

【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6年11月8日(2024.11.8)

【国際公開番号】WO2022/098787

【公表番号】特表2023-549780(P2023-549780A)

【公表日】令和5年11月29日(2023.11.29)

【年通号数】公開公報(特許)2023-224

【出願番号】特願2023-528088(P2023-528088)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/62(2006.01)

C 1 2 N 15/13(2006.01)

C 1 2 N 15/12(2006.01)

C 1 2 N 15/11(2006.01)

C 1 2 N 15/86(2006.01)

C 1 2 N 15/867(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 5/0783(2010.01)

C 1 2 N 15/09(2006.01)

C 1 2 N 15/87(2006.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

A 6 1 P 35/02(2006.01)

A 6 1 K 35/17(2015.01)

C 1 2 N 15/113(2010.01)

【F I】

C 1 2 N 15/62 Z Z N A

C 1 2 N 15/13

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 15/11 Z

C 1 2 N 15/86 Z

C 1 2 N 15/867 Z

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 5/0783

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 N 15/09 1 0 0

C 1 2 N 15/87 Z

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02

A 6 1 K 35/17

C 1 2 N 15/113 Z

【手続補正書】

【提出日】令和6年10月30日(2024.10.30)

【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】

10

20

30

40

50

ミニキメラ抗原受容体（ミニCAR）をコードする核酸配列を含む、改変されたインバリアントCD3 - 免疫グロブリンスーパーファミリー（インバリアントCD3 - IgSF）鎖遺伝子座を含む操作されたT細胞であって、ミニCARは、異種抗原結合ドメイン、およびインバリアントCD3 - IgSF鎖遺伝子座の内因性インバリアントCD3鎖を含む融合タンパク質であり、

核酸配列は、(i) 抗原結合ドメインをコードする配列を含む導入遺伝子、および(ii) インバリアントCD3 - IgSF鎖をコードする内因性インバリアントCD3 - IgSF鎖遺伝子座のオープンリーディングフレームのインフレーム融合を含む、操作されたT細胞。

【請求項2】

ミニキメラ抗原受容体（ミニCAR）を発現する操作されたT細胞であって、ミニCARは、異種抗原結合ドメイン、および免疫グロブリンスーパーファミリーの内因性インバリアントCD3鎖（インバリアントCD3 - IgSF鎖）を含む融合タンパク質である、操作されたT細胞。

【請求項3】

免疫グロブリンスーパーファミリーの内因性インバリアントCD3鎖（インバリアントCD3 - IgSF鎖）をコードする遺伝子座のオープンリーディングフレームがインフレームに挿入された抗原結合ドメインをコードする導入遺伝子を含む操作されたT細胞であって、異種抗原結合ドメインおよび内因性インバリアントCD3 - IgSF鎖を含むミニCAR融合タンパク質を発現する、操作されたT細胞。

【請求項4】

ミニCARが、ミニCARをコードする核酸配列を含む、改変されたインバリアントCD3 - 免疫グロブリンスーパーファミリー（インバリアントCD3 - IgSF）鎖遺伝子座から発現され、

核酸配列が、(i) 抗原結合ドメインをコードする配列を含む導入遺伝子、および(ii) インバリアントCD3 - IgSF鎖をコードする内因性インバリアントCD3 - IgSF鎖遺伝子座のオープンリーディングフレームのインフレーム融合を含む、請求項2または3に記載の操作されたT細胞。

【請求項5】

改変されたインバリアントCD3 - IgSF鎖遺伝子座が、CD3e鎖をコードする改変されたCD3E遺伝子座である、請求項1または4に記載の操作されたT細胞。

【請求項6】

抗原結合ドメインが、抗体またはその抗原結合性断片を含む、および/またはFab断片、Fab₂断片、単ドメイン抗体、または単鎖可変断片(scFv)を含む、請求項1から5のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

【請求項7】

改変されたインバリアントCD3 - IgSF鎖遺伝子座が、5'から3'の順で、異種抗原結合ドメインおよび内因性インバリアントCD3 - IgSF鎖をコードするヌクレオチドの配列を含む、請求項1、5または6のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

【請求項8】

抗原結合ドメインおよびインバリアントCD3 - IgSF鎖が、直接連結されている、請求項1から7のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

【請求項9】

抗原結合ドメインおよびインバリアントCD3 - IgSF鎖が、リンカーを介して間接的に連結されている、請求項1から7のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

【請求項10】

導入遺伝子が、リンカーをコードする核酸配列をさらに含む、請求項1、または3から9のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

【請求項11】

ミニCARをコードする核酸配列を含む改変されたCD3E遺伝子座を含む操作された

10

20

30

40

50

T細胞であって、ミニCARは、異種抗原結合ドメインおよび内因性CD3ε鎖を含み、核酸配列は、(i) scFvである抗原結合ドメインをコードする配列、およびリンカーをコードする配列を含む導入遺伝子、ならびに(ii) CD3ε鎖をコードする内因性CD3E遺伝子座のオープンリーディングフレームのインフレーム融合を含む、操作されたT細胞。

【請求項12】

導入遺伝子の配列が、5'から3'の順で、抗原結合ドメインをコードするヌクレオチドの配列、およびリンカーをコードするヌクレオチドの配列を含む、請求項10または11に記載の操作されたT細胞。

【請求項13】

改変されたインバリエントCD3-IgSF鎖遺伝子座が、5'から3'の順で、抗原結合ドメイン、リンカー、およびインバリエントCD3-IgSF鎖をコードするヌクレオチドの配列を含む、請求項12に記載の操作されたT細胞。

10

【請求項14】

リンカーが、ポリペプチドリンカーである、長さが3~18アミノ酸のポリペプチドリンカーである、GS、GGS、GGGS(配列番号122)、GGGGGS(配列番号128)およびそれらの組合せを含む、または、(GGS)n(式中、nは、1~10である)、(GGGS)n(配列番号121)(式中、nは、1~10である)、または(GGGGS)n(配列番号129)(式中、nは、1~4である)を含む、請求項10から13のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

20

【請求項15】

導入遺伝子が、1つまたは複数の多シストロン性エレメントをコードする核酸配列および/または親和性タグをコードする核酸配列をさらに含む、請求項1、または3から14のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

【請求項16】

改変されたインバリエントCD3-IgSF鎖遺伝子座が、5'から3'の順で、多シストロン性エレメント；抗原結合ドメイン；リンカー；およびインバリエントCD3-IgSF鎖をコードするヌクレオチドの配列を含む、請求項15に記載の操作されたT細胞。

【請求項17】

内因性インバリエントCD3-IgSF鎖遺伝子座のオープンリーディングフレームが、全長の成熟インバリエントCD3-IgSF鎖をコードする、請求項1、3から10、または12から16のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

30

【請求項18】

改変されたインバリエントCD3-IgSF鎖遺伝子座が、ミニCARをコードする核酸配列の発現を制御するように作動可能に連結された、内因性遺伝子座のプロモーターおよび/または調節もしくは制御エレメント、またはミニCARまたはその一部の発現を制御するように作動可能に連結された、1つまたは複数の異種調節または制御エレメントを含む、請求項1、4から10、または12から17のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

