

【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30年10月25日(2018.10.25)

【公表番号】特表2017-529841(P2017-529841A)

【公表日】平成29年10月12日(2017.10.12)

【年通号数】公開・登録公報2017-039

【出願番号】特願2017-515087(P2017-515087)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
A 0 1 K	67/027	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 P	21/08	(2006.01)
C 0 7 K	16/28	(2006.01)
C 0 7 K	19/00	(2006.01)
C 0 7 K	14/74	(2006.01)
C 1 2 N	5/073	(2010.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
C 1 2 N	5/0783	(2010.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	A
A 0 1 K	67/027	Z N A
C 1 2 N	5/10	
C 1 2 P	21/08	
C 0 7 K	16/28	
C 0 7 K	19/00	
C 0 7 K	14/74	
C 1 2 N	5/073	
A 6 1 K	39/395	D
C 1 2 N	5/0783	

【手続補正書】

【提出日】平成30年9月14日(2018.9.14)

【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】

生殖細胞系にキメラ抗原受容体(CAR)遺伝子座を含む遺伝子改変げっ歯類であって、前記CAR遺伝子座が、

再構成されていない免疫グロブリン(Ig)可変領域遺伝子セグメントを含む再構成されていない可変領域遺伝子座と、

T細胞受容体(TCR)定常領域を含む定常領域遺伝子座と、を含み、

前記遺伝子改変げっ歯類が、前記再構成されていないIg可変領域遺伝子セグメント由来の再構成されたIg可変領域遺伝子によりコードされるIg可変ドメインと、前記TCR定常領域遺伝子によりコードされるTCR定常ドメインと、を含むCARポリペプチドを発現するように、前記再構成されていないヒトIg可変領域遺伝子セグメントが前記TCR定常領域遺伝子に操作可能に結合される、遺伝子改変げっ歯類。

**【請求項 2】**

前記再構成されていない  $I_g$  可変領域遺伝子セグメントがヒトである、請求項 1 に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 3】**

前記  $T\ C\ R$  定常領域遺伝子がマウス  $T\ C\ R$  定常領域遺伝子又はラット  $T\ C\ R$  定常領域遺伝子である、請求項 1 又は請求項 2 に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 4】**

前記再構成されていない  $I_g$  可変領域遺伝子セグメントがヒト  $I_g$  重鎖 ( $I_gH$ ) 可変領域遺伝子セグメントである、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 5】**

前記再構成されていない  $I_g$  可変領域遺伝子セグメントがヒト  $I_g$  軽鎖 ( $I_gL$ ) 可変領域遺伝子セグメントである、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 6】**

前記  $I_gL$  可変領域遺伝子セグメントがヒト 遺伝子セグメントである、請求項 5 に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 7】**

前記  $I_gL$  可変領域遺伝子セグメントが 遺伝子セグメントである、請求項 5 に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 8】**

前記  $T\ C\ R$  定常領域遺伝子が  $T\ C\ R$  定常領域遺伝子である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 9】**

前記遺伝子改变 げっ歯類が機能的  $T\ C\ R$  鎖を発現しない、請求項 8 に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 10】**

前記  $C\ A\ R$  遺伝子座が内在性  $T\ C\ R$  遺伝子座に位置する、請求項 8 に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 11】**

前記再構成されていない  $I_g$  可変領域遺伝子セグメントが内在性  $T\ C\ R$  可変領域遺伝子セグメントを置換する、請求項 8 に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 12】**

前記  $T\ C\ R$  定常領域遺伝子が内在性  $T\ C\ R$  定常領域遺伝子である、請求項 10 に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 13】**

前記  $T\ C\ R$  定常領域遺伝子が  $T\ C\ R$  定常領域遺伝子である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 14】**

前記遺伝子改变 げっ歯類が機能的  $T\ C\ R$  鎖を発現しない、請求項 13 に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 15】**

前記  $C\ A\ R$  遺伝子座が内在性  $T\ C\ R$  遺伝子座に位置する、請求項 13 に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 16】**

前記再構成されていない  $I_g$  可変領域遺伝子セグメントが内在性  $T\ C\ R$  可変領域遺伝子セグメントを置換する、請求項 15 に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 17】**

前記  $T\ C\ R$  定常領域遺伝子が内在性  $T\ C\ R$  定常領域遺伝子である、請求項 15 に記載の遺伝子改变 げっ歯類。

**【請求項 18】**

生殖細胞系に第1のCAR遺伝子座と、第2のCAR遺伝子座と、を含む、遺伝子改変げっ歯類であって、

前記第1のCAR遺伝子座が、再構成されていない免疫グロブリン(Ig)V<sub>H</sub>、D<sub>H</sub>、及びJ<sub>H</sub>遺伝子セグメントを含む第1の再構成されていない可変領域遺伝子座と、T細胞受容体(TCR)定常領域遺伝子を含む第1の定常領域遺伝子座と、を含み、前記再構成されていないIgV<sub>H</sub>、D<sub>H</sub>、及びJ<sub>H</sub>遺伝子セグメントが、前記遺伝子改変げっ歯類が、前記再構成されていないIgV<sub>H</sub>、D<sub>H</sub>、及びJ<sub>H</sub>遺伝子セグメント由来の再構成された重鎖可変領域遺伝子によってコードされるIg重鎖可変ドメインと、前記TCR定常領域遺伝子によってコードされるTCR定常ドメインと、を含む第1のCARポリペプチド鎖を発現するように、前記TCR定常領域遺伝子に操作可能に結合され、

前記第2のCAR遺伝子座が、再構成されていないIgV及びJ遺伝子セグメントを含む、第2の再構成されていない可変領域遺伝子座と、T細胞受容体(TCR)定常領域遺伝子を含む第2の定常領域遺伝子座と、を含み、前記再構成されていないIgV及びJ遺伝子セグメントが、前記遺伝子改変げっ歯類が、前記再構成されていないIgV及びJ遺伝子セグメント由来の再構成されたIg可変領域遺伝子によってコードされるIg可変ドメインと、前記TCR定常領域遺伝子によってコードされるTCR定常ドメインと、を含む第2のCARポリペプチド鎖を発現するように、前記TCR定常領域遺伝子に操作可能に結合され、

前記遺伝子改変げっ歯類が、前記第1のCARポリペプチド鎖と、前記第2のCARポリペプチド鎖と、を含むCARを発現する、遺伝子改変げっ歯類。

**【請求項 19】**

前記IgV<sub>H</sub>、D<sub>H</sub>、及びJ<sub>H</sub>遺伝子セグメント、並びに/又は前記IgV及びJ遺伝子セグメントがヒトである、請求項18に記載の遺伝子改変げっ歯類。

