

【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 (C A R) 遺伝子座を含む遺伝子改変げっ歯類であって、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 I g 可変領域遺伝子セグメント由来の再構成された I g 可変領域遺伝子によりコードされる I g 可変ドメインと、前記 T C R 定常領域遺伝子によりコードされる T C R 定常ドメインと、を含む C A R 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 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、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 に記載の遺伝子改変げっ歯類。

## 【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 に記載の遺伝子改変げっ歯類。

## 【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 g H ) 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変げっ歯類。

## 【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 g L ) 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変げっ歯類。

## 【請求項 6】

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、請求項 5 に記載の遺伝子改変げっ歯類。

## 【請求項 7】

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、請求項 5 に記載の遺伝子改変げっ歯類。

## 【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変げっ歯類。

## 【請求項 9】

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

## 【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 に記載の遺伝子改変げっ歯類。

## 【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 に記載の遺伝子改変げっ歯類。

## 【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 に記載の遺伝子改変げっ歯類。

## 【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変げっ歯類。

## 【請求項 14】

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

## 【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 に記載の遺伝子改変げっ歯類。

## 【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 に記載の遺伝子改変げっ歯類。

## 【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 に記載の遺伝子改変げっ歯類。

## 【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 38】

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 37 に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 39】

前記 T C R 定常領域遺伝子が内在性種起源である、請求項 37 又は 38 に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 40】

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、請求項 37 又は 38 に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 41】

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、請求項 37 ~ 40 のいずれか一項に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 42】

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、請求項 37 ~ 40 のいずれか一項に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 43】

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、請求項 42 に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 44】

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、請求項 42 に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 45】

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 37 ~ 44 のいずれか一項に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 46】

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 45 に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 47】

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、請求項 46 に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 48】

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 46 又は 47 に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 49】

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 40 ~ 44 のいずれか一項に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 50】

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 49 に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 51】

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、請求項 50 に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 52】

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 50 又は 51 に記載の げっ歯類 E S 細胞。

## 【請求項 53】

前記 げっ歯類 E S 細胞がマウス E S 細胞である、請求項 37 ~ 52 のいずれか一項に記載の げっ歯類 E S 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 67】

前記 I g 軽鎖可変ドメインが I g 可変ドメインである、請求項 66 に記載の C A R。

## 【請求項 68】

前記 I g 軽鎖可変ドメインが I g 可変ドメインである、請求項 66 に記載の C A R。

## 【請求項 69】

前記 I g 重鎖可変ドメイン及び前記 I g 軽鎖可変ドメインがヒト I g 可変ドメインである、請求項 66 ~ 68 のいずれか一項に記載の C A R。

## 【請求項 70】

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 71】

前記 I g 軽鎖可変ドメインが I g 可変ドメインである、請求項 70 に記載の C A R。

## 【請求項 72】

前記 I g 軽鎖可変ドメインが I g 可変ドメインである、請求項 70 に記載の C A R。

## 【請求項 73】

前記 I g 重鎖可変ドメイン及び前記 I g 軽鎖可変ドメインがヒト I g 可変ドメインである、請求項 70 ~ 72 のいずれか一項に記載の C A R。

## 【請求項 74】

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 C A R ポリペプチドをコードする第 1 の核酸配列と、 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、 C A R が前記第 1 の C A R ポリペプチドを含み、前記第 2 の C A R ポリペプチドがペプチド / M H C 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 C A R 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 C A R は、癌抗原を提示した M H C 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 C A R 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 C A R 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、 C D 4 <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、 C D 8 <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 ( C A R ) 遺伝子座を含む遺伝子改変非ヒト動物であって、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(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



改変非ヒト動物。

(項目 1 6)

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 4 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目 1 7)

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 6 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目 1 8)

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 6 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目 1 9)

生殖細胞系に第 1 の C A R 遺伝子座と、第 2 の C A R 遺伝子座と、を含む、遺伝子改変非ヒト動物であって、

前記第 1 の 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 ) 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 ( T C R ) 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 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、前記遺伝子改変非ヒト動物が、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 I g 重鎖可変ドメインと、前記 T C R 定常領域遺伝子によってコードされる T C R 定常ドメインと、を含む第 1 の C A R ポリペプチド鎖を発現するように、前記 T C R 定常領域遺伝子に操作可能に結合され、

前記第 2 の C A R 遺伝子座が、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、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 ( T C R ) 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 I g V 及び J 遺伝子セグメントが、前記遺伝子改変非ヒト動物が、前記再構成されていない I g V 及び J 遺伝子セグメント由来の再構成された I g 可変領域遺伝子によってコードされる I g 可変ドメインと、前記 T C R 定常領域遺伝子によってコードされる T C R 定常ドメインと、を含む第 2 の C A R ポリペプチド鎖を発現するように、前記 T C R 定常領域遺伝子に操作可能に結合され、

