

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-517138
(P2025-517138A)

(43)公表日 令和7年6月3日(2025.6.3)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	7/01 (2006.01)	C 1 2 N	7/01	Z N A	4 B 0 6 5
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00		4 C 0 8 4
C 0 7 K	14/705 (2006.01)	C 0 7 K	14/705		4 C 0 8 7
C 0 7 K	14/005 (2006.01)	C 0 7 K	14/005		4 H 0 4 5
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全190頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-565193(P2024-565193)			(71)出願人	520393462
(86)(22)出願日	令和5年5月5日(2023.5.5)				ウモジャ バイオファーマ インコーポレ
(85)翻訳文提出日	令和6年12月27日(2024.12.27)				イテッド
(86)国際出願番号	PCT/US2023/066636				アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 0 9
(87)国際公開番号	WO2023/215848				， シアトル， イーストレイク アベニ
(87)国際公開日	令和5年11月9日(2023.11.9)				ュー イー． 1 1 5 0 ， スイート 4 0 0
(31)優先権主張番号	63/339,332			(74)代理人	100078282
(32)優先日	令和4年5月6日(2022.5.6)				弁理士 山本 秀策
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			(74)代理人	100113413
(31)優先権主張番号	63/348,180				弁理士 森下 夏樹
(32)優先日	令和4年6月2日(2022.6.2)			(74)代理人	100181674
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				弁理士 飯田 貴敏
(31)優先権主張番号	63/351,064			(74)代理人	100181641
					弁理士 石川 大輔
				(74)代理人	230113332
			最終頁に続く	最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 表面刺激分子を有するウイルス粒子

(57)【要約】

*in vitro*または*in vivo*で免疫細胞を活性化および形質導入するためのウイルス粒子、ならびに前記ウイルス粒子を使用するための組成物および方法が提供される。本開示は、少なくとも一部には、ウイルスエンベロープに細胞表面タンパク質を発現させて、免疫細胞を同時にプライムおよび形質導入するように、ウイルス粒子を製造することができるという発見に基づく。特に、本明細書に実証される通り、T C R標的化分子および共刺激分子を発現するウイルス粒子は、T C R標的化分子のみを発現するウイルス粒子と比較して、*in vivo*における細胞活性化と、目的のポリペプチドをコードするヌクレオチドの形質導入とを増強する。

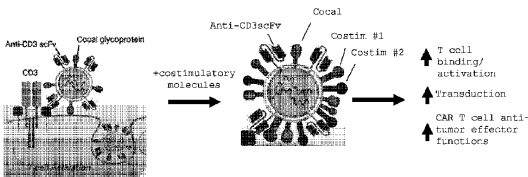


Fig. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ウイルスエンベロープの表面上に、少なくとも 1 種の T 細胞接着分子、少なくとも 1 種の共刺激タンパク質またはそれらの組合せ、および免疫細胞活性化タンパク質を含む前記ウイルスエンベロープを含む、ウイルス粒子。

【請求項 2】

前記少なくとも 1 種の T 細胞接着分子が、CD58、HLA2、ICAM-1、OX40L、4-1BBL、CD40、CD155、CD70、HVEM、GITRL、ICOSL、CD30L、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、B7-H6 およびこれらの任意の組合せから選択される、請求項 1 に記載のウイルス粒子。

10

【請求項 3】

前記少なくとも 1 種の T 細胞接着分子が、CD58 である、請求項 1 または請求項 2 に記載のウイルス粒子。

【請求項 4】

前記少なくとも 1 種の共刺激分子が、CD45、CD2、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD28、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154、OX40、4-1BB、CD40L およびこれらの任意の組合せから選択される、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

20

【請求項 5】

前記少なくとも 1 種の共刺激分子が、CD80、CD86、または CD80 および CD86 である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 6】

前記免疫細胞活性化タンパク質が、CD2、CD3、CD28H、LFA-1、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、NKP46、NKP44、NKP30、CD244、TCR α 鎖、TCR β 鎖、TCR ζ 鎖、TCR γ 鎖、TCR δ 鎖、CD3 ϵ TCRサブユニット、CD3 γ TCRサブユニット、CD3 δ TCRサブユニットまたは NKP80 に特異的に結合するタンパク質である、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

30

【請求項 7】

前記免疫細胞活性化タンパク質が、CD3 に特異的に結合するタンパク質である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 8】

前記免疫細胞活性化タンパク質が、CD2、CD3、CD28H、LFA-1、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、NKP46、NKP44、NKP30、CD244 または NKP80 に結合する抗体またはその抗原結合性断片である、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

40

【請求項 9】

前記免疫細胞活性化タンパク質が、CD3 に結合する抗体またはその抗原結合性断片である、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 10】

前記 CD3 に結合する前記抗体またはその抗原結合性断片が、抗 CD3 scFv である、請求項 9 に記載のウイルス粒子。

【請求項 11】

前記 T 細胞接着分子が、CD58 であり、前記共刺激分子が、CD80 である、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 12】

50

前記Ｔ細胞接着分子が、ＣＤ５８であり、前記共刺激分子が、ＣＤ８６である、請求項１から１０のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項１３】

前記Ｔ細胞接着分子が、ＣＤ５８であり、前記免疫細胞活性化タンパク質が、抗ＣＤ３抗体またはその抗原結合性断片であり、前記共刺激分子が、ＣＤ８０である、請求項１から１０のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項１４】

前記Ｔ細胞接着分子が、ＣＤ５８であり、前記免疫細胞活性化タンパク質が、抗ＣＤ３抗体またはその抗原結合性断片であり、前記共刺激分子が、ＣＤ８６である、請求項１から１０のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

10

【請求項１５】

ペイロードを含む、請求項１から１４のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項１６】

前記ペイロードが、核酸である、請求項１５に記載のウイルス粒子。

【請求項１７】

前記核酸が、非コード核酸であり、必要に応じて、前記非コード核酸が、s i R N A、m i R N Aまたはs h R N Aである、請求項１６に記載のウイルス粒子。

【請求項１８】

前記核酸が、目的のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、請求項１７に記載のウイルス粒子。

20

【請求項１９】

目的のポリペプチドをコードする少なくとも１種のヌクレオチド配列を含むベクターゲノムを含む、請求項１から１４のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項２０】

(i) ウイルスエンベロープの表面上に、(a) Ｔ細胞受容体に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(b) 共刺激分子および(c) Ｔ細胞接着分子を含む前記ウイルスエンベロープと、(i i) 目的のポリペプチドをコードする少なくとも１種のヌクレオチド配列を含むベクターゲノムとを含む、ウイルス粒子。

【請求項２１】

(a) 前記免疫細胞活性化タンパク質が、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ２８Ｈ、ＬＦＡ－１、ＤＮＡＭ－１、ＣＤ２７、ＩＣＯＳ、ＬＩＧＨＴ、ＧＩＴＲ、ＣＤ３０、ＳＬＡＭ、Ｌｙ－９、ＣＤ８４、Ｌｙ１０８、ＮＫＧ２Ｄ、ＮＫｐ４６、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ３０、ＣＤ２４４またはＮＫｐ８０に特異的に結合するタンパク質であり、(b) 前記共刺激分子が、ＣＤ４５、ＣＤ２、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ２８、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４、ＯＸ４０、４－１ＢＢ、ＣＤ４０Ｌおよびこれらの任意の組合せから選択され、(c) 前記Ｔ細胞接着分子が、ＣＤ５８、ＨＨＬＡ２、ＩＣＡＭ－１、ＯＸ４０Ｌ、４－１ＢＢＬ、ＣＤ４０、ＣＤ１５５、ＣＤ７０、ＨＶＥＭ、ＧＩＴＲＬ、ＩＣＯＳＬ、ＣＤ３０Ｌ、ＳＬＡＭ、Ｌｙ－９、ＣＤ８４、Ｌｙ１０８、ＭＩＣＡ、ＭＩＣＢ、ＵＬＢＰ１、ＵＬＢＰ２、ＵＬＢＰ３、ＵＬＢＰ４、ＵＬＢＰ５、ＵＬＢＰ６、Ｂ７－Ｈ６およびこれらの任意の組合せから選択される、請求項２０に記載のウイルス粒子。

30

【請求項２２】

(a) 前記免疫細胞活性化タンパク質が、ＣＤ３に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であり、(b) 前記共刺激分子が、ＣＤ８０またはＣＤ８６であり、(c) 前記Ｔ細胞接着分子が、ＣＤ５８である、請求項２０または２１に記載のウイルス粒子。

【請求項２３】

前記ウイルスエンベロープが、膜結合型サイトカインを含む、請求項１から２２のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項２４】

前記膜結合型サイトカインが、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１２、ＩＬ－１５、ＩＬ－

50

18または1L-21から選択される、請求項23に記載のウイルス粒子。

【請求項25】

前記ウイルスエンベロープが、ウイルスエンベロープタンパク質を含む、請求項1から24のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項26】

前記ウイルスエンベロープタンパク質が、VSV-Gエンベロープタンパク質、麻疹ウイルスエンベロープタンパク質、ニパウイルスエンベロープタンパク質またはコカルウイルスGタンパク質である、請求項25に記載のウイルス粒子。

【請求項27】

前記ウイルスエンベロープが、コカル糖タンパク質またはその機能的バリエーションを含む、請求項26に記載のウイルス粒子。

【請求項28】

前記コカル糖タンパク質が、配列番号5と比較してR354Q変異を含む、請求項27に記載のウイルス粒子。

【請求項29】

前記コカル糖タンパク質が、配列番号5、13および19のいずれか1つと少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、請求項27または28に記載のウイルス粒子。

【請求項30】

前記コカル糖タンパク質が、配列番号5、13および19から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項27または28に記載のウイルス粒子。

【請求項31】

抗CD3に結合する抗体またはその抗原結合性断片が、配列番号2または12と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、請求項9から19および22から30のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項32】

抗CD3に結合する抗体またはその抗原結合性断片が、配列番号2または配列番号12を含む、請求項9から19および22から30のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項33】

前記少なくとも1種のヌクレオチド配列が、マルチパート細胞表面受容体をコードする、請求項19から32のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項34】

前記マルチパート細胞表面受容体が、FKBP-ラパマイシン複合体結合ドメイン（FRBDメイン）およびFK506結合タンパク質ドメイン（FKBP）を含む、請求項33に記載のウイルス粒子。

【請求項35】

前記マルチパート細胞表面受容体が、ラパマイシン活性化細胞表面受容体である、請求項33に記載のウイルス粒子。

【請求項36】

前記少なくとも1種のヌクレオチド配列が、キメラ抗原受容体（CAR）をコードする、請求項19から35のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項37】

ラパマイシン活性化細胞表面受容体をコードするヌクレオチド配列およびCARをコードするヌクレオチド配列を含む、請求項19から32のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項38】

前記CARが、がん関連抗原に特異的な抗原結合ドメインを含む、請求項36または37に記載のウイルス粒子。

10

20

30

40

50

【請求項 39】

前記がん関連抗原が、CD19、BCMA、GPC5D、ROR1、FcRL5、アルファフェトプロテインまたはHer2である、請求項37に記載のウイルス粒子。

【請求項 40】

前記CARが、ユニバーサルCARである、請求項36または37に記載のウイルス粒子。

【請求項 41】

前記CARが、ハプテン結合ドメインを含む、請求項36または37に記載のウイルス粒子。

【請求項 42】

前記ベクターゲノムが、5'から3'へと、CARをコードするヌクレオチド配列およびマルチパーティット細胞表面受容体をコードするヌクレオチド配列を含む、請求項19から32のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 43】