【請求項19】

T細胞が、対象から得られた初代T細胞である、および/またはCD8+T細胞もしくはそのサブタイプ、またはCD4+T細胞もしくはそのサブタイプである、請求項1から18のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

40

【請求項20】

対象が、ヒトである、請求項19に記載の操作されたT細胞。

【請求項21】

導入遺伝子が、相同組換え修復(HDR)を介して、T細胞の内因性インバリエントCD3-IgSF鎖遺伝子座に統合されている、請求項1、2、または4~20のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

【請求項22】

50

(a) 抗原結合ドメインをコードする核酸配列 ; および

(b) 核酸配列に連結された 1 つまたは複数の相同性アーム

を含むポリヌクレオチドであって、1 つまたは複数の相同性アームは、T 細胞の免疫グロブリンスーパーファミリー (インバリアント C D 3 - I g S F 鎖) 遺伝子座のインバリアント C D 3 鎖のオープンリーディングフレームの 1 つまたは複数の領域に相同な配列を含み、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座は、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖をコードする、ポリヌクレオチド。

【請求項 2 3】

(a) 抗原結合ドメインをコードする核酸配列 ; および

(b) 導入遺伝子をコードする核酸配列に連結された 1 つまたは複数の相同性アーム

を含むポリヌクレオチドであって、1 つまたは複数の相同性アームは、C D 3 e 鎖をコードする C D 3 E 遺伝子座のオープンリーディングフレームの 1 つまたは複数の領域に相同な配列を含む、ポリヌクレオチド。

【請求項 2 4】

T 細胞のゲノムへのポリヌクレオチドの導入が、ミニキメラ抗原受容体 (ミニ C A R) をコードする改変されたインバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座を生成し、ミニ C A R が、ポリヌクレオチドの核酸によってコードされる抗原結合ドメインおよび内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖を含む融合タンパク質であり、改変されたインバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座が、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖をコードする内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座のオープンリーディングフレームとインフレーションに、抗原結合ドメインをコードする核酸を含む、請求項 2 2 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 2 5】

ポリヌクレオチドが、直鎖状ポリヌクレオチドである、および / またはベクター中に含まれている、および / または約 5 0 0 ~ 約 3 0 0 0 ヌクレオチド、約 1 0 0 0 ~ 約 2 5 0 0 ヌクレオチド、または約 1 5 0 0 ヌクレオチド ~ 約 2 0 0 0 ヌクレオチドの長さである、請求項 2 2 から 2 4 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 2 6】

請求項 2 2 から 2 5 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項 2 7】

遺伝子操作された T 細胞を生産する方法であって、請求項 2 2 から 2 5 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドまたは請求項 2 6 に記載のベクターを T 細胞の集団に導入することを含み、集団の T 細胞は、内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座に遺伝学的破壊を含み、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座は、C D 3 e 鎖をコードする、方法。

【請求項 2 8】

遺伝子操作された T 細胞を生産する方法であって、

(a) T 細胞の集団に、集団中の T 細胞の内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座内の標的部位に遺伝学的破壊を誘導することが可能な 1 つまたは複数の薬剤を導入することであって、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座は、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖をコードする、導入すること ; および

(b) 請求項 2 2 から 2 5 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドまたは請求項 2 6 に記載のベクターを T 細胞の集団に導入することであって、集団中の T 細胞は、内因性インバリアント C D 3 I g S F 鎖遺伝子座に遺伝学的破壊を含む、導入することを含む、方法。

【請求項 2 9】

(a) ポリヌクレオチドの核酸配列が、相同組換え修復 (H D R) を介して内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座で統合されている、および / または
遺伝学的破壊が、1 つまたは複数の薬剤を T 細胞の集団に導入して、T 細胞の内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座内の標的部位で遺伝学的破壊を誘導することによ

10

20

30

40

50

って行われる、および/または

(b) 遺伝学的破壊を誘導することが可能な1つまたは複数の薬剤が、DNA結合タンパク質もしくはDNA結合核酸、DNA標的化タンパク質およびヌクレアーゼを含む融合タンパク質、または標的部位に特異的に結合するもしくはそれにハイブリダイズするRNAガイドヌクレアーゼを含み、1つまたは複数の薬剤は、標的部位に特異的に結合する、それを認識する、またはそれとハイブリダイズする、ジンクフィンガーヌクレアーゼ(ZFN)、TAL-エフェクターヌクレアーゼ(TALEN)、または/およびCRISPR-Cas9の組合せを含んでもよい、
請求項27または28に記載の方法。

【請求項30】

請求項27から29のいずれか一項に記載の方法によって生産された、操作されたT細胞を含む集団。

【請求項31】

ミニメラ抗原受容体(CAR)を含むTCR/CD3複合体を含むT細胞であって、ミニCARは、異種抗原結合ドメインおよびTCR/CD3複合体の免疫グロブリンスーパーファミリーの内因性インバリアントCD3鎖(インバリアントCD3-IgSF鎖)を含む融合タンパク質である、T細胞。

【請求項32】

請求項1から2.1のいずれか一項に記載の操作されたT細胞、請求項30に記載の操作されたT細胞を含む集団、または請求項31に記載のT細胞を含む、組成物。

【請求項33】

疾患または障害を処置するための医薬の製造における、請求項1から2.1のいずれか一項に記載の操作されたT細胞、請求項30に記載の操作されたT細胞を含む集団、請求項31に記載のT細胞、または請求項32に記載の組成物、の使用。

【請求項34】

疾患または障害の処置における使用のための、請求項1から2.1のいずれか一項に記載の操作されたT細胞、請求項30に記載の操作されたT細胞を含む集団、請求項31に記載のT細胞、または請求項32に記載の組成物。

【請求項35】

T細胞の内因性インバリアントCD3-IgSF鎖遺伝子座内の標的部位に遺伝学的破壊を誘導することが可能な1つまたは複数の薬剤；および

請求項22から25のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含むキット。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0637

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0637】

以下の実施例は、説明的な目的のためにのみ含まれ、本発明の範囲を限定することを意図しない。

本開示は、例えば、以下に関する。

[項1]

ミニメラ抗原受容体(ミニCAR)をコードする核酸配列を含む、改変されたインバリアントCD3-免疫グロブリンスーパーファミリー(インバリアントCD3-IgSF)鎖遺伝子座を含む操作されたT細胞であって、ミニCARは、異種抗原結合ドメイン、およびインバリアントCD3-IgSF鎖遺伝子座の内因性インバリアントCD3鎖を含む融合タンパク質であり、

核酸配列は、(i)抗原結合ドメインをコードする配列を含む導入遺伝子、および(ii)インバリアントCD3-IgSF鎖をコードする内因性インバリアントCD3-Ig

10

20

30

40

50

S F 鎖遺伝子座のオープンリーディングフレームのインフレーム融合を含む、操作された T 細胞。

[項 2]

