【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5年5月11日(2023.5.11)

【国際公開番号】WO2020/223571
【公表番号】特表2022-531577(P2022-531577A)
【公表日】令和4年7月7日(2022.7.7)
【年通号数】公開公報(特許)2022-123
【出願番号】特願2021-564440(P2021-564440)
【国際特許分類】
*C12N 15/62(2006.01)*
*C12N 15/12(2006.01)*
*C12N 15/13(2006.01)*
*C12N 15/09(2006.01)*
*C12N 15/86(2006.01)*
*C12N 15/867(2006.01)*
*C12N 15/864(2006.01)*
*C12M 1/00(2006.01)*
*C12M 3/00(2006.01)*
*C12N 5/10(2006.01)*
*C12N 5/0783(2010.01)*
*A61K 48/00(2006.01)*
*A61P 35/00(2006.01)*
*A61P 35/02(2006.01)*
*A61K 35/17(2015.01)*
*A61P 43/00(2006.01)*
*A61K 38/17(2006.01)*
【FI】
C12N 15/62 ZZNA
C12N 15/12
C12N 15/13
C12N 15/09 100
C12N 15/09 110
C12N 15/86 Z
C12N 15/867 Z
C12N 15/864100 Z
C12M 1/00 A
C12M 3/00 Z
C12N 5/10
C12N 5/0783
A61K 48/00
A61P 35/00
A61P 35/02
A61K 35/17
A61P 43/00 121
A61K 38/17

【手続補正書】
【提出日】令和5年4月28日(2023.4.28)
【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】
改変されたＣＤ２４７遺伝子座を含む遺伝子操作されたＴ細胞であって、該改変されたＣＤ２４７遺伝子座が、ＣＤ３ゼータ（ＣＤ３ζ）シグナル伝達ドメインを含む細胞内領域を含むキメラ受容体をコードする核酸配列を含む、遺伝子操作されたＴ細胞。
【請求項２】
改変されたＣＤ２４７遺伝子座が、内在性ＣＤ２４７遺伝子座であり、前記核酸配列が、キメラ受容体の一部分をコードする導入遺伝子配列を含み、該導入遺伝子配列が、任意で相同性指向修復（ＨＤＲ）を介して、Ｔ細胞の該内在性ＣＤ２４７遺伝子座へ組み込まれている、請求項1記載の遺伝子操作されたＴ細胞。
【請求項３】
ＣＤ３ζシグナル伝達ドメインの全体またはＣＤ３ζシグナル伝達ドメインの断片が、内在性ＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列によってコードされる、請求項2記載の遺伝子操作されたＴ細胞。
【請求項４】
キメラ受容体をコードする核酸配列が、（ｉ）キメラ受容体の一部分をコードする導入遺伝子配列と（ｉｉ）内在性ＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列とのインフレーム融合物を含む、請求項2または請求項3記載の遺伝子操作されたＴ細胞。
【請求項５】
導入遺伝子配列が、内在性ＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列の1つまたは複数のエクソンとインフレームである、請求項2～4のいずれか一項記載の遺伝子操作されたＴ細胞。
【請求項６】
導入遺伝子配列が、3'ＵＴＲをコードする配列を含まず、かつ/またはイントロンを含まない、請求項2～5のいずれか一項記載の遺伝子操作されたＴ細胞。
【請求項７】
導入遺伝子配列が、ＣＤ３ζシグナル伝達ドメインの断片をコードするか、またはＣＤ３ζシグナル伝達ドメインもしくはその断片をコードしない、請求項2～6のいずれか一項記載の遺伝子操作されたＴ細胞。
【請求項８】
オープンリーディングフレームまたはその部分配列が、内在性ＣＤ２４７遺伝子座の少なくとも1つのイントロンおよび少なくとも1つのエクソンを含み、かつ/または内在性ＣＤ２４７遺伝子座の3'ＵＴＲをコードする、請求項3～7のいずれか一項記載の遺伝子操作されたＴ細胞。
【請求項９】
導入遺伝子配列が、内在性ＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン1の下流かつエクソン8の上流にあり；任意で内在性ＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン1の下流かつエクソン3の上流にある、請求項2～8のいずれか一項記載の遺伝子操作されたＴ細胞。
【請求項１０】
コードされるキメラ受容体のＣＤ３ζシグナル伝達ドメインの少なくとも断片、任意でＣＤ３ζシグナル伝達ドメインの全体が、内在性ＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列によってコードされ、任意で、ＣＤ３ζシグナル伝達ドメインが、内在性ＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン2の少なくとも一部分およびエクソン3～8を含むヌクレオチドの配列；または内在性ＣＤ２４７遺伝子座の

オープンリーディングフレームのエクソン1を含まず、エクソン1の全長を含まず、かつ/もしくはエクソン2の全長を含まないヌクレオチドの配列によってコードされる、請求項2～9のいずれか一項記載の遺伝子操作されたT細胞。

【請求項１１】

コードされるキメラ受容体が、CD3ζシグナル伝達ドメインを介してシグナル伝達することができる、請求項1～10のいずれか一項記載の遺伝子操作されたT細胞。

【請求項１２】

コードされるCD3ζシグナル伝達ドメインが、SEQ ID NO:13～15のいずれか1つより選択される配列、またはSEQ ID NO:13～15のいずれか1つに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくはそれ以上の配列同一性を示す配列、またはそれらの断片を含む、請求項1～11のいずれか一項記載の遺伝子操作されたT細胞。

【請求項１３】

キメラ受容体がキメラ抗原受容体（CAR）である、請求項1～12のいずれか一項記載の遺伝子操作されたT細胞。

【請求項１４】

キメラ受容体が、(i)結合ドメインを含む細胞外領域と、(ii)膜貫通ドメインと、(iii)細胞内領域とを含み、任意で、該結合ドメインが、抗体またはその抗原結合断片であるか、またはそれを含む、請求項1～13のいずれか一項記載の遺伝子操作されたT細胞。

【請求項１５】

結合ドメインが、ある疾患、障害、もしくは状態の細胞もしくは組織に関連している、それに特異的である、および/またはその上に発現している標的抗原に結合することができ、任意で、該標的抗原が腫瘍抗原である、かつ/あるいは、

標的抗原が、αvβ6インテグリン（avb6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；CAIXもしくはG250としても知られている）、がん精巣抗原、がん/精巣抗原1B（CTAG；NY-ESO-1およびLAGE-2としても知られている）、癌胎児抗原（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、CD44v6、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）、上皮成長因子タンパク質（EGFR）、III型上皮成長因子受容体変異（EGFR vIII）、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；Fc受容体ホモログ5もしくはFCRH5としても知られている）、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-22Rα）、IL-13受容体アルファ2（IL-13Rα2）、キナーゼインサートドメイン受容体（kdr）、カッパ軽鎖、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）、サバイビン、栄養膜糖タンパク質（TPBG；5T4としても知られている）、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；ＴＹＲＰ１もしくはｇｐ７５としても知られている）、チロシナーゼ関連タンパク質２（ＴＲＰ２；ドパクロムトートメラーゼ、ドパクロムデルタ-イソメラーゼ、もしくはＤＣＴとしても知られている）、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）、病原体特異的抗原もしくは病原体発現抗原、またはユニバーサルタグに関連する抗原、ならびに/またはビオチン化分子、ならびに/またはＨＩＶ、ＨＣＶ、ＨＢＶ、もしくはその他の病原体によって発現される分子の中から選択される、

請求項１４記載の遺伝子操作されたＴ細胞。

【請求項１６】

細胞外領域が、スペーサーを含み、任意で、該スペーサーが、結合ドメインと膜貫通ドメインとの間に機能的に連結されている、かつ/あるいは、該スペーサーが、免疫グロブリンヒンジ領域、ならびに/または$C_H2$領域および$C_H3$領域を含む、請求項１４または１５記載の遺伝子操作されたＴ細胞。

【請求項１７】

細胞内領域が、１つまたは複数の共刺激シグナル伝達ドメインを含み、任意で、該１つまたは複数の共刺激シグナル伝達ドメインが、ＣＤ２８、４-１ＢＢ、もしくはＩＣＯＳの細胞内シグナル伝達ドメイン、またはそれらのシグナル伝達部分を含む、請求項１～１６のいずれか一項記載の遺伝子操作されたＴ細胞。