**【請求項 20】**

前記TCR定常領域遺伝子及び/又は前記TCR定常領域遺伝子が内在性種起源である、請求項18又は19に記載の遺伝子改変げっ歯類。

**【請求項 21】**

前記TCR定常領域遺伝子及び/又は前記TCR定常領域遺伝子がマウス遺伝子又はラット遺伝子である、請求項18又は19に記載の遺伝子改変げっ歯類。

**【請求項 22】**

前記遺伝子改変げっ歯類が機能的TCR鎖及び/又は機能的TCR鎖を発現しない、請求項18~21のいずれか一項に記載の遺伝子改変げっ歯類。

**【請求項 23】**

前記第2のCAR遺伝子座が内在性TCR遺伝子座に位置する、請求項18~22のいずれか一項に記載の遺伝子改変げっ歯類。

**【請求項 24】**

前記再構成されていないIgV及びJ遺伝子セグメントが内在性TCR可変領域遺伝子セグメントを置換する、請求項23に記載の遺伝子改変げっ歯類。

**【請求項 25】**

前記TCR定常領域遺伝子が内在性TCR定常領域遺伝子である、請求項23又は24に記載の遺伝子改変げっ歯類。

**【請求項 26】**

前記第1のCAR遺伝子座が内在性TCR遺伝子座に位置する、請求項18~25のいずれか一項に記載の遺伝子改変げっ歯類。

**【請求項 27】**

前記再構成されていないIgV<sub>H</sub>、D<sub>H</sub>、及びJ<sub>H</sub>遺伝子セグメントが内在性TCR可変領域遺伝子セグメントを置換する、請求項26に記載の遺伝子改変げっ歯類。

**【請求項 28】**

前記 T C R 定常領域遺伝子が内在性 T C R 定常領域遺伝子である、請求項 2 6 又は 2 7 に記載の遺伝子改変 げっ歯類。

【請求項 2 9】

前記遺伝子改変 げっ歯類 が、ヒト細胞外ドメインと、内在性種起源の細胞質ドメインと、を含む 1 種又は 2 種以上のキメラ M H C クラス I 鎖ポリペプチドを発現する、請求項 1 ~ 2 8 のいずれか一項に記載の遺伝子改変 げっ歯類。

【請求項 3 0】

前記 1 種又は 2 種以上のキメラクラス I 鎖ポリペプチドが、 H L A - A 、 H L A - B 、 H L A - C 、 H L A - E 、 H L A - F 、 H L A - g 、 H L A - K 、及び H L A - L からなる群から選択される ヒト M H C クラス I I 鎖ポリペプチド のヒト細胞外ドメインを含む、請求項 2 9 に記載の遺伝子改変 げっ歯類。

【請求項 3 1】

前記遺伝子改変 げっ歯類 がヒト - 2 - ミクログロブリンポリペプチドを発現する、請求項 1 ~ 3 0 のいずれか一項に記載の遺伝子改変 げっ歯類。

【請求項 3 2】

前記遺伝子改変 げっ歯類 が、ヒト細胞外ドメインと、内在性種起源の細胞質ドメインと、を含む、1 種若しくは 2 種以上のキメラ M H C クラス I I 鎖ポリペプチド、並びに / 又はヒト細胞外ドメインと、内在性種起源の細胞質ドメインと、を含む、1 種若しくは 2 種以上のキメラ M H C クラス I I 鎖ポリペプチドを発現する、請求項 1 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の遺伝子改変 げっ歯類。

【請求項 3 3】

前記 1 種又は 2 種以上のキメラ M H C クラス I I 鎖ポリペプチドが、 H L A - D M A 、 H L A - D O A 、 H L A - D P A 、 H L A - D Q A 、及び H L A - D R A 鎖ポリペプチドからなる群から選択される ヒト M H C クラス I I 鎖ポリペプチド のヒト細胞外ドメインを含み、並びに / 又は前記 1 種又は 2 種以上のキメラ M H C クラス I I 鎖ポリペプチドが、 H L A - D M B 、 H L A - D O B 、 H L A - D P B 、 H L A - D Q B 、及び H L A - D R B 鎖ポリペプチドからなる群から選択される ヒト M H C クラス I I 鎖ポリペプチド のヒト細胞外ドメインを含む、請求項 3 2 に記載の遺伝子改変 げっ歯類。

【請求項 3 4】

前記遺伝子改変 げっ歯類 が、ヒト細胞外免疫グロブリンドメインと、内在性種起源の細胞質ドメインと、を含むキメラ C D 8 鎖ポリペプチド、及び / 又はヒト細胞外免疫グロブリンドメインと、内在性種起源の細胞質ドメインと、を含むキメラ C D 8 鎖ポリペプチドを発現する、請求項 1 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の遺伝子改変 げっ歯類。

【請求項 3 5】

前記遺伝子改変 げっ歯類 が、ヒト D 1 免疫グロブリンドメイン、ヒト D 2 免疫グロブリンドメイン、ヒト D 3 免疫グロブリンドメイン、D 4 免疫グロブリンドメイン、及び内在性種起源の細胞質ドメインを含むキメラ C D 4 ポリペプチドを発現する、請求項 1 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の遺伝子改変 げっ歯類。

【請求項 3 6】

前記 げっ歯類 がマウスである。請求項 1 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の遺伝子改変 げっ歯類。

【請求項 3 7】

ゲノム中にキメラ抗原受容体 ( C A R ) 遺伝子座を含む げっ歯類 胚性幹 ( E S ) 細胞であって、前記 C A R 遺伝子座が、

再構成されていない免疫グロブリン ( I g ) 可変領域遺伝子セグメントを含む再構成されていない可変領域遺伝子座と、

T 細胞受容体 ( T C R ) 定常領域遺伝子を含む定常領域遺伝子座と、を含み、

前記再構成されていない I g 可変領域遺伝子セグメントが前記 T C R 定常領域遺伝子に操作可能に結合される、げっ歯類 E S 細胞。

**【請求項 3 8】**

前記再構成されていない  $Ig$  可変領域遺伝子セグメントがヒトである、請求項 3 7 に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 3 9】**

前記  $TCR$  定常領域遺伝子が内在性種起源である、請求項 3 7 又は 3 8 に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 4 0】**

前記  $TCR$  定常領域遺伝子がマウス定常領域遺伝子又はラット定常領域遺伝子である、請求項 3 7 又は 3 8 に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 4 1】**

前記再構成されていない  $Ig$  可変領域遺伝子セグメントがヒト  $Ig$  重鎖 ( $IgH$ ) 可変領域遺伝子セグメントである、請求項 3 7 ~ 4 0 のいずれか一項に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 4 2】**

前記再構成されていない  $Ig$  可変領域遺伝子セグメントがヒト  $Ig$  軽鎖 ( $IgL$ ) 可変領域遺伝子セグメントである、請求項 3 7 ~ 4 0 のいずれか一項に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 4 3】**

前記  $IgL$  可変領域遺伝子セグメントがヒト 遺伝子セグメントである、請求項 4 2 に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 4 4】**

前記  $IgL$  可変領域遺伝子セグメントが 遺伝子セグメントである、請求項 4 2 に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 4 5】**

