

【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5日(2024.11.5)

【国際公開番号】WO2022/094348
 【公表番号】特表2023-548478(P2023-548478A)
 【公表日】令和5年11月17日(2023.11.17)
 【年通号数】公開公報(特許)2023-217
 【出願番号】特願2023-526200(P2023-526200)
 【国際特許分類】

10

C 1 2 N 15/09(2006.01)
 C 1 2 N 15/62(2006.01)
 C 1 2 N 5/10(2006.01)
 A 6 1 K 48/00(2006.01)
 A 6 1 K 35/17(2015.01)
 A 6 1 P 35/00(2006.01)
 A 6 1 P 35/02(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/09 1 0 0
 C 1 2 N 15/62 Z Z N A
 C 1 2 N 15/09 1 1 0
 C 1 2 N 5/10
 A 6 1 K 48/00
 A 6 1 K 35/17
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 35/02

20

【手続補正書】

【提出日】令和6年10月25日(2024.10.25)

【手続補正1】

30

【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】

細胞の内因性遺伝子の3'部分および/または5'部分同等のコード能力を有する配列と外因性導入遺伝子とを含む核酸の標的指向化挿入のための組成物であって、

前記内因性遺伝子を標的とするガイドRNA(gRNA)；

前記gRNAと複合体を形成するRNA誘導型ヌクレアーゼ；及び

40

前記RNA誘導型ヌクレアーゼと複合体を形成し、かつ、前記内因性遺伝子と相同な1つ以上の領域(複数可)をコードする配列と、前記内因性遺伝子の3'部分および/または5'部分同等のコード能力を有する前記配列と、前記導入遺伝子とを含む、核酸を含み、

前記RNA誘導型ヌクレアーゼが、前記細胞内の前記内因性遺伝子を特異的に切断して挿入部位を作製し、前記核酸の、前記内因性遺伝子の3'部分および/または5'部分同等のコード能力を有する配列と前記導入遺伝子とが、前記挿入部位に挿入され、前記核酸の、前記内因性遺伝子の3'部分および/または5'部分同等のコード能力を有する配列及び前記導入遺伝子の前記挿入が、前記細胞において前記内因性遺伝子の発現の回復または継続、及び前記導入遺伝子の発現をもたらす、

50

前記組成物。

【請求項 2】

前記内因性遺伝子が、T細胞受容体アルファ鎖定常部 (TRAC)、T細胞受容体ベータ鎖定常部 (TRBC)、CD3 鎖、CD3 鎖、CD3 鎖、CD3 鎖、IL-2R 鎖、IL-2R 鎖、及びIL-2R 鎖 (IL2RG) からなる群から選択される、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記内因性遺伝子が、ベータアクチン (Actb)、ATPシターゼH+輸送、ミトコンドリアF0複合体サブユニットB1 (Atp5f1)、ベータ-2ミクログロブリン (B2m)、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (Gapdh)、グルクロニダーゼベータ (Gusb)、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (Hprt)、ホスホグリセリン酸キナーゼI (Pgk1)、ペプチジルプロリルイソメラーゼA (Ppia)、リボソームタンパク質S18 (Rps18)、TATAボックス結合タンパク質 (Tbp)、トランスフェリン受容体 (Tfrc)、チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質ゼータポリペプチド (Ywhaz)、Nanogホメオボックス (Nanog)、ジンクフィンガータンパク質42 (Rex1)、及びPOUドメインクラス5転写因子1 (Oct4) からなる群から選択される遺伝子を含む、請求項 1 に記載の組成物。

10

【請求項 4】

前記導入遺伝子が、キメラ抗原受容体 (CAR) をコードする配列を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

20

【請求項 5】

前記細胞が、免疫細胞、任意選択でT細胞、CD4+ T細胞、またはCD8+ T細胞である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 6】

前記RNA誘導型ヌクレアーゼが、Cas9であり、任意選択で、前記gRNAが単一ガイドRNA (sgRNA) またはcrRNA；トランス活性化RNA (tracrRNA) である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 7】