【請求項１８】

導入遺伝子配列が、順番に、(i)結合ドメイン、任意で単鎖Ｆｖ断片（ｓｃＦｖ）と；(ii)ヒト免疫グロブリンヒンジ由来の、任意でＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ４、もしくはそれらの改変バージョン由来の配列を任意で含み、$C_H2$領域および/もしくは$C_H3$領域を任意でさらに含む、スペーサーと；(iii)任意でヒトＣＤ２８由来の、膜貫通ドメインと；(iv)任意でヒト４-１ＢＢ由来の、共刺激シグナル伝達ドメインを含む細胞内領域とをコードするヌクレオチドの配列を含み；かつ/または

改変されたＣＤ２４７遺伝子座が、順番に、(i)結合ドメイン、任意でｓｃＦｖと；(ii)ヒト免疫グロブリンヒンジ由来の、任意でＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ４、もしくはそれらの改変バージョン由来の配列を任意で含み、$C_H2$領域および/もしくは$C_H3$領域を任意でさらに含む、スペーサーと；(iii)任意でヒトＣＤ２８由来の、膜貫通ドメインと；(iv)任意でヒト４-１ＢＢ由来の、共刺激シグナル伝達ドメインを含む細胞内領域と；ＣＤ３ζシグナル伝達ドメインとをコードするヌクレオチドの配列を含む、

請求項２～１７のいずれか一項記載の遺伝子操作されたＴ細胞。

【請求項１９】

導入遺伝子配列が、少なくとも１つのさらなるタンパク質をコードするヌクレオチドの配列を含み、任意で、該少なくとも１つのさらなるタンパク質が、代用マーカーであり、任意で、該代用マーカーが、トランケートされた受容体であり、任意で、該トランケートされた受容体が、細胞内シグナル伝達ドメインを欠き、かつ/またはそのリガンドが結合した場合に細胞内シグナル伝達を媒介することができない、請求項２～１８のいずれか一項記載の遺伝子操作されたＴ細胞。

【請求項２０】

導入遺伝子配列が、１つまたは複数のマルチシストロン性エレメントを含み、任意で、該１つまたは複数のマルチシストロン性エレメントが、リボソームスキップ配列であるか、またはそれを含み、任意で、該リボソームスキップ配列がＴ２Ａ、Ｐ２Ａ、Ｅ２Ａ、またはＦ２Ａエレメントである、請求項２～１９のいずれか一項記載の遺伝子操作されたＴ細胞。

【請求項２１】

導入遺伝子配列が、キメラ受容体の一部分をコードするヌクレオチドの配列を含み、１つもしくは複数のマルチシストロン性エレメントが、該キメラ受容体の一部分をコードするヌクレオチドの配列の上流に位置づけられており；かつ/もしくは該キメラ受容体の一部分をコードするヌクレオチドの配列と、少なくとも１つのさらなるタンパク質をコードするヌクレオチドの配列との間に位置づけられている；および/または

該キメラ受容体が、多鎖CARであるCARであり、1つもしくは複数のマルチシストロン性エレメントが、多鎖CARの1つの鎖をコードするヌクレオチドの配列と、該多鎖CARの別の鎖をコードするヌクレオチドの配列との間に位置づけられている、
請求項20記載の遺伝子操作されたT細胞。
【請求項２２】
改変されたCD247遺伝子座が、キメラ受容体をコードする核酸配列の発現を調節するために機能的に連結された内在性CD247遺伝子座のプロモーターおよび/もしくは制御エレメントもしくは調節エレメントを含むか；または、改変されたCD247遺伝子座が、キメラ受容体もしくはその一部分の発現を調節するために機能的に連結された1つもしくは複数の異種の制御エレメントもしくは調節エレメントを含む、請求項2～21のいずれか一項記載の遺伝子操作されたT細胞。
【請求項２３】
前記T細胞が、対象に由来する初代T細胞であり、任意で、該対象がヒトである、請求項1～22のいずれか一項記載の遺伝子操作されたT細胞。
【請求項２４】
前記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である、請求項1～23のいずれか一項記載の遺伝子操作されたT細胞。
【請求項２５】
（a）キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列と、
（b）該核酸配列に連結された1つまたは複数の相同性アームであって、CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列の1つまたは複数の領域に相同な配列を含む、1つまたは複数の相同性アームと
を含む、ポリヌクレオチド。
【請求項２６】
（a）の核酸配列が、キメラ受容体の一部分をコードし、該核酸配列によってコードされる該キメラ受容体の該一部分が、(i)結合ドメインを含む細胞外領域と、(ii)膜貫通ドメインとを含み、かつ、(a)の核酸配列が、細胞内領域のCD3ゼータ（CD3ζ）シグナル伝達ドメインの全体をコードしない、請求項25記載のポリヌクレオチド。
【請求項２７】
（a）の核酸配列が、T細胞、任意でヒトT細胞の内在性ゲノムCD247遺伝子座のオープンリーディングフレームにとって外来性または異種である配列である、請求項25または26記載のポリヌクレオチド。
【請求項２８】
オープンリーディングフレームまたはその部分配列が、T細胞、任意でヒトT細胞の内在性CD247遺伝子座の少なくとも1つのイントロンおよび少なくとも1つのエクソンおよび/または3'UTRを含む、請求項25～27のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。
【請求項２９】
前記ポリヌクレオチドが導入された細胞からキメラ受容体が発現される場合に、CD3ζシグナル伝達ドメインの少なくとも断片、任意でCD3ζシグナル伝達ドメインの全体が、内在性CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列によってコードされる、請求項25～28のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。
【請求項３０】
（a）の核酸配列が、CD3ζシグナル伝達ドメインの断片をコードする、請求項25～29のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。
【請求項３１】
（a）の核酸配列が、CD3ζシグナル伝達ドメインまたはその断片をコードしない、請求項25～29のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。
【請求項３２】
（a）の核酸配列が、3'UTRをコードする配列を含まず、かつ/またはイントロンを含まない、請求項25～31のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。

【請求項３３】
（ａ）の核酸配列が、１つまたは複数の相同性アームに含まれるＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列の１つまたは複数のエクソンとインフレームであるヌクレオチドの配列を含み；任意で、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が、ＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン８の上流にある配列；ＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン３の上流にある配列、任意で、ＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン３を含む配列；および/もしくはＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン２の少なくとも一部分を含む配列であるか、またはそれらを含む、請求項２５～３２のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。
【請求項３４】
１つまたは複数の相同性アームが、内在性ＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン１を含まず、エクソン１の全長を含まず、かつ/またはエクソン２の全長を含まない、請求項２５～３３のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。
【請求項３５】
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、前記ポリヌクレオチドが、構造[５'相同性アーム]-[(ａ)の核酸配列]-[３'相同性アーム]を含み、任意で、５'相同性アームおよび３'相同性アームが、独立に、２００、３００、４００、５００、６００、７００、もしくは８００、もしくは約２００、３００、４００、５００、６００、７００、もしくは８００ヌクレオチドの長さ、もしくはこれらのいずれかの間の任意の値であるか、または３００もしくは約３００ヌクレオチド超の長さ、任意で４００、５００、もしくは６００、もしくは約４００、５００、もしくは６００ヌクレオチドの長さ、もしくはこれらのいずれかの間の任意の値である、請求項２５～３４のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。
【請求項３６】
５'相同性アームが、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:８０に示される配列、もしくはＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:８０に対して少なくとも８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくはそれ以上の配列同一性を示す配列、もしくはそれらの部分配列を含み；かつ/または３'相同性アームが、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:８１に示される配列、もしくはＳＥＱ ＩＤ ＮＯ:８１に対して少なくとも８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくはそれ以上の配列同一性を示す配列、もしくはそれらの部分配列を含む、請求項２５～３５のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。
【請求項３７】
キメラ受容体がキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）である、請求項２５～３６のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。
【請求項３８】
結合ドメインが、抗体またはその抗原結合断片を含む、請求項２６～３７のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。
【請求項３９】
結合ドメインが、ある疾患、障害、もしくは状態の細胞もしくは組織に関連している、それに特異的である、および/またはその上に発現している標的抗原に結合することができ、任意で、該標的抗原が腫瘍抗原であり、かつ/あるいは、標的抗原が、αｖβ６インテグリン（ａｖｂ６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；ＣＡＩＸもしくはＧ２５０としても知られている）、がん精巣抗原、がん/精巣抗原１Ｂ（ＣＴＡＧ；ＮＹ-ＥＳＯ-１およびＬＡＧＥ-２としても知られている）、癌胎児抗原（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、ＣＤ４４ｖ６、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）、上皮成長因子タンパク質（ＥＧＦＲ）、ＩＩＩ型上皮成長因子受容体変異（ＥＧＦＲ ｖＩＩＩ）、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；Fc受容体ホモログ5もしくはFCRH5としても知られている）、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-22Rα）、IL-13受容体アルファ2（IL-13Rα2）、キナーゼインサートドメイン受容体（kdr）、カッパ軽鎖、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）、サバイビン、栄養膜糖タンパク質（TPBG；5T4としても知られている）、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；TYRP1もしくはgp75としても知られている）、チロシナーゼ関連タンパク質2（TRP2；ドパクロムトートメラーゼ、ドパクロムデルタ-イソメラーゼ、もしくはDCTとしても知られている）、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）、病原体特異的抗原もしくは病原体発現抗原、またはユニバーサルタグに関連する抗原、ならびに/またはビオチン化分子、ならびに/またはHIV、HCV、HBV、もしくはその他の病原体によって発現される分子の中から選択される、請求項26～38のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。

