

【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】平成31年4月18日(2019.4.18)

【公表番号】特表2018-518956(P2018-518956A)

【公表日】平成30年7月19日(2018.7.19)

【年通号数】公開・登録公報2018-027

【出願番号】特願2017-564863(P2017-564863)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/12 (2006.01)  
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)  
 A 6 1 P 35/02 (2006.01)  
 A 6 1 K 9/19 (2006.01)  
 A 6 1 K 9/08 (2006.01)  
 A 6 1 K 38/08 (2019.01)  
 A 6 1 K 39/00 (2006.01)  
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)  
 A 6 1 K 35/76 (2015.01)  
 C 0 7 K 7/00 (2006.01)  
 C 1 2 N 15/85 (2006.01)  
 C 1 2 N 5/0783 (2010.01)  
 C 1 2 Q 1/6881 (2018.01)  
 C 1 2 N 15/115 (2010.01)  
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)  
 C 0 7 K 14/725 (2006.01)  
 C 0 7 K 19/00 (2006.01)  
 C 1 2 P 21/02 (2006.01)  
 C 0 7 K 16/30 (2006.01)  
 G 0 1 N 33/53 (2006.01)  
 G 0 1 N 33/574 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/12  
 A 6 1 P 35/00  
 A 6 1 P 35/02  
 A 6 1 K 9/19  
 A 6 1 K 9/08  
 A 6 1 K 38/08  
 A 6 1 K 39/00 H  
 A 6 1 K 39/395 D  
 A 6 1 K 39/395 N  
 A 6 1 K 39/395 C  
 A 6 1 K 39/395 L  
 A 6 1 K 35/76  
 C 0 7 K 7/00 Z N A  
 C 1 2 N 15/85 Z  
 C 1 2 N 5/0783  
 C 1 2 Q 1/6881 Z  
 C 1 2 N 15/115 Z  
 C 1 2 N 5/10  
 C 0 7 K 14/725

C 0 7 K	19/00	
C 1 2 P	21/02	C
C 0 7 K	16/30	
G 0 1 N	33/53	D
G 0 1 N	33/53	M
G 0 1 N	33/574	

## 【手続補正書】

【提出日】平成31年3月6日(2019.3.6)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0544

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0544】

4 × 12 . 5 ngの異なるピオチンpMHCの存在下で、800,000個のビーズ / 200 μlを96ウェルプレート内で被覆し、洗浄して、引き続いて200 μlの容量中で600 ngのピオチン抗CD28を添加した。5 ng/mlのIL-12 (Promo Cell)を添加した200 μlのTCM中で、1 × 10<sup>6</sup>のCD8 + T細胞を2 × 10<sup>5</sup>個の洗浄被覆ビーズと、37 °Cで3日間にわたり同時インキュベートすることで、96ウェルプレート内で刺激を開始した。次に80 U/mlのIL-2を添加した新鮮TCMで培地の半分を交換し、37 °Cで4日間にわたり培養を継続した。この刺激サイクルを合計3回実施した。条件当たり8種の異なるpMHC分子を使用したpMHC多量体読み取りでは、5種の異なる蛍光色素への共役を包含するわずかな修正を加えて、以前記載されたような (Andersen et al., 2012) 二次元コンビナトリアルコーディングアプローチを使用した。最後に、Live/dead近赤外染料 (Invitrogen, Karlsruhe, Germany)、CD8-FITC抗体クローンSK1 (BD, Heidelberg, Germany)、および蛍光性pMHC多量体による細胞の染色によって多量体解析を実施した。解析では、適切なレーザーおよびフィルターを装着したBD LSRII SORP血球計数器を使用した。ペプチド特異的細胞を全CD8 + 細胞の百分率として計算した。FlowJoソフトウェア (Tree Star, Oregon, USA)を使用して、多量体解析の評価を実施した。特異的多量体 + CD8 + リンパ球の生体外初回刺激は、陰性対照刺激と比較することで検出された。1人の健常ドナーの少なくとも1つの評価可能生体外刺激ウェルが、生体外刺激後に、特異的CD8 + T細胞株を含有することが判明したら、所与の抗原の免疫原性が検出された (すなわちこのウェルは、CD8 + T細胞内に少なくとも1%の特異的多量体 + を含有し、特異的多量体 + 細胞の百分率は、陰性対照刺激の中央値の少なくとも10倍であった)。