核酸を含む細胞であって、
 (i) 前記核酸が、5'から3'に、
 (1) 前記細胞の内因性遺伝子の5'部分をコードする配列、
 (2) 前記細胞の前記内因性遺伝子の3'部分と同等のコード能力を有する配列、
 (3) 外因性導入遺伝子をコードする配列、及び
 (4) 前記細胞の前記内因性遺伝子の3'部分をコードする配列
 を含み、前記細胞が、
 (a) (1) 及び(2) によってコードされる前記内因性遺伝子、ならびに
 (b) (3) によってコードされる前記導入遺伝子
 のそれぞれを発現する、または

30

(ii) 前記核酸が、5'から3'に、
 (1) 前記細胞の内因性遺伝子の5'部分をコードする配列、
 (2) 外因性導入遺伝子をコードする配列、
 (3) 前記細胞の前記内因性遺伝子の5'部分と同等のコード能力を有する配列、及び
 (4) 前記細胞の前記内因性遺伝子の3'部分をコードする配列
 を含み、前記細胞が、
 (a) (2) によってコードされる前記導入遺伝子、ならびに
 (b) (3) 及び(4) によってコードされる前記内因性遺伝子
 のそれぞれを発現する、

40

前記細胞。

【請求項 8】

50

前記内因性遺伝子が、T細胞受容体アルファ鎖定常部 (T R A C)、T細胞受容体ベータ鎖定常部 (T R B C)、C D 3 鎖、C D 3 鎖、C D 3 鎖、C D 3 鎖、I L - 2 R 鎖、I L - 2 R 鎖、及び I L - 2 R 鎖 (I L 2 R G) からなる群から選択される、請求項 7 に記載の細胞。

【請求項 9】

前記内因性遺伝子が、ベータアクチン (A c t b)、A T P シンターゼ H + 輸送、ミトコンドリア F 0 複合体サブユニット B 1 (A t p 5 f 1)、ベータ - 2 ミクログロブリン (B 2 m)、グリセルアルデヒド - 3 - リン酸デヒドロゲナーゼ (G a p d h)、グルクロニダーゼベータ (G u s b)、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (H p r t)、ホスホグリセリン酸キナーゼ I (P g k 1)、ペプチジルプロリルイソメラーゼ A (P p i a)、リボソームタンパク質 S 1 8 (R p s 1 8)、T A T A ボックス結合タンパク質 (T b p)、トランスフェリン受容体 (T f r c)、チロシン 3 - モノオキシゲナーゼ / トリプトファン 5 - モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質ゼータポリペプチド (Y w h a z)、N a n o g ホメオボックス (N a n o g)、ジンクフィンガータンパク質 4 2 (R e x 1)、及び P O U ドメインクラス 5 転写因子 1 (O c t 4) からなる群から選択される遺伝子を含む、請求項 7 に記載の細胞。

10

【請求項 10】

前記導入遺伝子が、キメラ抗原受容体 (C A R) を含む、請求項 7 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の細胞。

【請求項 11】

前記細胞が、免疫細胞、任意選択で T 細胞、C D 4 + T 細胞、または C D 8 + T 細胞 である、請求項 7 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の細胞。

20

【請求項 12】

細胞のゲノムを編集する方法であって、

前記細胞内の内因性遺伝子を標的とするガイド RNA (g R N A) ;

前記 g R N A と複合体を形成する RNA 誘導型ヌクレアーゼ ; 及び

前記 RNA 誘導型ヌクレアーゼと複合体を形成し、かつ、前記内因性遺伝子と相同な 1 つ以上の領域 (複数可) をコードする配列と、前記内因性遺伝子の 3 ' 部分 および / または 5 ' 部分 同等のコード能力を有する配列と、外因性導入遺伝子とを含む、核酸を前記細胞に導入することを含み、

30

前記 RNA 誘導型ヌクレアーゼが、前記細胞内の前記内因性遺伝子を特異的に切断して挿入部位を作製し、前記核酸の、前記内因性遺伝子の 3 ' 部分 および / または 5 ' 部分 同等のコード能力を有する配列と前記外因性導入遺伝子とが、前記挿入部位に挿入され、前記核酸の、前記内因性遺伝子の 3 ' 部分 および / または 5 ' 部分 同等のコード能力を有する配列及び前記外因性導入遺伝子の挿入が、前記細胞において前記内因性遺伝子の発現の回復または継続、及び前記導入遺伝子の発現をもたらす、前記方法。