【請求項４０】

（a）の核酸配列が、少なくとも1つのさらなるタンパク質をコードするヌクレオチドの配列を含み、任意で、該少なくとも1つのさらなるタンパク質が、代用マーカーであり、任意で、該代用マーカーが、トランケートされた受容体であり、任意で、該トランケートされた受容体が、細胞内シグナル伝達ドメインを欠き、かつ/またはそのリガンドが結合した場合に細胞内シグナル伝達を媒介することができない、請求項25～39のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。

【請求項４１】

（a）の核酸配列が、1つまたは複数のマルチシストロン性エレメントを含み、任意で、該1つまたは複数のマルチシストロン性エレメントが、リボソームスキップ配列であるか、またはそれを含み、任意で、該リボソームスキップ配列がT2A、P2A、E2A、またはF2Aエレメントである、請求項25～40のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。

【請求項４２】

（a）の核酸が、キメラ受容体の一部分をコードするヌクレオチドの配列を含み、1つもしくは複数のマルチシストロン性エレメントが、該キメラ受容体の一部分をコードするヌクレオチドの配列の上流に位置づけられており；かつ/もしくは該キメラ受容体の一部分をコードするヌクレオチドの配列と、少なくとも1つのさらなるタンパク質をコードするヌクレオチドの配列との間に位置づけられている；および/または
該キメラ受容体が、多鎖CARであるCARであり、1つもしくは複数のマルチシストロン性エレメントが、多鎖CARの1つの鎖をコードするヌクレオチドの配列と、該多鎖CARの別の鎖をコードするヌクレオチドの配列との間に位置づけられている、
請求項41記載のポリヌクレオチド。

【請求項４３】

（a）の核酸配列が、キメラ受容体またはその一部分の発現を調節するために機能的に

連結された1つまたは複数の異種の制御エレメントもしくは調節エレメントを含む、請求項25～42のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。
【請求項４４】
直鎖ポリヌクレオチド、任意で二本鎖ポリヌクレオチドまたは一本鎖ポリヌクレオチドであり、任意で、2500もしくは約2500から、5000もしくは約5000ヌクレオチド、3500もしくは約3500から、4500もしくは約4500ヌクレオチド、または3750もしくは約3750ヌクレオチドから、4250もしくは約4250ヌクレオチドの長さである、請求項25～43のいずれか一項記載のポリヌクレオチド。
【請求項４５】
請求項25～44のいずれか一項記載のポリヌクレオチドを含むウイルスベクターであって、任意で、該ウイルスベクターがAAVベクターであり、任意で、該AAVベクターがAAV2もしくはAAV6ベクターであり、または、該ウイルスベクターがレトロウイルスベクター、任意でレンチウイルスベクターである、ウイルスベクター。
【請求項４６】
相同性指向修復（HDR）を誘導するための条件下で、請求項25～44のいずれか一項記載のポリヌクレオチド、または請求項45記載のウイルスベクターを、T細胞中に導入する工程を含む、遺伝子操作されたT細胞を作製する方法。
【請求項４７】
T細胞がCD247遺伝子座における遺伝子破壊を含む、請求項46記載の方法。
【請求項４８】
（a）T細胞の内在性CD247遺伝子座内の標的部位における遺伝子破壊を誘導することができる1つまたは複数の作用物質を、T細胞中に導入する工程；および
（b）請求項25～44のいずれか一項記載のポリヌクレオチド、または請求項45記載のウイルスベクターを、該T細胞中に導入する工程
を含み、
工程(a)および(b)が同時である、または、任意の順序で、逐次的である、
遺伝子操作されたT細胞を作製する方法。
【請求項４９】
前記ポリヌクレオチドが、1つまたは複数の作用物質の導入後に導入される、請求項48記載の方法。
【請求項５０】
キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列が、相同性指向修復（HDR）を介して内在性CD247遺伝子座へ組み込まれる、請求項46～49のいずれか一項記載の方法。
【請求項５１】
キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドを、T細胞中に導入する工程を含む、遺伝子操作されたT細胞を作製する方法であって、該T細胞が、T細胞のCD247遺伝子座内に遺伝子破壊を有し、該キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列が、相同性指向修復（HDR）を介して内在性CD247遺伝子座へ組み込まれる、方法。
【請求項５２】
前記方法が、改変されたCD247遺伝子座を作製し、該改変されたCD247遺伝子座が、CD3ζシグナル伝達ドメインを含む細胞内領域を含むキメラ受容体をコードする核酸配列を含み、該CD3ζシグナル伝達ドメインの少なくとも断片が、内在性CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームによってコードされる、請求項46～51のいずれか一項記載の方法。
【請求項５３】
キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列が、3'UTRをコードする配列を含まず、かつ/またはイントロンを含まない、請求項51～52のいずれか一項記載の方法。
【請求項５４】

ポリヌクレオチドが導入された細胞によって発現された場合に、キメラ受容体が、CD3ζシグナル伝達ドメインを介してシグナル伝達することができる、請求項52～53のいずれか一項記載の方法。

【請求項５５】

コードされるCD3ζシグナル伝達ドメインが、SEQ ID NO:13～15のいずれか1つより選択される配列、またはSEQ ID NO:13～15のいずれか1つに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくはそれ以上の配列同一性を示す配列、またはそれらの断片を含む、請求項52～54のいずれか一項記載の方法。

【請求項５６】

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、前記ポリヌクレオチドが、構造[5'相同性アーム]-[キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列]-[3'相同性アーム]を含む、請求項53～55のいずれか一項記載の方法。

【請求項５７】

遺伝子破壊を誘導することができる1つまたは複数の作用物質が、

標的部位に特異的に結合するかもしくは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ターゲティングタンパク質とヌクレアーゼとを含む融合タンパク質、またはRNA誘導型ヌクレアーゼ

を含み、任意で、該1つまたは複数の作用物質が、

標的部位に特異的に結合するか、標的部位を認識するか、または標的部位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）、および/またはCRISPR-Cas9の組み合わせ

を含み、任意で、該1つまたは複数の作用物質の各々が、少なくとも1つの標的部位に相補的なターゲティングドメインを有するガイドRNA（gRNA）を含む、

請求項48および51～56のいずれか一項記載の方法。

【請求項５８】

前記1つまたは複数の作用物質が、前記gRNAとCas9タンパク質とを含むリボ核タンパク質（RNP）複合体として導入され、任意で、該RNPが、電気穿孔、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、細胞の圧縮または圧搾を介して導入される、請求項57記載の方法。

