

【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 3 年 12 月 9 日 (2021.12.9)

【公表番号】特表 2021-501578 (P2021-501578A)

【公表日】令和 3 年 1 月 21 日 (2021.1.21)

【年通号数】公開・登録公報 2021-003

【出願番号】特願 2020-524196 (P2020-524196)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/86 (2006.01)

C 1 2 N 15/867 (2006.01)

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/113 (2010.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 K 35/17 (2015.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

C 1 2 N 5/0783 (2010.01)

【F I】

C 1 2 N 15/86 Z N A Z

C 1 2 N 15/867 Z

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 15/13

C 1 2 N 15/113 Z

C 1 2 N 5/10

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 31/12

A 6 1 K 35/17 Z

A 6 1 K 48/00

C 1 2 N 5/0783

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 10 月 29 日 (2021.10.29)

【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】

1 種またはこれより多くの異種核酸を含むナチュラルキラー (NK) 細胞を生成する方法であって、前記方法は、

活性化 NK 細胞の集団を生成するために、単離された NK 細胞の集団を、インターロイキン - 2 (IL - 2) の存在下で少なくとも 2 日間培養する工程；

形質導入された NK 細胞の集団を生成するために、前記活性化 NK 細胞の集団を、1 種またはこれより多くの異種核酸を含むウイルスベクターで形質導入する工程であって、前記形質導入する工程は、to l l 様レセプター (TLR) もしくは RIG - I 様レセプター (RLR) の 1 種もしくはこれより多くのインヒビター、および / または TBK 1 / I

K K の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターの存在下で行われる、工程；ならびに形質導入された N K 細胞の拡大増殖された集団を生成するために、前記形質導入された N K 細胞の集団を、I L - 2 および照射されたフィーダー細胞の存在下で培養する工程、を包含する、方法。

【請求項 2】

a) 前記 N K 細胞の集団は、I L - 2 の存在下でかつ照射されたフィーダー細胞の非存在下で培養される、および / もしくは前記活性化 N K 細胞は、照射されたフィーダー細胞の非存在下で、前記ウイルスベクターで形質導入される；または

b) 前記 N K 細胞の集団は、I L - 2 の存在下でかつ照射されたフィーダー細胞の存在下で培養される、および / もしくは前記活性化 N K 細胞は、照射されたフィーダー細胞の存在下で、前記ウイルスベクターで形質導入される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記単離された N K 細胞の集団を、I L - 2 の存在下で培養する工程は、前記単離された N K 細胞の集団を、5 0 0 I U / m l I L - 2 を含む細胞培養培地中で培養することを包含する、請求項 1 または請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記単離された N K 細胞の集団は、I L - 2 の存在下でかつ他のサイトカインは添加されずに培養される、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

T L R および / もしくは R L R の 1 種もしくはこれより多くのインヒビター、ならびに / または T B K 1 / I K K の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターは、B X 7 9 5、2 - アミノプリン、B A Y 1 1 - 7 0 8 2、セラストロール、C L I - 0 9 5、H - 8 9、ノルハルマン、I R A K 1 / 4 インヒビター、M R T 6 7 3 0 7、A Z 1 3 1 0 2 9 0、M P I - 0 4 8 5 5 2 0、アレキサノクス、化合物 I I、および S R 8 1 8 5 の 1 種もしくはこれより多くである、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

T L R および / もしくは R L R の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターならびに / または T B K 1 / I K K の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターは、B X 7 9 5 である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記 1 種またはこれより多くの異種核酸を含むウイルスベクターは、レンチウイルスベクターである、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記レンチウイルスベクターは、配列番号 8 ~ 1 9 のいずれか 1 つと少なくとも 9 0 % 配列同一性を有する核酸配列を含むかまたはからなる、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記照射されたフィーダー細胞 対 前記形質導入された N K 細胞の比は、約 1 0 : 1 である、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 0】

前記照射されたフィーダー細胞は、エプスタイン・バーウイルスで形質転換されたリンパ芽球系細胞株または K 5 6 2 細胞を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 1】