【請求項 13】

前記内因性遺伝子が、T細胞受容体アルファ鎖定常部 (T R A C)、T細胞受容体ベータ鎖定常部 (T R B C)、C D 3 鎖、C D 3 鎖、C D 3 鎖、C D 3 鎖、I L - 2 R 鎖、I L - 2 R 鎖、及び I L - 2 R 鎖 (I L 2 R G) からなる群から選択される、請求項 12 に記載の方法。

40

【請求項 14】

前記内因性遺伝子が、ベータアクチン (A c t b)、A T P シンターゼ H + 輸送、ミトコンドリア F 0 複合体サブユニット B 1 (A t p 5 f 1)、ベータ - 2 ミクログロブリン (B 2 m)、グリセルアルデヒド - 3 - リン酸デヒドロゲナーゼ (G a p d h)、グルクロニダーゼベータ (G u s b)、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (H p r t)、ホスホグリセリン酸キナーゼ I (P g k 1)、ペプチジルプロリルイソメラーゼ A (P p i a)、リボソームタンパク質 S 1 8 (R p s 1 8)、T A T A ボックス結合タンパク質 (T b p)、トランスフェリン受容体 (T f r c)、チロシン 3 - モ

50

ノオキシゲナーゼ/トリプトファン5 - モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質ゼータポリペプチド (Y w h a z)、N a n o g ホメオボックス (N a n o g)、ジンクフィンガータンパク質42 (R e x 1)、及びPOUドメインクラス5転写因子1 (O c t 4) からなる群から選択される、請求項12に記載の方法。

【請求項15】

前記導入遺伝子が、キメラ抗原受容体 (C A R) を含む、請求項12~14のいずれか1項に記載の方法。

【請求項16】

前記細胞が、免疫細胞、任意選択でT細胞、C D 4 + T細胞、またはC D 8 + T細胞である、請求項12~15のいずれか1項に記載の方法。

10

【請求項17】

前記RNA誘導型ヌクレアーゼが、C a s 9であり、任意選択で、前記gRNAが、単一ガイドRNA (s g R N A)またはc r R N A ; トランス活性化c r R N A (t r a c r R N A)である、請求項12~16のいずれか1項に記載の方法。

【請求項18】

前記細胞への導入が、非ウイルス導入であり、任意選択で、前記細胞への非ウイルス導入が、電気穿孔を介して行われる、請求項12~17のいずれか1項に記載の方法。

【請求項19】

対象の疾患を治療または予防するための薬学的組成物であって、請求項7~11のいずれか1項に記載の細胞を含む、前記薬学的組成物。

20

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0021

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0021】

別の態様において、対象における疾患を治療する方法であって、本明細書に記載の核酸を含む細胞を得ること、及び当該細胞を対象に投与することを含む、当該方法が提供される。いくつかの実施形態において、疾患はがんである。いくつかの実施形態において、細胞は、対象から得られる。例えば、特定の実施形態において、細胞はT細胞であり、任意選択で、C D 4 +またはC D 8 + T細胞である。

30

[本発明1001]

細胞の内因性遺伝子の3'部分と同等のコード能力を有する配列と外因性導入遺伝子とを含む核酸の標的指向化挿入のための組成物であって、

前記内因性遺伝子を標的とするガイドRNA (g R N A) ;

前記gRNAと複合体を形成するRNA誘導型ヌクレアーゼ; 及び

前記RNA誘導型ヌクレアーゼと複合体を形成し、かつ、前記内因性遺伝子と相同な1つ以上の領域(複数可)をコードする配列と、前記内因性遺伝子の3'部分と同等のコード能力を有する前記配列と、前記導入遺伝子とを含む、核酸

を含み、

40

前記RNA誘導型ヌクレアーゼが、前記細胞内の前記内因性遺伝子を特異的に切断して挿入部位を作製し、前記核酸の、前記内因性遺伝子の3'部分と同等のコード能力を有する配列と前記導入遺伝子とが、前記挿入部位に挿入され、前記核酸の、前記内因性遺伝子の3'部分と同等のコード能力を有する配列及び前記導入遺伝子の前記挿入が、前記細胞において前記内因性遺伝子の発現の回復または継続、及び前記導入遺伝子の発現をもたらす、