【請求項５９】

gRNAが、

CACCUUCACUCUCAGGAACA (SEQ ID NO:87); GAAUGACACCAUAGAUGAAG (SEQ ID NO:88); UGAAGAGGAUUCCAUCCAGC (SEQ ID NO:89); および UCCAGCAGGUAGCAGAGUUU (SEQ ID NO:90)

より選択されるターゲティングドメイン配列を有する、請求項57または58記載の方法。

【請求項６０】

gRNAが、

CACCUUCACUCUCAGGAACA (SEQ ID NO:87)

のターゲティングドメイン配列を有する、請求項57～59のいずれか一項記載の方法。

【請求項６１】

gRNAが、

UGAAGAGGAUUCCAUCCAGC (SEQ ID NO:89)

のターゲティングドメイン配列を有する、請求項57～59のいずれか一項記載の方法。

【請求項６２】

前記T細胞が、対象に由来する初代T細胞であり、任意で、該対象がヒトである、請求

項46～61のいずれか一項記載の方法。
【請求項６３】
前記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である、請求項46～62のいずれか一項記載の方法。
【請求項６４】
前記ポリヌクレオチドが、ウイルスベクターに含まれており、任意で、該ウイルスベクターがAAVベクターであり、任意で、該AAVベクターがAAV2ベクターもしくはAAV6ベクターであり、または、該ウイルスベクターが、レトロウイルスベクター、任意でレンチウイルスベクターである、請求項46～63のいずれか一項記載の方法。
【請求項６５】
前記ポリヌクレオチドが、直鎖ポリヌクレオチド、任意で二本鎖ポリヌクレオチドまたは一本鎖ポリヌクレオチドである、請求項46～63のいずれか一項記載の方法。
【請求項６６】
前記ポリヌクレオチドが、前記1つまたは複数の作用物質の導入の後に導入され、任意で、該ポリヌクレオチドが、該作用物質の導入の直後に、またはその後約30秒、1分、2分、3分、4分、5分、6分、6分、8分、9分、10分、15分、20分、30分、40分、50分、60分、90分、2時間、3時間、もしくは4時間以内に導入される、請求項48および51～65のいずれか一項記載の方法。
【請求項６７】
前記1つまたは複数の作用物質の導入の前に、前記方法が、1つまたは複数の免疫細胞を刺激するかまたは活性化するための条件下で、細胞を、1つまたは複数の刺激物質とインビトロでインキュベートする工程を含み、任意で、該1つまたは複数の刺激物質が、抗CD3抗体および/または抗CD28抗体、任意で抗CD3/抗CD28ビーズを含み、任意で、ビーズ対細胞の比が、1:1または約1:1である、請求項48および51～66のいずれか一項記載の方法。
【請求項６８】
前記方法によって生成された複数の操作された細胞中の少なくとも35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、もしくは90％の、または該細胞中の35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、もしくは90％超の細胞が、CD247遺伝子座内の少なくとも1つの標的部位の遺伝子破壊を含み；かつ/または前記方法によって生成された複数の操作された細胞中の少なくとも35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、もしくは90％の、または該細胞中の35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、もしくは90％超の細胞が、キメラ受容体を発現する、請求項46～67のいずれか一項記載の方法。
【請求項６９】
請求項46～68のいずれか一項記載の方法を用いて生成された、遺伝子操作されたT細胞または複数の遺伝子操作されたT細胞。
【請求項７０】
請求項1～24および69のいずれか一項記載の遺伝子操作されたT細胞、または複数の請求項1～24および69のいずれか一項記載の遺伝子操作されたT細胞を含む、組成物。
【請求項７１】
前記組成物が、CD4+T細胞および/またはCD8+T細胞を含み、任意で、CD4+T細胞およびCD8+T細胞を含み、CD4+T細胞対CD8+T細胞の比が、1:3～3:1または約1:3～3:1、任意で1:1である、請求項70記載の組成物。
【請求項７２】
キメラ受容体を発現する細胞が、前記組成物中の全ての細胞のうちの、または前記組成物中の全てのCD4+T細胞もしくはCD8+T細胞のうちの少なくとも30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、または99％を占める、請求項70または71のいずれか一項記載の組成物。

【請求項７３】
ある疾患または障害の処置における使用のための、請求項1～24および70～72のいずれか一項記載の遺伝子操作されたT細胞、複数の遺伝子操作されたT細胞、または組成物。
【請求項７４】
ある疾患または障害を処置するための薬剤の製造における使用のための、請求項1～24および70～72のいずれか一項記載の遺伝子操作されたT細胞、複数の遺伝子操作されたT細胞、または組成物。
【請求項７５】
前記疾患または障害が、がんまたは腫瘍であり、任意で、該がんまたは腫瘍が、血液悪性腫瘍、任意でリンパ腫、白血病、または形質細胞悪性腫瘍であり、あるいは、任意で、該がんまたは腫瘍が、固形腫瘍であり、任意で、該固形腫瘍が、非小細胞肺がん（NSCLC）または頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）である、請求項73～74のいずれか一項記載の使用のための遺伝子操作されたT細胞、複数の遺伝子操作されたT細胞、もしくは組成物。
【請求項７６】
CD247遺伝子座内の標的部位における遺伝子破壊を誘導することができる1つまたは複数の作用物質と、
請求項25～44のいずれか一項記載のポリヌクレオチド、または請求項45記載のウイルスベクターと
を含む、キット。
【請求項７７】
CD247遺伝子座内の標的部位における遺伝子破壊を誘導することができる1つまたは複数の作用物質と、
キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドであって、該キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列が、相同性指向修復（HDR）を介した該標的部位またはその近くへの組み込みのためにターゲティングされる、ポリヌクレオチドと、
請求項46～68のいずれか一項記載の方法を実施するための説明書と
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】０１０６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１０６】
CD247遺伝子座内の標的部位における遺伝子破壊を誘導することができる1つまたは複数の作用物質と；キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドであって、キメラ受容体またはその抗原結合断片もしくは鎖をコードする導入遺伝子が、相同性指向修復（HDR）を介した標的部位またはその近くへの組み込みのためにターゲティングされる、ポリヌクレオチドと；本明細書において提供される態様のいずれかの方法を実施するための説明書とを含むキットも、提供される。
[本発明1001]
改変されたCD247遺伝子座を含む遺伝子操作されたT細胞であって、該改変されたCD247遺伝子座が、CD3ゼータ（CD3ζ）シグナル伝達ドメインを含む細胞内領域を含むキメラ受容体をコードする核酸配列を含む、遺伝子操作されたT細胞。
[本発明1002]
前記核酸配列が、キメラ受容体の一部分をコードする導入遺伝子配列を含み、該導入遺伝子配列が、任意で相同性指向修復（HDR）を介して、T細胞の内在性CD247遺伝子座へ組み込まれている、本発明1001の遺伝子操作されたT細胞。
[本発明1003]
CD3ζシグナル伝達ドメインの全体またはCD3ζシグナル伝達ドメインの断片が、内

在性CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列によってコードされる、本発明1001または本発明1002の遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1004]

キメラ受容体をコードする核酸配列が、（i）キメラ受容体の一部分をコードする導入遺伝子配列と（ii）内在性CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列とのインフレーム融合物を含む、本発明1001～1003のいずれかの遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1005]

改変されたCD247遺伝子座を含む遺伝子操作されたT細胞であって、該改変されたCD247遺伝子座が、CD3ゼータ（CD3ζ）シグナル伝達ドメインを含む細胞内領域を含むキメラ受容体をコードする核酸配列を含み、該核酸配列が、（i）キメラ受容体の一部分をコードする導入遺伝子配列と（ii）CD3ζシグナル伝達ドメインをコードする内在性CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列とのインフレーム融合物を含む、遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1006]

導入遺伝子配列が、内在性CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列の1つまたは複数のエクソンとインフレームである、本発明1002～1005のいずれかの遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1007]

導入遺伝子配列が、3'UTRをコードする配列を含まず、かつ/またはイントロンを含まない、本発明1002～1006のいずれかの遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1008]

導入遺伝子配列が、CD3ζシグナル伝達ドメインの断片をコードするか、またはCD3ζシグナル伝達ドメインもしくはその断片をコードしない、本発明1002～1007のいずれかの遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1009]

