

【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4年8月22日(2022.8.22)

【国際公開番号】WO2020/037066

【公表番号】特表2021-534740(P2021-534740A)

【公表日】令和3年12月16日(2021.12.16)

【出願番号】特願2021-507503(P2021-507503)

【国際特許分類】

C 12 N 15/12(2006.01)

10

C 12 N 5/10(2006.01)

C 12 N 15/867(2006.01)

C 12 N 15/53(2006.01)

C 12 N 15/54(2006.01)

C 12 N 15/60(2006.01)

C 12 N 15/55(2006.01)

A 61 K 35/17(2015.01)

A 61 K 35/28(2015.01)

A 61 P 37/04(2006.01)

A 61 P 35/00(2006.01)

20

A 61 P 35/02(2006.01)

C 12 N 5/078(2010.01)

C 12 N 15/13(2006.01)

C 12 N 15/62(2006.01)

【F I】

C 12 N 15/12

C 12 N 5/10 Z N A

C 12 N 15/867 Z

C 12 N 15/53

30

C 12 N 15/54

C 12 N 15/60

C 12 N 15/55

A 61 K 35/17 Z

A 61 K 35/28

A 61 P 37/04

A 61 P 35/00

A 61 P 35/02

C 12 N 5/078

C 12 N 15/13

C 12 N 15/62

40

【手続補正書】

【提出日】令和4年8月12日(2022.8.12)

【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】

50

遺伝子操作した造血細胞であって、同じタイプのネイティブ造血細胞と比較して、調節を施したクレブス回路を有する、前記造血細胞であって、以下：

(i) クレブス回路調節ポリペプチド；および

(ii) キメラ受容体ポリペプチドであって、以下：

(a) 細胞外標的結合ドメイン；

(b) 膜貫通ドメイン；及び、

(c) 細胞質シグナル伝達ドメイン、

を含む、キメラ受容体ポリペプチド

を発現する、または、過剰に発現する、遺伝子操作した造血細胞。

#### 【請求項 2】

前記クレブス回路調節ポリペプチドが、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH)、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ (MDH)、ホスホグリセリン酸デヒドロゲナーゼ (PHGDH)、グルタミン酸 - オキサロ酢酸トランスクレアミナーゼ (GOT)、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ 1 (PCK1)、ホスホセリンアミノトランスクレアーゼ (PSAT1)、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ (GDH1)、グルタミン酸 - ピルビン酸トランスクレアーゼ 1 (GPT1)、及び、グルタミナーゼ (GLS) からなる群から選択される、請求項 1 に記載の遺伝子操作した造血細胞。

#### 【請求項 3】

前記 IDH が、IDH1 または IDH2 であり、前記 MDH が、MDH1 または MDH2 であり、及び / または、前記 GOT が、GOT1 または GOT2 である、請求項 2 に記載の遺伝子操作した造血細胞。

#### 【請求項 4】

前記クレブス回路調節ポリペプチドが、GOT2 である、請求項 1 に記載の遺伝子操作した造血細胞。

#### 【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の遺伝子操作した造血細胞であって、前記キメラ受容体ポリペプチドが、

(1) (a) が細胞外 Fc 結合ドメインである、抗体結合 T 細胞受容体 (ACTR) ポリペプチド；または

(2) (a) が細胞外抗原結合ドメインである、キメラ受容体抗原 (CAR) ポリペプチド

である、遺伝子操作した造血細胞。

#### 【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の遺伝子操作した造血細胞であって、前記キメラ受容体ポリペプチドが、以下の特徴：

(i) 少なくとも 1 つの共刺激シグナル伝達ドメインをさらに含む；

(ii) 共刺激シグナル伝達ドメインを含まない；および

(iii) 前記細胞質シグナル伝達ドメインが、免疫受容体チロシンをベースとした活性化モチーフ (ITAM) を含む

の 1 つ以上を含む CAR ポリペプチドである、遺伝子操作した造血細胞。

#### 【請求項 7】

前記 CAR ポリペプチドが、(a) の C 末端と、(b) の N 末端に位置するヒンジドメインをさらに含む；及び / または、前記キメラ受容体ポリペプチドが、その N 末端に、シグナルペプチドをさらに含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の遺伝子操作した造血細胞。

#### 【請求項 8】

前記キメラ受容体ポリペプチドが、CAR ポリペプチドであり、(a) の前記細胞外標的結合ドメインが、抗原結合ドメインであり、かつ、前記抗原結合ドメインが、腫瘍抗原、病原性抗原、または、自己抗原に特異的な免疫細胞に結合する一本鎖抗体フラグメント (scFv) である、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の遺伝子操作した造血細胞。