前記組成物。

[本発明1002]

外因性導入遺伝子をコードする配列と細胞の内因性遺伝子の5'部分と同等のコード能力を有する配列とを含む核酸の標的指向化挿入のための組成物であって、

50

前記内因性遺伝子を標的とするガイドRNA (gRNA) ;

前記gRNAに作動可能に連結されたRNA誘導型ヌクレアーゼ ; 及び

前記RNA誘導型ヌクレアーゼと複合体を形成し、かつ、前記内因性遺伝子と相同な1つ以上の領域(複数可)をコードする配列と、前記導入遺伝子と、前記内因性遺伝子の5'部分と同等のコード能力を有する前記配列とを含む、核酸

前記RNA誘導型ヌクレアーゼが、前記細胞内の前記内因性遺伝子の特異的に切断して挿入部位を作製し、前記核酸の、前記導入遺伝子と前記内因性遺伝子の5'部分と同等のコード能力を有する配列とが、前記挿入部位に挿入され、前記核酸の、前記導入遺伝子及び前記核酸の前記内因性遺伝子の5'部分と同等のコード能力を有する配列の前記挿入が、前記細胞において前記内因性遺伝子の発現の回復または継続、及び前記導入遺伝子の発現をもたらす、

前記組成物。

[本発明1003]
前記内因性遺伝子が、T細胞受容体アルファ鎖定常部(TRAC)、T細胞受容体ベータ鎖定常部(TRBC)、CD3鎖、CD3鎖、CD3鎖、CD3鎖、IL-2R鎖、IL-2R鎖、及びIL-2R鎖(IL2RG)からなる群から選択される、本発明1001または1002の組成物。

[本発明1004]

前記内因性遺伝子が、TRACである、本発明1003の組成物。

[本発明1005]

前記内因性遺伝子が、IL2RGである、本発明1003の組成物。

[本発明1006]

前記内因性遺伝子が、ベータアクチン(Actb)、ATPシンターゼH+輸送、ミトコンドリアF0複合体サブユニットB1(Atp5f1)、ベータ-2ミクログロブリン(B2m)、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ(Gapdh)、グルクロニダーゼベータ(Gusb)、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(Hprt)、ホスホグリセリン酸キナーゼI(Pgk1)、ペプチジルプロリルイソメラーゼA(Ppia)、リボソームタンパク質S18(Rps18)、TATAボックス結合タンパク質(Tbp)、トランスフェリン受容体(Tfrc)、チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質ゼータポリペプチド(Ywhaz)、Nanogホメオボックス(Nanog)、ジンクフィンガータンパク質42(Rex1)、及びPOUドメインクラス5転写因子1(Oct4)からなる群から選択される遺伝子を含む、本発明1001または1002の組成物。

[本発明1007]

前記導入遺伝子が、キメラ抗原受容体(CAR)をコードする配列を含む、本発明1001~1006のいずれかの組成物。

[本発明1008]

前記細胞が、免疫細胞、任意選択でT細胞である、本発明1001~1007のいずれかの組成物。

[本発明1009]

前記T細胞が、CD4+T細胞またはCD8+T細胞である、本発明1008の組成物。

[本発明1010]

前記RNA誘導型ヌクレアーゼが、Cas9である、本発明1001~1009のいずれかの組成物。

[本発明1011]

前記gRNAが、単一ガイドRNA(sgRNA)またはcrRNA:トランス活性化RNA(tracrRNA)である、本発明1001~1010のいずれかの組成物。

[本発明1012]

核酸を含む細胞であって、前記核酸が、5'から3'に、

10

20

30

40

50

(1) 前記細胞の内因性遺伝子の5'部分をコードする配列、
 (2) 前記細胞の前記内因性遺伝子の3'部分と同等のコード能力を有する配列、
 (3) 外因性導入遺伝子をコードする配列、及び
 (4) 前記細胞の前記内因性遺伝子の3'部分をコードする配列
 を含み、前記細胞が、
 (a) (1)及び(2)によってコードされる前記内因性遺伝子、ならびに
 (b) (3)によってコードされる前記導入遺伝子
 のそれぞれを発現する、前記細胞。

[本発明1013]