【手続補正2】

【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】

配列番号30および配列番号30と少なくとも88%相同的なその変異配列、または、配列番号1~配列番号29、配列番号31~配列番号161、および配列番号1~配列番号29、配列番号31~配列番号161と少なくとも88%相同的なその変異配列の群から選択されるアミノ酸配列を含んでなるペプチドであって、前記変異体が主要組織適合性複合体 (MHC) 分子と結合し、またはT細胞を前記変異体ペプチドおよびその薬学的に許容可能な塩と交差反応させ；前記ペプチドが完全長ポリペプチドでない、ペプチド。

**【請求項 2】**

MHCクラスIまたはII分子に結合する能力を有し、前記MHCに結合すると、CD4および/またはCD8T細胞によって認識されることができるようになる、請求項1に記載のペプチド。

**【請求項 3】**

そのアミノ酸配列が、配列番号30、または、配列番号1～配列番号29、配列番号31～配列番号161の群に記載の一続きのアミノ酸を含んでなる、請求項1または2に記載のペプチドまたはその変異体。

**【請求項 4】**

前記ペプチドまたはその変異体が、8～100、好ましくは8～30、より好ましくは8～16のアミノ酸の全長を有し、最も好ましくは前記ペプチドが、配列番号30、または、配列番号1～配列番号29、配列番号31～配列番号161の群に記載のアミノ酸配列からなり、またはそれから本質的になる、請求項1～3のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体。

**【請求項 5】**

前記ペプチドが、修飾され、および/または非ペプチド結合を含む、請求項1～4のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体。

**【請求項 6】**

前記ペプチドが、特にHLA-DR抗原関連不変鎖(Ii)のN末端アミノ酸を含んでなる融合タンパク質の一部である、請求項1～5のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体。

**【請求項 7】**

請求項1～6のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体をエンコードする核酸であって、任意選択的に異種プロモーター配列と結合する、核酸。

**【請求項 8】**

請求項7に記載の核酸を発現する能力がある、発現ベクター。

**【請求項 9】**

請求項1～6のいずれか一項に記載のペプチド、請求項7に記載の核酸または請求項8に記載の発現ベクターを含んでなり、好ましくは樹状細胞などの抗原提示細胞である、組換え宿主細胞。

**【請求項 10】**

医療において使用するための、請求項1～6のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体、請求項7に記載の核酸、請求項8に記載の発現ベクター、または請求項9に記載の宿主細胞。

**【請求項 11】**

請求項1～6のいずれか一項に記載のペプチドを提示する、または請求項7に記載の核酸を発現する、または請求項8に記載の発現ベクターを含んでなる、請求項9に記載の宿主細胞を培養するステップと、前記ペプチドまたはその変異体を前記宿主細胞またはその培養液から単離するステップとを含んでなる、請求項1～6のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体を製造する方法。

**【請求項 12】**

T細胞を、適切な抗原提示細胞の表面または抗原提示細胞を模倣する人工コンストラクトの表面に発現される抗原負荷ヒトクラスIまたはII MHC分子に、前記T細胞を抗原特異的様式で活性化するのに十分な時間にわたり、生体外で接触させるステップを含んでなり、前記抗原が、請求項1～6のいずれか一項に記載のペプチドである、活性化Tリンパ球を製造するインビトロ法。

**【請求項 13】**

請求項1～6のいずれか一項に記載のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドを提示する細胞を選択的に認識する、請求項12に記載の方法によって製造される、活性化T細胞、好ましくは活性化リンパ球。

## 【請求項 14】

請求項 13 で定義される活性 T 細胞の有効数を患者に投与するステップを含んでなる、その標的細胞が、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドを提示する患者において、標的細胞を死滅させる方法。

## 【請求項 15】

抗体、特に、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のペプチドまたはその異変体を、好ましくは、MHC 分子と結合すると請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体を、特異的に認識する可溶性または膜結合抗体であって、前記抗体が、任意選択的に免疫刺激ドメインまたは毒素などのさらなるエフェクター機能を保有する、抗体。

## 【請求項 16】

がんの治療またはがんに対する薬剤の製造における、またはがん性細胞検出のための診断法における、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のペプチド、請求項 7 に記載の核酸、請求項 8 に記載の発現ベクター、請求項 9 に記載の細胞、請求項 13 に記載の活性化 T リンパ球または請求項 15 に記載の抗体の使用。

## 【請求項 17】

がんが、配列番号 30、または、配列番号 1 ~ 配列番号 29、配列番号 31 ~ 配列番号 161 のいずれかのペプチド配列を含んでなるタンパク質の過剰発現を示す、膵臓がん、肺がん、腎臓がん、脳がん、胃がん、結腸または直腸がん、肝臓がん、前立腺がん、白血病、乳がん、メルケル細胞がん (MCC)、メラノーマ、卵巣がん、食道がん、膀胱がん、子宮内膜がん、胆嚢がん、および胆管がん、およびその他の腫瘍の群から選択される、請求項 16 に記載の使用。