ミニキメラ抗原受容体 (ミニ C A R) を発現する操作された T 細胞であって、ミニ C A R は、異種抗原結合ドメイン、および免疫グロブリンスーパーファミリーの内因性インバリアント C D 3 鎖 (インバリアント C D 3 - I g S F 鎖) を含む融合タンパク質である、操作された T 細胞。

[項 3]

免疫グロブリンスーパーファミリーの内因性インバリアント C D 3 鎖 (インバリアント C D 3 - I g S F 鎖) をコードする遺伝子座のオープンリーディングフレームがインフレームに挿入された抗原結合ドメインをコードする導入遺伝子を含む操作された T 細胞であって、異種抗原結合ドメインおよび内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖を含むミニ C A R 融合タンパク質を発現する、操作された T 細胞。

10

[項 4]

ミニ C A R が、ミニ C A R をコードする核酸配列を含む、改変されたインバリアント C D 3 - 免疫グロブリンスーパーファミリー (インバリアント C D 3 - I g S F) 鎖遺伝子座から発現され、

核酸配列が、(i) 抗原結合ドメインをコードする配列を含む導入遺伝子、および (i i) インバリアント C D 3 - I g S F 鎖をコードする内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座のオープンリーディングフレームのインフレーム融合を含む、項 2 または 3 に記載の操作された T 細胞。

20

[項 5]

改変されたインバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座が、C D 3 e 鎖をコードする改変された C D 3 イプシロン (C D 3 E) 遺伝子座、C D 3 d 鎖をコードする改変された C D 3 デルタ (C D 3 D) 遺伝子座、または C D 3 g 鎖をコードする改変された C D 3 ガンマ (C D 3 G) 遺伝子座である、項 1 または 4 に記載の操作された T 細胞。

[項 6]

改変されたインバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座が、C D 3 e 鎖をコードする改変された C D 3 E 遺伝子座である、項 1、4、または 5 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

30

[項 7]

抗原結合ドメインが、抗体またはその抗原結合性断片を含む、項 1 から 6 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 8]

抗原結合ドメインが、F a b 断片、F a b₂ 断片、単ドメイン抗体、または単鎖可変断片 (s c F v) を含む、項 1 から 7 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 9]

改変されたインバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座が、5 ' から 3 ' の順で、異種抗原結合ドメインおよび内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖をコードするヌクレオチドの配列を含む、項 1、または 5 から 8 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

40

[項 10]

抗原結合ドメインおよびインバリアント C D 3 - I g S F 鎖が、直接連結されている、項 1 から 9 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 11]

抗原結合ドメインおよびインバリアント C D 3 - I g S F 鎖が、リンカーを介して間接的に連結されている、項 1 から 9 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 12]

導入遺伝子が、リンカーをコードする核酸配列をさらに含む、項 1、または 3 から 11 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 13]

50

リンカーが、抗原結合ドメインの 3' に位置している、項 1 2 に記載の操作された T 細胞。

[項 1 4]

ミニ C A R をコードする核酸配列を含む改変された C D 3 E 遺伝子座を含む操作された T 細胞であって、ミニ C A R は、異種抗原結合ドメインおよび内因性 C D 3 e 鎖を含み、核酸配列は、(i) s c F v である抗原結合ドメインをコードする配列、およびリンカーをコードする配列を含む導入遺伝子、ならびに (i i) C D 3 e 鎖をコードする内因性 C D 3 E 遺伝子座のオープンリーディングフレームのインフレーム融合を含む、操作された T 細胞。

[項 1 5]

導入遺伝子の配列が、5' から 3' の順で、抗原結合ドメインをコードするヌクレオチドの配列、およびリンカーをコードするヌクレオチドの配列を含む、項 1 2 から 1 4 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 1 6]

改変されたインバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座が、5' から 3' の順で、抗原結合ドメイン、リンカー、およびインバリアント C D 3 - I g S F 鎖をコードするヌクレオチドの配列を含む、項 1 5 に記載の操作された T 細胞。

[項 1 7]

リンカーが、ポリペプチドリンカーである、項 1 2 から 1 6 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 1 8]

リンカーが、長さが 3 ~ 1 8 アミノ酸のポリペプチドである、項 1 2 から 1 7 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 1 9]

リンカーが、G S、G G S、G G G G S (配列番号 1 2 2)、G G G G G S (配列番号 1 2 8) およびそれらの組合せを含む、項 1 2 から 1 8 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 2 0]

リンカーが、(G G S) n (式中、n は、1 ~ 1 0 である)、(G G G G S) n (配列番号 1 2 1) (式中、n は、1 ~ 1 0 である)、または (G G G G G S) n (配列番号 1 2 9) (式中、n は、1 ~ 4 である) を含む、項 1 2 から 1 8 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 2 1]

導入遺伝子が、1 つまたは複数の多シストロン性エレメントをコードする核酸配列をさらに含む、項 1、または 3 から 2 0 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 2 2]

P 2 A エレメントが、配列番号 3 に記載の配列を含む、項 2 1 に記載の操作された T 細胞。

[項 2 3]

1 つまたは複数の多シストロン性エレメントの少なくとも 1 つが、抗原結合ドメインの 5' に位置している、項 2 1 または 2 2 に記載の操作された T 細胞。

[項 2 4]

導入遺伝子の配列が、5' から 3' の順で、多シストロン性エレメント、適宜 P 2 A エレメント；抗原結合ドメイン；およびリンカーをコードするヌクレオチドの配列を含む、項 2 1 から 2 3 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 2 5]

導入遺伝子が、親和性タグをコードする核酸配列をさらに含む、項 1、または 3 から 2 4 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 2 6]

親和性タグが、ストレプトアビジン結合ペプチドである、項 2 5 に記載の操作された T

10

20

30

40

50

細胞。

[項 2 7]

改変されたインバリアントCD3 - I g S F 鎖遺伝子座が、5'から3'の順で、多シストロン性エレメント；抗原結合ドメイン；リンカー；およびインバリアントCD3 - I g S F 鎖をコードするヌクレオチドの配列を含む、項21から26のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

[項 2 8]

内因性インバリアントCD3 - I g S F 鎖遺伝子座のオープンリーディングフレームが、全長の成熟インバリアントCD3 - I g S F 鎖をコードする、項1、3から13、または15から27のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

[項 2 9]

改変されたインバリアントCD3 - I g S F 鎖遺伝子座が、ミニCARをコードする核酸配列の発現を制御するように作動可能に連結された、内因性遺伝子座のプロモーターおよび/または調節もしくは制御エレメントを含む、項1、4から13、または15から28のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

[項 3 0]

改変されたインバリアントCD3 - I g S F 鎖遺伝子座が、ミニCARまたはその一部の発現を制御するように作動可能に連結された、1つまたは複数の異種調節または制御エレメントを含む、項1、4から13、または15から28のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

[項 3 1]

抗原結合ドメインが、疾患、障害または状態の細胞または組織に関連する、それらと特異的な、および/またはそれらで発現される標的抗原に結合する、項1から30のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

[項 3 2]