核酸を含む細胞であって、前記核酸が、5'から3'に、
 (1) 前記細胞の内因性遺伝子の5'部分をコードする配列、
 (2) 外因性導入遺伝子をコードする配列、
 (3) 前記細胞の前記内因性遺伝子の5'部分と同等のコード能力を有する配列、及び
 (4) 前記細胞の前記内因性遺伝子の3'部分をコードする配列
 を含み、前記細胞が、
 (a) (2)によってコードされる前記導入遺伝子、ならびに
 (b) (3)及び(4)によってコードされる前記内因性遺伝子
 のそれぞれを発現する、前記細胞。

[本発明1014]

前記内因性遺伝子が、T細胞受容体アルファ鎖定常部(TRAC)、T細胞受容体ベータ鎖定常部(TRBC)、CD3鎖、CD3鎖、CD3鎖、CD3鎖、IL-2R鎖、IL-2R鎖、及びIL-2R鎖(IL2RG)からなる群から選択される、本発明1012または1013の細胞。

[本発明1015]

前記内因性遺伝子が、TRACである、本発明1014の細胞。

[本発明1016]

前記内因性遺伝子が、IL2RGである、本発明1014の細胞。

[本発明1017]

前記内因性遺伝子が、ベータアクチン(Actb)、ATPシンターゼH⁺輸送、ミトコンドリアF0複合体サブユニットB1(Atp5f1)、ベータ-2ミクログロブリン(B2m)、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ(Gapdh)、グルクロニダーゼベータ(Gusb)、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(Hprt)、ホスホグリセリン酸キナーゼI(Pgk1)、ペプチジルプロリルイソメラーゼA(Ppia)、リボソームタンパク質S18(Rps18)、TATAボックス結合タンパク質(Tbp)、トランスフェリン受容体(Tfrc)、チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質ゼータポリペプチド(Ywhaz)、Nanogホメオボックス(Nanog)、ジンクフィンガータンパク質42(Rex1)、及びPOUドメインクラス5転写因子1(Oct4)からなる群から選択される遺伝子を含む、本発明1012または1013の細胞。

[本発明1018]

前記導入遺伝子が、キメラ抗原受容体(CAR)を含む、本発明1012~1017のいずれかの細胞。

[本発明1019]

前記細胞が、免疫細胞、任意選択でT細胞である、本発明1012~1018のいずれかの細胞。

[本発明1020]

前記T細胞が、CD4⁺T細胞またはCD8⁺T細胞である、本発明1019の細胞。

[本発明1021]

細胞のゲノムを編集する方法であって、
 前記細胞内の内因性遺伝子を標的とするガイドRNA(gRNA)；

10

20

30

40

50

前記 gRNA と複合体を形成する RNA 誘導型ヌクレアーゼ；及び

前記 RNA 誘導型ヌクレアーゼと複合体を形成し、かつ、前記内因性遺伝子と相同な 1 つ以上の領域（複数可）をコードする配列と、前記内因性遺伝子の 3' 部分と同等のコード能力を有する配列と、外因性導入遺伝子とを含む、核酸
を前記細胞に導入することを含み、

前記 RNA 誘導型ヌクレアーゼが、前記細胞内の前記内因性遺伝子の特異的に切断して挿入部位を作製し、前記核酸の、前記内因性遺伝子の 3' 部分と同等のコード能力を有する配列と前記外因性導入遺伝子とが、前記挿入部位に挿入され、前記核酸の、前記内因性遺伝子の 3' 部分と同等のコード能力を有する配列及び前記外因性導入遺伝子の挿入が、前記細胞において前記内因性遺伝子の発現の回復または継続、及び前記導入遺伝子の発現をもたらす、

10

前記方法。

[本発明 1022]

細胞のゲノムを編集する方法であって、

前記細胞内の内因性遺伝子を標的とするガイド RNA (gRNA)；

前記 gRNA と複合体を形成する RNA 誘導型ヌクレアーゼ；及び

前記 RNA 誘導型ヌクレアーゼと複合体を形成し、かつ、前記内因性遺伝子と相同な 1 つ以上の領域（複数可）をコードする配列と、外因性導入遺伝子と、前記内因性遺伝子の 5' 部分と同等のコード能力を有する配列とを含む、核酸
を前記細胞に導入することを含み、