## 【請求項 18】

(a) 請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体、請求項 7 に記載の核酸、請求項 8 に記載の発現ベクター、請求項 10 に記載の細胞、請求項 13 に記載の活性化 T リンパ球、または請求項 15 に記載の抗体を含有する医薬組成物を溶液または凍結乾燥形態で含んでなる容器；

(b) 任意選択的に、前記凍結乾燥製剤のための希釈剤または再構成溶液を含有する第 2 の容器；

(c) 任意選択的に、配列番号 30、または、配列番号 1 ~ 配列番号 29、配列番号 31 ~ 配列番号 178 からなる群から選択される少なくとももう 1 つのペプチド、および

(d) 任意選択的に、(i) 前記溶液の使用、または (ii) 前記凍結乾燥製剤の再構成および/または使用のための取扱説明書を含んでなるキット。

## 【請求項 19】

(iii) 緩衝液、(iv) 希釈剤、(V) フィルター、(vi) 針、または (V) シリンジの 1 つまたは複数をさらに含んでなる、請求項 18 に記載のキット。

## 【請求項 20】

前記ペプチドが、配列番号 30、または、配列番号 1 ~ 配列番号 29、配列番号 31 ~ 配列番号 161 からなる群から選択される、請求項 18 または 19 に記載のキット。

## 【請求項 21】

a) 個々の患者からの腫瘍サンプルによって提示される腫瘍関連ペプチド (TUMAP) を同定するステップと；

b) a) で同定された前記ペプチドを、正常組織との比較で腫瘍における免疫原性および/または過剰提示について予備選別されたペプチド貯蔵庫と比較するステップと；

c) 少なくとも 1 つのペプチドを、前記患者において同定された TUMAP と一致する前記貯蔵庫から選択するステップと；および

d) ステップ c) に基づいて、個別化ワクチンまたは化合物ベースのまたは細胞療法を製造または処方するステップと

を含んでなる、個々の患者のための化合物ベースのおよび/または細胞療法として使用するための個別化抗がんワクチンを製造する方法。

**【請求項 2 2】**

前記 T U M A P が、

a 1) 前記腫瘍サンプルからの発現データを前記腫瘍サンプルの組織型に対応する正常組織サンプルからの発現データと比較して、前記腫瘍サンプルにおいて過剰発現されまたは異常に発現されるタンパク質を同定するステップと；および

a 2) 前記発現データを、前記腫瘍サンプル中の M H C クラス I / またはクラス I I 分子と結合している M H C リガンドの配列と相関させて、前記腫瘍によって過剰発現されまたは異常に発現されるタンパク質に由来する M H C リガンドを同定するステップとによって同定される、請求項 2 1 に記載の方法。

**【請求項 2 3】**

結合ペプチドを前記腫瘍サンプルから単離された M H C 分子から溶出させて、前記溶出したリガンドを配列決定することで、M H C リガンドの配列が同定される、請求項 2 1 または 2 2 に記載の方法。

**【請求項 2 4】**

前記腫瘍サンプルの組織型に対応する前記正常組織が、前記同一患者から得られる、請求項 2 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 2 5】**

前記貯蔵庫に含まれる前記ペプチドが、a a . 正常組織または組織群と比較して悪性組織で過剰発現される遺伝子を同定するステップを含んでなる、マイクロアレイまたは配列決定ベース発現プロファイリングなどの高度並列法によって、ゲノム規模メッセンジャーリボ核酸 ( m R N A ) 発現解析を実施するステップと；

a b . ステップ a a で検出された、選択的に発現されまたは過剰発現される遺伝子によってコードされる、ペプチドを選択するステップと；

a c . 健常ドナーまたは前記患者からのヒト T 細胞を使用した生体外免疫原性アッセイを含んでなる、前記選択されたペプチドによる生体内 T 細胞応答の誘導を判定するステップ；または

b a . H L A リガンドを前記腫瘍サンプルから質量分析を使用して同定するステップと；

b b . 正常組織または組織群と比較して悪性組織で過剰発現される遺伝子を同定するステップを含んでなる、マイクロアレイまたは配列決定ベース発現プロファイリングなどの高度並列法によって、ゲノム規模メッセンジャーリボ核酸 ( m R N A ) 発現解析を実施するステップと；

b c . 前記同定された H L A リガンドを前記遺伝子発現データと比較するステップと；

b d . ステップ b c で検出された、選択的に発現されまたは過剰発現される遺伝子によってコードされる、ペプチドを選択するステップと；

b e . ステップ b d から選択された T U M A P を腫瘍組織上で再検出し、健常組織上の検出欠如または希な検出が、m R N A レベルにおける過剰発現の関連性を裏付けるステップと；および

b f . 健常ドナーまたは前記患者からのヒト T 細胞を使用した生体外免疫原性アッセイを含んでなる、前記選択されたペプチドによる生体内 T 細胞応答の誘導を判定するステップと