前記異種核酸は、

高親和性 C D 1 6 ( C D 1 6 - V 1 5 8 )、C X C R 4、C C R 7、C X C R 3、C D 3 4、ダブルネガティブ T G F タイプ I I レセプター、V L A - 4、L F A - 1、C D 1 9、もしくは C D 4；

腫瘍細胞上で発現される抗原に特異的に結合するキメラ抗原レセプター (C A R) であって、ここで前記異種核酸は、C D 1 9、C D 2 0、C D 3 3、C D 1 3 8、C S 1、G D 2、H E R 2、e r b B 2 -、C E A、E p C A M、N K G 2 D - L、もしくは T R A

I L - R 1 に特異的に結合する C A R をコードする C A R ；

細胞内ドメインを欠く短縮型 C D 3 4 タンパク質をコードする核酸分子；および / または

低分子ヘアピン型 R N A ( s h R N A )、低分子干渉 R N A ( s i R N A )、もしくはアンチセンス核酸、

をコードする、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記 N K 細胞の集団は、I L - 2 の存在下かつ照射されたフィーダー細胞の存在下で培養されて、活性化 N K 細胞の集団を生成し、前記フィーダー細胞は、C D 1 9 免疫除去および / または C D 5 6 免疫選択を使用して、前記活性化 N K 細胞から実質的に分離される、請求項 2 b に記載の方法。

【請求項 1 3】

腫瘍、過剰増殖性疾患、またはウイルス感染を有する被験体を処置する方法において使用するための、形質導入された N K 細胞の拡大増殖された集団を含む組成物であって、前記方法は、

単離されたナチュラルキラー ( N K ) 細胞の集団を、前記被験体またはドナーから得る工程；

活性化 N K 細胞の集団を生成するために、単離された N K 細胞の集団を、インターロイキン - 2 ( I L - 2 ) の存在下で少なくとも 2 日間培養する工程；

形質導入された N K 細胞の集団を生成するために、前記活性化 N K 細胞の集団を、1 種またはこれより多くの異種核酸を含むウイルスベクターで形質導入する工程であって、前記形質導入する工程は、t o l l 様レセプター ( T L R ) もしくは R I G - I 様レセプター ( R L R ) の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターおよび / または T B K 1 / I K K の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターの存在下で行われる、工程；

前記形質導入された N K 細胞の拡大増殖された集団を生成するために、前記形質導入された N K 細胞の集団を、I L - 2 および照射されたフィーダー細胞の存在下で培養する工程；ならびに

前記組成物を、前記被験体に投与する工程、  
を包含する、組成物。

【請求項 1 4】

a ) 前記 N K 細胞の集団は、I L - 2 の存在下かつ照射されたフィーダー細胞の非存在下で培養される；および / もしくは前記活性化 N K 細胞は、照射されたフィーダー細胞の非存在下で、前記ウイルスベクターで形質導入される；または

b ) 前記 N K 細胞の集団は、I L - 2 の存在下かつ照射されたフィーダー細胞の存在下で培養される；および / もしくは前記活性化 N K 細胞は、照射されたフィーダー細胞の存在下で、前記ウイルスベクターで形質導入される、

請求項 1 3 に記載の組成物。

【請求項 1 5】

前記単離された N K 細胞の集団を、I L - 2 の存在下で培養する工程は、前記単離された N K 細胞の集団を、5 0 0 I U / m l I L - 2 を含む細胞培養培地中で培養することを包含する、請求項 1 3 または請求項 1 4 に記載の組成物。

【請求項 1 6】

前記単離された N K 細胞の集団は、I L - 2 の存在下でかつ他のサイトカインは添加されずに培養される、請求項 1 3 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 7】

T L R および / もしくは R L R の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターならびに / または T B K 1 / I K K の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターは、B X 7 9 5、2 - アミノプリン、B A Y 1 1 - 7 0 8 2、セラストロール、C L I - 0 9 5、H - 8 9、ノルハルマン、I R A K 1 / 4 インヒビター、M R T 6 7 3 0 7、A Z 1 3 1 0 2 9 0 9、M P I - 0 4 8 5 5 2 0、アレキサノクス、化合物 I I、および S R 8 1 8 5 の 1 種ま