前記  $TCR$  定常領域遺伝子が  $TCR$  定常領域遺伝子である、請求項 3 7 ~ 4 4 のいずれか一項に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 4 6】**

前記  $CAR$  遺伝子座が内在性  $TCR$  遺伝子座に位置する、請求項 4 5 に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 4 7】**

前記再構成されていないヒト  $Ig$  可変領域遺伝子セグメントが内在性  $TCR$  可変領域遺伝子セグメントを置換する、請求項 4 6 に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 4 8】**

前記  $TCR$  定常領域遺伝子が内在性  $TCR$  定常領域遺伝子である、請求項 4 6 又は 4 7 に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 4 9】**

前記  $TCR$  定常領域遺伝子が  $TCR$  定常領域遺伝子である、請求項 4 0 ~ 4 4 のいずれか一項に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 5 0】**

前記  $CAR$  遺伝子座が内在性  $TCR$  遺伝子座に位置する、請求項 4 9 に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 5 1】**

前記再構成されていないヒト  $Ig$  可変領域遺伝子セグメントが内在性  $TCR$  可変領域遺伝子セグメントを置換する、請求項 5 0 に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 5 2】**

前記  $TCR$  定常領域遺伝子が内在性  $TCR$  定常領域遺伝子である、請求項 5 0 又は 5 1 に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 5 3】**

前記 げっ歯類 ES 細胞 がマウス ES 細胞 である、請求項 3 7 ~ 5 2 のいずれか一項に記載の げっ歯類 ES 細胞。

**【請求項 5 4】**

遺伝子改変げっ歯類を作製する方法であって、請求項3 7 ~ 5 3のいずれか一項に記載のげっ歯類 E S 細胞を使用することを含む方法。

**【請求項 5 5】**

請求項3 7 ~ 5 3のいずれか一項に記載のげっ歯類 E S 細胞を含むげっ歯類胚。

**【請求項 5 6】**

キメラ抗原受容体 ( C A R ) 遺伝子座であって、

再構成されていない免疫グロブリン ( I g ) 可変領域遺伝子セグメントを含む再構成されていない可変領域遺伝子座と、

T 細胞受容体 ( T C R ) 定常領域を含む定常領域遺伝子座と、を含み、

前記再構成されていない I g 可変領域遺伝子セグメントが前記 T C R 定常領域遺伝子に操作可能に結合される、 C A R 遺伝子座。

**【請求項 5 7】**

前記 I g 可変領域遺伝子セグメントがヒトである、請求項5 6に記載の C A R 遺伝子座。

**【請求項 5 8】**

前記 T C R 定常領域遺伝子がげっ歯類 T C R 定常領域遺伝子である、請求項5 6又は請求項5 7に記載の C A R 遺伝子座。

**【請求項 5 9】**

前記げっ歯類 T C R 定常領域がマウス T C R 定常領域である、請求項5 8に記載の C A R 遺伝子座。

**【請求項 6 0】**

再構成されていない免疫グロブリン ( I g ) V<sub>H</sub> 、 D<sub>H</sub> 、及び J<sub>H</sub> 遺伝子セグメントを含む再構成されていない可変領域遺伝子座と、 T 細胞受容体 ( T C R ) 定常領域遺伝子を含む定常領域遺伝子座と、を含む C A R 遺伝子座であって、前記再構成されていない I g V<sub>H</sub> 、 D<sub>H</sub> 、及び J<sub>H</sub> 遺伝子セグメントが前記 T C R 定常領域遺伝子に操作可能に結合される、 C A R 遺伝子座。

**【請求項 6 1】**

前記 I g V<sub>H</sub> 、 D<sub>H</sub> 、及び J<sub>H</sub> 遺伝子セグメントがヒトである、請求項6 0に記載の C A R 遺伝子座。

**【請求項 6 2】**

前記 T C R 定常領域遺伝子がマウス T C R 定常領域遺伝子である、請求項6 0又は6 1に記載の C A R 遺伝子座。

**【請求項 6 3】**

再構成されていない I g V 、及び J 遺伝子セグメントを含む再構成されていない可変領域遺伝子座と、 T 細胞受容体 ( T C R ) 定常領域遺伝子を含む定常領域遺伝子座と、を含む C A R 遺伝子座であって、前記再構成されていないヒト I g V 、及び J 遺伝子セグメントが前記 T C R 定常領域遺伝子に操作可能に結合される、 C A R 遺伝子座。

**【請求項 6 4】**

前記 I g V 、及び J 遺伝子セグメントがヒトである、請求項6 3に記載の C A R 遺伝子座。

**【請求項 6 5】**

前記 T C R 定常領域遺伝子がマウス T C R 定常領域遺伝子である、請求項6 3又は6 4に記載の C A R 遺伝子座。

**【請求項 6 6】**

I g 重鎖可変ドメイン及び T C R 定常ドメインを含む第 1 のキメラ抗原受容体 ( C A R ) ポリペプチドと、 I g 軽鎖可変ドメイン及び T C R 定常ドメインを含む第 2 の C A R ポリペプチドと、を含む C A R であって、ペプチド / M H C 複合体に対する結合特異性を有する C A R 。

**【請求項 6 7】**

前記 Ig 軽鎖可変ドメインが Ig 可変ドメインである、請求項 6 6 に記載の CAR。

**【請求項 6 8】**

前記 Ig 軽鎖可変ドメインが Ig 可変ドメインである、請求項 6 6 に記載の CAR。

**【請求項 6 9】**

前記 Ig 重鎖可変ドメイン及び前記 Ig 軽鎖可変ドメインがヒト Ig 可変ドメインである、請求項 6 6 ~ 6 8 のいずれか一項に記載の CAR。

**【請求項 7 0】**

Ig 重鎖可変ドメイン及び TCR 定常ドメインを含む第 1 のキメラ抗原受容体 (CAR) ポリペプチドと、Ig 軽鎖可変ドメイン及び TCR 定常ドメインを含む第 2 の CAR ポリペプチドと、を含む CAR であって、ペプチド / MHC 複合体に対する結合特異性を有する CAR。

**【請求項 7 1】**

前記 Ig 軽鎖可変ドメインが Ig 可変ドメインである、請求項 7 0 に記載の CAR。

**【請求項 7 2】**

前記 Ig 軽鎖可変ドメインが Ig 可変ドメインである、請求項 7 0 に記載の CAR。

**【請求項 7 3】**

前記 Ig 重鎖可変ドメイン及び前記 Ig 軽鎖可変ドメインがヒト Ig 可変ドメインである、請求項 7 0 ~ 7 2 のいずれか一項に記載の CAR。

**【請求項 7 4】**

Ig 重鎖可変ドメイン及び TCR 定常ドメインを含む第 1 の CAR ポリペプチドをコードする第 1 の核酸配列と、Ig 軽鎖可変ドメイン及び TCR 定常ドメインを含む第 2 の CAR ポリペプチドをコードする第 2 の核酸配列と、を含む、核酸組成物であって、CAR が前記第 1 の CAR ポリペプチドを含み、前記第 2 の CAR ポリペプチドがペプチド / MHC 複合体に対する結合特異性を有する、核酸組成物。