10

20

30

40

50

**【請求項 9】**

前記抗原結合ドメインが、血液腫瘍または固形腫瘍と関連している前記腫瘍抗原に結合する、請求項8に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 10】**

前記血液腫瘍と関連している前記腫瘍抗原を、CD19、CD20、CD22、カッパ鎖、CD30、CD123、CD33、LeY、CD138、CD5、BCMA、CD7、CD40、及び、IL-1RAPからなる群から選択する；または

前記固形腫瘍と関連している前記腫瘍抗原を、GD2、GPC3、FOLR、HER2、EphA2、EFGRVITI、IL13RA2、VEGFR2、ROR1、NKG2D、EpCAM、CEA、メソテリン、MUC1、CLDN18.2、CD171、CD133、PSCA、cMET、EGFR、PSMA、FAP、CD70、MUC16、L1-CAM、及び、CAIXからなる群から選択する、

請求項9に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 11】**

前記膜貫通ドメインを、CD8、CD8、4-1BB、CD28、CD34、CD4、FcRI、CD16A、OX40、CD3、CD3、CD3、TCR、CD32、CD64、VEGFR2、FAS、及び、FGFR2Bからなる群から選択する膜タンパク質のものである、請求項1～10のいずれか1項に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 12】**

前記CARポリペプチドが、4-1BB、CD28、CD28LL GGバリアント、OX40、ICOS、CD27、GITR、ICOS、HVEM、TIM1、LFA1、及び、CD2からなる群から選択する共刺激分子のものである前記少なくとも1つの共刺激シグナル伝達ドメインを含む、請求項1～11のいずれか1項に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 13】**

前記CARポリペプチドが、2つの共刺激シグナル伝達ドメインを含む、請求項1～12のいずれか1項に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 14】**

前記共刺激シグナル伝達ドメインの内的一方が、CD28共刺激シグナル伝達ドメインであり；及び、他方の共刺激ドメインを、4-1BB共刺激シグナル伝達ドメイン、OX40共刺激シグナル伝達ドメイン、CD27共刺激シグナル伝達ドメイン、及び、ICOS共刺激シグナル伝達ドメインからなる群から選択する；または

前記2つの共刺激ドメインが、(i)4-1BB、及び、CD28；または、(ii)4-1BB、及び、CD28LL GGバリアントである、

請求項13に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 15】**

前記(c)の細胞質シグナル伝達ドメインが、CD3またはFcR1の細胞質ドメインである、請求項1～14のいずれか1項に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 16】**

前記CARポリペプチドは、(i)CD28膜貫通ドメイン、CD28ヒンジドメイン、または、これらの組み合わせと組み合わせたCD28共刺激ドメイン、または、(ii)CD8膜貫通ドメイン、CD8ヒンジドメイン、または、これらの組み合わせと組み合わせた4-1BB共刺激ドメインを含む、請求項6に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 17】**

前記CARポリペプチドが、配列番号104または105のアミノ酸配列を含む、請求項6に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 18】**

前記造血細胞が、造血幹細胞、または、免疫細胞である、請求項1～17のいずれか1項に記載の遺伝子操作した造血細胞。

10

20

30

40

50

**【請求項 19】**

前記造血細胞が、ナチュラルキラー細胞、マクロファージ、好中球、好酸球、または、T細胞である免疫細胞である、請求項18に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 20】**

前記造血細胞が、内在性T細胞受容体、内在性主要組織適合遺伝子複合体、内在性ベータ2-ミクログロブリン、または、これらの組み合わせの発現を、阻害または制限したT細胞である、請求項19に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 21】**

前記造血細胞は、核酸または核酸セットを含み、それらは、集合的に：

(A) 前記クレブス回路調節ポリペプチドをコードする第1のヌクレオチド配列；及び、  
任意に、

(B) 前記キメラ受容体ポリペプチドをコードする第2のヌクレオチド配列、  
を含む、請求項1～20のいずれか1項に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 22】**

前記造血細胞が、前記第1のヌクレオチド配列と、前記第2のヌクレオチド配列の両方を含む前記核酸を含む、請求項21に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 23】**

前記核酸は、前記第1のヌクレオチド配列と、前記第2のヌクレオチド配列との間に位置する第3のヌクレオチド配列をさらに含み、前記第3のヌクレオチド配列が、リボソームスキッピング部位、配列内リボソーム進入部位(IRES)、または、第2のプロモーターをコードする、請求項22に記載の遺伝子操作した造血細胞。  
20