オープンリーディングフレームまたはその部分配列が、内在性CD247遺伝子座の少なくとも1つのイントロンおよび少なくとも1つのエクソンを含み、かつ/または内在性CD247遺伝子座の3'UTRをコードする、本発明1003～1008のいずれかの遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1010]

導入遺伝子配列が、内在性CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン1の下流かつエクソン8の上流にあり；任意で内在性CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン1の下流かつエクソン3の上流にある、本発明1002～1009のいずれかの遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1011]

コードされるキメラ受容体のCD3ζシグナル伝達ドメインの少なくとも断片、任意でCD3ζシグナル伝達ドメインの全体が、内在性CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列によってコードされ、任意で、CD3ζシグナル伝達ドメインが、内在性CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン2の少なくとも一部分およびエクソン3～8を含むヌクレオチドの配列；または内在性CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン1を含まず、エクソン1の全長を含まず、かつ/もしくはエクソン2の全長を含まないヌクレオチドの配列によってコードされる、本発明1001～1010のいずれかの遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1012]

コードされるキメラ受容体が、CD3ζシグナル伝達ドメインを介してシグナル伝達することができる、本発明1001～1011のいずれかの遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1013]

コードされるCD3ζシグナル伝達ドメインが、SEQ ID NO:13～15のいずれか1つより選択される配列、またはSEQ ID NO:13～15のいずれか1つに対して少なくとも85％

、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくはそれ以上の配列同一性を示す配列、またはそれらの断片を含む、本発明１００１～１０１２のいずれかの遺伝子操作されたＴ細胞。

[本発明１０１４]

キメラ受容体がキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）である、本発明１００１～１０１３のいずれかの遺伝子操作されたＴ細胞。

[本発明１０１５]

キメラ受容体が、結合ドメインを含む細胞外領域と、膜貫通ドメインと、細胞内領域とを含む、本発明１００１～１０１４のいずれかの遺伝子操作されたＴ細胞。

[本発明１０１６]

結合ドメインが、抗体またはその抗原結合断片を含む、本発明１０１５の遺伝子操作されたＴ細胞。

[本発明１０１７]

結合ドメインが、ある疾患、障害、もしくは状態の細胞もしくは組織に関連している、それに特異的である、および/またはその上に発現している標的抗原に結合することができ、任意で、該標的抗原が腫瘍抗原である、本発明１０１５または１０１６の遺伝子操作されたＴ細胞。

[本発明１０１８]

標的抗原が、αｖβ６インテグリン（ａｖｂ６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；ＣＡＩＸもしくはＧ２５０としても知られている）、がん精巣抗原、がん/精巣抗原１Ｂ（ＣＴＡＧ；ＮＹ-ＥＳＯ-１およびＬＡＧＥ-２としても知られている）、癌胎児抗原（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、ＣＤ４４ｖ６、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）、上皮成長因子タンパク質（ＥＧＦＲ）、ＩＩＩ型上皮成長因子受容体変異（ＥＧＦＲ ｖＩＩＩ）、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；Ｆｃ受容体ホモログ５もしくはＦＣＲＨ５としても知られている）、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-２２Ｒα）、ＩＬ-１３受容体アルファ２（ＩＬ-１３Ｒα２）、キナーゼインサートドメイン受容体（ｋｄｒ）、カッパ軽鎖、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）、サバイビン、栄養膜糖タンパク質（ＴＰＢＧ；５Ｔ４としても知られている）、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；ＴＹＲＰ１もしくはｇｐ７５としても知られている）、チロシナーゼ関連タンパク質２（ＴＲＰ２；ドパクロムトートメラーゼ、ドパクロムデルタ-イソメラーゼ、もしくはＤＣＴとしても知られている）、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）、病原体特異的抗原もしくは病原体発現抗原、またはユニバーサルタグに関連する抗原、ならびに/またはビオチン化分子、な

らびに/またはHIV、HCV、HBV、もしくはその他の病原体によって発現される分子の中から選択される、本発明1017の遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1019]

細胞外領域が、スペーサーを含み、任意で、該スペーサーが、結合ドメインと膜貫通ドメインとの間に機能的に連結されている、本発明1015～1018のいずれかの遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1020]

スペーサーが、免疫グロブリンヒンジ領域、ならびに/または$C_H2$領域および$C_H3$領域を含む、本発明1019の遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1021]

細胞内領域が、1つまたは複数の共刺激シグナル伝達ドメインを含む、本発明1001～1020のいずれかの遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1022]

1つまたは複数の共刺激シグナル伝達ドメインが、CD28、4-1BB、もしくはICOSの細胞内シグナル伝達ドメイン、またはそれらのシグナル伝達部分を含む、本発明1021の遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1023]

導入遺伝子配列が、順番に、結合ドメイン、任意で単鎖Fv断片（scFv）と；ヒト免疫グロブリンヒンジ由来の、任意でIgG1、IgG2、もしくはIgG4、もしくはそれらの改変バージョン由来の配列を任意で含み、$C_H2$領域および/もしくは$C_H3$領域を任意でさらに含む、スペーサーと；任意でヒトCD28由来の、膜貫通ドメインと；任意でヒト4-1BB由来の、共刺激シグナル伝達ドメインを含む細胞内領域とをコードするヌクレオチドの配列を含み；かつ/または

改変されたCD247遺伝子座が、順番に、結合ドメイン、任意でscFvと；ヒト免疫グロブリンヒンジ由来の、任意でIgG1、IgG2、もしくはIgG4、もしくはそれらの改変バージョン由来の配列を任意で含み、$C_H2$領域および/もしくは$C_H3$領域を任意でさらに含む、スペーサーと；任意でヒトCD28由来の、膜貫通ドメインと；任意でヒト4-1BB由来の、共刺激シグナル伝達ドメインを含む細胞内領域と；CD3ζシグナル伝達ドメインとをコードするヌクレオチドの配列を含む、

本発明1002～1022のいずれかの遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1024]

導入遺伝子配列が、少なくとも1つのさらなるタンパク質をコードするヌクレオチドの配列を含む、本発明1002～1023のいずれかの遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1025]

少なくとも1つのさらなるタンパク質が、代用マーカーであり、任意で、該代用マーカーが、トランケートされた受容体であり、任意で、該トランケートされた受容体が、細胞内シグナル伝達ドメインを欠き、かつ/またはそのリガンドが結合した場合に細胞内シグナル伝達を媒介することができない、本発明1024の遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1026]

導入遺伝子配列が、1つまたは複数のマルチシストロン性エレメントを含む、本発明1002～1025のいずれかの遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1027]

導入遺伝子配列が、キメラ受容体の一部分をコードするヌクレオチドの配列を含み、1つもしくは複数のマルチシストロン性エレメントが、キメラ受容体の一部分をコードするヌクレオチドの配列の上流に位置づけられており；かつ/もしくはキメラ受容体の一部分をコードするヌクレオチドの配列と、少なくとも1つのさらなるタンパク質をコードするヌクレオチドの配列との間に位置づけられている；および/または

キメラ受容体が、多鎖CARであるCARであり、1つもしくは複数のマルチシストロン性エレメントが、多鎖CARの1つの鎖をコードするヌクレオチドの配列と、多鎖CARの別の鎖をコードするヌクレオチドの配列との間に位置づけられている、