前記ヌクレオチド配列が、作動可能に連結されている、請求項42に記載のウイルス粒子。

【請求項 44】

前記CARが、がん関連抗原に特異的な抗原結合ドメインを含み、前記マルチパーティット細胞表面受容体が、ラパマイシン活性化細胞表面受容体である、請求項42または43に記載のウイルス粒子。

【請求項 45】

前記がん関連抗原が、CD19、BCMA、GPC5D、ROR1、FcRL5、アルファフェトプロテインまたはHer2である、請求項44に記載のウイルス粒子。

【請求項 46】

(i) ウイルスエンベロープの表面上に、(a) CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(b) CD28に結合する共刺激分子および(c) T細胞接着分子を含む前記ウイルスエンベロープと、(ii) (a) ラパマイシン活性化細胞表面受容体をコードするヌクレオチド配列および(b) CARをコードするヌクレオチド配列を含むベクターゲノムとを含む、ウイルス粒子であって、前記CARが、がん関連抗原に特異的な抗原結合ドメインを含み、必要に応じて、前記ヌクレオチド配列が、作動可能に連結されている、ウイルス粒子。

【請求項 47】

CD58が、配列番号17と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、請求項2から19および21から46のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 48】

CD58が、配列番号17のアミノ酸配列を含む、請求項2から19および21から46のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 49】

CD80が、配列番号20と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む、請求項4から11、13、15から19、21から45、47から48のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 50】

CD80が、配列番号20のアミノ酸配列を含む、請求項4から11、13、15から19、21から45、47から48のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 51】

CD86が、配列番号23と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少

10

20

30

40

50

なくとも 99% 同一であるアミノ酸配列を含む、4 から 10、12、14、15 から 19、21 から 45、47 から 48 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 52】

CD86 が、配列番号 23 のアミノ酸配列を含む、請求項 4 から 10、12、14、15 から 19、21 から 45、47 から 48 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 53】

前記マルチパーティット細胞表面受容体が、配列番号 77、78、または 77 および 78 と少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% または少なくとも 99% 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 33 から 45 および 47 から 52 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

10

【請求項 54】

前記マルチパーティット細胞表面受容体が、配列番号 77、78、または 77 および 78 のアミノ酸配列を含む、請求項 33 から 45 および 47 から 52 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 55】

前記マルチパーティット細胞表面受容体が、配列番号 83、84、または 83 および 84 と少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% または少なくとも 99% 同一であるヌクレオチド配列によってコードされる、請求項 33 から 45 および 47 から 54 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

20

【請求項 56】

前記マルチパーティット細胞表面受容体が、配列番号 83、84、または 83 および 84 のヌクレオチド配列によってコードされる、請求項 33 から 45 および 47 から 54 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 57】

前記ベクターゲノムが、プロモーターを含む、請求項 19 から 56 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 58】

前記プロモーターが、MND プロモーター、CAG プロモーター、SV40 プロモーター、SV40 / CD43 プロモーターまたは EF-1 α プロモーターである、請求項 57 に記載のウイルス粒子。

30

【請求項 59】

前記プロモーターが、誘導性プロモーターである、請求項 57 に記載のウイルス粒子。

【請求項 60】

レンチウイルス粒子である、請求項 1 から 59 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 61】

in vivo で T 細胞に形質導入する、請求項 1 から 60 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 62】

少なくとも 50% の CD25 (+) 細胞、少なくとも 70% の CD25 (+) 細胞または少なくとも 90% の CD25 (+) 細胞を含む T 細胞集団を活性化する、請求項 1 から 61 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

40

【請求項 63】

請求項 1 から 62 のいずれか一項に記載のウイルス粒子と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

【請求項 64】

対象において in vivo で T 細胞の集団に形質導入する方法であって、前記対象に請求項 1 から 62 のいずれか一項に記載のウイルス粒子または請求項 63 に記載の医薬組成物を投与するステップを含み、前記ウイルス粒子が、目的のポリペプチドをコードする

50

ヌクレオチド配列を含み、目的の前記ポリペプチドが、投与後にT細胞の前記集団において発現される、方法。

【請求項65】

T細胞の前記集団が、前記レンチウイルス粒子の投与の少なくとも3日後に、(i)少なくとも 2×10^4 pg/mlのTNF α 、(ii)少なくとも 2×10^4 pg/mlのIL-2、(iii)少なくとも 2×10^5 pg/mlのIFN γ 、または(iv)(i)～(iii)の任意の組合せを分泌する、請求項64に記載の方法。

【請求項66】

キメラ抗原受容体を発現する免疫細胞を生成することを必要とする対象においてキメラ抗原受容体を発現する免疫細胞を生成する方法であって、請求項1から62のいずれか一項に記載のウイルス粒子または請求項63に記載の医薬組成物を前記対象に投与するステップを含み、前記ウイルス粒子が、前記キメラ抗原受容体をコードするヌクレオチド配列を含む、方法。

【請求項67】

疾患または障害を処置することを必要とする対象における疾患または障害を処置する方法であって、請求項1から62のいずれか一項に記載のウイルス粒子または請求項63に記載の医薬組成物を前記対象に投与するステップを含み、前記ウイルス粒子が、治療ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、方法。

【請求項68】

前記ウイルス粒子が、腹腔内、皮下または節内注射によって投与される、請求項64から67のいずれか一項に記載の方法。

【請求項69】

前記ウイルス粒子が、節内注射によって鼠径部リンパ節経由で投与される、請求項68に記載の方法。

【請求項70】

それを必要とする前記対象が、疾患または障害を有し、前記疾患または障害が、B細胞悪性腫瘍、再発性／不応性CD19発現悪性腫瘍、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBC)、バーキット型大細胞型B細胞リンパ腫(B-LBL)、濾胞性リンパ腫(FL)、慢性リンパ球性白血病(CLL)、急性リンパ球性白血病(ALL)、マンツル細胞リンパ腫(MCL)、血液悪性腫瘍、結腸がん、肺がん、肝臓がん、乳がん、腎がん、前立腺がん、卵巣がん、皮膚がん、黒色腫、骨がん、脳がん、扁平上皮癌、白血病、骨髄腫、B細胞リンパ腫、腎臓がん、子宮がん、腺癌、膵がん、慢性骨髄性白血病、神経膠芽腫、神経芽細胞腫、髄芽腫、肉腫およびこれらの任意の組合せを含む、請求項64から69のいずれか一項に記載の方法。

【請求項71】

請求項1から62のいずれか一項に記載のウイルス粒子および必要に応じて薬学的に許容される担体を含む容器と、前記ウイルス粒子を対象に投与するステップを含む、前記対象においてin vivoでT細胞に形質導入するための指示とを含む、キット。

【請求項72】

請求項1から62のいずれか一項に記載のウイルス粒子および必要に応じて薬学的に許容される担体を含む容器と、前記ウイルス粒子を対象に投与するステップを含む、処置することを必要とする対象を処置するための指示とを含む、キット。

【請求項73】

前記対象が、疾患または障害を有する、請求項71または72に記載のキット。

【請求項74】

前記指示が、腹腔内、皮下または節内注射によって前記ウイルス粒子を投与するステップを含む、請求項71から73のいずれか一項に記載のキット。

【請求項75】

前記ウイルス粒子を対象に投与するステップを含む、前記対象においてin vivoでT細胞に形質導入する方法における使用のための、請求項1から62のいずれか一項に

10

20

30

40

50

記載のウイルス粒子。

【請求項 7 6】

前記ウイルス粒子を対象に投与するステップを含む、疾患または障害を有する前記対象を処置する方法における使用のための、請求項 1 から 6 2 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 7 7】

前記ウイルス粒子を対象に投与するステップを含む、前記対象において *in vivo* で T 細胞に形質導入するための医薬の製造のための、請求項 1 から 6 2 のいずれか一項に記載のウイルス粒子の使用。

【請求項 7 8】

前記ウイルス粒子を対象に投与するステップを含む、疾患または障害を有する前記対象を処置するための医薬の製造のための、請求項 1 から 6 2 のいずれか一項に記載のウイルス粒子の使用。

【請求項 7 9】

対象において *ex vivo* で T 細胞の集団に形質導入する方法であって、T 細胞の集団を、請求項 1 から 6 2 のいずれか一項に記載のウイルス粒子または請求項 6 3 に記載の医薬組成物と接触させるステップを含み、前記ウイルス粒子が、目的のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含み、目的の前記ポリペプチドが、投与後に T 細胞の前記集団において発現され、前記接触させるステップが、*ex vivo* で行われる、方法。

【請求項 8 0】

前記接触させるステップが、閉ループ製造プロセス中に行われる、請求項 7 9 に記載の方法。

【請求項 8 1】

前記 T 細胞が、前記製造プロセス中に、外因性活性化剤と以前に接触したことがない、請求項 7 9 または 8 0 に記載の方法。

【請求項 8 2】

前記コカル糖タンパク質が、配列番号 5 と比較して K 4 7 Q 変異を含む、請求項 2 7、3 1 から 4 5 および 4 7 から 6 2 のいずれか一項に記載のウイルス粒子。

【請求項 8 3】

in vivo で対象における細胞の集団を活性化する方法であって、前記対象に請求項 1 から 6 2 のいずれか一項に記載のウイルス粒子または請求項 6 3 に記載の医薬組成物を投与するステップを含み、前記ウイルス粒子が、目的のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含み、目的の前記ポリペプチドが、投与後に細胞の前記集団における細胞の第 1 のサブセットにおいて発現され、目的の前記ポリペプチドが、投与後に細胞の前記集団における細胞の第 2 のサブセットにおいて発現されず、細胞の前記第 1 および第 2 のサブセットがそれぞれ、前記ウイルス粒子によって活性化される、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本出願は、2022 年 5 月 6 日に提出された米国仮特許出願第 63 / 339, 332 号、2022 年 6 月 2 日に提出された米国仮特許出願第 63 / 348, 180 号、2022 年 6 月 10 日に提出された米国仮特許出願第 63 / 351, 064 号、および 2023 年 3 月 1 日に提出された米国仮特許出願第 63 / 487, 734 号に基づく優先権およびその利益を主張するものであり、これらの米国仮特許出願のそれぞれの内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0 0 0 2】

配列表の参照による組み込み

本出願は、EFS-WEB 経由で、XML ST 2.6 フォーマットで提出された、その全体が参照により本明細書に組み込まれる配列表を含有する。2023 年 5 月 4 日に作成

10

20

30

40

50

された前記．XMLコピーは、061479-505001WO__SeqList__ST26.xmlと命名され、288キロバイトのサイズである。

【背景技術】

【0003】

背景

細胞治療は一般に、ex vivoでの免疫細胞の形質導入を用いて、患者へと導入される治療細胞の集団を生成する。例えば、自家または同種異系供給源から得たT細胞は、キメラ抗原受容体をコードするベクターによりex vivoで形質導入することができる。次に、結果として生じるCAR T細胞は、患者へと注入される。

【0004】

ベクターを患者に送達することによりin vivoで治療細胞を生成することが望ましいが、免疫細胞のin vivo形質導入のための現在の方法論は、技術的な、ロジスティックな、一貫性、費用のおよび有効性の課題に悩まされている。in vivoアプローチは、それに関連する技術的な課題が原因で広く探求されておらず、主なハードルは、T細胞を有効に操作するために体内でT細胞を活性化の必要性ならびに、形質導入した後これらの操作された細胞の増大を「制御」する必要性があることである。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