前記遺伝子改変非ヒト動物が、前記第 1 の C A R ポリペプチド鎖と、前記第 2 の C A R ポリペプチド鎖と、を含む C A R を発現する、遺伝子改変非ヒト動物。

(項目 2 0)

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、並びに / 又は前記 I g V 及び J 遺伝子セグメントがヒトである、項目 1 9 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目 2 1)

前記 T C R 定常領域遺伝子及び / 又は前記 T C R 定常領域遺伝子が内在性種起源である、項目 1 9 又は 2 0 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目 2 2)

前記 T C R 定常領域遺伝子及び / 又は前記 T C R 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 1 9 又は 2 0 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目 2 3)

前記遺伝子改変非ヒト動物が機能的 T C R 鎖及び / 又は機能的 T C R 鎖を発現しない、項目 1 9 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目 2 4)

前記第 2 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 1 9 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

(項目 2 5)

前記再構成されていない I g V 及び J 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 2 4 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 項目 2 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 2 4 又は 2 5 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 項目 2 7 )

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 1 9 ~ 2 6 のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 項目 2 8 )

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 2 7 のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 項目 2 9 )

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 2 7 又は 2 8 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 項目 3 0 )

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 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 項目 3 1 )

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 3 0 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 項目 3 2 )

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 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 項目 3 3 )

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 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 項目 3 4 )

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 3 3 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 項目 3 5 )

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 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 項目 3 6 )

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 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 項目 3 7 )

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 ~ 3 6 のいずれか一項に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 項目 3 8 )

前記 C A R が、前記遺伝子改変非ヒト動物の 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変非ヒト動物。

( 項目 3 9 )

前記 T 細胞が、前記遺伝子改変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 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 項目 4 0 )

前記遺伝子改変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変非ヒト動物。

( 項目 4 1 )

前記げっ歯類がマウスである、項目 4 0 に記載の遺伝子改変非ヒト動物。

( 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変非ヒト動物を、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 ) の遺伝子改変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変非ヒト動物を、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 ) の遺伝子改変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 ) の遺伝子改変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 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 ) の遺伝子改変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、

( d ) 前記 I g 可変ドメインをコードする前記核酸を、宿主細胞内の I g 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 I g 可変ドメイン及び前記 I g 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 4 9 )

前記 I g 定常ドメインがヒト I g 定常ドメインである、項目 4 8 に記載の方法。

( 項目 5 0 )

項目 4 8 又は 4 9 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抗体。

( 項目 5 1 )

ヒト I g 可変ドメイン及びヒト T C R 定常ドメインを含む C A R を発現するヒト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 C A R の I g 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 I g 可変ドメイン及び前記ヒト T C R 定常ドメインを含む C A R を発現するように、前記 I g 可変ドメインをコードする核酸を、ヒト細胞内のヒト T C R 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 5 2 )

前記ヒト細胞がヒト T 細胞である、項目 5 1 に記載の方法。

( 項目 5 3 )

前記ヒト T 細胞が e x - v i v o で単離されたヒト T 細胞である、項目 5 2 に記載の方法。

( 項目 5 4 )

項目 5 1 ~ 5 3 のいずれか一項に記載の方法に従って作製された、ヒト I g 可変ドメイン及びヒト T C R 定常ドメインを含む C A R を発現するヒト細胞。

( 項目 5 5 )

項目 1 ~ 4 1 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、C A R を発現する細胞。

( 項目 5 6 )

前記細胞が T 細胞である、項目 5 5 に記載の細胞。

( 項目 5 7 )

前記細胞が T 細胞ハイブリドームである、項目 5 5 に記載の細胞。

( 項目 5 8 )

項目 1 ~ 4 1 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 I g 可変領域遺伝子を含む核酸。

( 項目 5 9 )

前記核酸が C A R をコードする、項目 5 8 に記載の核酸。

( 項目 6 0 )

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、再構成された I g 可変領域遺伝子を含む核酸。

( 項目 6 1 )

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変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 E S 細胞。

( 項目 7 7 )

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 8 ~ 7 2 のいずれか一項に記載非ヒト E S 細胞。

( 項目 7 8 )

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 7 に記載の非ヒト E S 細胞。

( 項目 7 9 )

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 8 に記載の非ヒト E S 細胞。

( 項目 8 0 )

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 8 又は 7 9 に記載の非ヒト E S 細胞。

( 項目 8 1 )

ゲノム中に第 1 の C A R 遺伝子座と、第 2 の C A R 遺伝子座と、を含む、非ヒト E S 細胞であって、

前記第 1 の 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 ) 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 ( T C R ) 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 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、