に基づいて同定される、請求項 2 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 2 6】**

前記貯蔵庫に含まれる前記ペプチドの免疫原性が、生体外免疫原性アッセイ、個々の H L A 結合についての患者免疫モニタリング、M H C 多量体染色、E L I S P O T アッセイおよび / または細胞内サイトカイン染色を含んでなる方法によって判定される、請求項 2 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 2 7】**

前記貯蔵庫が、配列番号 3 0、または、配列番号 1 ~ 配列番号 2 9、配列番号 3 1 ~ 配列番号 1 7 8 からなる群から選択される複数のペプチドを含んでなる、請求項 2 1 ~ 2 6

のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

前記個々の患者からの正常な対応する組織と比較して前記腫瘍サンプルに特有の少なくとも1つの変異を同定するステップと、前記ワクチンに包含するために、または細胞療法を作成するために、前記変異に関連があるペプチドを選択するステップとをさらに含んでなる、請求項 21 ~ 27 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

前記少なくとも1つの変異が、全ゲノム配列決定によって同定される、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

T細胞受容体、好ましくは可溶性または膜結合T細胞受容体であって、HLAリガンドと反応性であり、前記リガンドが配列番号30、または、配列番号1 ~ 配列番号29、配列番号31 ~ 配列番号161からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも75%の同一性を有する、T細胞受容体。

【請求項 31】

前記アミノ酸配列が、配列番号30、または、配列番号1 ~ 配列番号29、配列番号31 ~ 配列番号161と少なくとも88%同一である、請求項 30 に記載のT細胞受容体。

【請求項 32】

前記アミノ酸配列が、配列番号30、または、配列番号1 ~ 配列番号29、配列番号31 ~ 配列番号161のいずれかからなる、請求項 30 または 31 に記載のT細胞受容体。

【請求項 33】

前記T細胞受容体が可溶性分子として提供され、任意選択的に、免疫刺激ドメインまたは毒素などのさらなるエフェクター機能を保有する、請求項 30 ~ 32 のいずれか一項に記載のT細胞受容体。

【請求項 34】

請求項 30 ~ 33 のいずれか一項に記載のTCRをエンコードする核酸であって、任意選択的に異種プロモーター配列と結合する、核酸。

【請求項 35】

請求項 34 に記載の核酸を発現する、発現ベクター。

【請求項 36】

請求項 34 に記載の核酸、または請求項 15 に記載の抗体をコードする核酸、または請求項 35 に記載の発現ベクターを含んでなる、好ましくはT細胞またはNK細胞である、組換え宿主細胞。

【請求項 37】

請求項 36 に記載の宿主細胞を培養するステップと、前記T細胞受容体を前記宿主細胞および/またはその培養液から単離するステップとを含んでなる、請求項 30 ~ 33 のいずれか一項に記載のT細胞受容体を製造する方法。

【請求項 38】

- a) 配列番号30、または、配列番号1 ~ 配列番号29、配列番号31 ~ 配列番号161からなる群から選択されるペプチド；
- b) a) に記載のペプチドおよび/またはペプチドMHC複合体と反応性のT細胞受容体；
- c) a) に記載のペプチドと、HLA-D R抗原関連不変鎖(Ii)のN末端のアミノ酸1 ~ 80 とを含んでなる融合タンパク質；
- d) a) ~ c) のいずれかをコードする核酸、または前記核酸を含んでなる発現ベクター；
- e) d) の発現ベクターを含んでなる宿主細胞；
- f) T細胞を、抗原特異的様式でT細胞を活性化するのに十分な時間にわたり、適切な抗原提示細胞の表面に発現されるa) に記載のペプチドと生体外で接触させるステップを含んでなる方法、ならびにこれらの活性化T細胞を自己または他の患者に移入する方法に