細胞治療のex vivo製造は、白血球アフェレーシス手順による患者の末梢血単核細胞の収集から始まり、患者のケアに遅延、リスクおよび複雑なロジスティックを導入するcGMP施設における患者のT細胞の遺伝子改変が続く、複雑な一連のステップを要求する。これに続いて、最終薬物製品の注入に先立つリンパ球枯渇性（lymphodepleting）化学療法の投与が行われる。それゆえ、改善された細胞治療についての必要性が依然として存在する。

【課題を解決するための手段】

【0006】

発明の概要

本開示は、少なくとも一部には、ウイルスエンベロープに細胞表面タンパク質を発現させて、免疫細胞を同時にプライムおよび形質導入するように、ウイルス粒子を製造することができるという発見に基づく。特に、本明細書に実証される通り、TCR標的化分子および共刺激分子を発現するウイルス粒子は、TCR標的化分子のみを発現するウイルス粒子と比較して、in vivoにおける細胞活性化と、目的のポリペプチドをコードするヌクレオチドの形質導入とを増強する。さらに、接着分子を含むことにより、in vivoにおける細胞活性化および形質導入がさらに増強されることが示された。理論に制約されることを望むものではないが、TCR標的化分子（例えば、CD3結合タンパク質）および共刺激分子（例えば、CD80またはCD86）を発現するように操作されたウイルス粒子は、T細胞活性化に必要なシグナル1およびシグナル2を活性化する。さらに、接着分子が、免疫細胞およびウイルス粒子の間の相互作用を安定化し、これにより、十分な細胞活性化およびヌクレオチドの形質導入を可能にする免疫シナプスを再構築すると考えられる。本開示は、形質導入されていないT細胞のin vivo活性化および増大も示す。理論に制約されることを望むものではないが、本明細書に記載されている粒子は、腫瘍流入領域リンパ節または転移性リンパ節中に存在する腫瘍浸潤リンパ球および腫瘍反応性T細胞の活性化および増大を駆動することが可能であり、そのような粒子が、低用量で有効である可能性があることを指し示す。

【0007】

したがって、一部の態様では、本開示は、ウイルスエンベロープの表面上に、少なくとも1種のT細胞接着分子、少なくとも1種の共刺激タンパク質またはそれらの組合せ、および免疫細胞活性化タンパク質を含むウイルスエンベロープを含む、ウイルス粒子を提供する。一部の実施形態では、T細胞接着分子、共刺激タンパク質および免疫細胞活性化タ

10

20

30

40

50

ンパク質はそれぞれ、組換えタンパク質である。

【0008】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、少なくとも1種のT細胞接着分子は、CD58、HHLA2、ICAM-1、OX40L、4-1BBL、CD40、CD155、CD70、HVEM、GITRL、ICOSL、CD30L、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、B7-H6およびこれらの任意の組合せから選択される。一部の態様では、少なくとも1種のT細胞接着分子は、CD58である。

【0009】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、少なくとも1種の共刺激分子は、CD45、CD2、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD28、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154、OX40、4-1BB、CD40Lおよびこれらの任意の組合せから選択される。一部の態様では、少なくとも1種の共刺激分子は、CD80、CD86、またはCD80およびCD86である。

【0010】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、免疫細胞活性化タンパク質は、CD2、CD3、CD28H、LFA-1、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、NKp46、NKp44、NKp30、CD244、TCR α 鎖、TCR β 鎖、TCR ζ 鎖、TCR γ 鎖、TCR δ 鎖、CD3 ϵ TCRサブユニット、CD3 γ TCRサブユニット、CD3 δ TCRサブユニットまたはNKp80に特異的に結合するタンパク質である。一部の態様では、免疫細胞活性化タンパク質は、CD3に特異的に結合するタンパク質である。

【0011】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、免疫細胞活性化タンパク質は、CD2、CD3、CD28H、LFA-1、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、NKp46、NKp44、NKp30、CD244またはNKp80に結合する抗体またはその抗原結合性断片である。一部の態様では、免疫細胞活性化タンパク質は、CD3に結合する抗体またはその抗原結合性断片である。一部の態様では、CD3に結合する抗体またはその抗原結合性断片は、抗CD3 s c F vである。

【0012】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、T細胞接着分子は、CD58であり、共刺激分子は、CD80である。他の態様では、T細胞接着分子は、CD58であり、共刺激分子は、CD86である。

【0013】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、T細胞接着分子は、CD58であり、免疫細胞活性化タンパク質は、抗CD3抗体またはその抗原結合性断片であり、共刺激分子は、CD80である。他の態様では、T細胞接着分子は、CD58であり、免疫細胞活性化タンパク質は、抗CD3抗体またはその抗原結合性断片であり、共刺激分子は、CD86である。

【0014】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、ウイルス粒子は、ペイロードを含む。一部の態様では、ペイロードは、核酸である。一部の態様では、核酸は、非コード核酸であり、必要に応じて、非コード核酸は、s i R N A、m i R N Aまたはs h R N Aである。一部の態様では、核酸は、目的のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。

【0015】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、ウイルス粒子は、目的のポリペ

10

20

30

40

50

プチドをコードする少なくとも1種のヌクレオチド配列を含むベクターゲノムを含む。

【0016】

一部の態様では、本開示は、(i) ウイルスエンベロープの表面上に、(a) T細胞受容体に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(b) 共刺激分子および(c) T細胞接着分子を含むウイルスエンベロープと、(ii) 目的のポリペプチドをコードする少なくとも1種のヌクレオチド配列を含むベクターゲノムとを含む、ウイルス粒子を提供する。一部の態様では、(a) 免疫細胞活性化タンパク質は、CD2、CD3、CD28H、LFA-1、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、Nkp46、Nkp44、Nkp30、CD244またはNkp80に特異的に結合するタンパク質であり、(b) 共刺激分子は、CD45、CD2、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD28、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154、OX40、4-1BB、CD40Lおよびこれらの任意の組合せから選択され、(c) T細胞接着分子は、CD58、HHLA2、ICAM-1、OX40L、4-1BBL、CD40、CD155、CD70、HVEM、GITRL、ICOSL、CD30L、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、B7-H6およびこれらの任意の組合せから選択される。一部の態様では、(a) 免疫細胞活性化タンパク質は、CD3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であり、(b) 共刺激分子は、CD80またはCD86であり、(c) T細胞接着分子は、CD58である。

10

20

【0017】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、ウイルスエンベロープは、膜結合型サイトカインを含む。一部の態様では、膜結合型サイトカインは、IL-2、IL-7、IL-12、IL-15、IL-18またはIL-21から選択される。

【0018】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、ウイルスエンベロープは、ウイルスエンベロープタンパク質を含む。一部の態様では、ウイルスエンベロープタンパク質は、VSV-Gエンベロープタンパク質、麻疹ウイルスエンベロープタンパク質、ニパウイルスエンベロープタンパク質またはコカルウイルスGタンパク質である。一部の態様では、ウイルスエンベロープは、コカル糖タンパク質またはその機能的バリエーションを含む。一部の態様では、コカル糖タンパク質は、配列番号5と比較してR354Q変異を含む。一部の態様では、コカル糖タンパク質は、配列番号5と比較してK47Q変異を含む。一部の態様では、コカル糖タンパク質は、配列番号5、13および19のいずれか1つと少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の態様では、コカル糖タンパク質は、配列番号5、13および19から選択されるアミノ酸配列を含む。

30

【0019】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、抗CD3に結合する抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号2または12と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の態様では、抗CD3に結合する抗体またはその抗原結合性断片は、配列番号2または配列番号12を含む。

40

【0020】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、ウイルス粒子は、マルチパートサイト細胞表面受容体をコードするヌクレオチド配列を含む。一部の態様では、マルチパートサイト細胞表面受容体は、FKBP-ラパマイシン複合体結合ドメイン(FRBドメイン)およびFK506結合タンパク質ドメイン(FKBP)を含む。一部の態様では、マルチパートサイト細胞表面受容体は、ラパマイシン活性化細胞表面受容体である。

50

【0021】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、ウイルス粒子は、キメラ抗原受容体（CAR）をコードするヌクレオチド配列を含む。一部の態様では、ウイルス粒子は、ラパマイシン活性化細胞表面受容体をコードするヌクレオチド配列およびCARをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の態様では、ウイルス粒子は、5'から3'へと：CARをコードするヌクレオチド配列およびマルチパート細胞表面受容体をコードするヌクレオチド配列を含むベクターゲノムを含む。一部の態様では、ヌクレオチド配列は、作動可能に連結されている。一部の態様では、CARは、がん関連抗原に特異的な抗原結合ドメインを含み、マルチパート細胞表面受容体は、ラパマイシン活性化細胞表面受容体である。

10

【0022】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、CARは、がん関連抗原に特異的な抗原結合ドメインを含む。一部の態様では、がん関連抗原は、CD19、BCMA、GPC5D、ROR1、FcRL5／FcRH5、アルファフエトプロテインまたはHer2である。他の態様では、CARは、ユニバーサルCARである。一部の態様では、CARは、ハプテン結合ドメインを含む。

【0023】

一部の態様では、本開示は、（i）ウイルスエンベロープの表面上に、（a）CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、（b）CD28に結合する共刺激分子および（c）T細胞接着分子を含むウイルスエンベロープと、（ii）（a）ラパマイシン活性化細胞表面受容体をコードするヌクレオチド配列および（b）CARをコードするヌクレオチド配列を含むベクターゲノムとを含む、ウイルス粒子であって、CARが、がん関連抗原に特異的な抗原結合ドメインを含み、必要に応じて、ヌクレオチド配列が、作動可能に連結されている、ウイルス粒子を提供する。

20

【0024】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、CD58は、配列番号17と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の態様では、CD58は、配列番号17のアミノ酸配列を含む。

【0025】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、CD80は、配列番号20と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の態様では、CD80は、配列番号20のアミノ酸配列を含む。

30

【0026】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、CD86は、配列番号23と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の態様では、CD86は、配列番号23のアミノ酸配列を含む。

【0027】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、マルチパート細胞表面受容体は、配列番号77、78、または77および78と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の態様では、マルチパート細胞表面受容体は、配列番号77、78、または77および78のアミノ酸配列を含む。一部の態様では、マルチパート細胞表面受容体は、配列番号83、84、または83および84と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるヌクレオチド配列によってコードされる。一部の態様では、マルチパート細胞表面受容体は、配列番号83、84、または83および84のヌクレ

40

50

オチド配列によってコードされる。

【0028】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、ベクターゲノムは、プロモーターを含む。一部の態様では、プロモーターは、MNDプロモーター、CAGプロモーター、SV40プロモーター、SV40／CD43プロモーターまたはEF-1 α プロモーターである。一部の態様では、プロモーターは、誘導性プロモーターである。

【0029】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、ウイルス粒子は、レンチウイルス粒子である。

【0030】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、ウイルス粒子は、*in vivo*でT細胞に形質導入する。他の態様では、ウイルス粒子は、*ex vivo*でT細胞に形質導入する。一部の態様では、ウイルス粒子は、少なくとも50%のCD25(+)細胞、少なくとも70%のCD25(+)細胞または少なくとも90%のCD25(+)細胞を含むT細胞集団を活性化する。

【0031】

一部の態様では、本開示は本明細書に記載されているウイルス粒子と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物を提供する。

【0032】

一部の態様では、本開示は、対象において*in vivo*でT細胞の集団に形質導入する方法であって、対象にウイルス粒子またはその医薬組成物を投与するステップを含み、ウイルス粒子が、目的のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含み、目的のポリペプチドが、投与後にT細胞の集団において発現される、方法を提供する。一部の態様では、T細胞の集団は、レンチウイルス粒子の投与の少なくとも3日後に、(i)少なくとも 2×10^4 pg/mLのTNF α 、(ii)少なくとも 2×10^4 pg/mLのIL-2、(iii)少なくとも 2×10^5 pg/mLのIFN γ または(iv)(i)～(iii)の任意の組合せを分泌する。