**【請求項 24】**

第3のヌクレオチド配列は、P2Aペプチドであるリボソームスキッピング部位をコードする、請求項23に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 25】**

前記核酸、または、前記核酸セットが、ウイルスベクターであるベクター、または、ベクターのセットの内部に含まれる、請求項21～24のいずれか1項に記載の遺伝子操作した造血細胞。

**【請求項 26】**

請求項1～25のいずれか1項に記載の遺伝子操作した造血細胞と、医薬として許容可能な担体とを含む医薬組成物。  
30

**【請求項 27】**

対象において標的抗原を発現する標的細胞を阻害することにおける使用ための遺伝子操作した造血細胞の集団であって、

前記遺伝子操作した造血細胞が、請求項1～26のいずれか1項に記載の遺伝子操作した造血細胞を含み；

前記遺伝子操作した造血細胞が、標的抗原に特異的な細胞外抗原結合ドメインを含むCARポリペプチドを発現し；及び

前記標的抗原が、腫瘍抗原、病原性抗原、または、自己抗原に特異的な免疫細胞である、前記方法。  
40

**【請求項 28】**

前記標的抗原を発現する前記細胞の内の少なくとも一部が、低グルコース環境に置かれている、請求項27に記載の使用ための遺伝子操作した造血細胞の集団。

**【請求項 29】**

前記遺伝子操作した造血細胞が、自家である、請求項27または28に記載の使用ための遺伝子操作した造血細胞の集団。

**【請求項 30】**

前記遺伝子操作した造血細胞を、エクスピボで活性化している、増殖している、または、その両方を行っている、請求項29に記載の使用ための遺伝子操作した造血細胞の集団。  
50

**【請求項 3 1】**

前記対象が、がんを患うヒト患者であり、かつ、前記標的抗原が、腫瘍抗原である、請求項2 7～3 0のいずれか1項に記載の使用ための遺伝子操作した造血細胞の集団。

**【請求項 3 2】**

前記がんを、B 細胞由来のがん、乳癌、胃癌、神経芽細胞腫、骨肉腫、肺癌、皮膚癌、前立腺癌、結腸癌、腎細胞癌、卵巣癌、横紋筋肉腫、白血病、中皮腫、膵臓癌、頭頸部癌、網膜芽細胞腫、神経膠腫、膠芽細胞腫、肝臓癌、及び、甲状腺癌からなる群から選択する請求項3 1に記載の使用ための遺伝子操作した造血細胞の集団。

**【請求項 3 3】**

前記 B 細胞由来のがんを、B 細胞系急性リンパ芽球性白血病、B 細胞性慢性リンパ性白血病、及び、B 細胞性非ホジキンリンパ腫からなる群から選択する、請求項3 2に記載の使用ための遺伝子操作した造血細胞の集団。 10

**【請求項 3 4】**

核酸または核酸セットであって、それらは、集合的に：

(A) 請求項1または5～1 7に記載のキメラ受容体ポリペプチドをコードする第1のヌクレオチド配列；及び、

(B) 請求項1～4のいずれか1項に記載のクレブス回路調節ポリペプチドをコードする第2のヌクレオチド配列、

を含む、前記核酸または前記核酸セット。

**【請求項 3 5】**

前記核酸または前記核酸セットが、R N A 分子、または、R N A 分子のセットである、請求項3 4に記載の核酸または核酸セット。 20

**【請求項 3 6】**

前記核酸が、前記第1のヌクレオチド配列と前記第2のヌクレオチド配列の両方を含み、かつ、前記核酸が、前記第1のヌクレオチド配列と前記第2のヌクレオチド配列との間に位置する第3のヌクレオチド配列をさらに含み、前記第3のヌクレオチド配列は、リボソームスキッピング部位、配列内リボソーム進入部位(I R E S)、または、第2のプロモーターをコードする、請求項3 4または3 5に記載の核酸または核酸セット。

**【請求項 3 7】**

前記リボソームスキッピング部位が、P 2 A ペプチドである、請求項3 6に記載の核酸または核酸セット。 30

**【請求項 3 8】**

前記核酸または前記核酸セットが、ベクター、または、ベクターのセットの内部に含まれる、請求項3 4～3 7のいずれか1項に記載の核酸または核酸セット。

**【請求項 3 9】**

前記ベクター、または、ベクターのセットが、1つ以上のウイルスベクターを含む、請求項3 8に記載の核酸または核酸セット。