標的抗原が、腫瘍抗原である、項31に記載の操作されたT細胞。

[項 3 3]

標的抗原が、 α v β 6インテグリン (α v β 6インテグリン)、B細胞成熟抗原 (BCMA)、B7 - H3、B7 - H6、炭酸脱水酵素9 (CA9、またCAIXまたはG250としても公知)、がん精巣抗原、がん/精巣抗原1B (CTAG、またNY - ESO - 1およびLAGE - 2としても公知)、癌胎児性抗原 (CEA)、サイクリン、サイクリンA2、C - Cモチーフケモカインリガンド1 (CCL - 1)、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44 v 6、CD44 v 7 / 8、CD123、CD133、CD138、CD171、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン4 (CSPG4)、上皮増殖因子タンパク質 (EGFR)、I I I型上皮増殖因子受容体突然変異 (EGFR v I I I)、上皮糖タンパク質2 (EPG - 2)、上皮糖タンパク質40 (EPG - 40)、エフリンB2、エフリン受容体A2 (EPHa2)、エストロゲン受容体、Fc受容体様5 (FCRL5；またFc受容体ホモログ5またはFCRH5としても公知)、胎児アセチルコリン受容体 (胎児AChR)、葉酸結合タンパク質 (FBP)、葉酸受容体アルファ、ガングリオシドGD2、O - アセチル化GD2 (OGD2)、ガングリオシドGD3、糖タンパク質100 (gp100)、グリピカン - 3 (GPC3)、Gタンパク質共役受容体クラスCグループ5メンバーD (GPRC5D)、Her2 / neu (受容体チロシンキナーゼerb - B2)、Her3 (erb - B3)、Her4 (erb - B4)、erbB二量体、ヒト高分子量黒色腫関連抗原 (HMW - MAA)、B型肝炎表面抗原、ヒト白血球抗原A1 (HLA - A1)、ヒト白血球抗原A2 (HLA - A2)、IL - 22受容体アルファ (IL - 22R)、IL - 13受容体アルファ2 (IL - 13R 2)、キナーゼインサートドメイン受容体 (kdr)、カップ軽鎖、L1細胞接着分子 (L1 - CAM)、L1 - CAMのCE7エピトープ、ロイシンリッチリピート含有8ファミリーメンバーA (LRRC8A)、ルイスY、黒色腫関連抗原 (MAGE) - A1、MAGE - A3、MAGE - A6、MAG

10

20

30

40

50

E - A 1 0、メソテリン (M S L N)、c - M e t、マウスサイトメガロウイルス (C M V)、ムチン 1 (M U C 1)、M U C 1 6、ナチュラルキラーグループ 2 メンバー D (N K G 2 D) リガンド、メラノ A (M A R T - 1)、神経細胞接着分子 (N C A M)、腫瘍胎児性抗原、黒色腫優先発現抗原 (P R A M E)、プロゲステロン受容体、前立腺特異的抗原、前立腺幹細胞抗原 (P S C A)、前立腺特異的膜抗原 (P S M A)、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体 1 (R O R 1)、サバイビン、栄養膜糖タンパク質 (T P B G、また 5 T 4 としても公知)、腫瘍関連糖タンパク質 7 2 (T A G 7 2)、チロシナーゼ関連タンパク質 1 (T R P 1、また T Y R P 1 または g p 7 5 としても公知)、チロシナーゼ関連タンパク質 2 (T R P 2、またドーパクロムトートメラゼ、ドーパクロムデルタイソメラゼまたは D C T としても公知)、血管内皮増殖因子受容体 (V E G F R)、血管内皮増殖因子受容体 2 (V E G F R 2)、ウィルムス腫瘍 1 (W T - 1)、病原体特異的な、もしくは病原体によって発現される抗原、またはユニバーサルタグと会合した抗原、および / またはビオチン化分子、および / または H I V、H C V、H B V もしくは他の病原体によって発現される分子から選択される、項 3 1 または 3 2 に記載の操作された T 細胞。

10

[項 3 4]

ミニ C A R が、T C R / C D 3 複合体の対応する内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖の代わりに、T C R / C D 3 複合体に集合する、項 1 から 3 3 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 3 5]

ミニ C A R が、T C R / C D 3 複合体の対応する内因性インバリアント C D 3 - I g S F C D 3 e 鎖の代わりに、T C R / C D 3 複合体に集合する、項 5 から 3 4 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

20

[項 3 6]

標的抗原の、ミニ C A R の異種抗原結合ドメインとの結合が、T C R / C D 3 複合体を介して抗原依存性のシグナル伝達を誘導する、項 3 4 または 3 5 に記載の操作された T 細胞。

[項 3 7]

ミニ C A R が、同じ抗原結合ドメインを含むキメラ抗原受容体 (C A R) で操作された T 細胞と比較して、T C R / C D 3 複合体を介した持続性シグナル伝達の低減を呈示する、項 3 4 から 3 6 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

30

[項 3 8]

操作された T 細胞が、同じ抗原結合ドメインおよび異種 C D 3 ゼータ (C D 3 z) シグナル伝達ドメインを含むキメラ抗原受容体 (C A R) で操作された T 細胞と比較して、持続性の増加を呈示する、項 1 から 3 7 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 3 9]

操作された T 細胞が、同じ抗原結合ドメインおよび異種 C D 3 ゼータ (C D 3 z) シグナル伝達ドメインを含むキメラ抗原受容体 (C A R) で操作された T 細胞と比較して、細胞溶解活性の増加を呈示する、項 1 から 3 8 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 4 0]

T 細胞が、対象から得られた初代 T 細胞である、項 1 から 3 9 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

40

[項 4 1]

対象が、ヒトである、項 4 0 に記載の操作された T 細胞。

[項 4 2]

T 細胞が、C D 8 + T 細胞もしくはそのサブタイプ、または C D 4 + T 細胞もしくはそのサブタイプである、項 1 から 4 1 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞。

[項 4 3]

導入遺伝子が、相同組換え修復 (H D R) を介して、T 細胞の内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座に統合されている、項 1、2、または 4 ~ 4 2 のいずれか一項

50

に記載の操作された T 細胞。

[項 4 4]

(a) 抗原結合ドメインをコードする核酸配列；および
(b) 核酸配列に連結された 1 つまたは複数の相同性アーム
を含むポリヌクレオチドであって、1 つまたは複数の相同性アームは、T 細胞の免疫グロ
ブリンスーパーファミリー（インバリアント C D 3 - I g S F 鎖）遺伝子座のインバリア
ント C D 3 鎖のオープンリーディングフレームの 1 つまたは複数の領域に相同な配列を含
み、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座は、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖
をコードする、ポリヌクレオチド。

[項 4 5]

1 つまたは複数の相同性アームが、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座のオー
プンリーディングフレームの 1 つまたは複数の領域に相同な配列を含み、インバリアント
C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座が、C D 3 e 鎖をコードする C D 3 E 遺伝子座、C D 3 d 鎖
をコードする C D 3 D 遺伝子座、または C D 3 g 鎖をコードする C D 3 G 遺伝子座である
、項 4 4 に記載のポリヌクレオチド。