【0033】

他の態様では、本開示は、キメラ抗原受容体を発現する免疫細胞を生成することを必要とする対象においてキメラ抗原受容体を発現する免疫細胞を生成する方法であって、本明細書に記載されているウイルス粒子または医薬組成物を対象に投与するステップを含み、ウイルス粒子が、キメラ抗原受容体をコードするヌクレオチド配列を含む、方法を提供する。

【0034】

さらなる態様では、本開示は、疾患または障害を処置することを必要とする対象における疾患または障害を処置する方法であって、本明細書に記載されているウイルス粒子または医薬組成物を対象に投与するステップを含み、ウイルス粒子が、治療ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、方法を提供する。

【0035】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、ウイルス粒子は、腹腔内、皮下または節内注射によって投与される。一部の態様では、ウイルス粒子は、節内注射によって鼠径部リンパ節経由で投与される。

【0036】

前記のまたは関連する態様の一部またはいずれかでは、それを必要とする対象は、疾患または障害を有し、疾患または障害は、B細胞悪性腫瘍、再発性／不応性CD19発現悪性腫瘍、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)、バーキット型大細胞型B細胞リンパ腫(B-LBL)、濾胞性リンパ腫(FL)、慢性リンパ球性白血病(CLL)、急性リンパ球性白血病(ALL)、マンツル細胞リンパ腫(MCL)、血液悪性腫瘍、結腸がん、肺がん、肝臓がん、乳がん、腎がん、前立腺がん、卵巣がん、皮膚がん、黒色腫、骨がん、脳がん、扁平上皮癌、白血病、骨髄腫、B細胞リンパ腫、腎臓がん、子宮がん

10

20

30

40

50

、腺癌、膵がん、慢性骨髄性白血病、神経膠芽腫、神経芽細胞腫、髄芽腫、肉腫およびこれらの任意の組合せを含む。

【0037】

一部の態様では、本開示は、本明細書に記載されているウイルス粒子および必要に応じて薬学的に許容される担体を含む容器と、ウイルス粒子を対象に投与するステップを含む、対象において *in vivo* で T 細胞に形質導入するための指示とを含むキットを提供する。一部の態様では、対象は、疾患または障害を有する。一部の態様では、指示は、腹腔内、皮下または節内注射によってウイルス粒子を投与するステップを含む。

【0038】

他の態様では、本開示は、本明細書に記載されているウイルス粒子および必要に応じて薬学的に許容される担体を含む容器と、ウイルス粒子を対象に投与するステップを含む、処置することを必要とする対象を処置するための指示とを含むキットを提供する。一部の態様では、対象は、疾患または障害を有する。一部の態様では、指示は、腹腔内、皮下または節内注射によってウイルス粒子を投与するステップを含む。

【0039】

一部の態様では、本開示は、ウイルス粒子を対象に投与するステップを含む、対象において *in vivo* で T 細胞に形質導入する方法における使用のための、本明細書に記載されているウイルス粒子を提供する。他の態様では、本開示は、ウイルス粒子を対象に投与するステップを含む、疾患または障害を有する対象を処置する方法における使用のための、本明細書に記載されているウイルス粒子を提供する。

【0040】

一部の態様では、本開示は、ウイルス粒子を対象に投与するステップを含む、対象において *in vivo* で T 細胞に形質導入するための医薬の製造のための、本明細書に記載されているウイルス粒子の使用を提供する。他の態様では、本開示は、ウイルス粒子を対象に投与するステップを含む、疾患または障害を有する対象を処置するための医薬の製造のための、本明細書に記載されているウイルス粒子の使用を提供する。

【0041】

一部の態様では、本開示は、対象において *ex vivo* で T 細胞の集団に形質導入する方法であって、T 細胞の集団をウイルス粒子またはその医薬組成物と接触させるステップを含み、ウイルス粒子が、目的のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含み、目的のポリペプチドが、投与後に T 細胞の集団において発現され、接触させるステップが、*ex vivo* で行われる、方法を提供する。一部の態様では、接触させるステップは、閉ループ製造プロセス中に行われる。一部の態様では、T 細胞は、製造プロセス中に、外因性活性化剤と以前に接触したことがない。

【図面の簡単な説明】

【0042】

【図1】図1は、免疫細胞活性化タンパク質（例えば、CD3scFv）、ウイルスエンベロープタンパク質（例えば、コカル）、および1種または2種の共刺激分子を有する例示的なウイルス粒子を使用した T 細胞活性化を示す概略図である。

【0043】

【図2A】図2Aは、CD3scFv または CD3scFv + CD80 を提示するウイルス粒子を用いた % CD25 + 細胞によって測定される、CD8 + T 細胞の活性化を示す。

【0044】

【図2B】図2Bは、CD3scFv のみ、CD3scFv + CD80 または CD3scFv + CD58 を提示するウイルス粒子を用いた % CD25 + 細胞によって測定される、CD8 + T 細胞の活性化を示す。

【0045】

【図2C-2D】図2C～図2Dは、CD3scFv のみまたは CD3scFv + CD80 を有するウイルス粒子を使用して生成された、% CAR 発現（図2C）または総 CAR + CD8 + T 細胞（図2D）によって決定される、CD8 + T 細胞における CAR 発現の

10

20

30

40

50

レベルを示す。

【0046】

【図2E-2F】図2E～図2Fは、CD3s c f vのみ、CD3s c f v + CD80またはCD3s c f v + CD58を有するウイルス粒子を使用して生成された、%CAR発現（図2E）または総CAR + CD3 + T細胞（図2F）によって決定される、CD3 + T細胞におけるCAR発現のレベルを示す。

【0047】

【図2G-2H】図2G～図2Hは、IL-2（図2G）またはラパマイシン（図2H）で刺激されたCD3s c f vのみまたはCD3s c f v + CD80を有するウイルス粒子により生成されたCAR + CD8 + T細胞の増大倍率を示す。

【0048】

【図3A】図3Aは、CD3s c f vのみ、CD3s c f v + CD80、CD3s c f v + CD58またはCD3s c f v + CD80 + CD58を提示するウイルス粒子とのインキュベーション後のパーセントCD25（+）CD8 T細胞を示す。

【0049】

【図3B】図3Bは、CD3s c f vのみ、CD3s c f v + CD80、CD3s c f v + CD58またはCD3s c f v + CD80 + CD58を提示するウイルス粒子とのインキュベーション後のCD25（+）CD8 T細胞の幾何平均蛍光強度（gMFI）を示す。

【0050】

【図3C-3E】図3C～図3Eは、CD3s c f vのみ、CD3s c f v + CD80、CD3s c f v + CD58またはCD3s c f v + CD80 + CD58を提示する粒子とのインキュベーションの3日後のサイトカインの産生を示す。IFN- γ （図3C）、IL-2（図3D）およびTNF- α （図3E）レベルが測定された。

【0051】

【図3F-3G】図3F～図3Gは、CD3s c f vのみ、CD3s c f v + CD80、CD3s c f v + CD58またはCD3s c f v + CD80 + CD58を提示するウイルス粒子（混合粒子）により生成されたCD3 + T細胞におけるCAR発現を示す。%CAR発現（図3F）および総CAR + T細胞（図3G）が測定された。

【0052】

【図3H-3I】図3H～図3Iは、CD3s c f vのみ、CD3s c f v + CD80、CD3s c f v + CD58またはCD3s c f v + CD80 + CD58を提示するウイルス粒子（同じ粒子）により生成されたCD8 + T細胞におけるCAR発現を示す。%CAR発現（図3H）および総CAR + T細胞（図3I）が測定された。

【0053】

【図3J-3L】図3J～図3Lは、CD3s c f vのみ、CD3s c f v + CD80、CD3s c f v + CD58またはCD3s c f v + CD80 + CD58を提示するウイルス粒子と共にインキュベートされたCD8 + T細胞上におけるコカル（Cocal）（図3J）、CD80（図3K）またはCD58（図3L）の染色を示す。

【0054】

【図3M】図3Mは、CCR7、CD45RO、CD45RA、CD27、CD25、CAR+、総細胞、CD4およびCD8マーカーを使用した粒子共刺激分子構成に基づく、3種の主な表面抗原分類による主成分解析を示す。

【0055】

【図3N】図3Nは、CD3s c f v + CD80粒子が、エフェクターT細胞（T_{eff}）を産生したCD3s c f vのみと比較して、優勢にセントラルメモリー（T_{cm}）表現型を有するCAR + T細胞を生成することを示す。

【0056】

【図3O】図3Oは、CD3s c f v + CD80、CD3s c f v + CD58またはCD3s c f v + CD80 + CD58粒子が、エフェクターT細胞（T_{eff}）セントラルメ

10

20

30

40

50

モリーT細胞 (T_{cm}) を産生したCD3 s c f vのみと比較して、優勢にセントラルメモリー (T_{cm}) 表現型を有するCAR+T細胞を生成することを示す。

【0057】

【図4A】図4Aは、抗CD19 CARをコードし、かつCD3 s c f vのみ、CD3 s c f v+CD80、CD3 s c f v+CD58またはCD3 s c f v+CD80+CD58粒子を提示するウイルス粒子により生成された抗CD19 CAR+T細胞とのインキュベーション後の数日間にわたる、K562・CD19細胞の数を示す。粒子を、5:1のPBMC:腫瘍比で、腫瘍細胞と共に10のMOIでPBMCに添加し、直接incubateに置いた。CD3 s c f v+CD80+CD58 CAR T細胞は、個々の粒子の混合物を使用して生成した。

10

【0058】

【図4B】図4Bは、抗CD19 CARをコードし、かつCD3 s c f vのみ、CD3 s c f v+CD80、CD3 s c f v+CD58またはCD3 s c f v+CD80+CD58粒子を提示するウイルス粒子により生成された抗CD19 CAR+T細胞とのインキュベーション後の数日間にわたる、Raji細胞の数を示す。粒子を、5:1のPBMC:腫瘍比で、腫瘍細胞と共に10のMOIでPBMCに添加し、直接incubateに置いた。CD3 s c f v+CD80+CD58 CAR T細胞は、個々の粒子の混合物を使用して生成した。

【0059】

【図4C】図4Cは、抗CD19 CARをコードし、かつCD3 s c f vのみ、CD3 s c f v+CD80、CD3 s c f v+CD58またはCD3 s c f v+CD80+CD58粒子を提示するウイルス粒子により生成された抗CD19 CAR+T細胞とのインキュベーション後の数日間にわたる、K562・CD19細胞の数を示す。10のMOIにおける形質導入の7日後に、総CAR+細胞を計算し、それぞれ0.5および1のE:T比でK562・CD19のいずれかと共にインキュベートした。CD3 s c f v+CD80+CD58 CAR T細胞は、個々の粒子の混合物を使用して生成した。

20

【0060】

【図4D】図4Dは、抗CD19 CARをコードし、かつCD3 s c f vのみ、CD3 s c f v+CD80、CD3 s c f v+CD58またはCD3 s c f v+CD80+CD58粒子を提示するウイルス粒子により生成された抗CD19 CAR+T細胞とのインキュベーション後の数日間にわたる、Raji細胞の数を示す。10のMOIにおける形質導入の7日後に、総CAR+細胞を計算し、それぞれ0.5および1のE:T比でRaji細胞のいずれかと共にインキュベートした。CD3 s c f v+CD80+CD58 CAR T細胞は、個々の粒子の混合物を使用して生成した。