**【手続補正 2】**

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0062

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0062】

特定の態様において、本明細書では、本明細書に記載の CAR を発現する T 細胞を被験者に投与することを含む、被験者の疾患又は障害を治療する方法を提供する。いくつかの実施形態では、この疾患又は障害は癌であり、この CAR は、癌抗原を提示した MHC に対する結合特異性を有する。いくつかの実施形態では、この疾患又は障害は感染症であり、この CAR は、病原体抗原（例えば、ウイルス抗原、細菌抗原、又は寄生虫抗原）に対する結合特異性を有する。いくつかの実施形態では、この疾患又は障害は、自己免疫疾患、及び / 又は炎症性疾患であり、この CAR は自己免疫の自己抗原に特異的であり、調節性 T 細胞によって発現される。いくつかの実施形態では、この T 細胞は、CD4<sup>+</sup> T 細胞である。いくつかの実施形態では、この T 細胞は、CD8<sup>+</sup> T 細胞である。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

(項目 1)

生殖細胞系にキメラ抗原受容体 (CAR) 遺伝子座を含む遺伝子改変非ヒト動物であって、前記 CAR 遺伝子座が、

再構成されていない免疫グロブリン (Ig) 可変領域遺伝子セグメントを含む再構成さ

れていない可変領域遺伝子座と、

T細胞受容体（TCR）定常領域を含む定常領域遺伝子座と、を含み、

前記遺伝子改変非ヒト動物が、前記再構成されていない Ig 可変領域遺伝子セグメント由来の再構成された Ig 可変領域遺伝子によりコードされる Ig 可変ドメインと、前記 TCR 定常領域遺伝子によりコードされる TCR 定常ドメインと、を含む CAR ポリペプチドを発現するように、前記再構成されていないヒト Ig 可変領域遺伝子セグメントが前記 TCR 定常領域遺伝子に操作可能に結合される、遺伝子改変非ヒト動物。

（項目 2）

前記再構成されていない Ig 可変領域遺伝子セグメントがヒトである、項目 1 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

（項目 3）

前記 TCR 定常領域遺伝子が内在性種起源である、項目 1 又は項目 2 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

（項目 4）

前記 TCR 定常領域遺伝子がマウス TCR 定常領域遺伝子又はラット TCR 定常領域遺伝子である、項目 1 又は項目 2 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

（項目 5）

前記再構成されていない Ig 可変領域遺伝子セグメントがヒト Ig 重鎖（IgH）可変領域遺伝子セグメントである、項目 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

（項目 6）

前記再構成されていない Ig 可変領域遺伝子セグメントがヒト Ig 軽鎖（IgL）可変領域遺伝子セグメントである、項目 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

（項目 7）

前記 IgL 可変領域遺伝子セグメントがヒト 遺伝子セグメントである、項目 6 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

（項目 8）

前記 IgL 可変領域遺伝子セグメントが 遺伝子セグメントである、項目 6 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

（項目 9）

前記 TCR 定常領域遺伝子が TCR 定常領域遺伝子である、項目 1 ~ 8 いずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

（項目 10）

前記遺伝子改変非ヒト動物が機能的 TCR 鎖を発現しない、項目 9 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

（項目 11）

前記 CAR 遺伝子座が内在性 TCR 遺伝子座に位置する、項目 9 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

（項目 12）

前記再構成されていないヒト Ig 可変領域遺伝子セグメントが内在性 TCR 可変領域遺伝子セグメントを置換する、項目 9 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

（項目 13）

前記 TCR 定常領域遺伝子が内在性 TCR 定常領域遺伝子である、項目 11 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

（項目 14）

前記 TCR 定常領域遺伝子が TCR 定常領域遺伝子である、項目 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

（項目 15）

前記遺伝子改変非ヒト動物が機能的 TCR 鎖を発現しない、項目 14 に記載の遺伝子

改变非ヒト動物。

(項目16)

前記CAR遺伝子座が内在性TCR遺伝子座に位置する、項目14に記載の遺伝子改变非ヒト動物。

(項目17)

前記再構成されていないヒトIg可変領域遺伝子セグメントが内在性TCR可変領域遺伝子セグメントを置換する、項目16に記載の遺伝子改变非ヒト動物。

(項目18)

前記TCR定常領域遺伝子が内在性TCR定常領域遺伝子である、項目16に記載の遺伝子改变非ヒト動物。

(項目19)

生殖細胞系に第1のCAR遺伝子座と、第2のCAR遺伝子座と、を含む、遺伝子改变非ヒト動物であって、

前記第1のCAR遺伝子座が、再構成されていない免疫グロブリン(Ig)V<sub>H</sub>、D<sub>H</sub>、及びJ<sub>H</sub>遺伝子セグメントを含む第1の再構成されていない可変領域遺伝子座と、T細胞受容体(TCR)定常領域遺伝子を含む第1の定常領域遺伝子座と、を含み、前記再構成されていないIgV<sub>H</sub>、D<sub>H</sub>、及びJ<sub>H</sub>遺伝子セグメントが、前記遺伝子改变非ヒト動物が、前記再構成されていないIgV<sub>H</sub>、D<sub>H</sub>、及びJ<sub>H</sub>遺伝子セグメント由来の再構成された重鎖可変領域遺伝子によってコードされるIg重鎖可変ドメインと、前記TCR定常領域遺伝子によってコードされるTCR定常ドメインと、を含む第1のCARポリペプチド鎖を発現するように、前記TCR定常領域遺伝子に操作可能に結合され、

前記第2のCAR遺伝子座が、再構成されていないIgV及びJ遺伝子セグメントを含む、第2の再構成されていない可変領域遺伝子座と、T細胞受容体(TCR)定常領域遺伝子を含む第2の定常領域遺伝子座と、を含み、前記再構成されていないIgV及びJ遺伝子セグメントが、前記遺伝子改变非ヒト動物が、前記再構成されていないIgV及びJ遺伝子セグメント由来の再構成されたIg可変領域遺伝子によってコードされるIg可変ドメインと、前記TCR定常領域遺伝子によってコードされるTCR定常ドメインと、を含む第2のCARポリペプチド鎖を発現するように、前記TCR定常領域遺伝子に操作可能に結合され、

前記遺伝子改变非ヒト動物が、前記第1のCARポリペプチド鎖と、前記第2のCARポリペプチド鎖と、を含むCARを発現する、遺伝子改变非ヒト動物。

(項目20)

前記IgV<sub>H</sub>、D<sub>H</sub>、及びJ<sub>H</sub>遺伝子セグメント、並びに/又は前記IgV及びJ遺伝子セグメントがヒトである、項目19に記載の遺伝子改变非ヒト動物。

(項目21)

前記TCR定常領域遺伝子及び/又は前記TCR定常領域遺伝子が内在性種起源である、項目19又は20に記載の遺伝子改变非ヒト動物。

(項目22)