前記第 2 の C A R 遺伝子座が、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 ( T C R ) 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 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、非ヒト E S 細胞。

( 項目 8 2 )

前記非ヒト E S 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 M H C 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 6 5 ~ 8 1 のいずれか一項に記載の非ヒト E S 細胞。

( 項目 8 3 )

前記 M H C 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 8 2 に記載の非ヒト E S 細胞。

( 項目 8 4 )

前記非ヒト E S 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 6 5 ~ 8 3 のいずれか一項に記載の非ヒト E S 細胞。

( 項目 8 5 )

前記非ヒト E S 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 M H C クラス I I 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 M H C クラス I I 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 6 5 ~ 8 4 のいずれか一項に記載の非ヒト E S 細胞。

( 項目 8 6 )

前記キメラ 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 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 8 5 に記載の非ヒト E S 細胞。

( 項目 8 7 )

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 1 0 1 )

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。

( 項目 1 0 2 )

前記 I g V 及び J 遺伝子セグメントがヒトである、項目 1 0 1 に記載の C A R 遺伝子座。

( 項目 1 0 3 )

前記 T C R 定常領域遺伝子がマウス T C R 定常領域遺伝子である、項目 1 0 1 又は 1 0 2 に記載の C A R 遺伝子座。

( 項目 1 0 4 )

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 。

( 項目 1 0 5 )

前記 I g 軽鎖可変ドメインが I g 可変ドメインである、項目 1 0 4 に記載の C A R 。

( 項目 1 0 6 )

前記 I g 軽鎖可変ドメインが I g 可変ドメインである、項目 1 0 4 に記載の C A R 。

( 項目 1 0 7 )

前記 I g 重鎖可変ドメイン及び前記 I g 軽鎖可変ドメインがヒト I g 可変ドメインである、項目 1 0 4 ~ 1 0 5 のいずれか一項に記載の C A R 。

( 項目 1 0 8 )

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 。

( 項目 1 0 9 )

前記 I g 軽鎖可変ドメインが I g 可変ドメインである、項目 1 0 8 に記載の C A R 。

( 項目 1 1 0 )

前記 I g 軽鎖可変ドメインが I g 可変ドメインである、項目 1 0 8 に記載の C A R 。

( 項目 1 1 1 )

前記 I g 重鎖可変ドメイン及び前記 I g 軽鎖可変ドメインがヒト I g 可変ドメインである、項目 1 0 8 ~ 1 1 0 のいずれか一項に記載の C A R 。

( 項目 1 1 2 )

項目 1 0 3 ~ 1 1 1 のいずれか一項に記載の C A R を発現する細胞。

( 項目 1 1 3 )

前記細胞が T 細胞である、項目 1 1 2 に記載の細胞。

( 項目 1 1 4 )

被験者においてペプチド / M H C 複合体に対する免疫応答を誘発する方法であって、ヒト I g 重鎖可変ドメイン及びヒト 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、ヒト I g 軽鎖可変ドメイン及びヒト 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 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 C A R が前記ペプチド / M H C 複合体に対する結合特異性を有する



、方法。

(項目 1 1 5)

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 C A R ポリペプチドをコードする第 1 の核酸配列と、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、C A R が前記第 1 の C A R ポリペプチドを含み、前記第 2 の C A R ポリペプチドがペプチド / M H C 複合体に対する結合特異性を有する、核酸組成物。

(項目 1 1 6)

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 ( C A R ) 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 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 I g 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 I g 可変領域遺伝子セグメント由来の再構成された I g 可変領域遺伝子によりコードされる I g 可変ドメインと、前記 T C R 定常領域遺伝子によりコードされる T C R 定常ドメインと、を含む C A R ポリペプチドを発現するように、前記 T C R 定常領域遺伝子に操作可能に結合される、方法。

(項目 1 1 7)

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 1 1 6 に記載の方法。

(項目 1 1 8)

前記 T C R 定常領域遺伝子が内在性種起源である、項目 1 1 6 又は 1 1 7 に記載の方法。

(項目 1 1 9)

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、項目 1 1 6 又は項目 1 1 7 に記載の方法。

(項目 1 2 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 重鎖 ( I g H ) 可変領域遺伝子セグメントである、項目 1 1 6 ~ 1 1 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2 1)

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 1 1 6 ~ 1 1 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2 2)

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 1 2 1 に記載の方法。

(項目 1 2 3)

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 1 2 1 に記載の方法。

(項目 1 2 4)

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 5)

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 4 に記載の方法。

(項目 1 2 6)

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 5 に記載の方法。

(項目 1 2 7)

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 5 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。