30

【0061】

【図4E】図4Eは、抗CD19 CARをコードし、かつCD3 s c f vのみ、CD3 s c f v+CD80、CD3 s c f v+CD58またはCD3 s c f v+CD80+CD58粒子を提示するウイルス粒子により生成された抗CD19 CAR+T細胞とのインキュベーション後の数日間にわたる、K562・CD19細胞の数を示す。10のMOIにおける形質導入の7日後に、総CAR+細胞を計算し、それぞれ1:1のE:T比でK562・CD19細胞と共にインキュベートした。CD3 s c f v+CD80+CD58 CAR T細胞は、共刺激および接着分子の両方を有する単一の粒子を使用して生成した。

40

【0062】

【図4F】図4Fは、抗CD19 CARをコードし、かつCD3 s c f vのみ、CD3 s c f v+CD80、CD3 s c f v+CD58またはCD3 s c f v+CD80+CD58粒子を提示するウイルス粒子により生成された抗CD19 CAR+T細胞とのインキュベーション後の数日間にわたる、Nalm6細胞の数を示す。10のMOIにおける形質導入の7日後に、総CAR+細胞を計算し、それぞれ1:1のE:T比でNalm6細胞と共にインキュベートした。CD3 s c f v+CD80+CD58 CAR T細胞は、共刺激および接着分子の両方を有する単一の粒子を使用して生成した。

50

【0063】

【図5A】図5Aは、PMBC、およびCD3scfvのみまたはCD3scfv+CD80粒子を提示するウイルス粒子の注射の11日後の、NSG MHC I / II KOマウスの血液試料中のCAR T細胞の数を示す。

【0064】

【図5B-5C】図5B~図5Cは、CD3scfvのみ（図5B）またはCD3scfv+CD80（図5C）を提示するウイルス粒子の投与後の100日間にわたる、NSG MHC I / II KOマウスにおける腫瘍負荷を示す。

【0065】

【図6A-6B】図6A~図6Bは、CD3scfvのみまたはCD3scfv+CD80+CD58粒子を提示するウイルス粒子による3名の健康なドナー由来のPBMCの形質導入の3日（図6A）または7日（図7B）後の、CARを発現する細胞の数を示す。

【0066】

【図7A】図7A~図7Cは、変異体VSVGエンベロープタンパク質でシュードタイプ化されたウイルス粒子で形質導入された細胞におけるCARの発現を示す。SupT1細胞（図7A）または2名の健康なドナー由来のPBMC（図7B~7C）を、CD3scfv+CD80+CD58ありまたはなしで、抗CD19 CARペイロードを有し、かつ変異体VSVGエンベロープタンパク質を提示するウイルス粒子と共に培養した。PBMCの形質導入後に、CD4+T細胞（図7B）およびCD8+T細胞（図7C）におけるCAR発現を査定した。

【図7B】図7A~図7Cは、変異体VSVGエンベロープタンパク質でシュードタイプ化されたウイルス粒子で形質導入された細胞におけるCARの発現を示す。SupT1細胞（図7A）または2名の健康なドナー由来のPBMC（図7B~7C）を、CD3scfv+CD80+CD58ありまたはなしで、抗CD19 CARペイロードを有し、かつ変異体VSVGエンベロープタンパク質を提示するウイルス粒子と共に培養した。PBMCの形質導入後に、CD4+T細胞（図7B）およびCD8+T細胞（図7C）におけるCAR発現を査定した。

【図7C】図7A~図7Cは、変異体VSVGエンベロープタンパク質でシュードタイプ化されたウイルス粒子で形質導入された細胞におけるCARの発現を示す。SupT1細胞（図7A）または2名の健康なドナー由来のPBMC（図7B~7C）を、CD3scfv+CD80+CD58ありまたはなしで、抗CD19 CARペイロードを有し、かつ変異体VSVGエンベロープタンパク質を提示するウイルス粒子と共に培養した。PBMCの形質導入後に、CD4+T細胞（図7B）およびCD8+T細胞（図7C）におけるCAR発現を査定した。

【0067】

【図8】図8は、抗CD19 CARをコードし、かつCD3scfvのみまたはCD3scfv+CD80+CD58を提示する指し示される用量の粒子を投与した後の、マウスの血液中のCAR陰性T細胞の数を示す。

【0068】

【図9A-9B】図9A~図9Cは、CD3scfvのみまたはCD3scfv+CD80+CD58を提示する粒子とのインキュベーション後の、in vitroでの粒子-T細胞結合（図9A）、活性化（図9B）、およびT細胞の形質導入（図9C）を示す。

【図9C】図9A~図9Cは、CD3scfvのみまたはCD3scfv+CD80+CD58を提示する粒子とのインキュベーション後の、in vitroでの粒子-T細胞結合（図9A）、活性化（図9B）、およびT細胞の形質導入（図9C）を示す。

【0069】

【図9D-9E】図9D~図9Hは、CD3scfvのみ、CD3scfv+CD80、CD3scfv+CD58またはCD3scfv+CD80+CD58を提示する粒子とのインキュベーション後の、サイトカインの産生を示す。IFN- γ （図9Dおよび図9E）、IL-2（図9Fおよび図9G）およびTNF- α （図9H）レベルが測定された

10

20

30

40

50

。

【図 9 F - 9 H】図 9 D ~ 図 9 H は、CD 3 s c f v のみ、CD 3 s c f v + CD 8 0、CD 3 s c f v + CD 5 8 または CD 3 s c f v + CD 8 0 + CD 5 8 を提示する粒子とのインキュベーション後の、サイトカインの産生を示す。IFN- γ (図 9 D および図 9 E)、IL-2 (図 9 F および図 9 G) および TNF- α (図 9 H) レベルが測定された。

。

【0070】

【図 10】図 10 は、CD 3 s c f v + CD 8 0 + CD 5 8 粒子が、CD 5 7 + の発現によって測定されるより高分化の細胞表現型を産生した CD 3 s c f v のみ粒子と比較して、CCR7 + CD 2 8 + CD 2 7 + 細胞マーカーの発現によって測定されるより低分化の細胞表現型を有する CAR + T 細胞を生成することを示す。

10

【0071】

【図 11】図 11 は、抗 CD 1 9 CAR + T 細胞を 2 ~ 3 日毎に Na l m 6 腫瘍細胞で連続刺激した後の、Na l m 6 細胞の数を示す。抗 CD 1 9 CAR + T 細胞は、抗 CD 1 9 CAR 導入遺伝子をコードし、かつ CD 3 s c f v のみまたは CD 3 s c f v + CD 8 0 + CD 5 8 粒子を提示するウイルス粒子により生成した。矢印は、Na l m 6 腫瘍細胞による刺激を表示する。

【0072】

【図 1 2 A - 1 2 C】図 1 2 A は、研究設計およびタイムラインを示す。図 1 2 B は、CD 3 s c f v のみまたは CD 3 s c f v + CD 8 0 + CD 5 8 + を提示するウイルス粒子による形質導入の 4 日後の、活性化マーカー CD 2 5 または CD 7 1 を発現する細胞の数を示す。図 1 2 C は、CD 3 s c f v のみまたは CD 3 s c f v + CD 8 0 + CD 5 8 + を提示するウイルス粒子による形質導入の 1 1 日後の、血液中の抗 CD 1 9 CAR を発現する T 細胞の数を示す。

20

【0073】

【図 1 3 A - 1 3 B】図 1 3 A ~ 図 1 3 B は、CD 3 s c f v のみ (図 1 3 A) または CD 3 s c f v + CD 8 0 + CD 5 8 (図 1 3 B) を提示するウイルス粒子の投与後の、NSG MHC I / II KO マウスにおける腫瘍負荷を示す。

【0074】

【図 1 4 A】図 1 4 A は、研究設計およびタイムラインを示す。

30

【0075】

【図 1 4 B】図 1 4 B は、CD 5 8、CD 8 0 および抗 CD 3 s c F v 三融合 (tri-fusion) ポリペプチドを提示する操作された粒子と共にインキュベートされた CD 3 + T 細胞上のコカルの染色を示すグラフである。

【0076】

【図 1 4 C】図 1 4 C は、操作された粒子結合 T 細胞上のコカルの染色を示すグラフである。左のピークは、CD 3 - T 細胞を示し、右のピークは、CD 3 + T 細胞を示す。操作された粒子は、CD 5 8、CD 8 0 および抗 CD 3 s c F v 三融合ポリペプチドを提示する。

【0077】

40

【図 1 4 D】図 1 4 D は、CD 5 8、CD 8 0 および抗 CD 3 s c F v 三融合ポリペプチドを提示するウイルス粒子による形質導入後 3 日目の、CD 8 + T 細胞における CD 2 5 発現を示す。

【0078】

【図 1 4 E】図 1 4 E は、CD 5 8、CD 8 0 および抗 CD 3 s c F v 三融合ポリペプチドを提示するウイルス粒子による形質導入後 7 日目の、CD 8 + T 細胞における CAR 発現を示す。

【0079】

【図 1 5】図 1 5 は、抗 CD 1 9 CAR + T 細胞を 2 ~ 3 日毎に Na l m 6 腫瘍細胞で連続刺激した後の、Na l m 6 細胞の数を示す。抗 CD 1 9 CAR + T 細胞は、抗 CD

50

19 CAR導入遺伝子をコードし、かつCD3scfv+CD80+CD58三融合ポリペプチド粒子を提示するウイルス粒子により生成した。矢印は、NALM6腫瘍細胞による刺激を表示する。エラーバーは、平均±SEMを表示する。

【0080】

【図16A-16D】図16Aは、研究設計およびタイムラインを示す。図16Bは、CD3scfv+CD80+CD58+三融合ポリペプチドを提示するウイルス粒子による形質導入の4日後の、活性化マーカーCD25を発現する細胞の数を示す。図16Cは、CD3scfv+CD80+CD58+三融合ポリペプチドを提示するウイルス粒子による形質導入の4日後の、活性化マーカーCD71を発現する細胞の数を示す。図16Dは、CD3scfv+CD80+CD58三融合ポリペプチドを提示する粒子とのインキュベーションの4日後の、IFN-γの産生を示す。

10

【図16E-16F】図16Eは、1千万または5千万形質導入単位(TU)のウイルス用量のCD3scfv+CD80+CD58+三融合ポリペプチドを提示するウイルス粒子による形質導入の11日後の、血液中の抗CD19CARを発現するT細胞の数を示す。図16Fは、1千万または5千万形質導入単位(TU)のウイルス用量のCD3scfv+CD80+CD58+三融合ポリペプチドを提示するウイルス粒子の投与後の、NSG MHC I/II KOマウスにおける腫瘍負荷を示す。

【0081】

【図17A-17C】図17Aは、研究設計およびタイムラインを示す。図17Bは、ウイルス粒子との体外インキュベーションの14日後の、血液中の抗CD19CARを発現するドナー1およびドナー2由来のT細胞の数を示す。図17Cは、ウイルス粒子との体外インキュベーションにより産生されたT細胞の投与後の、ドナー1およびドナー2 NSG MHC I/II KOマウスにおける腫瘍負荷を示す。N=7匹の動物、エラーバーは、平均±SEMを表示する。

20

【図17D-17E】図17Dは、再チャレンジ研究のための研究設計およびタイムラインを示す。図17Eは、ウイルス粒子との体外インキュベーションにより産生されたT細胞の投与および49日目の腫瘍細胞再チャレンジ後の、ドナー1およびドナー2 NSG MHC I/II KOマウスにおける腫瘍負荷を示す。エラーバーは、平均±SEMを表示する。