たはこれより多くである、請求項 1 3 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 8】

T L R および / もしくは R L R の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターならびに / または T B K 1 / I K K の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターは、B X 7 9 5 である、請求項 1 7 に記載の組成物。

【請求項 1 9】

前記 1 種またはこれより多くの異種核酸を含むウイルスベクターは、レンチウイルスベクターである、請求項 1 3 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 0】

前記レンチウイルスベクターは、配列番号 8 ~ 1 9 のいずれか 1 つと少なくとも 9 0 % 配列同一性を有する核酸配列を含むかまたはからなる、請求項 1 9 に記載の組成物。

【請求項 2 1】

前記レンチウイルスベクターは、P G K、E F S、または S V 4 0 プロモーターに作動可能に連結された 1 種またはこれより多くの異種核酸 を含む、請求項 1 9 または請求項 2 0 に記載の組成物。

【請求項 2 2】

前記照射されたフィーダー細胞 対 前記形質導入された N K 細胞の比は、1 0 : 1 である、請求項 1 3 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 3】

前記照射されたフィーダー細胞は、エプスタイン・バーウイルスで形質転換されたリンパ芽球系細胞株または K 5 6 2 細胞を含む、請求項 1 3 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 4】

前記異種核酸は、

高親和性 C D 1 6 ( C D 1 6 - V 1 5 8 )、C X C R 4、C C R 7、C X C R 3、C D 3 4、ダブルネガティブ T G F タイプ I I レセプター、V L A - 4、L F A - 1、C D 1 9、もしくは C D 4 ;

腫瘍細胞上で発現される抗原に特異的に結合するキメラ抗原レセプター ( C A R ) であって、ここで前記異種核酸は、C D 1 9、C D 2 0、C D 3 3、C D 1 3 8、C S 1、G D 2、H E R 2、e r b B 2 -、C E A、E p C A M、N K G 2 D - L、もしくは T R A I L - R 1 に特異的に結合する C A R をコードする C A R ;

細胞内ドメインを欠く短縮型 C D 3 4 タンパク質をコードする核酸分子 ; および / または

低分子ヘアピン型 R N A ( s h R N A )、低分子干渉 R N A ( s i R N A )、もしくはアンチセンス核酸、

をコードする、請求項 1 3 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 5】

前記 N K 細胞の集団は、I L - 2 の存在下かつ照射されたフィーダー細胞の存在下で培養されて、活性化 N K 細胞の集団を生成し、前記フィーダー細胞は、C D 1 9 免疫除去および / または C D 5 6 免疫選択を使用して、前記活性化 N K 細胞から実質的に分離される、請求項 1 4 b に記載の組成物。

【請求項 2 6】

薬学的に受容可能なキャリアをさらに含む、請求項 1 3 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 2 7】

請求項 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の方法によって生成される、1 種またはこれより多くの異種核酸を含むナチュラルキラー細胞。

【請求項 2 8】

1 種またはこれより多くの異種核酸を含むナチュラルキラー細胞および薬学的に受容可能なキャリアを含む組成物であって、ここで前記ナチュラルキラー細胞は、請求項 1 ~ 1 2

のいずれか 1 項に記載の方法によって生成される、組成物。

【請求項 29】

1 種またはこれより多くの異種核酸を含むナチュラルキラー（NK）細胞を生成する方法であって、前記方法は、

活性化 NK 細胞の集団を生成するために、単離された NK 細胞の集団を、インターロイキン - 2（IL - 2）および照射されたフィーダー細胞の存在下で少なくとも 2 日間培養する工程；

形質導入された NK 細胞の集団を生成するために、BX795 の存在下で前記活性化 NK 細胞の集団を、1 種またはこれより多くの異種核酸を含むウイルスベクターで形質導入する工程；ならびに

前記 1 種またはこれより多くの異種核酸を含む形質導入された NK 細胞の拡大増殖された集団を生成するために、前記形質導入された NK 細胞の集団を、IL - 2 および照射されたフィーダー細胞の存在下で培養する工程、

を包含する、方法。

【請求項 30】

前記単離された NK 細胞の集団は、IL - 2 の存在下でかつ他のサイトカインは添加されずに培養される、請求項 29 に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0171