[項 4 6]

(a) 抗原結合ドメインをコードする核酸配列；および
(b) 導入遺伝子をコードする核酸配列に連結された 1 つまたは複数の相同性アーム
を含むポリヌクレオチドであって、1 つまたは複数の相同性アームは、C D 3 e 鎖をコー
ドする C D 3 E 遺伝子座のオープンリーディングフレームの 1 つまたは複数の領域に相同
な配列を含む、ポリヌクレオチド。

[項 4 7]

抗原結合ドメインが、抗体またはその抗原結合性断片を含む、項 4 4 から 4 6 のいずれ
か一項に記載のポリヌクレオチド。

[項 4 8]

抗原結合ドメインが、F a b 断片、F a b₂ 断片、単ドメイン抗体、または単鎖可変
断片（s c F v）を含む、項 4 4 から 4 7 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

[項 4 9]

核酸配列が、コードされた抗原結合ドメインに作動可能に接続されたリンカーをコード
するヌクレオチドをさらに含み、リンカーは、抗原結合ドメインの 3' に位置している、
項 4 4 から 4 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

[項 5 0]

コードされたリンカーが、長さが 3 ~ 1 8 アミノ酸のポリペプチドである、項 4 9 に記
載のポリヌクレオチド。

[項 5 1]

コードされたリンカーが、G S、G G S、G G G G S（配列番号 1 2 2）、G G G G G
S（配列番号 1 2 8）およびそれらの組合せを含む、項 4 9 または 5 0 に記載のポリヌク
レオチド。

[項 5 2]

コードされたリンカーが、(G G S)_n（式中、n は、1 ~ 1 0 である）、(G G G G
S)_n（配列番号 1 2 1）（式中、n は、1 ~ 1 0 である）、または (G G G G G S)_n
（配列番号 1 2 9）（式中、n は、1 ~ 4 である）を含む、項 4 9 から 5 1 のいずれか一
項に記載のポリヌクレオチド。

[項 5 3]

コードされたリンカーが、G G S を含むコードされたリンカー、G G G G S（配列番号
1 2 2）を含むコードされたリンカー、G G G G G S（配列番号 1 2 8）を含むコードさ
れたリンカー、(G G S)₂（配列番号 1 3 0）を含むコードされたリンカー、G G S G
G S G G S（配列番号 1 3 1）であるかまたはそれを含むコードされたリンカー、G G S
G G S G G S G G S（配列番号 1 3 2）を含むコードされたリンカー、G G S G G S G G
S G G S G G S（配列番号 1 3 3）を含むコードされたリンカー、G G G G G S G G G G

10

20

30

40

50

G S G G G G S (配列番号 1 3 4) を含むコードされたリンカー、G G S G G G G S G G G S G G G S (配列番号 1 3 5) を含むコードされたリンカー、および G G G G S G G G S G G G S (配列番号 1 6) を含むコードされたリンカーからなる群から選択される、項 4 9 から 5 2 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

[項 5 4]

核酸配列が、5' から 3' の順で、抗原結合ドメインをコードするヌクレオチドの配列、およびリンカーをコードするヌクレオチドの配列を含む、項 4 9 から 5 3 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

[項 5 5]

核酸配列が、1 つまたは複数の多シストロン性エレメントをコードするヌクレオチドをさらに含む、項 4 4 から 5 4 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

[項 5 6]

多シストロン性エレメントが、P 2 A エレメントを含み、P 2 A エレメントは、配列番号 3 に記載の配列を含む、項 5 5 に記載のポリヌクレオチド。

[項 5 7]

核酸配列が、5' から 3' の順で、多シストロン性エレメント、適宜 P 2 A エレメント；抗原結合ドメイン；およびリンカーをコードするヌクレオチドの配列を含む、項 5 5 または 5 6 に記載のポリヌクレオチド。

[項 5 8]

1 つまたは複数の相同性アームが、5' 相同性アームおよび 3' 相同性アームを含み、ポリヌクレオチドが、[5' 相同性アーム] - [(a) の核酸配列] - [3' 相同性アーム] の構造を含む、項 4 4 から 5 7 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

[項 5 9]

5' 相同性アームおよび 3' 相同性アームが、独立して、長さが 1 0 0、2 0 0、3 0 0、4 0 0、5 0 0、6 0 0、7 0 0 もしくは 8 0 0、または約 1 0 0、約 2 0 0、約 3 0 0、約 4 0 0、約 5 0 0、約 6 0 0、約 7 0 0 もしくは約 8 0 0 ヌクレオチドであるか、または前述の値のいずれかの間のいずれかの値であるか、または長さが 1 0 0 ヌクレオチドもしくは約 1 0 0 ヌクレオチドより大きいか、適宜、長さが 1 0 0、2 0 0 もしくは 3 0 0 ヌクレオチド、または約 1 0 0、約 2 0 0 もしくは約 3 0 0 ヌクレオチドであるか、または前述の値のいずれかの間のいずれかの値である、項 5 8 に記載のポリヌクレオチド

[項 6 0]

5' 相同性アームが、少なくとも 8 5 % を呈示する配列を含む、項 5 8 または 5 9 に記載のポリヌクレオチド。

[項 6 1]

3' 相同性アームが、配列番号 5 と少なくとも 8 5 % 配列同一性を呈示する配列を含む、項 5 8 から 6 0 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

[項 6 2]

コードされた抗原結合ドメインが、疾患、障害または状態の細胞または組織に関連する、それらと特異的な、および / またはそれらで発現される標的抗原に結合する、項 4 4 から 6 1 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

[項 6 3]

標的抗原が、腫瘍抗原である、項 6 2 に記載のポリヌクレオチド。

[項 6 4]

標的抗原が、v 6 インテグリン (a v b 6 インテグリン)、B 細胞成熟抗原 (B C M A)、B 7 - H 3、B 7 - H 6、炭酸脱水酵素 9 (C A 9、また C A I X または G 2 5 0 としても公知)、がん精巢抗原、がん / 精巢抗原 1 B (C T A G、また N Y - E S O - 1 および L A G E - 2 としても公知)、癌胎児性抗原 (C E A)、サイクリン、サイクリン A 2、C - C モチーフケモカインリガンド 1 (C C L - 1)、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 2 3、C D 2 4、C D 3 0、C D 3 3、C D 3 8、C D 4 4、C D 4 4 v 6