【図17F】図17Fは、リンカーを介してCD80のN末端に融合されたCD58細胞外領域およびα-CD3scFvを含む説明的な融合タンパク質を示す概略図である。

30

【発明を実施するための形態】

【0082】

詳細な説明

一部の実施形態では、本開示は、免疫細胞活性化タンパク質、共刺激分子、T細胞接着分子およびこれらの任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含むウイルス粒子を提供する。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、目的の分子のための送達剤である。一部の実施形態では、分子は、目的のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列である。一部の実施形態では、分子は、非コード核酸である。一部の実施形態では、非コード核酸は、cDNA、shRNA、マイクロRNAまたはsiRNAである。

40

【0083】

一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス粒子は、*in vivo*で免疫細胞を活性化および形質導入する。一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス粒子は、*in vitro*で免疫細胞を活性化および形質導入する。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、同時に免疫細胞を活性化および形質導入する。

【0084】

一部の実施形態では、本明細書に提供されるウイルス粒子および方法は、ウイルス粒子の投与に先立つ免疫細胞の事前活性化の必要をなくす。一部の実施形態では、方法は、ウイルス粒子の投与に先立つ対象における免疫細胞の事前活性化を含まない(例えば、ウイルス粒子の投与に先立つ約1、2、3、4、5、6もしくは7日以内のまたは約1、2、

50

3、4、5、6、7、8、9、10、11もしくは12週間以内の事前活性化なし)。一部の実施形態では、免疫細胞の事前活性化は、必要に応じて、それぞれ抗CD3および／または抗CD28抗体を投与することにより、免疫細胞（例えば、T細胞）におけるCD3および／またはCD28シグナル伝達を活性化するステップを含む。したがって、一部の実施形態では、本開示の方法は、ウイルス粒子の投与に先立ち別々のCD3および／またはCD28活性化剤を投与するステップを含まない。

【0085】

ウイルス粒子

一部の実施形態では、本開示は、ウイルスエンベロープおよびペイロードを含むウイルス粒子を提供する。一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、免疫細胞活性化タンパク質、共刺激分子、T細胞接着分子、またはこれらの任意の組合せを含む。

10

【0086】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、ポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、少なくとも1種の治療ポリペプチドをコードする。用語「治療ポリペプチド」は、治療的使用のために開発中の、または治療的使用のために開発されたポリペプチドを指す。一部の実施形態では、治療ポリペプチドは、治療的使用のために標的細胞（例えば、宿主T細胞）において発現される。一部の実施形態では、治療ポリペプチドは、T細胞受容体、キメラ抗原受容体またはサイトカイン受容体を含む。

【0087】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、レトロウイルス粒子である。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、レンチウイルス粒子である。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、アデノ随伴ウイルス粒子である。

20

【0088】

本明細書で使用される場合、用語「ウイルス粒子」は、ペイロード（例えば、核酸）を細胞に移入することが可能な高分子複合体を指す。ウイルスベクターは、主としてウイルスに由来する、構造的および／または機能的遺伝要素を含有する。用語「レトロウイルスベクター」は、主としてレトロウイルスに由来する、構造的および機能的遺伝要素を含有するウイルスベクターまたはその部分を指す。用語「レンチウイルスベクター」は、主としてレンチウイルスに由来する、LTRを含む、構造的および機能的遺伝要素を含有するウイルスベクターまたはその部分を指す。用語「ハイブリッド」は、例えば、レンチウイルス配列および非レンチウイルス配列の両方のレトロウイルス配列を含有する、ベクター、LTRまたは他の核酸を指す。一部の実施形態では、ハイブリッドベクターは、逆転写、複製、組み込みおよび／またはパッケージングのためのレトロウイルス配列、例えば、レンチウイルス配列を含むベクターまたは移入プラスミドを指す。

30

【0089】

ウイルスエンベロープ

一部の実施形態では、ウイルスベクターは、エンベロープ表面上にポリペプチドを含むウイルスエンベロープを含む。

【0090】

一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、1種または複数の形質導入エンハンサーを含む。一部の実施形態では、形質導入エンハンサーは、T細胞活性化受容体、NK細胞活性化受容体および／または共刺激分子を含む。一部の実施形態では、1種または複数の形質導入エンハンサーは、抗CD3 s c F v、CD86、CD80および／またはCD58のうち1種または複数を含む。一部の実施形態では、形質導入エンハンサーは、少なくとも抗CD3 s c F vおよびCD58を含む。一部の実施形態では、形質導入エンハンサーは、少なくとも抗CD3 s c F vおよびCD80を含む。一部の実施形態では、形質導入エンハンサーは、少なくとも抗CD3 s c F vおよびCD86を含む。一部の実施形態では、形質導入エンハンサーは、少なくとも抗CD3 s c F v、CD80およびCD58を含む。一部の実施形態では、形質導入エンハンサーは、少なくとも抗CD3 s c F v、CD86およびCD58を含む。

40

50

【0091】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、標的宿主細胞上のリガンドに結合する細胞表面受容体を含み、宿主細胞形質導入を可能にする。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、異種ウイルスエンベロープ糖タンパク質を含み、シュードタイプ化ウイルス粒子を生じる。例えば、ウイルスエンベロープ糖タンパク質は、RD114もしくはそのバリエーションのうち1種、VSV-G、テナガザル白血病ウイルス（GALV）に由来し得る、または兩種指向性エンベロープ、麻疹エンベロープもしくはヒヒレトロウイルスエンベロープ糖タンパク質である。一部の実施形態では、ウイルスエンベロープ糖タンパク質は、コカル系統由来のVSV-Gタンパク質（コカル糖タンパク質）またはその機能的バリエーションである。

10

【0092】

一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、表面上に2種以上のポリペプチドを含む。一部の実施形態では、2種以上のポリペプチドは、標的免疫細胞に結合し、免疫シナプスを複製する。一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、免疫細胞活性化タンパク質、共刺激分子および接着分子を含み、免疫細胞活性化タンパク質、共刺激分子および接着分子はそれぞれ、標的免疫細胞に結合する。

【0093】

免疫細胞活性化剤

一部の実施形態では、ウイルスがT細胞の活性化および形質導入の両方を行うように、形質導入エンハンサーは、レトロウイルスまたはレンチウイルスカプシド中に取り込まれた有糸分裂誘発刺激を含む。これにより、ベクターおよびマイトジェンを添加する必要が除かれる。一部の実施形態では、形質導入エンハンサーは、産生株／パッケージング細胞膜から出芽する際にレトロウイルス中に取り込まれるようになる、有糸分裂誘発膜貫通タンパク質ならびに／または1種もしくは複数の共刺激および／もしくは接着分子を含む。一部の実施形態では、形質導入エンハンサーは、ウイルスエンベロープ糖タンパク質の一部であるのではなく、プロデューサー細胞上に別々の細胞表面分子として発現される。

20

【0094】

本明細書に記載されているウイルスベクターは、ウイルスエンベロープに有糸分裂誘発形質導入エンハンサーを含むことができる。一部の実施形態では、有糸分裂誘発形質導入エンハンサーは、レトロウイルスベクター産生中に宿主細胞から得られる。一部の実施形態では、有糸分裂誘発形質導入エンハンサーは、パッケージング細胞によって作製され、細胞表面に発現される。新生レトロウイルスベクターが、宿主細胞膜から出芽するときに、有糸分裂誘発形質導入エンハンサーは、パッケージング細胞由来脂質二重層の一部としてウイルスエンベロープに取り込まれ得る。一部の実施形態では、有糸分裂誘発エンハンサーは、抗体またはその断片である。一部の実施形態では、有糸分裂誘発エンハンサーは、単ドメイン抗体、例えば、ラクダ類抗体である。一部の実施形態では、有糸分裂誘発エンハンサーは、scFvである。一部の実施形態では、有糸分裂誘発エンハンサーは、ナノボディである。

30

【0095】

一部の実施形態では、形質導入エンハンサーは、宿主細胞由来である。用語「宿主細胞由来」は、有糸分裂誘発形質導入エンハンサーが、上に記載されている通り、宿主細胞から得られ、主な構造タンパク質をコードするgag；またはエンベロープタンパク質をコードするenv等のウイルス遺伝子の1種からの融合体またはキメラとして産生されないことを指し示す。

40

【0096】

エンベロープタンパク質は、2個のサブユニットである、脂質膜中にこのタンパク質を繫留する膜貫通（TM）および細胞受容体に結合する表面（SU）によって形成される。一部の実施形態では、本発明のパッケージング細胞由来有糸分裂誘発形質導入エンハンサーは、表面エンベロープサブユニット（SU）を含まない。

【0097】

50

一部の実施形態では、有糸分裂誘発形質導入エンハンサーは、構造：M－S－TM（式中、Mは、有糸分裂誘発ドメインであり；Sは、必要に応じたスペーサドメインであり、TMは、膜貫通ドメインである）を有する。

【0098】

有糸分裂誘発ドメインは、T細胞活性化を引き起こす、有糸分裂誘発形質導入エンハンサーの一部である。これは、直接的にまたは間接的に、T細胞に結合するかまたは他の仕方ですれと相互作用し、T細胞活性化を生じることができる。一部の実施形態では、有糸分裂誘発ドメインは、CD3、CD28、CD134およびCD137等のT細胞表面抗原に結合する。

【0099】

CD3は、T細胞共受容体である。これは、4個の別個の鎖で構成されたタンパク質複合体である。哺乳動物において、複合体は、CD3γ鎖、CD3δ鎖および2個のCD3ε鎖を含有する。これらの鎖は、T細胞受容体（TCR）およびζ鎖と会合して、Tリンパ球において活性化シグナルを生成する。TCR、ζ鎖およびCD3分子は一緒になってTCR複合体を構成する。一部の実施形態では、有糸分裂誘発ドメインは、CD3ε鎖に結合する。

【0100】

一部の実施形態では、有糸分裂誘発ドメインは、T細胞表面抗原に特異的に結合する抗体または他の分子の全てまたは一部を含む。一部の実施形態では、抗体は、TCRまたはCD28を活性化する。一部の実施形態では、抗体は、TCR、CD3またはCD28に結合する。そのような抗体の例は、OKT3、15E8およびTGN1412を含む。他の適した抗体は、次のものを含む：

抗CD28：CD28.2、10F3

抗CD3／TCR：UCHT1、YTH12.5、TR66

【0101】

一部の実施形態では、有糸分裂誘発ドメインは、OKT3、15E8、TGN1412、CD28.2、10F3、UCHT1、YTH12.5またはTR66由来の結合ドメインを含む。

【0102】

一部の実施形態では、有糸分裂誘発ドメインは、OX40Lおよび41BBL等の共刺激分子の全てまたは一部を含む。例えば、有糸分裂誘発ドメインは、OX40Lまたは41BBL由来の結合ドメインを含むことができる。

【0103】

ムロモナブ（Muromonab）－CD3としても公知のOKT3は、CD3ε鎖に標的化されるモノクローナル抗体である。これは、臓器移植片を有する患者における急性拒絶反応を低減させるために臨床使用される。これは、ヒトにおける臨床使用のために承認された最初のモノクローナル抗体であった。OKT3のCDRは次のとおりである1

CDRH1：GYTFTRY（配列番号136）

CDRH2：NPSRGY（配列番号137）

CDRH3：YYDDHYCLDY（配列番号138）

CDRL1：SASSSVSYMN（配列番号139）

CDRL2：DTSKLAS（配列番号140）

CDRL3：QQWSSNPFT（配列番号141）

【0104】

一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、免疫細胞活性化タンパク質を含む。一部の実施形態では、免疫細胞活性化タンパク質は、免疫細胞上の受容体に特異的に結合する。一部の実施形態では、免疫細胞活性化タンパク質は、T細胞活性化のためのシグナル1を提供する。