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0171】

本開示の原理が適用され得る多くの考えられる実施形態に鑑みて、例証される実施形態が例示に過ぎず、本発明の範囲を限定すると理解されるべきではないことは、認識されるべきである。むしろ、本発明の範囲は、以下の特許請求の範囲によって定義される。本発明者らは、従って、これらの請求項の範囲および趣旨の範囲内に入る全てを、本発明者らの発明として特許請求する。

特定の実施形態では、例えば以下の項目が提供される。

（項目 1）

1 種またはこれより多くの異種核酸を含むナチュラルキラー（NK）細胞を生成する方法であって、前記方法は、

活性化 NK 細胞の集団を生成するために、単離された NK 細胞の集団を、インターロイキン - 2（IL - 2）の存在下で少なくとも 2 日間培養する工程；

形質導入された NK 細胞の集団を生成するために、前記活性化 NK 細胞の集団を、1 種またはこれより多くの異種核酸を含むウイルスベクターで形質導入する工程；ならびに

形質導入された NK 細胞の拡大増殖された集団を生成するために、前記形質導入された NK 細胞の集団を、IL - 2 および照射されたフィーダー細胞の存在下で培養する工程、を包含する、方法。

（項目 2）

a）前記 NK 細胞の集団は、IL - 2 の存在下でかつ照射されたフィーダー細胞の非存在下で培養される、および / もしくは前記活性化 NK 細胞は、照射されたフィーダー細胞の非存在下で、前記ウイルスベクターで形質導入される；または

b）前記 NK 細胞の集団は、IL - 2 の存在下でかつ照射されたフィーダー細胞の存在下で培養される、および / もしくは前記活性化 NK 細胞は、照射されたフィーダー細胞の存在下で、前記ウイルスベクターで形質導入される、

項目 1 に記載の方法。

（項目 3）

前記単離された NK 細胞の集団を、1 種またはこれより多くのサイトカインの存在下で培

養する工程は、前記単離されたNK細胞の集団を、500 IU/ml IL-2を含む細胞培養培地中で培養することを包含する、項目1または項目2に記載の方法。

(項目4)

前記単離されたNK細胞の集団は、IL-2の存在下でかつ他のサイトカインは添加されずに培養される、項目1～3のいずれか1項に記載の方法。

(項目5)

前記活性化NK細胞の集団を形質導入する工程は、toll様レセプター(TLR)もしくはRIG-I様レセプター(RLR)の1種もしくはこれより多くのインヒビター、および/またはTBK1/IKKの1種もしくはこれより多くのインヒビターの存在下で行われる、項目1～4のいずれか1項に記載の方法。

(項目6)

TLRおよび/もしくはRLRの1種もしくはこれより多くのインヒビター、ならびに/またはTBK1/IKKの1種もしくはこれより多くのインヒビターは、BX795、2-アミノプリン、BAY11-7082、セラストロール、CLI-095、H-89、ノルハルマン、IRAK1/4インヒビター、MRT67307、AZ13102909、MPI-0485520、アレキサノクス、化合物II、およびSR8185の1種もしくはこれより多くである、項目5に記載の方法。

(項目7)

TLRおよび/もしくはRLRの1種もしくはこれより多くのインヒビターならびに/またはTBK1/IKKの1種もしくはこれより多くのインヒビターは、BX795である、項目6に記載の方法。

(項目8)

前記1種またはこれより多くの異種核酸を含むウイルスベクターは、レンチウイルスベクターである、項目1～7のいずれか1項に記載の方法。

(項目9)

前記レンチウイルスベクターは、配列番号8～19のいずれか1つと少なくとも90%配列同一性を有する核酸配列を含むかまたはからなる、項目8に記載の方法。

(項目10)

前記照射されたフィーダー細胞対前記形質導入されたNK細胞の比は、約10:1である、項目1～9のいずれか1項に記載の方法。

(項目11)

前記照射されたフィーダー細胞は、エプスタイン・バーウイルスで形質転換されたリンパ芽球系細胞株またはK562細胞を含む、項目1～10のいずれか1項に記載の方法。

(項目12)