10

20

30

40

50

、CD44v7/8、CD123、CD133、CD138、CD171、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン4(CSPG4)、上皮増殖因子タンパク質(EGFR)、I型上皮増殖因子受容体突然変異(EGFRvIII)、上皮糖タンパク質2(EPG-2)、上皮糖タンパク質40(EPG-40)、エフリンB2、エフリン受容体A2(EPha2)、エストロゲン受容体、Fc受容体様5(FCRL5;またFc受容体ホモログ5またはFCRH5としても公知)、胎児アセチルコリン受容体(胎児AChR)、葉酸結合タンパク質(FBP)、葉酸受容体アルファ、ガングリオシドGD2、O-アセチル化GD2(OGD2)、ガングリオシドGD3、糖タンパク質100(gp100)、グリピカン-3(GPC3)、Gタンパク質共役受容体クラスCグループ5メンバーD(GPRC5D)、Her2/neu(受容体チロシンキナーゼerb-B2)、Her3(erb-B3)、Her4(erb-B4)、erbB二量体、ヒト高分子量黒色腫関連抗原(HMW-MAA)、B型肝炎表面抗原、ヒト白血球抗原A1(HLA-A1)、ヒト白血球抗原A2(HLA-A2)、IL-22受容体アルファ(IL-22R)、IL-13受容体アルファ2(IL-13R2)、キナーゼインサートドメイン受容体(kdr)、カップ軽鎖、L1細胞接着分子(L1-CAM)、L1-CAMのCE7エピトープ、ロイシンリッチリピート含有8ファミリーメンバーA(LRRC8A)、ルイスY、黒色腫関連抗原(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、MAGE-A10、メソテリン(MSLN)、c-Met、マウスサイトメガロウイルス(CMV)、ムチン1(MUC1)、MUC16、ナチュラルキラーグループ2メンバーD(NKG2D)リガンド、メランA(MART-1)、神経細胞接着分子(NCAM)、腫瘍胎児性抗原、黒色腫優先発現抗原(PRAME)、プロゲステロン受容体、前立腺特異的抗原、前立腺幹細胞抗原(PSCA)、前立腺特異的膜抗原(PSMA)、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1(ROR1)、サバイピン、栄養膜糖タンパク質(TPBG、また5T4としても公知)、腫瘍関連糖タンパク質72(TAG72)、チロシナーゼ関連タンパク質1(TRP1、またTYRP1またはgp75としても公知)、チロシナーゼ関連タンパク質2(TRP2、またドーパクロムトートメラゼ、ドーパクロムデルタイソメラゼまたはDCTとしても公知)、血管内皮増殖因子受容体(VEGFR)、血管内皮増殖因子受容体2(VEGFR2)、ウィルムス腫瘍1(WT-1)、病原体特異的な、もしくは病原体によって発現される抗原、またはユニバーサルタグと会合した抗原、および/またはビオチン化分子、および/またはHIV、HCV、HBVもしくは他の病原体によって発現される分子から選択される、項62または63に記載のポリヌクレオチド。

10

20

30

[項65]

T細胞のゲノムへのポリヌクレオチドの導入が、ミニキメラ抗原受容体(ミニCAR)をコードする改変されたインバリエントCD3-IgSF鎖遺伝子座を生成し、ミニCARが、ポリヌクレオチドの核酸によってコードされる抗原結合ドメインおよび内因性インバリエントCD3-IgSF鎖を含む融合タンパク質であり、改変されたインバリエントCD3-IgSF鎖遺伝子座が、インバリエントCD3-IgSF鎖をコードする内因性インバリエントCD3-IgSF鎖遺伝子座のオープンリーディングフレームとインフレームに、抗原結合ドメインをコードする核酸を含む、項44から45および47から64のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

40

[項66]

内因性インバリエントCD3-IgSF鎖が、CD3e鎖、CD3d鎖、またはCD3g鎖である、項65に記載のポリヌクレオチド。

[項67]

コードされたミニCARが、TCR/CD3複合体の対応する内因性インバリエントCD3-IgSF鎖の代わりに、TCR/CD3複合体に集合する、項65から66のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

[項68]

直鎖状ポリヌクレオチドである、項44から67のいずれか一項に記載のポリヌクレオ

50

チド。

[項 6 9]

ポリヌクレオチドが、ベクター中に含まれている、項 4 4 から 6 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

[項 7 0]

ポリヌクレオチドが、約 5 0 0 ~ 約 3 0 0 0 ヌクレオチド、約 1 0 0 0 ~ 約 2 5 0 0 ヌクレオチド、または約 1 5 0 0 ヌクレオチド ~ 約 2 0 0 0 ヌクレオチドの長さである、項 4 4 から 6 9 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

[項 7 1]

項 4 4 から 6 7 および 6 9 から 7 0 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

10

[項 7 2]

ウイルスベクターである、項 7 1 に記載のベクター。

[項 7 3]

ウイルスベクターが、レトロウイルスベクターである、項 7 2 に記載のベクター。

[項 7 4]

遺伝子操作された T 細胞を生産する方法であって、項 4 4 から 7 3 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを T 細胞の集団に導入することを含み、集団の T 細胞は、内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座に遺伝学的破壊を含み、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座は、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖をコードする、方法。

20

[項 7 5]

遺伝子操作された T 細胞を生産する方法であって、項 7 1 から 7 3 のいずれか一項に記載のベクターを T 細胞の集団に導入することを含み、集団の T 細胞は、内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座に遺伝学的破壊を含み、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座は、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖をコードする、方法。

[項 7 6]

遺伝子操作された T 細胞を生産する方法であって、

(a) T 細胞の集団に、集団中の T 細胞の内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座内の標的部位に遺伝学的破壊を誘導することが可能な 1 つまたは複数の薬剤を導入することであって、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座は、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖をコードする、導入すること；および

30

(b) 項 4 4 から 7 0 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを T 細胞の集団に導入することであって、集団中の T 細胞は、内因性インバリアント C D 3 I g S F 鎖遺伝子座に遺伝学的破壊を含む、導入すること

を含む、方法。

[項 7 7]

遺伝子操作された T 細胞を生産する方法であって、

(a) T 細胞の集団に、集団中の T 細胞の内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座内の標的部位に遺伝学的破壊を誘導することが可能な 1 つまたは複数の薬剤を導入することであって、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座は、インバリアント C D 3 - I g S F 鎖をコードする、導入すること；および

40

(b) 項 7 1 から 7 3 のいずれか一項に記載のベクターを T 細胞の集団に導入することであって、集団中の T 細胞は、内因性インバリアント C D 3 I g S F 鎖遺伝子座に遺伝学的破壊を含む、導入すること

を含む、方法。

[項 7 8]

ポリヌクレオチドの核酸配列が、相同組換え修復 (H D R) を介して内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座で統合されている、項 7 4 から 7 7 のいずれか一項に記載の方法。

[項 7 9]

50

インバリエントCD3 - IgSF鎖遺伝子座が、CD3ε鎖をコードするCD3イプシロン(CD3E)遺伝子座、CD3δ鎖をコードするCD3デルタ(CD3D)遺伝子座、またはCD3g鎖をコードするCD3ガンマ(CD3G)遺伝子座である、項74から78のいずれか一項に記載の方法。

[項80]

遺伝学的破壊が、1つまたは複数の薬剤をT細胞の集団に導入して、T細胞の内因性インバリエントCD3 - IgSF鎖遺伝子座内の標的部位で遺伝学的破壊を誘導することによって行われる、項74から79のいずれか一項に記載の方法。

[項81]