本発明１０２６の遺伝子操作されたＴ細胞。
[本発明１０２８]
１つまたは複数のマルチシストロン性エレメントが、リボソームスキップ配列であるか、またはそれを含み、任意で、該リボソームスキップ配列が、Ｔ２Ａ、Ｐ２Ａ、Ｅ２Ａ、またはＦ２Ａエレメントである、本発明１０２６または１０２７の遺伝子操作されたＴ細胞。
[本発明１０２９]
改変されたＣＤ２４７遺伝子座が、キメラ受容体をコードする核酸配列の発現を調節するために機能的に連結された内在性ＣＤ２４７遺伝子座のプロモーターおよび/もしくは制御エレメントもしくは調節エレメントを含むか；または、改変されたＣＤ２４７遺伝子座が、キメラ受容体もしくはその一部分の発現を調節するために機能的に連結された１つもしくは複数の異種の制御エレメントもしくは調節エレメントを含む、本発明１００１～１０２８のいずれかの遺伝子操作されたＴ細胞。
[本発明１０３０]
前記Ｔ細胞が、対象に由来する初代Ｔ細胞であり、任意で、該対象がヒトである、本発明１００１～１０２９のいずれかの遺伝子操作されたＴ細胞。
[本発明１０３１]
前記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である、本発明１００１～１０３０のいずれかの遺伝子操作されたＴ細胞。
[本発明１０３２]
（ａ）キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列と、
（ｂ）該核酸配列に連結された１つまたは複数の相同性アームであって、ＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列の１つまたは複数の領域に相同な配列を含む、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。
[本発明１０３３]
（ａ）の核酸配列が、キメラ受容体の一部分をコードし、該核酸配列によってコードされる該キメラ受容体の該一部分が、結合ドメインを含む細胞外領域と、膜貫通ドメインとを含み、細胞内領域のＣＤ３ゼータ（ＣＤ３ζ）シグナル伝達ドメインの全体を含まない、本発明１０３２のポリヌクレオチド。
[本発明１０３４]
（ａ）キメラ受容体の一部分をコードする核酸配列であって、該キメラ受容体が、ＣＤ３ゼータ（ＣＤ３ζ）シグナル伝達ドメインを含む細胞内領域を含み、該核酸配列によってコードされる該キメラ受容体の該一部分が、結合ドメインを含む細胞外領域と、膜貫通ドメインとを含み、細胞内領域のＣＤ３ゼータ（ＣＤ３ζ）シグナル伝達ドメインの全体を含まない、核酸配列と、
（ｂ）該核酸配列に連結された１つまたは複数の相同性アームであって、ＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列の１つまたは複数の領域に相同な配列を含む、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。
[本発明１０３５]
（ａ）の核酸配列が、Ｔ細胞、任意でヒトＴ細胞の内在性ゲノムＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームにとって外来性または異種である配列である、本発明１０３２～１０３４のいずれかのポリヌクレオチド。
[本発明１０３６]
オープンリーディングフレームまたはその部分配列が、Ｔ細胞、任意でヒトＴ細胞の内在性ＣＤ２４７遺伝子座の少なくとも１つのイントロンおよび少なくとも１つのエクソンおよび/または3'ＵＴＲを含む、本発明１０３２～１０３５のいずれかのポリヌクレオチド。
[本発明１０３７]
ポリヌクレオチドが導入された細胞からキメラ受容体が発現される場合に、ＣＤ３ζシグナル伝達ドメインの少なくとも断片、任意でＣＤ３ζシグナル伝達ドメインの全体が、内

在性CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列によってコードされる、本発明1032～1036のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1038]

（a）の核酸配列が、CD3ζシグナル伝達ドメインの断片をコードする、本発明1032～1037のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1039]

（a）の核酸配列が、CD3ζシグナル伝達ドメインをコードしない、本発明1032～1037のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1040]

（a）の核酸配列が、3'UTRをコードする配列を含まず、かつ/またはイントロンを含まない、本発明1032～1039のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1041]

（a）の核酸配列が、1つまたは複数の相同性アームに含まれるCD247遺伝子座のオープンリーディングフレームまたはその部分配列の1つまたは複数のエクソンとインフレームであるヌクレオチドの配列を含み；任意で、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が、CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン8の上流にある配列；CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン3の上流にある配列、任意で、CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン3を含む配列；および/もしくはCD247遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン2の少なくとも一部分を含む配列であるか、またはそれらを含む、本発明1032～1040のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1042]

1つまたは複数の相同性アームが、内在性CD247遺伝子座のオープンリーディングフレームのエクソン1を含まず、エクソン1の全長を含まず、かつ/またはエクソン2の全長を含まない、本発明1032～1041のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1043]

ポリヌクレオチドが導入された細胞によって発現された場合に、キメラ受容体が、CD3ζシグナル伝達ドメインを介してシグナル伝達することができる、本発明1032～1042のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1044]

CD3ζシグナル伝達ドメインの全体が、SEQ ID NO:13～15のいずれか1つより選択される配列、またはSEQ ID NO:13～15のいずれか1つに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくはそれ以上の配列同一性を示す配列、またはそれらの断片を含む、本発明1033～1043のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1045]

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、前記ポリヌクレオチドが、構造[5'相同性アーム]-[(a)の核酸配列]-[3'相同性アーム]を含む、本発明1032～1045のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1046]

5'相同性アームおよび3'相同性アームが、独立に、200、300、400、500、600、700、もしくは800、もしくは約200、300、400、500、600、700、もしくは800ヌクレオチドの長さ、もしくはこれらのいずれかの間の任意の値であるか、または300もしくは約300ヌクレオチド超の長さ、任意で400、500、もしくは600、もしくは約400、500、もしくは600ヌクレオチドの長さ、もしくはこれらのいずれかの間の任意の値である、本発明1032～1045のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1047]

5'相同性アームが、SEQ ID NO:80に示される配列、もしくはSEQ ID NO:80に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくはそれ以上の配列同一性を示す配列、もしく

はそれらの部分配列を含み；かつ/または3'相同性アームが、SEQ ID NO:81に示される配列、もしくはSEQ ID NO:81に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくはそれ以上の配列同一性を示す配列、もしくはそれらの部分配列を含む、本発明1032～1046のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1048]

キメラ受容体がキメラ抗原受容体（CAR）である、本発明1032～1047のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1049]

結合ドメインが、抗体もしくはその抗原結合断片であるか、またはそれを含む、本発明1033～1048のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1050]

結合ドメインが、ある疾患、障害、もしくは状態の細胞もしくは組織に関連している、それに特異的である、および/またはその上に発現している標的抗原に結合することができ、任意で、該標的抗原が腫瘍抗原である、本発明1033～1049のいずれかのポリヌクレオチド。

[本発明1051]

標的抗原が、αvβ6インテグリン（avb6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；CAIXもしくはG250としても知られている）、がん精巣抗原、がん/精巣抗原1B（CTAG；NY-ESO-1およびLAGE-2としても知られている）、癌胎児抗原（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、CD44v6、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）、上皮成長因子タンパク質（EGFR）、III型上皮成長因子受容体変異（EGFR vIII）、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；Fc受容体ホモログ5もしくはFCRH5としても知られている）、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-22Rα）、IL-13受容体アルファ2（IL-13Rα2）、キナーゼインサートドメイン受容体（kdr）、カッパ軽鎖、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）、サバイビン、栄養膜糖タンパク質（TPBG；5T4としても知られている）、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；TYRP1もしくはgp75としても知られている）、チロシナーゼ関連タンパク質2（TRP2；ドパクロムトートメラーゼ、ドパクロムデルタ-イソメラーゼ、もしくはDCTとしても知られている）、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）、病原体特異的抗原もしくは病原体発現抗原、またはユニバーサルタグに関連する抗原、ならびに/またはビオチン化分子、ならびに/またはHIV、HCV、HBV、もしくはその他の病原体によって発現される分子の中