前記異種核酸は、

高親和性CD16(CD16-V158)、CXCR4、CCR7、CXCR3、CD34、ダブルネガティブTGF $\alpha$ タイプIIレセプター、VLA-4、LFA-1、CD19、もしくはCD4；

腫瘍細胞上で発現される抗原に特異的に結合するキメラ抗原レセプター(CAR)であって、ここで前記異種核酸は、CD19、CD20、CD33、CD138、CS1、GD2、HER2、erbB2、CEA、EpCAM、NKG2D-L、もしくはTRAIL-R1に特異的に結合するCARをコードするCAR；

細胞内ドメインを欠く短縮型CD34タンパク質をコードする核酸分子；および/または

低分子ヘアピン型RNA(shRNA)、低分子干渉RNA(siRNA)、もしくはアンチセンス核酸、

をコードする、項目1～11のいずれか1項に記載の方法。

(項目13)

前記NK細胞の集団は、IL-2の存在下かつ照射されたフィーダー細胞の存在下で培養されて、活性化NK細胞の集団を生成し、前記フィーダー細胞は、CD19免疫除去およ

び / または C D 5 6 免疫選択を使用して、前記活性化 N K 細胞から実質的に分離される、  
項目 2 b に記載の方法。

( 項目 1 4 )

腫瘍、過剰増殖性疾患、またはウイルス感染を有する被験体を処置する方法であって、  
前記方法は、

単離されたナチュラルキラー ( N K ) 細胞の集団を、前記被験体またはドナーから得る  
工程；

活性化 N K 細胞の集団を生成するために、単離された N K 細胞の集団を、インターロイ  
キン - 2 ( I L - 2 ) の存在下で少なくとも 2 日間培養する工程；

形質導入された N K 細胞の集団を生成するために、前記活性化 N K 細胞の集団を、1 種  
またはこれより多くの異種核酸を含むウイルスベクターで形質導入する工程；

形質導入された N K 細胞の拡大増殖された集団を生成するために、前記形質導入された  
N K 細胞の集団を、I L - 2 および照射されたフィーダー細胞の存在下で培養する工程；  
ならびに

前記形質導入された N K 細胞の拡大増殖された集団を含む組成物を、前記被験体に投与  
する工程、

を包含する、方法。

( 項目 1 5 )

a ) 前記 N K 細胞の集団は、I L - 2 の存在下かつ照射されたフィーダー細胞の非存在  
下で培養される；および / もしくは前記活性化 N K 細胞は、照射されたフィーダー細胞の  
非存在下で、前記ウイルスベクターで形質導入される；または

b ) 前記 N K 細胞の集団は、I L - 2 の存在下かつ照射されたフィーダー細胞の存在下  
で培養される；および / もしくは前記活性化 N K 細胞は、照射されたフィーダー細胞の存  
在下で、前記ウイルスベクターで形質導入される、

項目 1 4 に記載の方法。

( 項目 1 6 )

前記単離された N K 細胞の集団を、1 種またはこれより多くのサイトカインの存在下で培  
養する工程は、前記単離された N K 細胞の集団を、5 0 0 I U / m l I L - 2 を含む  
細胞培養培地中で培養することを包含する、項目 1 4 または項目 1 5 に記載の方法。

( 項目 1 7 )

前記単離された N K 細胞の集団は、I L - 2 の存在下でかつ他のサイトカインは添加され  
ずに培養される、項目 1 4 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 1 8 )

前記活性化 N K 細胞の集団を形質導入する工程は、t o l l 様レセプター ( T L R ) もし  
くは R I G - I 様レセプター ( R L R ) の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターおよ  
び / または T B K 1 / I K K の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターの存在下で行  
われる、項目 1 4 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 1 9 )

T L R および / もしくは R L R の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターならびに / ま  
たは T B K 1 / I K K の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターは、B X 7 9 5、2  
- アミノプリン、B A Y 1 1 - 7 0 8 2、セラストロール、C L I - 0 9 5、H - 8 9、  
ノルハルマン、I R A K 1 / 4 インヒビター、M R T 6 7 3 0 7、A Z 1 3 1 0 2 9 0 9  
、M P I - 0 4 8 5 5 2 0、アレキサノクス、化合物 I I、および S R 8 1 8 5 の 1 種ま  
たはこれより多くである、項目 1 8 に記載の方法。