遺伝学的破壊を誘導することが可能な1つまたは複数の薬剤が、DNA結合タンパク質もしくはDNA結合核酸、DNA標的化タンパク質およびヌクレアーゼを含む融合タンパク質、または標的部位に特異的に結合するもしくはそれにハイブリダイズするRNAガイドヌクレアーゼを含み、1つまたは複数の薬剤は、標的部位に特異的に結合する、それを認識する、またはそれとハイブリダイズする、ジンクフィンガーヌクレアーゼ(ZFN)、TALE-エフェクターヌクレアーゼ(TALEN)、または/およびCRISPR-Cas9の組合せを含んでもよい、項76から80のいずれか一項に記載の方法。

[項82]

1つまたは複数の薬剤のそれぞれが、少なくとも1つの標的部位に相補的な標的化ドメインを有するガイドRNA(gRNA)を含む、項76から81のいずれか一項に記載の方法。

[項83]

1つまたは複数の薬剤が、gRNAおよびCas9タンパク質を含むリボ核タンパク質(RNP)複合体として導入され、RNPは、エレクトロポレーション、パーティクルガン、リン酸カルシウムトランスフェクション、細胞圧縮またはスクイーミングを介して、適宜エレクトロポレーションを介して導入されてもよい、項82に記載の方法。

[項84]

gRNAが、標的化ドメイン配列UUGACAUGCCUCAGUAUCC(配列番号8)を有する、項82から83のいずれか一項に記載の方法。

[項85]

T細胞の集団が、対象から得られた初代T細胞を含む、項74から84のいずれか一項に記載の方法。

[項86]

T細胞が、CD8+T細胞もしくはそのサブタイプ、またはCD4+T細胞もしくはそのサブタイプを含む、項74から85のいずれか一項に記載の方法。

[項87]

ポリヌクレオチドが、直鎖状ポリヌクレオチドである、項74、および76から86のいずれか一項に記載の方法。

[項88]

ポリヌクレオチドが、ベクター中に含まれている、項74、および76から86のいずれか一項に記載の方法。

[項89]

1つまたは複数の薬剤およびポリヌクレオチドまたはベクターが、同時にまたは逐次的に、あらゆる順番で導入される、項76から88のいずれか一項に記載の方法。

[項90]

ポリヌクレオチドまたはベクターが、1つまたは複数の薬剤の導入の直後に、または1つまたは複数の薬剤の導入後から約30秒以内、1分以内、2分以内、3分以内、4分以内、5分以内、6分以内、6分以内、8分以内、9分以内、10分以内、15分以内、20分以内、30分以内、40分以内、50分以内、60分以内、90分以内、2時間以内、3時間以内もしくは4時間以内に導入される、項89に記載の方法。

[項91]

10

20

30

40

50

1つもしくは複数の薬剤を導入する、および/またはポリヌクレオチドもしくはベクターを導入する前、1つまたは複数の集団のT細胞を刺激または活性化する条件下で、1種または複数の刺激剤と共にインビトロでT細胞の集団をインキュベートすることを含む、項76から90のいずれか一項に記載の方法。

[項92]

1つまたは複数の組換えサイトカインと共に、1つもしくは複数の薬剤を導入する、および/またはポリヌクレオチドもしくはベクターを導入する前、その間またはその後に、T細胞の集団をインキュベートすることをさらに含む、項76から91のいずれか一項に記載の方法。

[項93]

インキュベーションが、1つまたは複数の薬剤の導入およびポリヌクレオチドまたはベクターの導入の後に行われ、インキュベーションが、最大21日であり、最大7日または約7日であってもよい、項91または92に記載の方法。

[項94]

T細胞の集団を、拡大増殖のための条件下で培養することをさらに含み、培養は、1つもしくは複数の薬剤の導入および/またはポリヌクレオチドもしくはベクターの導入の後である、項76から92のいずれか一項に記載の方法。

[項95]

拡大増殖のための条件下で培養することが、T細胞の集団を、抗原結合ドメインの標的抗原、標的抗原を発現する標的細胞、または抗原結合ドメインに結合する抗イディオタイプ抗体と共にインキュベートすることを含む、項93に記載の方法。

[項96]

拡大増殖のための条件下で培養することが、最大21日間行われる、項93または94に記載の方法。

[項97]

T細胞の集団中の細胞の少なくとも75%が、インバリアントCD3-IgSF鎖遺伝子座内に少なくとも1つの標的部位の遺伝学的破壊を含むという結果をもたらす、項74から95のいずれか一項に記載の方法。

[項98]

前記方法によって生成したT細胞の集団中のT細胞の少なくとも25%または25%より多くがミニCARを発現するという結果をもたらす、項74から96のいずれか一項に記載の方法。

[項99]

項74から97のいずれか一項に記載の方法によって生産された、操作されたT細胞を含む集団。

[項100]

ミニキメラ抗原受容体(CAR)を含むTCR/CD3複合体を含むT細胞であって、ミニCARは、異種抗原結合ドメインおよびTCR/CD3複合体の免疫グロブリンスーパーファミリーの内因性インバリアントCD3鎖(インバリアントCD3-IgSF鎖)を含む融合タンパク質である、T細胞。

[項101]

ミニCARが、T細胞の改変されたインバリアントCD3-IgSF鎖遺伝子座から発現され、改変されたインバリアントCD3-IgSF鎖遺伝子座は、ミニCARをコードする核酸配列を含む、項99に記載のT細胞。

[項102]

インバリアントCD3-IgSF鎖遺伝子座が、CD3イプシロン(CD3E)、CD3デルタ(CD3D)、またはCD3ガンマ(CD3G)遺伝子座である、項100に記載のT細胞。

[項103]

項1から44のいずれか一項に記載の操作されたT細胞を含む組成物であって、集団が

10

20

30

40

50

項 9 8 に記載の操作された T 細胞、または項 9 9 から 1 0 1 のいずれか一項に記載の T 細胞を含む、組成物。

[項 1 0 4]

項 7 4 から 9 7 のいずれか一項に記載の方法によって生産された、操作された T 細胞を含む組成物。

[項 1 0 5]

C D 4 + T 細胞および / または C D 8 + T 細胞を含む、項 1 0 2 または 1 0 3 に記載の組成物。

[項 1 0 6]

組成物が、C D 4 + T 細胞および C D 8 + T 細胞を含み、C D 4 + T 細胞の C D 8 + T 細胞に対する比率は、約 1 : 3 ~ 約 3 : 1 である、項 1 0 4 に記載の組成物。 10

[項 1 0 7]

ミニ C A R を発現する複数の T 細胞を含む、項 1 0 2 から 1 0 5 のいずれか一項に記載の組成物。

[項 1 0 8]

約 1×10^6 、 1.5×10^6 、 2.5×10^6 、 5×10^6 、 7.5×10^6 、 1×10^7 、 1.5×10^7 、 2×10^7 、 2.5×10^7 、 5×10^7 、 7.5×10^7 、 1×10^8 、 1.5×10^8 、 2.5×10^8 、または 5×10^8 個の総 T 細胞を含む、項 1 0 2 から 1 0 6 のいずれか一項に記載の組成物。