前記TCR定常領域遺伝子及び/又は前記TCR定常領域遺伝子がマウス遺伝子又はラット遺伝子である、項目19又は20に記載の遺伝子改变非ヒト動物。

(項目23)

前記遺伝子改变非ヒト動物が機能的TCR鎖及び/又は機能的TCR鎖を発現しない、項目19~22のいずれか一項に記載の遺伝子改变非ヒト動物。

(項目24)

前記第2のCAR遺伝子座が内在性TCR遺伝子座に位置する、項目19~23のいずれか一項に記載の遺伝子改变非ヒト動物。

(項目25)

前記再構成されていないIgV及びJ遺伝子セグメントが内在性TCR可変領域遺伝子セグメントを置換する、項目24に記載の遺伝子改变非ヒト動物。

(項目26)

前記T C R 定常領域遺伝子が内在性T C R 定常領域遺伝子である、項目24又は25に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目27)

前記第1のC A R 遺伝子座が内在性T C R 遺伝子座に位置する、項目19～26のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目28)

前記再構成されていないIg V<sub>H</sub>、D<sub>H</sub>、及びJ<sub>H</sub>遺伝子セグメントが内在性T C R 可変領域遺伝子セグメントを置換する、項目27のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目29)

前記T C R 定常領域遺伝子が内在性T C R 定常領域遺伝子である、項目27又は28に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目30)

前記遺伝子改変非ヒト動物が、ヒト細胞外ドメインと、内在性種起源の細胞質ドメインと、を含む1種又は2種以上のキメラM H C クラスI 鎖ポリペプチドを発現する、項目1～29のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目31)

前記1種又は2種以上のキメラクラスI 鎖ポリペプチドが、H L A - A、H L A - B、H L A - C、H L A - E、H L A - F、H L A - g、H L A - K、及びH L A - L からなる群から選択される、項目30に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目32)

前記遺伝子改変非ヒト動物がヒト - 2 - ミクログロブリンポリペプチドを発現する、項目1～31のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目33)

前記遺伝子改変非ヒト動物が、ヒト細胞外ドメインと、内在性種起源の細胞質ドメインと、を含む、1種若しくは2種以上のキメラM H C クラスI I 鎖ポリペプチド、並びに/又はヒト細胞外ドメインと、内在性種起源の細胞質ドメインと、を含む、1種若しくは2種以上のキメラM H C クラスI I 鎖ポリペプチドを発現する、項目1～32のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目34)

前記1種又は2種以上のキメラM H C クラスI I 鎖ポリペプチドが、H L A - D M A、H L A - D O A、H L A - D P A、H L A - D Q A、及びH L A - D R A からなる群から選択され、並びに/又は前記1種又は2種以上のキメラM H C クラスI I 鎖ポリペプチドが、H L A - D M B、H L A - D O B、H L A - D P B、H L A - D Q B、及びH L A - D R B からなる群から選択される、項目33に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目35)

前記遺伝子改変非ヒト動物が、ヒト細胞外免疫グロブリンドメインと、内在性種起源の細胞質ドメインと、を含むキメラC D 8 鎖ポリペプチド、及び/又はヒト細胞外免疫グロブリンドメインと、内在性種起源の細胞質ドメインと、を含むキメラC D 8 鎖ポリペプチドを発現する、項目1～34のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目36)

前記遺伝子改変非ヒト動物が、ヒトD 1 免疫グロブリンドメイン、ヒトD 2 免疫グロブリンドメイン、ヒトD 3 免疫グロブリンドメイン、D 4 免疫グロブリンドメイン、及び内在性種起源の細胞質ドメインを含むキメラC D 4 ポリペプチドを発現する、項目1～35のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目37)

前記C A R が、ペプチド/M H C 複合体に対する結合特異性を有する、項目1～36のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目38)

前記 C A R が、前記遺伝子改变非ヒト動物の T 細胞で発現する、項目 1 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の遺伝子改变非ヒト動物。

(項目 3 9)

前記 T 細胞が、前記遺伝子改变非ヒト動物の胸腺内でポジティブ選択及びネガティブ選択を受ける、項目 3 8 に記載の遺伝子改变非ヒト動物。

(項目 4 0)

前記遺伝子改变非ヒト動物がげっ歯類である、項目 1 ~ 3 9 のいずれか一項に記載の遺伝子改变非ヒト動物。

(項目 4 1)

前記げっ歯類がマウスである。項目 4 0 に記載の遺伝子改变非ヒト動物。

(項目 4 2)

M H C 上に提示されるペプチドに対して特異的な C A R を発現する T 細胞を作製する方法であって、

(a) 項目 1 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の遺伝子改变非ヒト動物を、ペプチドが前記非ヒト動物内の M H C 上に提示されるように、前記ペプチドを含む抗原又は前記ペプチドを含む抗原をコードする核酸に曝露することと、

(b) 前記 M H C 上に提示される前記ペプチドに対して特異的な C A R を発現する T 細胞を、(a) の遺伝子改变非ヒト動物から得ることと、を含む、方法。

(項目 4 3)

項目 4 2 に記載の方法に従って作製された T 細胞。

(項目 4 4)

M H C 上に提示されるペプチドに対して特異的な C A R を発現する T 細胞ハイブリドーマを作製する方法であって、

(a) 項目 1 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の遺伝子改变非ヒト動物を、ペプチドが前記非ヒト動物内の M H C 上に提示されるように、前記ペプチドを含む抗原又は前記ペプチドを含む抗原をコードする核酸に曝露することと、

(b) 前記 M H C 上に提示される前記ペプチドに対して特異的な C A R を発現する T 細胞を、(a) の遺伝子改变非ヒト動物から得ることと、

(c) 工程 (b) の T 細胞から T 細胞ハイブリドーマを作製することと、を含む、方法。

。

(項目 4 5)

項目 4 4 に記載の方法に従って作製された T 細胞ハイブリドーマ。

(項目 4 6)

M H C 上に提示されるペプチドに対して特異的な I g 可変ドメインをコードする核酸を作製する方法であって、

(a) 項目 1 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の非ヒト動物を、ペプチドが前記非ヒト動物内の M H C 上に提示されるように、前記ペプチドを含む抗原又は前記ペプチドを含む抗原をコードする核酸に曝露することと、

(b) 前記 M H C 上に提示される前記ペプチドに対して特異的な C A R を発現する T 細胞を、(a) の遺伝子改变非ヒト動物から得ることと、

(c) 前記 C A R の I g 可変ドメインをコードする核酸を前記 T 細胞から単離することと、を含む、方法。

(項目 4 7)

項目 4 6 に記載の方法に従って作製された M H C 上に提示されるペプチドに対して特異的な I g 可変ドメインをコードする核酸。

(項目 4 8)

M H C 上に提示されるペプチドに対して特異的な抗体を作製する方法であって、

(a) 項目 1 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の非ヒト動物を、ペプチドが前記非ヒト動物内の M H C 上に提示されるように、前記ペプチドを含む抗原又は前記ペプチドを含む抗原をコードする核酸に曝露することと、