から選択される、本発明1050のポリヌクレオチド。
[本発明1052]
細胞外領域が、スペーサーを含み、任意で、該スペーサーが、結合ドメインと膜貫通ドメインとの間に機能的に連結されている、本発明1033～1051のいずれかのポリヌクレオチド。
[本発明1053]
スペーサーが、免疫グロブリンヒンジ領域、ならびに/または$C_H2$領域および$C_H3$領域を含む、本発明1052のポリヌクレオチド。
[本発明1054]
細胞内領域が、1つまたは複数の共刺激シグナル伝達ドメインを含む、本発明1033～1053のいずれかのポリヌクレオチド。
[本発明1055]
1つまたは複数の共刺激シグナル伝達ドメインが、CD28、4-1BB、もしくはICOSの細胞内シグナル伝達ドメイン、またはそれらのシグナル伝達部分を含む、本発明1054のポリヌクレオチド。
[本発明1056]
（a）の核酸配列が、順番に、結合ドメイン、任意で単鎖Fv断片（scFv）と；ヒト免疫グロブリンヒンジ由来の、任意でIgG1、IgG2、もしくはIgG4、またはそれらの改変バージョン由来の配列を任意で含み、$C_H2$領域および/または$C_H3$領域を任意でさらに含む、スペーサーと；任意でヒトCD28由来の、膜貫通ドメインと；任意でヒト4-1BB由来の、共刺激シグナル伝達ドメインを含む細胞内領域とをコードするヌクレオチドの配列を含む、本発明1032～1055のいずれかのポリヌクレオチド。
[本発明1057]
（a）の核酸配列が、少なくとも1つのさらなるタンパク質をコードするヌクレオチドの配列を含む、本発明1032～1056のいずれかのポリヌクレオチド。
[本発明1058]
少なくとも1つのさらなるタンパク質が、代用マーカーであり、任意で、該代用マーカーが、トランケートされた受容体であり、任意で、該トランケートされた受容体が、細胞内シグナル伝達ドメインを欠き、かつ/またはそのリガンドが結合した場合に細胞内シグナル伝達を媒介することができない、本発明1057のポリヌクレオチド。
[本発明1059]
（a）の核酸配列が、1つまたは複数のマルチシストロン性エレメントを含む、本発明1032～1058のいずれかのポリヌクレオチド。
[本発明1060]
（a）の核酸が、キメラ受容体の一部分をコードするヌクレオチドの配列を含み、1つもしくは複数のマルチシストロン性エレメントが、キメラ受容体の一部分をコードするヌクレオチドの配列の上流に位置づけられており；かつ/もしくはキメラ受容体の一部分をコードするヌクレオチドの配列と、少なくとも1つのさらなるタンパク質をコードするヌクレオチドの配列との間に位置づけられている；および/または
キメラ受容体が、多鎖CARであるCARであり、1つもしくは複数のマルチシストロン性エレメントが、多鎖CARの1つの鎖をコードするヌクレオチドの配列と、多鎖CARの別の鎖をコードするヌクレオチドの配列との間に位置づけられている、
本発明1059のポリヌクレオチド。
[本発明1061]
1つまたは複数のマルチシストロン性エレメントが、リボソームスキップ配列であるか、またはそれを含み、任意で、該リボソームスキップ配列が、T2A、P2A、E2A、またはF2Aエレメントである、本発明1059または1060のポリヌクレオチド。
[本発明1062]
（a）の核酸配列が、キメラ受容体またはその一部分の発現を調節するために機能的に連結された1つまたは複数の異種の制御エレメントもしくは調節エレメントを含む、本発

明１０３２～１０６１のいずれかのポリヌクレオチド。
[本発明１０６３]
ウイルスベクターに含まれている、本発明１０３２～１０６２のいずれかのポリヌクレオチド。
[本発明１０６４]
ウイルスベクターがＡＡＶベクターであり、任意で、該ＡＡＶベクターがＡＡＶ２ベクターまたはＡＡＶ６ベクターである、本発明１０６３のポリヌクレオチド。
[本発明１０６５]
ウイルスベクターが、レトロウイルスベクター、任意でレンチウイルスベクターである、本発明１０６３のポリヌクレオチド。
[本発明１０６６]
直鎖ポリヌクレオチド、任意で二本鎖ポリヌクレオチドまたは一本鎖ポリヌクレオチドである、本発明１０３２～１０６３のいずれかのポリヌクレオチド。
[本発明１０６７]
２５００もしくは約２５００から、５０００もしくは約５０００ヌクレオチド、３５００もしくは約３５００から、４５００もしくは約４５００ヌクレオチド、または３７５０もしくは約３７５０ヌクレオチドから、４２５０もしくは約４２５０ヌクレオチドの長さである、本発明１０３２～１０６６のいずれかのポリヌクレオチド。
[本発明１０６８]
本発明１０３２～１０６７のいずれかのポリヌクレオチドを、ＣＤ２４７遺伝子座における遺伝子破壊を含むＴ細胞中に導入する工程を含む、遺伝子操作されたＴ細胞を作製する方法。
[本発明１０６９]
（ａ）Ｔ細胞の内在性ＣＤ２４７遺伝子座内の標的部位における遺伝子破壊を誘導することができる１つまたは複数の作用物質を、Ｔ細胞中に導入する工程；および
（ｂ）本発明１０３２～１０６７のいずれかのポリヌクレオチドを、ＣＤ２４７遺伝子座における遺伝子破壊を含むＴ細胞中に導入する工程
を含む、遺伝子操作されたＴ細胞を作製する方法。
[本発明１０７０]
キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列が、相同性指向修復（ＨＤＲ）を介して内在性ＣＤ２４７遺伝子座へ組み込まれる、本発明１０６８または１０６９の方法。
[本発明１０７１]
キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドを、Ｔ細胞中に導入する工程を含む、遺伝子操作されたＴ細胞を作製する方法であって、該Ｔ細胞が、Ｔ細胞のＣＤ２４７遺伝子座内に遺伝子破壊を有し、該キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列が、相同性指向修復（ＨＤＲ）を介して内在性ＣＤ２４７遺伝子座へ組み込まれる、方法。
[本発明１０７２]
遺伝子破壊が、Ｔ細胞の内在性ＣＤ２４７遺伝子座内の標的部位における遺伝子破壊を誘導することができる１つまたは複数の作用物質を、Ｔ細胞中に導入することによって実施される、本発明１０６８、１０７０、および１０７１のいずれかの方法。
[本発明１０７３]
前記方法が、改変されたＣＤ２４７遺伝子座を作製し、該改変されたＣＤ２４７遺伝子座が、ＣＤ３ζシグナル伝達ドメインを含む細胞内領域を含むキメラ受容体をコードする核酸配列を含み、該ＣＤ３ζシグナル伝達ドメインの少なくとも断片が、内在性ＣＤ２４７遺伝子座のオープンリーディングフレームによってコードされる、本発明１０６８～１０７２のいずれかの方法。
[本発明１０７４]
前記ポリヌクレオチドが、前記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み、１つまたは複数の相同性アームが、ＣＤ２４７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、本発明１０７１～１０７３のいずれかの方

法。
[本発明1075]
キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列が、3'UTRをコードする配列を含まず、かつ/またはイントロンを含まない、本発明1071～1074のいずれかの方法。
[本発明1076]
ポリヌクレオチドが導入された細胞によって発現された場合に、キメラ受容体が、CD3ζシグナル伝達ドメインを介してシグナル伝達することができる、本発明1073～1075のいずれかの方法。
[本発明1077]
コードされるCD3ζシグナル伝達ドメインが、SEQ ID NO:13～15のいずれか1つより選択される配列、またはSEQ ID NO:13～15のいずれか1つに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、もしくはそれ以上の配列同一性を示す配列、またはそれらの断片を含む、本発明1073～1076のいずれかの方法。
[本発明1078]
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、前記ポリヌクレオチドが、構造[5'相同性アーム]-[キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列]-[3'相同性アーム]を含む、本発明1074～1077のいずれかの方法。
[本発明1079]
遺伝子破壊を誘導することができる1つまたは複数の作用物質が、
標的部位に特異的に結合するかもしくは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ターゲティングタンパク質とヌクレアーゼとを含む融合タンパク質、またはRNA誘導型ヌクレアーゼ
を含み、任意で、該1つまたは複数の作用物質が、
標的部位に特異的に結合するか、標的部位を認識するか、または標的部位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の組み合わせ
を含む、本発明1069および1072～1078のいずれかの方法。
[本発明1080]
前記1つまたは複数の作用物質の各々が、少なくとも1つの標的部位に相補的なターゲティングドメインを有するガイドRNA（gRNA）を含む、本発明1069および1072～1079のいずれかの方法。
[本発明1081]
前記1つまたは複数の作用物質が、gRNAとCas9タンパク質とを含むリボ核タンパク質（RNP）複合体として導入され、任意で、RNPが、電気穿孔、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、細胞の圧縮または圧搾を介して、任意で電気穿孔を介して導入される、本発明1080の方法。
[本発明1082]
RNPの濃度が、1、2、2.5、5、10、20、25、30、40、もしくは50、または約1、2、2.5、5、10、20、25、30、40、もしくは50μM、またはこれらの値のうちの任意の2つによって定義される範囲であり、任意で、RNPの濃度が、25または約25μMである、本発明1081の方法。
[本発明1083]
RNP内のgRNAとCas9分子とのモル比が、5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4、もしくは1:5、または約5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4、もしくは1:5、またはこれらの値のうちの任意の2つによって定義される範囲であり、任意で、RNP内のgRNAとCas9分子とのモル比が、2.6:1または約2.6:1である、本発明1080～1082のいずれかの方法。
[本発明1084]
gRNAが、

