをさらに含む；

(f) 前記CARがシグナルペプチドをさらに含む；あるいは

(g) 前記CARがIgG1重鎖シグナルポリペプチド、CD8シグナルポリペプチド、またはヒトGM-CSF受容体シグナルポリペプチドをさらに含む、

を備える、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項12】**

前記抗BCMA CARが、CD8シグナルポリペプチド、BCMAに結合するscfv、CD8ヒンジ領域ポリペプチド、CD8膜貫通ドメイン、CD137細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン、およびCD3一次シグナル伝達ドメインを含む、請求項1～11のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項13】**

(a) ステップ(c)の前記PBM Cの集団を、増大させるために、細胞培養バッグ中で5日～8日にわたって培養する；

(b) ステップ(c)の前記PBM Cの集団を、増大させるために、細胞培養バッグ中で5日にわたって培養し、次いで、バイオリアクター中で3日にわたって培養する；または

(c) ステップ(c)の前記PBM Cの集団を、増大させるために、バイオリアクター内で5日～8日にわたって培養する。

請求項1～12のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項14】**

(a) ステップ(c)の培養の間に、前記T細胞の数を少なくとも50倍増大させる；

(b) ステップ(c)の培養の間に、前記T細胞の数を少なくとも100倍増大させる；

(c) ステップ(c)の培養の間に、前記T細胞の数を少なくとも300倍増大させる；

(d) ステップ(c)の培養の間に、前記T細胞の数を少なくとも400倍増大させる；

(e) ステップ(c)の培養の間に、前記T細胞の数を少なくとも500倍増大させる；

または

(f) ステップ(c)の培養の間に、前記T細胞の数を少なくとも600倍増大させる、

請求項1～13のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項15】**

前記製造されたT細胞治療薬を回収するステップをさらに含む、請求項1～14のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項16】**

前記T細胞治療薬を回収するステップは、ステップ(c)で増大させた前記細胞を濃縮および洗浄することを含む、請求項15に記載の方法。

**【請求項17】**

前記T細胞治療薬を、対象への投与前に凍結保存する、請求項1～16のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項18】**

前記PBM Cがヒト対象から得られる、請求項1～17のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50