(b) 前記MHC上に提示される前記ペプチドに対して特異的なCARを発現するT細胞を、(a)の遺伝子改変非ヒト動物から得ることと、

(c) 前記CARのIg可変ドメインをコードする核酸を前記T細胞から単離することと、

(d) 前記Ig可変ドメインをコードする前記核酸を、宿主細胞内のIg定常ドメインと操作可能に結合することと、

(e) 前記宿主細胞が、前記Ig可変ドメイン及び前記Ig定常ドメインを含む抗体を発現する条件下で前記宿主細胞を培養することと、を含む、方法。

(項目49)

前記Ig定常ドメインがヒトIg定常ドメインである、項目48に記載の方法。

(項目50)

項目48又は49の方法に従って作製された、MHC上に提示されるペプチドに対して特異的な抗体。

(項目51)

ヒトIg可変ドメイン及びヒトTCR定常ドメインを含むCARを発現するヒト細胞を作製する方法であって、

(a) 項目1～41のいずれか一項に記載の非ヒト動物を、ペプチドが前記非ヒト動物内のMHC上に提示されるように、前記ペプチドを含む抗原又は前記ペプチドを含む抗原をコードする核酸に曝露することと、

(b) 前記MHC上に提示される前記ペプチドに対して特異的なCARを発現する非ヒト動物T細胞を、(a)の遺伝子改変非ヒト動物から得ることと、

(c) 前記CARのIg可変ドメインをコードする核酸を前記非ヒト動物T細胞から単離することと、

(d) 前記ヒト細胞が前記Ig可変ドメイン及び前記ヒトTCR定常ドメインを含むCARを発現するように、前記Ig可変ドメインをコードする核酸を、ヒト細胞内のヒトTCR定常ドメインをコードする核酸と操作可能に結合することと、を含む、方法。

(項目52)

前記ヒト細胞がヒトT細胞である、項目51に記載の方法。

(項目53)

前記ヒトT細胞がex-vivoで単離されたヒトT細胞である、項目52に記載の方法。

(項目54)

項目51～53のいずれか一項に記載の方法に従って作製された、ヒトIg可変ドメイン及びヒトTCR定常ドメインを含むCARを発現するヒト細胞。

(項目55)

項目1～41のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物から得られる、又は得ることができる、CARを発現する細胞。

(項目56)

前記細胞がT細胞である、項目55に記載の細胞。

(項目57)

前記細胞がT細胞ハイブリドーマである、項目55に記載の細胞。

(項目58)

項目1～41のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物から得られる、又は得ることができる、再構成されたIg可変領域遺伝子を含む核酸。

(項目59)

前記核酸がCARをコードする、項目58に記載の核酸。

(項目60)

項目55～57のいずれか一項に記載の細胞から得られる、又は得ることができる、再構成されたIg可変領域遺伝子を含む核酸。

(項目61)

前記核酸が C A R をコードする、項目 6 0 に記載の核酸。

(項目 6 2 )

前記再構成された I g 可変領域遺伝子が、M H C 上に提示されるペプチドに対して特異的な I g 可変ドメインをコードする、項目 6 0 又は 6 1 のいずれか一項に記載の核酸。

(項目 6 3 )

項目 1 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の遺伝子改变非ヒト動物から得られる、又は得ることができる、M H C 上に提示されるペプチドに対して特異的な C A R 。

(項目 6 4 )

項目 5 5 ~ 5 7 のいずれか一項に記載の細胞から得られる、又は得ることができる、M H C 上に提示されるペプチドに対して特異的な C A R 。

(項目 6 5 )

ゲノム中にキメラ抗原受容体 ( C A R ) 遺伝子座を含む非ヒト胚性幹 ( E S ) 細胞であって、前記 C A R 遺伝子座が、

再構成されていない免疫グロブリン ( I g ) 可変領域遺伝子セグメントを含む再構成されていない可変領域遺伝子座と、

T 細胞受容体 ( T C R ) 定常領域遺伝子を含む定常領域遺伝子座と、を含み、

前記再構成されていない I g 可変領域遺伝子セグメントが前記 T C R 定常領域遺伝子に操作可能に結合される、非ヒト E S 細胞。

(項目 6 6 )

前記再構成されていない I g 可変領域遺伝子セグメントがヒトである、項目 6 5 に記載の非ヒト E S 細胞。

(項目 6 7 )

前記 T C R 定常領域遺伝子が内在性種起源である、項目 6 5 又は 6 6 に記載の非ヒト E S 細胞。

(項目 6 8 )

前記 T C R 定常領域遺伝子がマウス定常領域遺伝子又はラット定常領域遺伝子である、項目 6 5 又は 6 6 に記載の非ヒト E S 細胞。

(項目 6 9 )

前記再構成されていない I g 可変領域遺伝子セグメントがヒト I g 重鎖 ( I g H ) 可変領域遺伝子セグメントである、項目 6 5 ~ 6 8 のいずれか一項に記載の非ヒト E S 細胞。

(項目 7 0 )

前記再構成されていない I g 可変領域遺伝子セグメントがヒト I g 軽鎖 ( I g L ) 可変領域遺伝子セグメントである、項目 6 5 ~ 6 8 のいずれか一項に記載の非ヒト E S 細胞。

(項目 7 1 )

前記 I g L 可変領域遺伝子セグメントがヒト 遺伝子セグメントである、項目 7 0 に記載の非ヒト E S 細胞。

(項目 7 2 )

前記 I g L 可変領域遺伝子セグメントが 遺伝子セグメントである、項目 7 0 に記載の非ヒト E S 細胞。

(項目 7 3 )

前記 T C R 定常領域遺伝子が T C R 定常領域遺伝子である、項目 6 5 ~ 7 2 のいずれか一項に記載の非ヒト E S 細胞。

(項目 7 4 )

前記 C A R 遺伝子座が内在性 T C R 遺伝子座に位置する、項目 7 3 に記載の非ヒト E S 細胞。

(項目 7 5 )

前記再構成されていないヒト I g 可変領域遺伝子セグメントが内在性 T C R 可変領域遺伝子セグメントを置換する、項目 7 4 に記載の非ヒト E S 細胞。

(項目 7 6 )

前記 T C R 定常領域遺伝子が内在性 T C R 定常領域遺伝子である、項目 7 4 又は 7

5に記載の非ヒトES細胞。

(項目77)

前記TCR定常領域遺伝子がTCR定常領域遺伝子である、項目68～72のいずれか一項に記載非ヒトES細胞。

(項目78)

前記CAR遺伝子座が内在性TCR遺伝子座に位置する、項目77に記載の非ヒトES細胞。

(項目79)

前記再構成されていないヒトIg可変領域遺伝子セグメントが内在性TCR可変領域遺伝子セグメントを置換する、項目78に記載の非ヒトES細胞。

(項目80)