( 項目 2 0 )

T L R および / もしくは R L R の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターならびに / ま  
たは T B K 1 / I K K の 1 種もしくはこれより多くのインヒビターは、B X 7 9 5 であ  
る、項目 1 9 に記載の方法。

( 項目 2 1 )

前記 1 種またはこれより多くの異種核酸を含むウイルスベクターは、レンチウイルスベク

ターである、項目 14 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 22)

前記レンチウイルスベクターは、配列番号 8 ~ 19 のいずれか 1 つと少なくとも 90 % 配列同一性を有する核酸配列を含むかまたはからなる、項目 21 に記載の方法。

(項目 23)

前記レンチウイルスベクターは、PGK、EF5、またはSV40プロモーターに作動可能に連結された目的の核酸を含む、項目 21 または項目 22 に記載の方法。

(項目 24)

前記照射されたフィーダー細胞 対 前記形質導入されたNK細胞の比は、10 : 1 である、項目 14 ~ 23 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 25)

前記照射されたフィーダー細胞は、エプスタイン・バーウイルスで形質転換されたリンバ芽球系細胞株またはK562細胞を含む、項目 14 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 26)

前記異種核酸は、

高親和性CD16 (CD16 - V158)、CXCR4、CCR7、CXCR3、CD34、ダブルネガティブTGF タイプIIレセプター、VLA-4、LFA-1、CD19、もしくはCD4 ;

腫瘍細胞上で発現される抗原に特異的に結合するキメラ抗原レセプター (CAR) であって、ここで前記異種核酸は、CD19、CD20、CD33、CD138、CS1、GD2、HER2、erbB2 -、CEA、EpCAM、NKG2D - L、もしくはTRAIL - R1 に特異的に結合するCARをコードするCAR ;

細胞内ドメインを欠く短縮型CD34タンパク質をコードする核酸分子 ; および / または

低分子ヘアピン型RNA (shRNA)、低分子干渉RNA (siRNA)、もしくはアンチセンス核酸、

をコードする、項目 14 ~ 25 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 27)

前記NK細胞の集団は、IL-2の存在下かつ照射されたフィーダー細胞の存在下で培養されて、活性化NK細胞の集団を生成し、前記フィーダー細胞は、CD19免疫除去および / またはCD56免疫選択を使用して、前記活性化NK細胞から実質的に分離される、項目 15b に記載の方法。

(項目 28)

前記形質導入されたNK細胞の拡大増殖された集団を含む組成物は、薬学的に受容可能なキャリアをさらに含む、項目 14 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 29)

項目 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法によって生成される、1種またはこれより多くの異種核酸を含むナチュラルキラー細胞。

(項目 30)

1種またはこれより多くの異種核酸を含むナチュラルキラー細胞および薬学的に受容可能なキャリアを含む組成物であって、ここで前記ナチュラルキラー細胞は、項目 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法によって生成される、組成物。

(項目 31)

1種またはこれより多くの異種核酸を含むナチュラルキラー (NK) 細胞を生成する方法であって、前記方法は、

活性化NK細胞の集団を生成するために、単離されたNK細胞の集団を、インターロイキン-2 (IL-2) および照射されたフィーダー細胞の存在下で少なくとも2日間培養する工程 ;

形質導入されたNK細胞の集団を生成するために、BX795の存在下で前記活性化NK細胞の集団を、1種またはこれより多くの異種核酸を含むウイルスベクターで形質導入



する工程；ならびに

前記１種またはこれより多くの異種核酸を含む形質導入されたＮＫ細胞の拡大増殖された集団を生成するために、前記形質導入されたＮＫ細胞の集団を、ＩＬ－２および照射されたフィーダー細胞の存在下で培養する工程、  
を包含する、方法。

（項目３２）

前記単離されたＮＫ細胞の集団は、ＩＬ－２の存在下でかつ他のサイトカインは添加されずに培養される、項目３１に記載の方法。