【0105】

一部の実施形態では、免疫細胞活性化タンパク質は、CD2、CD3、CD28H、L

10

20

30

40

50

F A - 1、D N A M - 1、C D 2 7、I C O S、L I G H T、G I T R、C D 3 0、S L A M、L y - 9、C D 8 4、L y 1 0 8、N K G 2 D、N K p 4 6、N K p 4 4、N K p 3 0、C D 2 4 4 または N K p 8 0 に特異的に結合する。一部の実施形態では、免疫細胞活性化タンパク質は、C D 3 γ 、C D 3 δ または C D 3 ϵ に特異的に結合する。一部の実施形態では、免疫細胞活性化タンパク質は、C D 3 γ 、C D 3 δ 、C D 3 ϵ 、C D 9、C D 5、C D 2 2、C D 3 3、C D 3 7、C D 6 4、C D 4 5、C D 2 8 H、L F A - 1、D N A M - 1、C D 2 7、I C O S、L I G H T、G I T R、C D 3 0、S L A M、L y - 9、C D 8 4、L y 1 0 8、C D 1 6、C D 5 6、N K G 2 D、N K p 4 6、N K p 4 4、N K p 3 0、C D 2 4 4、N K p 8 0、T C R α 鎖、T C R β 鎖、T C R γ 鎖または T C R δ 鎖に特異的に結合する。一部の実施形態では、免疫細胞活性化タンパク質は、C D 3 γ 、C D 3 δ または C D 3 ϵ に特異的に結合する。一部の実施形態では、免疫細胞活性化タンパク質は、C D 3 に特異的に結合する。

10

【0106】

一部の実施形態では、免疫細胞活性化タンパク質は、免疫細胞上の受容体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片である。一部の実施形態では、免疫細胞活性化タンパク質は、C D 2 8、C D 2、C D 3、C D 2 8 H、L F A - 1、O X 4 0、4 - 1 B B、C D 4 0 L、D N A M - 1、C D 2 7、I C O S、L I G H T、G I T R、C D 3 0、S L A M、L y - 9、C D 8 4、L y 1 0 8、N K G 2 D、N K p 4 6、N K p 4 4、N K p 3 0、C D 2 4 4 または N K p 8 0 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片である。一部の実施形態では、免疫細胞活性化タンパク質は、C D 2 8、C D 2、C D 3 γ 、C D 3 δ 、C D 3 ϵ 、C D 4、C D 8、C D 9、C D 5、C D 2 2、C D 3 3、C D 3 7、C D 6 4、C D 4 5、C D 2 8 H、L F A - 1、O X 4 0、4 - 1 B B、C D 4 0 L、D N A M - 1、C D 2 7、I C O S、L I G H T、G I T R、C D 3 0、S L A M、L y - 9、C D 8 4、L y 1 0 8、C D 1 6、C D 5 6、N K G 2 D、N K p 4 6、N K p 4 4、N K p 3 0、C D 2 4 4、N K p 8 0、T C R α 鎖、T C R β 鎖、T C R γ 鎖または T C R δ 鎖に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片である。一部の実施形態では (some embodiments)、免疫細胞活性化タンパク質は、C D 3 γ 、C D 3 δ または C D 3 ϵ に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片である。一部の実施形態では、免疫細胞活性化タンパク質は、C D 3 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片である。

20

30

【0107】

本明細書に記載されているポリペプチドを標的化する抗体は、当業者にとって公知である。抗体を生成するための方法は、当業者にとって公知である。

【0108】

一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、抗 C D 3 ϵ 抗体またはその抗原結合性断片を含む。一部の実施形態では、抗 C D 3 ϵ 抗体またはその抗原結合性断片は、膜貫通ドメインに結合される。説明的な抗 C D 3 ϵ 抗体は、O K T 3 である。ムロモナブー C D 3 としても公知の O K T 3 は、C D 3 ϵ 鎖に標的化されるモノクローナル抗体である。

【0109】

一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、抗 C D 3 抗体の単鎖 F v 断片 (s c F v) を含む。

40

【0110】

一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、配列番号 2 と少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む抗 C D 3 s c F v を含む。一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む抗 C D 3 s c F v を含む。

【0111】

一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、次の相補性決定領域 (C D R) を含む抗 C D 3 s c F v を含む：S A S S S V S Y M N (C D R - L 1；配列番号 1 3 3)、

50

D T S K L A S G (C D R - L 2 ; 配列番号 1 3 4) 、 Q Q W S S N P F T (C D R - L 3 ; 配列番号 1 3 5) 、 R Y T M H (C D R - H 1 ; 配列番号 4 8) 、 Y I N P S R G Y T N Y N Q K V K D (C D R - H 2 ; 配列番号 3 6) 、 および Y Y D D H Y C L D Y (C D R - H 3 ; 配列番号 3 8) 。

【 0 1 1 2 】

一部の実施形態では、抗 C D 3 s c F v をコードするヌクレオチド配列は、配列番号 7 に対する少なくとも 7 5 % 、少なくとも 8 0 % 、少なくとも 8 5 % 、少なくとも 9 0 % 、少なくとも 9 5 % 、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % の同一性 (identical) を含む。一部の実施形態では、抗 C D 3 s c F v をコードするヌクレオチド配列は、配列番号 7 を含む。

10

【 0 1 1 3 】

一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、配列番号 1 2 と少なくとも 7 5 % 、少なくとも 8 0 % 、少なくとも 8 5 % 、少なくとも 9 0 % 、少なくとも 9 5 % 、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む抗 C D 3 s c F v を含む。一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含む抗 C D 3 s c F v を含む。

【 0 1 1 4 】

一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、次の C D R を含む抗 C D 3 s c F v を含む： S A S S S V S Y M N (C D R - L 1 ; 配列番号 1 3 3) 、 D T S K L A S G (C D R - L 2 ; 配列番号 1 3 4) 、 Q Q W S S N P F T (C D R - L 3 ; 配列番号 1 3 5) 、 R Y T M H (C D R - H 1 ; 配列番号 4 8) 、 Y I N P S R G Y T N Y N Q K V K D (C D R - H 2 ; 配列番号 3 6) 、 および Y Y D D H Y C L D Y (C D R - H 3 ; 配列番号 3 8) 。

20

【 0 1 1 5 】

一部の実施形態では、抗 C D 3 s c F v をコードするヌクレオチド配列は、配列番号 1 5 に対する少なくとも 7 5 % 、少なくとも 8 0 % 、少なくとも 8 5 % 、少なくとも 9 0 % 、少なくとも 9 5 % 、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % の同一性を含む。一部の実施形態では、抗 C D 3 s c F v をコードするヌクレオチド配列は、配列番号 1 5 を含む。

【 0 1 1 6 】

共刺激分子

30

一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、少なくとも 1 種の共刺激分子を含む。一部の実施形態では、共刺激分子は、免疫細胞上の受容体に特異的に結合する。一部の実施形態では、共刺激は (co-stimulatory) 、細胞活性化のためのシグナル 2 を提供する。

【 0 1 1 7 】

本明細書で使用される場合、用語「共刺激分子」は、T細胞に対する共刺激シグナルを生成することが可能な分子を指す。T細胞およびナチュラルキラー (NK) 細胞等のリンパ球は典型的に、完全エフェクター機能を得るために、最適なプライミングのためのいくつかのシグナルおよび抗原提示細胞 (APC) との相互作用を必要とする。T細胞について、これらは、適正なシナプス形成およびシグナルトランスダクションに十分な時間を許容するのに必要な、T細胞受容体 (TCR) 、共刺激分子 (CD 2 8 および CD 2 等) 、サイトカインと共に様々な接着分子を介したシグナル伝達を含む。NK細胞は、同様の型の刺激を必要とするが、異なる活性化受容体、例えば、NK G 2 D 、 NK p 4 6 および D N A M - 1 に依拠することができる。T細胞について、TCR刺激に加えて適正な共刺激が、有効なプライミングに特に重要であり、多くの研究が、TCR刺激単独は機能性アネルギーおよび不応答性を生じ得ることを示した。共刺激シグナルは、細胞代謝、サイトカイン産生、分化および長期持続を増強することにより、TおよびNK細胞機能を増大させる。共刺激は、細胞増殖、分化および生存に重要な因子である。一部の実施形態では、共刺激分子は、CD 4 5 、 CD 2 、 CD 4 、 CD 5 、 CD 8 、 CD 9 、 CD 1 6 、 CD 2 2 、 CD 3 3 、 CD 2 8 、 CD 3 7 、 CD 6 4 、 CD 8 0 、 CD 8 6 、 CD 1 3 4 、 CD 1

40

50

37およびCD154を含むがこれらに限定されない。一部の実施形態では、共刺激分子は、接着分子であってもよい。一部の実施形態では、共刺激分子は、本明細書に記載されている共刺激または接着分子のいずれかに結合する、結合剤、例えば、scFv、抗体、単ドメイン抗体、抗体断片、ナノボディを含むがこれらに限定されない。一部の実施形態では、これらの結合剤は、抗CD28、抗CD2、抗CD45、抗CD4、抗CD5、抗CD8、抗CD9、抗CD16、抗CD22、抗CD33、抗CD37、抗CD64、抗CD80、抗CD86、抗CD137、抗CD154、抗CD28H、抗LFA-1、抗OX40、抗4-1BB、抗CD40L、抗DNAM-1、抗CD27、抗ICOS、抗LIGHT、抗GITR、抗CD30、抗SLAM、抗Ly-9、抗CD84、抗Ly108、抗NKG2D、抗NKP46、抗NKP44、抗NKP30、抗CD244、抗NKP80、抗TCR α 鎖、抗TCR β 鎖、抗TCR γ 鎖および抗TCR δ 鎖剤を含むことができる。

10

【0118】

一部の実施形態では、共刺激分子は、CD28のリガンドである。CD28は、T細胞活性化および生存に必要とされる共刺激シグナルを提供する、T細胞上で発現されるタンパク質の1種である。T細胞受容体(TCR)に加えてCD28を介したT細胞刺激は、様々なインターロイキン(特にIL-6)の産生のための強力なシグナルを提供することができる。一部の実施形態では、共刺激分子は、CD28に結合する抗体またはその断片である。そのような抗体の例は、15E8およびTGN1412を含む。他の適した抗体は、CD28.2および10F3を含む。

20

【0119】

15E8は、ヒトCD28に対するマウスモノクローナル抗体である。そのCDRは次の通りである：

CDRH1：GFSLTSY (配列番号142)

CDRH2：WAGGS (配列番号143)

CDRH3：DKRAPGKLYY GYPD Y (配列番号144)

CDRL1：RASESVEYYVTS LMQ (配列番号145)

CDRL2：AASNYES (配列番号146)

CDRL3：QQTRKVPST (配列番号147)

【0120】

TGN1412 (CD28-SuperMABとしても公知)は、CD28受容体に結合するだけでなく、それに対する強いアゴニストでもある、ヒト化モノクローナル抗体である。そのCDRは次の通りである。

CDRH1：GYTF SY (配列番号148)

CDRH2：YPGNVN (配列番号149)

CDRH3：SHYGLDWNFDV (配列番号150)

CDRL1：HASQNIYVLN (配列番号151)

CDRL2：KASNLHT (配列番号152)

CDRL3：QQGQTYPYT (配列番号153)

【0121】

一部の実施形態では、共刺激分子は、CD86である。B7-2としても公知のCD86は、CD28のリガンドである。一部の実施形態では、CD28のリガンドは、CD86である。一部の実施形態では、共刺激分子は、CD80である。CD80は、CD28の追加のリガンドである。一部の実施形態では、CD28のリガンドは、CD80である。一部の実施形態では、CD28のリガンドは、抗CD28抗体または抗CD28 scFvである。一部の実施形態では、抗CD28抗体または抗CD28 scFvは、ウイルスエンベロープの表面上における提示のために膜貫通ドメインに結合される。