前記TCR定常領域遺伝子が内在性TCR定常領域遺伝子である、項目78又は79に記載の非ヒトES細胞。

(項目81)

ゲノム中に第1のCAR遺伝子座と、第2のCAR遺伝子座と、を含む、非ヒトES細胞であって、

前記第1のCAR遺伝子座が、再構成されていない免疫グロブリン(Ig)V<sub>H</sub>、D<sub>H</sub>、及びJ<sub>H</sub>遺伝子セグメントを含む第1の再構成されていない可変領域遺伝子座と、T細胞受容体(TCR)定常領域遺伝子を含む第1の定常領域遺伝子座と、を含み、前記再構成されていないIgV<sub>H</sub>、D<sub>H</sub>、及びJ<sub>H</sub>遺伝子セグメントが前記TCR定常領域遺伝子に操作可能に結合され、

前記第2のCAR遺伝子座が、再構成されていないIgV<sub>H</sub>及びJ<sub>H</sub>遺伝子セグメントを含む第2の再構成されていない可変領域遺伝子座と、T細胞受容体(TCR)定常領域遺伝子を含む第2の定常領域遺伝子座と、を含み、前記再構成されていないIgV<sub>H</sub>及びJ<sub>H</sub>遺伝子セグメントが、前記TCR定常領域遺伝子に操作可能に結合される、非ヒトES細胞。

(項目82)

前記非ヒトES細胞が、そのゲノム中にヒト細胞外ドメイン及び内在性種起源の細胞質ドメインを含むキメラMHCクラスI鎖ポリペプチドをコードする1個又は2個以上の核酸配列を含む、項目65～81のいずれか一項に記載の非ヒトES細胞。

(項目83)

前記MHCクラスI鎖ポリペプチドが、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F、HLA-g、HLA-K、及びHLA-Lからなる群から選択される、項目82に記載の非ヒトES細胞。

(項目84)

前記非ヒトES細胞が、そのゲノム中にヒト-2-ミクログロブリンポリペプチドをコードする核酸配列を含む、項目65～83のいずれか一項に記載の非ヒトES細胞。

(項目85)

前記非ヒトES細胞が、そのゲノム中に、ヒト細胞外ドメインと、内在性種起源の細胞質ドメインと、を含むキメラMHCクラスII鎖ポリペプチドをコードする1個若しくは2個以上の核酸配列、及び/又はヒト細胞外ドメインと、内在性種起源の細胞質ドメインと、を含むキメラMHCクラスII鎖ポリペプチドをコードする1個若しくは2個以上の核酸配列を含む、項目65～84のいずれか一項に記載の非ヒトES細胞。

(項目86)

前記キメラMHCクラスII鎖ポリペプチドが、HLA-DMA、HLA-D0A、HLA-DPA、HLA-DQA、及びHLA-DRAからなる群から選択され、並びに/又は前記MHCクラスII鎖ポリペプチドが、HLA-DMB、HLA-D0B、HLA-DPB、HLA-DQB、及びHLA-DRBからなる群から選択される、項目85に記載の非ヒトES細胞。

(項目87)

前記非ヒト E S 細胞が、そのゲノム中に、ヒト細胞外免疫グロブリンドメインと、内在性種起源の細胞質ドメインと、を含むキメラ C D 8 鎖ポリペプチドをコードする核酸配列、及び／又はヒト細胞外免疫グロブリンドメインと、内在性種起源の細胞質ドメインと、を含むキメラ C D 8 鎖ポリペプチドをコードする核酸配列を含む、項目 6 5 ~ 8 6 のいずれか一項に記載の非ヒト E S 細胞。

(項目 8 8 )

前記非ヒト E S 細胞が、そのゲノム中にヒト D 1 免疫グロブリンドメイン、ヒト D 2 免疫グロブリンドメイン、ヒト D 3 免疫グロブリンドメイン、D 4 免疫グロブリンドメイン、及び内在性種起源の細胞質ドメインを含むキメラ C D 4 ポリペプチドをコードする核酸配列を含む、項目 6 5 ~ 8 7 のいずれか一項に記載の非ヒト E S 細胞。

(項目 8 9 )

前記非ヒト E S 細胞がげっ歯類 E S 細胞である、項目 6 5 ~ 8 8 のいずれか一項に記載の非ヒト E S 細胞。

(項目 9 0 )

前記げっ歯類 E S 細胞がマウス E S 細胞である、項目 8 9 に記載の非ヒト E S 細胞。

(項目 9 1 )

C A R を発現する遺伝子改変非ヒト動物を作製する方法であって、項目 6 5 ~ 9 0 のいずれか一項に記載の非ヒト E S 細胞を使用することを含む方法。

(項目 9 2 )

項目 9 1 に記載の方法を使用して作製される、又はこの方法から得ることができる、遺伝子改変非ヒト動物。

(項目 9 3 )

項目 6 5 ~ 9 0 のいずれか一項に記載の非ヒト E S 細胞を含む非ヒト胚。

(項目 9 4 )

キメラ抗原受容体 ( C A R ) 遺伝子座であって、

再構成されていない免疫グロブリン ( I g ) 可変領域遺伝子セグメントを含む再構成されていない可変領域遺伝子座と、

T 細胞受容体 ( T C R ) 定常領域を含む定常領域遺伝子座と、を含み、

前記再構成されていない I g 可変領域遺伝子セグメントが前記 T C R 定常領域遺伝子に操作可能に結合される、 C A R 遺伝子座。

(項目 9 5 )

前記 I g 可変領域遺伝子セグメントがヒトである、項目 9 4 に記載の C A R 遺伝子座。

(項目 9 6 )

前記 T C R 定常領域遺伝子がげっ歯類 T C R 定常領域遺伝子である、項目 9 4 又は項目 9 5 に記載の C A R 遺伝子座。

(項目 9 7 )

前記げっ歯類 T C R 定常領域がマウス T C R 定常領域である、項目 9 6 のいずれか一項に記載の C A R 遺伝子座。

(項目 9 8 )

再構成されていない免疫グロブリン ( I g ) V <sub>H</sub> 、 D <sub>H</sub> 、及び J <sub>H</sub> 遺伝子セグメントを含む再構成されていない可変領域遺伝子座と、 T 細胞受容体 ( T C R ) 定常領域遺伝子を含む定常領域遺伝子座と、を含む C A R 遺伝子座であって、前記再構成されていない I g V <sub>H</sub> 、 D <sub>H</sub> 、及び J <sub>H</sub> 遺伝子セグメントが前記 T C R 定常領域遺伝子に操作可能に結合される、 C A R 遺伝子座。

(項目 9 9 )

前記 I g V <sub>H</sub> 、 D <sub>H</sub> 、及び J <sub>H</sub> 遺伝子セグメントがヒトである、項目 9 8 に記載の C A R 遺伝子座。

(項目 1 0 0 )