[項 1 0 9]

約 1×10^5 、 2.5×10^5 、 5×10^5 、 6.5×10^5 、 1×10^6 、 1.5×10^6 、 2×10^6 、 2.5×10^6 、 5×10^6 、 7.5×10^6 、 1×10^7 、 1.5×10^7 、 5×10^7 、 7.5×10^7 、 1×10^8 または 2.5×10^8 個の、ミニ C A R を発現する T 細胞を含む、項 1 0 2 から 1 0 7 のいずれか一項に記載の組成物。 20

[項 1 1 0]

組成物中のミニ C A R を発現する T 細胞の出現率が、組成物中の総細胞の、または組成物中の総 C D 4 + T 細胞もしくは C D 8 + T 細胞の、または組成物中の内因性インバリアント C D 3 - I g S F 鎖遺伝子座内に遺伝学的破壊を含む総細胞の、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、もしくは 9 0 %、または約 2 5 %、約 3 0 %、約 3 5 %、約 4 0 %、約 4 5 %、約 5 0 %、約 5 5 %、約 6 0 %、約 6 5 %、約 7 0 %、約 7 5 %、約 8 0 %、もしくは約 9 0 % であるか、またはそれより高い、項 1 0 2 から 1 0 8 のいずれか一項に記載の組成物。 30

[項 1 1 1]

医薬組成物である、項 1 0 2 から 1 0 9 のいずれか一項に記載の組成物。

[項 1 1 2]

項 1 から 4 3 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞、項 9 8 に記載の操作された T 細胞を含む集団、項 9 9 から 1 0 1 のいずれか一項に記載の T 細胞、または項 1 0 2 から 1 1 0 のいずれか一項に記載の組成物を、疾患または障害を有する対象に投与することを含む処置の方法。

[項 1 1 3]

疾患または障害の処置のための、項 1 から 4 3 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞、項 9 8 に記載の操作された T 細胞を含む集団、項 9 9 から 1 0 1 のいずれか一項に記載の T 細胞、または項 1 0 2 から 1 1 0 のいずれか一項に記載の組成物の使用。 40

[項 1 1 4]

疾患または障害を処置するための医薬の製造における、項 1 から 4 3 のいずれか一項に記載の操作された T 細胞、項 9 8 に記載の操作された T 細胞を含む集団、項 9 9 から 1 0 1 のいずれか一項に記載の T 細胞、または項 1 0 2 から 1 1 0 のいずれか一項に記載の組成物の使用。

[項 1 1 5]

疾患または障害の処置における使用のための、項 1 から 4 3 のいずれか一項に記載の操 50

作されたT細胞、項98に記載の操作されたT細胞を含む集団、項99から101のいずれか一項に記載のT細胞、または項102から110のいずれか一項に記載の組成物。

[項116]

疾患または障害に関連する細胞または組織が、抗原結合ドメインによって認識される標的抗原を発現する、項110から114のいずれか一項に記載の方法、使用、使用のための操作されたT細胞、操作されたT細胞の集団、T細胞または組成物。

[項117]

疾患または障害が、がんまたは腫瘍である、項110から115のいずれか一項に記載の方法、使用、使用のための操作されたT細胞、操作されたT細胞の集団、T細胞または組成物。

[項118]

がんまたは腫瘍が、リンパ腫、白血病、または形質細胞悪性腫瘍である、項116に記載の方法、使用、使用のための操作されたT細胞、操作されたT細胞の集団、T細胞または組成物。

[項119]

がんが、リンパ腫であり、リンパ腫は、バーキットリンパ腫、非ホジキンリンパ腫（NHL）、ホジキンリンパ腫、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、濾胞性リンパ腫、小非切れ込み核細胞リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫（MALT）、辺縁帯リンパ腫、脾リンパ腫、節性単球様B細胞リンパ腫、免疫芽球性リンパ腫、大細胞型リンパ腫、びまん性混合細胞型リンパ腫、肺B細胞血管中心性リンパ腫、小リンパ球性リンパ腫、原発性縦隔B細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫（LPL）、またはマントル細胞リンパ腫（MCL）である、項116または117に記載の方法、使用、使用のための操作されたT細胞、操作されたT細胞の集団、T細胞または組成物。

[項120]

がんが、白血病であり、白血病は、慢性リンパ球性白血病（CLL）、形質細胞性白血病または急性リンパ性白血病（ALL）である、項117から118のいずれか一項に記載の方法、使用、使用のための操作されたT細胞、操作されたT細胞の集団、T細胞または組成物。

[項121]

がんが、形質細胞悪性腫瘍であり、形質細胞悪性腫瘍は、多発性骨髄腫（MM）である、項117から118のいずれか一項に記載の方法、使用、使用のための操作されたT細胞、操作されたT細胞の集団、T細胞または組成物。

[項122]

がんまたは腫瘍が、固形腫瘍であり、固形腫瘍は、非小細胞肺癌（NSCLC）または頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）であってもよい、項116に記載の方法、使用、使用のための操作されたT細胞、操作されたT細胞の集団、T細胞または組成物。

[項123]

T細胞の内因性インバリエントCD3-IgSF鎖遺伝子座内の標的部位に遺伝学的破壊を誘導することが可能な1つまたは複数の薬剤；および

項44から70のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含むキット。

[項124]

T細胞の内因性インバリエントCD3-IgSF鎖遺伝子座内の標的部位に遺伝学的破壊を誘導することが可能な1つまたは複数の薬剤；および

相同組換え修復（HDR）を介した標的部位またはその近くでの統合のために標的化されている、項44から70のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド；および

項71から96のいずれか一項に記載の方法を行うための使用説明書を含むキット。

[項125]

内因性インバリエントCD3-IgSF鎖遺伝子座が、CD3e鎖をコードするCD3

10

20

30

40

50

E 遺伝子座、CD3d鎖をコードするCD3D遺伝子座、またはCD3g鎖をコードするCD3G遺伝子座である、項122または123に記載のキット。

[項126]

遺伝学的破壊を誘導することが可能な1つまたは複数の薬剤が、標的部位に特異的に結合するかまたはそれにハイブリダイズするDNA結合タンパク質もしくはDNA結合核酸、DNA標的化タンパク質およびヌクレアーゼを含む融合タンパク質、またはRNAガイドヌクレアーゼを含み、1つまたは複数の薬剤は、標的部位に特異的に結合する、それを認識する、またはそれとハイブリダイズする、ジンクフィンガーヌクレアーゼ(ZFN)、TAL-エフェクターヌクレアーゼ(TALEN)、または/およびCRISPR-Cas9の組合せを含んでもよい、項122から124のいずれか一項に記載のキット。

10

[項127]

1つまたは複数の薬剤のそれぞれが、少なくとも1つの標的部位に相補的な標的化ドメインを有するガイドRNA(gRNA)を含む、項122から125のいずれか一項に記載のキット。

[項128]

gRNAが、標的化ドメイン配列UUGACAUGCCUCAGUAUCC(配列番号8)を有する、項126に記載のキット。

20

30

40

50