20

前記 RNA 誘導型ヌクレアーゼが、前記細胞内の前記内因性遺伝子の特異的に切断して挿入部位を作り、前記核酸の、前記外因性導入遺伝子と前記内因性遺伝子の 5' 部分と同等のコード能力を有する配列とが、前記挿入部位に挿入され、前記核酸の、前記外因性導入遺伝子及び前記核酸の前記内因性遺伝子の 5' 部分と同等のコード能力を有する配列の挿入が、前記細胞において前記内因性遺伝子の発現の回復または継続、及び前記導入遺伝子の発現をもたらす、

前記方法。

[本発明 1023]

前記内因性遺伝子が、T 細胞受容体アルファ鎖定常部 (TRAC)、T 細胞受容体ベータ鎖定常部 (TRBC)、CD3 鎖、CD3 鎖、CD3 鎖、CD3 鎖、IL-2R 鎖、IL-2R 鎖、及び IL-2R 鎖 (IL2RG) からなる群から選択される、本発明 1021 または 1022 の方法。

30

[本発明 1024]

前記内因性遺伝子が、TRAC である、本発明 1023 の方法。

[本発明 1025]

前記内因性遺伝子が、IL2RG である、本発明 1023 の方法。

[本発明 1026]

前記内因性遺伝子が、ベータアクチン (Actb)、ATP シンターゼ H+ 輸送、ミトコンドリア F0 複合体サブユニット B1 (Atp5f1)、ベータ-2 ミクログロブリン (B2m)、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (Gapdh)、グルクロニダーゼベータ (Gusb)、ヒポキサンチン グアニン ホスホリボシルトランスフェラーゼ (Hprt)、ホスホグリセリン酸キナーゼ I (Pfkfb3)、ペプチジルプロリルイソメラーゼ A (Ppia)、リボソームタンパク質 S18 (Rps18)、TATA ボックス結合タンパク質 (Tbp)、トランスフェリン受容体 (Tfrc)、チロシン 3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン 5-モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質ゼータポリペプチド (Ywhaz)、Nanog ホメオボックス (Nanog)、ジンクフィンガータンパク質 42 (Rex1)、及び POU ドメイン クラス 5 転写因子 1 (Oct4) からなる群から選択される、本発明 1021 または 1022 の方法。

40

[本発明 1027]

前記導入遺伝子が、キメラ抗原受容体 (CAR) を含む、本発明 1021 ~ 1026 の

50

いずれかの方法。

[本発明 1 0 2 8]

前記細胞が、免疫細胞、任意選択でT細胞である、本発明 1 0 2 1 ~ 1 0 2 7 のいずれかの方法。

[本発明 1 0 2 9]

前記T細胞が、CD 4 + T細胞またはCD 8 + T細胞である、本発明 1 0 2 8 の方法。

[本発明 1 0 3 0]

前記RNA誘導型ヌクレアーゼが、Cas 9である、本発明 1 0 2 1 ~ 1 0 2 9 のいずれかの方法。

[本発明 1 0 3 1]

前記gRNAが、単一ガイドRNA (sgRNA) またはcrRNA : トランス活性化crRNA (tracrRNA) である、本発明 1 0 2 1 ~ 1 0 3 0 のいずれかの方法。

[本発明 1 0 3 2]

前記細胞への導入が、非ウイルス導入である、本発明 1 0 2 1 ~ 1 0 3 1 のいずれかの方法。

[本発明 1 0 3 3]

前記細胞への非ウイルス導入が、電気穿孔を介して行われる、本発明 1 0 3 2 の方法。

[本発明 1 0 3 4]

対象の疾患を治療または予防する方法であって、

本発明 1 0 1 2 ~ 1 0 2 0 のいずれかの細胞を得ること、及び

前記対象に前記細胞を投与すること

を含む、前記方法。

[本発明 1 0 3 5]

前記疾患が、がんである、本発明 1 0 3 4 の方法。

[本発明 1 0 3 6]

前記細胞が、前記対象から得られる、本発明 1 0 3 5 の方法。

[本発明 1 0 3 7]

前記細胞が、T細胞、任意選択でCD 4 + T細胞またはCD 8 + T細胞である、本発明 1 0 3 6 の方法。

10

20

30

40

50