CACCUUCACUCUCAGGAACA (SEQ ID NO:87); GAAUGACACCAUAGAUGAAG (SEQ ID NO:88); UGAAGAGGAUUCCAUCCAGC (SEQ ID NO:89); および UCCAGCAGGUAGCAGAGUUU (SEQ ID NO:90)

より選択されるターゲティングドメイン配列を有する、本発明1080～1083のいずれかの方法。

[本発明1085]

gRNAが、

CACCUUCACUCUCAGGAACA (SEQ ID NO:87)

のターゲティングドメイン配列を有する、本発明1080～1084のいずれかの方法。

[本発明1086]

gRNAが、

UGAAGAGGAUUCCAUCCAGC (SEQ ID NO:89)

のターゲティングドメイン配列を有する、本発明1080～1084のいずれかの方法。

[本発明1087]

前記T細胞が、対象に由来する初代T細胞であり、任意で、該対象がヒトである、本発明1068～1086のいずれかの方法。

[本発明1088]

前記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である、本発明1068～1087のいずれかの方法。

[本発明1089]

前記ポリヌクレオチドが、ウイルスベクターに含まれている、本発明1068～1088のいずれかの方法。

[本発明1090]

ウイルスベクターがAAVベクターであり、任意で、該AAVベクターがAAV2ベクターまたはAAV6ベクターである、本発明1089の方法。

[本発明1091]

ウイルスベクターが、レトロウイルスベクター、任意でレンチウイルスベクターである、本発明1089の方法。

[本発明1092]

前記ポリヌクレオチドが、直鎖ポリヌクレオチド、任意で二本鎖ポリヌクレオチドまたは一本鎖ポリヌクレオチドである、本発明1068～1088のいずれかの方法。

[本発明1093]

前記ポリヌクレオチドが、前記1つまたは複数の作用物質の導入の後に導入される、本発明1069および1072～1092のいずれかの方法。

[本発明1094]

前記ポリヌクレオチドが、前記作用物質の導入の直後に、またはその後約30秒、1分、2分、3分、4分、5分、6分、6分、8分、9分、10分、15分、20分、30分、40分、50分、60分、90分、2時間、3時間、もしくは4時間以内に導入される、本発明1093の方法。

[本発明1095]

前記1つまたは複数の作用物質の導入の前に、前記方法が、1つまたは複数の免疫細胞を刺激するかまたは活性化するための条件下で、細胞を、1つまたは複数の刺激物質とインビトロでインキュベートする工程を含み、任意で、該1つまたは複数の刺激物質が、抗CD3/抗CD28抗体、任意で抗CD3/抗CD28ビーズを含み、任意で、ビーズ対細胞の比が、1:1または約1:1である、本発明1069および1072～1094のいずれかの方法。

[本発明1096]

前記方法が、前記1つもしくは複数の作用物質の導入および/または前記ポリヌクレオチドの導入の前、最中、または後に、細胞を、1つまたは複数の組換えサイトカインとインキュベートする工程をさらに含み、任意で、該1つまたは複数の組換えサイトカインが、IL-2、IL-7、およびIL-15からなる群より選択され、任意で、該1つまたは複数の組換えサイトカインが、10もしくは約10U/mLから、200もしくは約200U/mL、任意で50もしくは約50IU/mLから、100もしくは約100U/mlのIL-2の濃度；0.5ng/mL～50ng/mL、任意で5もしくは約5ng/mLから、10もしくは約10ng/mLのIL-7の濃度；および/または0.1ng/mL～20ng/mL、任意で0.5もしくは約0.5ng/mLから、5もしくは約5ng/mlのIL-15の濃度より選択される濃度で添加される、本発明1069および1072～1095のいずれかの方法。

[本発明1097]

インキュベーションが、前記1つまたは複数の作用物質の導入および前記ポリヌクレオチドの導入の後に、最大24時間、36時間、48時間、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、もしくは21日間、またはおよそ24時間、36時間、48時間、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、もしくは21日間、任意で最大7日間または約7日間、実施される、本発明1095または1096の方法。

[本発明1098]

前記方法によって生成された複数の操作された細胞中の少なくとも35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、もしくは90%の、または該細胞中の35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、もしくは90%超の細胞が、CD247遺伝子座内の少なくとも1つの標的部位の遺伝子破壊を含み；かつ/または前記方法によって生成された複数の操作された細胞中の少なくとも35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、もしくは90%の、または該細胞中の35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、もしくは90%超の細胞が、キメラ受容体を発現する、本発明1068～1097のいずれかの方法。

[本発明1099]

本発明1068～1098のいずれかの方法を用いて生成された、遺伝子操作されたT細胞または複数の遺伝子操作されたT細胞。

[本発明1100]

本発明1001～1031および1099のいずれかの遺伝子操作されたT細胞または本発明1001～1031および1099のいずれかの複数の遺伝子操作されたT細胞を含む、組成物。

[本発明1101]

CD4+T細胞および/またはCD8+T細胞を含む、本発明1100の組成物。

[本発明1102]

組成物が、CD4+T細胞およびCD8+T細胞を含み、CD4+T細胞対CD8+T細胞の比が、1:3～3:1または約1:3～3:1、任意で1:1である、本発明1101の組成物。

[本発明1103]

キメラ受容体を発現する細胞が、組成物中の全ての細胞のうちの、または組成物中の全てのCD4+T細胞もしくはCD8+T細胞のうちの少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれよりも多くを占める、本発明1100～1102のいずれかの組成物。

[本発明1104]

本発明1001～1031および1100～1103のいずれかの遺伝子操作されたT細胞、複数の遺伝子操作されたT細胞、または組成物を、ある疾患または障害を有する対象へ投与する工程を含む、処置の方法。

[本発明1105]

ある疾患または障害の処置のための、本発明1001～1031および1100～1103のいずれかの遺伝子操作されたT細胞、複数の遺伝子操作されたT細胞、または組成物の、使用。

[本発明1106]
ある疾患または障害を処置するための薬剤の製造における、本発明1001～1031および1100～1103のいずれかの遺伝子操作されたT細胞、複数の遺伝子操作されたT細胞、または組成物の、使用。
[本発明1107]
ある疾患または障害の処置における使用のための、本発明1001～1031および1100～1103のいずれかの遺伝子操作されたT細胞、複数の遺伝子操作されたT細胞、または組成物。
[本発明1108]
前記疾患または障害が、がんまたは腫瘍である、本発明1104～1107のいずれかの方法、使用、または使用のための遺伝子操作されたT細胞、複数の遺伝子操作されたT細胞、もしくは組成物。
[本発明1109]
前記がんまたは腫瘍が、血液悪性腫瘍、任意でリンパ腫、白血病、または形質細胞悪性腫瘍である、本発明1108の方法、使用、または使用のための遺伝子操作されたT細胞、複数の遺伝子操作されたT細胞、もしくは組成物。
[本発明1110]
前記がんまたは腫瘍が、固形腫瘍であり、任意で、該固形腫瘍が、非小細胞肺がん（NSCLC）または頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）である、本発明1108の方法、使用、または使用のための遺伝子操作されたT細胞、複数の遺伝子操作されたT細胞、もしくは組成物。
[本発明1111]
CD247遺伝子座内の標的部位における遺伝子破壊を誘導することができる1つまたは複数の作用物質と、
本発明1032～1067のいずれかのポリヌクレオチドと
を含む、キット。
[本発明1112]
CD247遺伝子座内の標的部位における遺伝子破壊を誘導することができる1つまたは複数の作用物質と、
キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドであって、該キメラ受容体またはその一部分をコードする核酸配列が、相同性指向修復（HDR）を介した標的部位またはその近くへの組み込みのためにターゲティングされる、ポリヌクレオチドと、
本発明1068～1098のいずれかの方法を実施するための説明書と
を含む、キット。