よって得られる、活性化Tリンパ球；

g) a) に記載のペプチドおよび/またはペプチド-MHC複合体および/またはa) に記載のペプチドを提示する細胞と反応性であり、例えば、免疫活性化ドメインまたは毒素との融合によって潜在的に修飾される、抗体、または可溶性T細胞受容体；

h) 配列番号30、または、配列番号1～配列番号29、配列番号31～配列番号161 からなる群から選択されるペプチドを認識し、および/または配列番号30、または、配列番号1～配列番号29、配列番号31～配列番号178 からなる群から選択されるペプチドとMHC分子との複合体を認識する、アプタマー；

i) a)～h) のいずれかに記載の結合または標識ペプチドまたはスキャフォールドからなる群から選択される、少なくとも1つの活性成分と、薬学的に許容できる担体、および任意選択的に、薬学的に許容可能な賦形剤および/または安定剤とを含んでなる医薬組成物。

【請求項39】

請求項1～6のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体を、好ましくはMHC分子と結合すると、請求項1～6のいずれか一項に記載のペプチドまたはその変異体を、特異的に認識するアプタマー。

专利名称(译)	用于免疫疗法的新型肽和肽组合以及制备用于抗胰腺癌和其他癌症的支架的方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP2018518956A5</a>	公开(公告)日	2019-04-18
申请号	JP2017564863	申请日	2016-06-17
[标]申请(专利权)人(译)	伊玛提克斯生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	Imatikusu生物技术有限公司		
[标]发明人	メアアンドレア ヴァインシエンクトニ スホールオリバー フリッチェイエンス シンハープリート		
发明人	メア,アンドレア ヴァインシエンク,トニ スホール,オリバー フリッチェ,イエンス シン,ハープリート		
IPC分类号	C12N15/12 A61P35/00 A61P35/02 A61K9/19 A61K9/08 A61K38/08 A61K39/00 A61K39/395 A61K35/76 C07K7/00 C12N15/85 C12N5/0783 C12Q1/6881 C12N15/115 C12N5/10 C07K14/725 C07K19/00 C12P21/02 C07K16/30 G01N33/53 G01N33/574		
CPC分类号	A61K39/0011 A61K51/1027 A61K51/1057 C07K14/7051 C07K14/70539 C07K16/2833 C07K2319/00 C12N5/0636 C12N15/115 C12N2310/16 C12Q1/6886 C12Q2600/158 A61K39/001154 A61K39/001162 A61P35/00 C07K14/4748 A61K35/15 C07K7/06 C07K7/08 C07K16/303 C12Q1/6881 G01N33/56977 A61K2039/5158 A61K2039/572 C07K14/70503 C07K2317/72 C07K2317/73 C07K2319/30 C07K2319/55 C12P21/02 C12Q2600/156 G01N2333/70539		
FI分类号	C12N15/12 A61P35/00 A61P35/02 A61K9/19 A61K9/08 A61K38/08 A61K39/00.H A61K39/395.D A61K39/395.N A61K39/395.C A61K39/395.L A61K35/76 C07K7/00.ZNA C12N15/85.Z C12N5/0783 C12Q1/6881.Z C12N15/115.Z C12N5/10 C07K14/725 C07K19/00 C12P21/02.C C07K16/30 G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/574		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ52 4B063/QQ53 4B063/QR08 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS36 4B064/AG01 4B064/AG20 4B064/AG27 4B064/CA19 4B064/DA01 4B064/DA14 4B065/AA93Y 4B065/AA94X 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA45 4B065/CA46 4C076/AA11 4C076/AA29 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084/AA13 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA17 4C084/BA18 4C084/BA23 4C084/CA62 4C084/MA17 4C084/MA44 4C084/NA14 4C084/ZB261 4C084/ZB262 4C084/ZB271 4C084/ZB272 4C085/AA03 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA21 4C085/EE01 4C087/BC83 4C087/NA14 4C087/ZB26 4C087/ZB27 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA15 4H045/BA16 4H045/BA41 4H045/CA41 4H045/DA50 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA22 4H045/EA28 4H045/EA31 4H045/EA51 4H045/FA74		
代理人(译)	庄司隆 Shinobe百合子		
优先权	2015010771 2015-06-19 GB 62/182026 2015-06-19 US		
其他公开文献	JP2018518956A		
摘要(译)			

本发明涉及用于免疫疗法的肽，蛋白质，核酸和细胞。特别地，本发明涉及癌症免疫疗法。本发明进一步涉及单独或与其他肿瘤相关肽结合的肿瘤相关T细胞肽表位，其在体外刺激例如抗肿瘤免疫应答或在体外刺激患者T细胞。可以用作疫苗组合物的活性药物成分。与主要组织相容性复合物 (MHC) 的分子结合的肽或这些肽本身也可以成为抗体，可溶性T细胞受体和其他结合分子的靶标。