前記 T C R 定常領域遺伝子がマウス T C R 定常領域遺伝子である、項目 9 8 又は 9 9 に記載の C A R 遺伝子座。

(項目101)

再構成されていない Ig V 及び J 遺伝子セグメントを含む再構成されていない可変領域遺伝子座と、T細胞受容体（TCR）定常領域遺伝子を含む定常領域遺伝子座と、を含むCAR遺伝子座であって、前記再構成されていないヒトIg V 及び J 遺伝子セグメントが前記TCR 定常領域遺伝子に操作可能に結合される、CAR遺伝子座。

(項目102)

前記Ig V 及び J 遺伝子セグメントがヒトである、項目101に記載のCAR遺伝子座。

(項目103)

前記TCR 定常領域遺伝子がマウスTCR 定常領域遺伝子である、項目101又は102に記載のCAR遺伝子座。

(項目104)

Ig重鎖可変ドメイン及びTCR 定常ドメインを含む第1のキメラ抗原受容体（CAR）ポリペプチドと、Ig軽鎖可変ドメイン及びTCR 定常ドメインを含む第2のCARポリペプチドと、を含むCARであって、ペプチド/MHC複合体に対する結合特異性を有するCAR。

(項目105)

前記Ig軽鎖可変ドメインがIg 可変ドメインである、項目104に記載のCAR。

(項目106)

前記Ig軽鎖可変ドメインがIg 可変ドメインである、項目104に記載のCAR。

(項目107)

前記Ig重鎖可変ドメイン及び前記Ig軽鎖可変ドメインがヒトIg可変ドメインである、項目104～105のいずれか一項に記載のCAR。

(項目108)

Ig重鎖可変ドメイン及びTCR 定常ドメインを含む第1のキメラ抗原受容体（CAR）ポリペプチドと、Ig軽鎖可変ドメイン及びTCR 定常ドメインを含む第2のCARポリペプチドと、を含むCARであって、ペプチド/MHC複合体に対する結合特異性を有するCAR。

(項目109)

前記Ig軽鎖可変ドメインがIg 可変ドメインである、項目108に記載のCAR。

(項目110)

前記Ig軽鎖可変ドメインがIg 可変ドメインである、項目108に記載のCAR。

(項目111)

前記Ig重鎖可変ドメイン及び前記Ig軽鎖可変ドメインがヒトIg可変ドメインである、項目108～110のいずれか一項に記載のCAR。

(項目112)

項目103～111のいずれか一項に記載のCARを発現する細胞。

(項目113)

前記細胞がT細胞である、項目112に記載の細胞。

(項目114)

被験者においてペプチド/MHC複合体に対する免疫応答を誘発する方法であって、ヒトIg重鎖可変ドメイン及びヒトTCR 定常ドメインを含む第1のキメラ抗原受容体（CAR）ポリペプチドと、ヒトIg軽鎖可変ドメイン及びヒトTCR 定常ドメインを含む第2のCARポリペプチドと、を含むCARを発現するヒトT細胞を前記被験者に投与することを含み、前記CARが前記ペプチド/MHC複合体に対する結合特異性を有する

、方法。

(項目115)

Ig重鎖可変ドメイン及びTCR定常ドメインを含む第1のCARポリペプチドをコードする第1の核酸配列と、Ig軽鎖可変ドメイン及びTCR定常ドメインを含む第2のCARポリペプチドをコードする第2の核酸配列と、を含む、核酸組成物であって、CARが前記第1のCARポリペプチドを含み、前記第2のCARポリペプチドがペプチド/MHC複合体に対する結合特異性を有する、核酸組成物。

(項目116)

遺伝子改変を含む、非ヒト動物を作製する方法であって、生殖細胞系にキメラ抗原受容体(CAR)遺伝子座を含むように前記非ヒト動物を遺伝子操作することを含み、前記CAR遺伝子座が、

再構成されていない免疫グロブリン(Ig)可変領域遺伝子セグメントを含む再構成されていない可変領域遺伝子座と、

T細胞受容体(TCR)定常領域を含む定常領域遺伝子座と、を含み、

前記再構成されていないヒトIg可変領域遺伝子セグメントは、前記遺伝子改変非ヒト動物が、前記再構成されていないIg可変領域遺伝子セグメント由来の再構成されたIg可変領域遺伝子によりコードされるIg可変ドメインと、前記TCR定常領域遺伝子によりコードされるTCR定常ドメインと、を含むCARポリペプチドを発現するように、前記TCR定常領域遺伝子に操作可能に結合される、方法。

(項目117)

前記再構成されていないIg可変領域遺伝子セグメントがヒトである、項目116に記載の方法。

(項目118)

前記TCR定常領域遺伝子が内在性種起源である、項目116又は117に記載の方法

。

(項目119)

前記TCR定常領域遺伝子がマウスTCR定常領域遺伝子又はラットTCR定常領域遺伝子である、項目116又は項目117に記載の方法。

(項目120)

前記再構成されていないIg可変領域遺伝子セグメントがヒトIg重鎖(IgH)可変領域遺伝子セグメントである、項目116~119のいずれか一項に記載の方法。

(項目121)

前記再構成されていないIg可変領域遺伝子セグメントがヒトIg軽鎖(IgL)可変領域遺伝子セグメントである、項目116~119のいずれか一項に記載の方法。

(項目122)

前記IgL可変領域遺伝子セグメントがヒト遺伝子セグメントである、項目121に記載の方法。

(項目123)

前記IgL可変領域遺伝子セグメントが遺伝子セグメントである、項目121に記載の方法。

(項目124)

前記TCR定常領域遺伝子がTCR定常領域遺伝子である、項目116~123のいずれか一項に記載の方法。

(項目125)

前記CAR遺伝子座が内在性TCR遺伝子座に位置する、項目124に記載の方法。

(項目126)

前記再構成されていないヒトIg可変領域遺伝子セグメントが内在性TCR可変領域遺伝子セグメントを置換する、項目125に記載の方法。

(項目127)

前記TCR定常領域遺伝子が内在性TCR定常領域遺伝子である、項目125に記

載の方法。

( 項目 1 2 8 )

前記 T C R 定常領域遺伝子が T C R 定常領域遺伝子である、項目 1 1 6 ~ 1 2 3 のい  
ずれか一項に記載の方法。

( 項目 1 2 9 )

前記 C A R 遺伝子座が内在性 T C R 遺伝子座に位置する、項目 1 2 8 に記載の方法。

( 項目 1 3 0 )

前記再構成されていないヒト I g 可変領域遺伝子セグメントが内在性 T C R 可変領域  
遺伝子セグメントを置換する、項目 1 2 9 に記載の方法。

( 項目 1 3 1 )

前記 T C R 定常領域遺伝子が内在性 T C R 定常領域遺伝子である、項目 1 2 9 に記  
載の方法。

( 項目 1 3 2 )

前記非ヒト動物がげっ歯類である、項目 1 1 6 ~ 1 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 1 3 3 )

前記げっ歯類がマウスである、項目 1 3 2 に記載の方法。