40

【0122】

一部の実施形態では、共刺激分子は、配列番号23のアミノ酸配列を含むCD86ポリペプチドである。一部の実施形態では、共刺激分子は、配列番号23と少なくとも80%

50

、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含むCD86ポリペプチドである。

【0123】

一部の実施形態では、CD86ポリペプチドは、配列番号24のヌクレオチド配列によってコードされる。一部の実施形態では、CD86ポリペプチドは、配列番号24と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるヌクレオチド配列によってコードされる。

【0124】

一部の実施形態では、共刺激分子は、配列番号20のアミノ酸配列を含むCD80ポリペプチドである。一部の実施形態では、共刺激分子は、配列番号20と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含むCD80ポリペプチドである。

【0125】

一部の実施形態では、CD80ポリペプチドは、配列番号21のヌクレオチド配列によってコードされる。一部の実施形態では、CD80ポリペプチドは、配列番号21と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるヌクレオチド配列によってコードされる。

【0126】

OX40としても公知のCD134は、活性化T細胞上に発現される、受容体のTNFRスーパーファミリーのメンバーである。OX40は、細胞分裂および生存を促進することができる。OX40は、活性化に続く24〜72時間後に発現される二次共刺激分子である；そのリガンドであるOX40Lもまた、休止抗原提示細胞上に発現されないが、それらの活性化に続いて発現される。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、そのネイティブ膜貫通ドメインまたは異種膜貫通ドメインに結合された、OX40のリガンドまたはその機能的断片を含む。

【0127】

4-1BBとしても公知のCD137は、腫瘍壊死因子(TNF)受容体ファミリーのメンバーである。CD137は、活性化T細胞上に発現される。加えて、CD137発現は、樹状細胞、濾胞性樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、顆粒球および炎症部位における血管壁の細胞に見出される。CD137の最良の特徴付けされた活性は、活性化T細胞のためのその共刺激活性である。CD137の架橋は、T細胞増殖、IL-2分泌、生存および細胞溶解活性を増強する。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、そのネイティブ膜貫通ドメインまたは異種膜貫通ドメインに結合させた、4-1BBのリガンドまたはその機能性断片を含む。4-1BBLは、腫瘍壊死因子(TNF)リガンドファミリーに属するサイトカインである。この膜貫通サイトカインは、Tリンパ球における共刺激受容体分子である、4-1BBのリガンドとして作用する双方向性シグナルトランスデューサーである。4-1BBLは、Tリンパ球増殖の促進に加えて、アネルギー性Tリンパ球を再活性化することが示されている。

【0128】

1種または複数の活性化または共刺激分子を含むウイルス粒子は、WO2016/139463によって提供される方法によってパッケージング細胞系を操作することにより；または国際特許公開番号WO2020/106992A1に記載されているポリシストロニックヘルパーベクターからのT細胞活性化もしくは共刺激分子(複数可)の発現により作製することができ、これら文献は両方とも、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0129】

接着分子

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、接着分子を含む。本明細書で使用される場合、用語「接着分子」は、細胞と他の細胞との結合に関与する細胞表面分子のサブセットを指す。細胞の接着は、免疫細胞間の免疫シナプス等、より安定した相互作用の形成を助けることができる。免疫シナプスは、極性化免疫エフェクター細胞および抗原を有する細胞の間の安定した接着性接合部である。一部の実施形態では、接着分子は、標的細胞に共刺激シグナルを提供することができる。一部の実施形態では、接着分子は、CD58、HHLA2、ICAM-1、OX40L、4-1BBL、CD40、CD155、CD70、HVEM、GITRL、ICOSL、CD30L、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6およびB7-H6を含むがこれらに限定されない。

10

【0130】

本開示の共刺激および接着分子は、CD80、CD86、CD58、HHLA2、ICAM-1、OX40L、4-1BBL、CD40、CD155、CD70、HVEM、GITRL、ICOSL、CD30L、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、ならびにB7ファミリーメンバー、例えば、B7-H2、B7-H6およびB7-H5を含むがこれらに限定されない。抗CD28、抗CD2、抗CD28H、抗LFA-1、抗OX40、抗4-1BB、抗CD40L、抗DNAM-1、抗CD27、抗ICOS、抗LIGHT、抗GITR、抗CD30、抗SLAM、抗Ly-9、抗CD84、抗Ly108、抗NKG2D、抗NKp46、抗NKp44、抗NKp30、抗CD244および抗NKp80を含む、これらのリガンドに対する結合タンパク質、例えば、scfvおよびナノボディも取り込まれる。膜結合型サイトカインは、IL-2、IL-7、IL-12、IL-15、IL-18およびIL-21を含むがこれらに限定されない。本開示の融合構築物は、B7-H3、B7xおよび／またはTMIGD2を含むこともできる。本明細書に開示されている融合タンパク質は、CD28、CD28H、CD2、CD3、LFA-1、OX40、4-1BB、CD40L、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、NKp46、NKp44、NKp30、CD244またはNKp80を含むT細胞の表面上に提示される共刺激および／または接着分子と会合する1個または複数のドメインを含むことができる。

20

30

【0131】

一部の実施形態では、接着分子は、本明細書に記載されている接着または共刺激分子のいずれかに結合する、結合剤、例えば、scFv、抗体、単ドメイン抗体、抗体断片およびナノボディを含むがこれらに限定されない。一部の実施形態では、これらの結合剤は、抗CD28、抗CD2、抗CD28H、抗LFA-1、抗OX40、抗4-1BB、抗CD40L、抗DNAM-1、抗CD27、抗ICOS、抗LIGHT、抗GITR、抗CD30、抗SLAM、抗Ly-9、抗CD84、抗Ly108、抗NKG2D、抗NKp46、抗NKp44、抗NKp30、抗CD244、抗NKp80、抗TCRα鎖、抗TCRβ鎖、抗TCRγ鎖および抗TCRδ鎖剤を含むことができる。

40

【0132】

一部の実施形態では、共刺激および／または接着分子は、表1における配列に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%の同一性を共有する。

【表 1 - 1】

表1

名称	配列	配列 番号	領域
CD80 細胞外ドメイン	VIHVTKEVKEVATLSCGHNVSVVEELAQTRIYWQKEKKMVLTMMSGD MNIWPEYKNRTIFDITNNLSIVILALRPSDEGTYESVVLKYEKDAF KREHLAEVTLVSKADEPTPSISDFEIPTSNIRRIICSTSGGFPEPH LSWLENGEELNAINTTVSQDPETELYAVSSKLDENMTNHSFMCLLI KYGHLRVNQTFNWNTTKQEHFPDN	173	Val35 - Asn242
CD86 細胞外ドメイン	APLKIQAYFNETADLPCCFANSONQSLSELVVFWDQDENLVLEEVY LGKEKFDVSHSKYMGRTSPDSDSWELRLHNLQIKDKGLYQCIEHHK KPTGMIPIHQMNSELVLANP'SQPEIVPIGNITENVYINLTCSSIN GYPEPKKMSVLLKTKNSTIEYDSVMQKSQDNVTELYDVSSISLVSF PDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDEQPPPHIP	174	Ala24 - Pro247
CD58 細胞外ドメイン	ESQQIYGVVYGVNVTFFHVPENVPLKEVLWKKQKDKVACLENSEERRAF SSFKNRVYLDENVSGSLTIYNLTSSDEDEYEMESPNTTDEMKEFLYV	175	Phe29 - Val120
HLA2 (a/k/a B7- H7) 細胞外ドメイン	IFPLAFFIYVPMNEQIVIGRLDEDIILPSSFERGSEVVIHWKYQDS YKVHSYYKGSDBLESQDPRYANRTSLFYNETQNGASLEFFRVSIL DEGIYTCYVGTATQVITNEVVLKVGVFLTFVMKYEKRNINSTLICS VLSVYPRPIITWKMDNTPRISENMEETGSLDSFSINSPINITGSNS SYECTIENSLLKQTWTGRWTKMDGLHRMQSEHVSLSQFVNDYFSP NQDTKVTWSRWKSGTFSVLAYYLSSQNTTINESAPSWNKELINQS DISMNLDLNLSDSGEYLCNISSDEYTLTITRTVHVVEFSQETASHN K	176	Ile23 - Lys345
ICAM-1 細胞外ドメイン	QTSVSPSKVILPRGGSVLVTCSTSCDQPKLLGIETPLPKKELLLPG NNRKVYELSNVQEDSQPMCYSNCPDQSTAKTFLTVYWTPERVELA PLPSWQPVGKNLTLRCQVEGGAPRANLTVVLLRGEKELKREPAVGE PAEVTTTVLVRRDHHGANFSCRTELDRLPQGLELFENTSAPYQLQT FVLPATPPQLVSPRVLEVDTQGTVVCSLDGLFPVSEAQVHLALGDQ RLNPTVTYGNDSFSAKASVSVTAEDGTQRLTCAVILGNQSQETLQ TVTIYSFPAPNVILTKPEVSEGTEVTVKCEAHPRAKVTNLNGVPAQP LGPRALLKATPEDNGRSFSCSATLEVAGQLIHKNQTRERLVLYG PRLDERDCPGNWTWPENSQQTPMCQAWGNPLPELKCLKDGTFFLPPI GESVTVTRDLEGTVLCRARSTQGEVTRKVTNVNLSPRYE	177	Gln28- Glu480

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

OX40-L 細胞外ドメイン	QVSHRYPRIQSIRKVFTEYKKEKGFILTSQKEDIMKVQNNSVIIN CDGTYLISLKGTFESQEVNLSLHYQKDEEPLFQLKKVSVNSLMVAS LTYKDKVYLVNTIDNTSLDDTHVNGGELILIHQNPGEFCVL	178	Gln51 - Leu183
4-1BBL 細胞外ドメイン	REGPELSPDDBAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGFLSWYSDPGLA GVSLTSGLSYKEDTKELVVAKAGVYVFFQLEIRRVVAGEGSGSVS LALHLQPLPSAAGAALALITVDLPASSEARNSAFGFGGRLHLISA GQRLGVBLRTEARARHAWQLTQCATVLGLFRVTPETPAGLSPRSE	179	Arg71 - Glu254
CD40 細胞外ドメイン	EPPTACREKQYLINSQCCSLCQPGQKIVSDCTETETECIPQGESE PLETWNRETHCHQHKYCDPKLGLRVQKGTSETDTICTCEGWHOT SEACESCVLHRSCSPGFGVRQIATGVSDTICEPCPVGFFSNVSSAF EMCHFWTSCETKDLVQQAGTNKTDVVCQPDRLR	180	Glu21 - Arg193
CD155 細胞外ドメイン	WPPEGTGDIVVQAFATQVPGFLGDSVTLPCLQVPMMEVTHVSQETW ARHGESGSMAYEHQQTQGPSYSESKRIEFVAARKLGAELRNASLRFMG LRVEDEGNVITCLFVDEPQGSRSVDIWLAVLAKPQNTAEVQEVQLTG EPVPMARCVSTGGRFPAQITWHSDLGMPNTISQVPGFLSGTIVTFS LWHLVPSQVDGKNVTKVHEHESTEKPQLLTVNLTVYYPPEVSTSG YDNNWYLGQNEATILTCDAASNPEPTGYNWSTIMGLPFPFAVAQGAQ LLTRFVDKPIINTILCNVTNALGARQAEITVQVKEGPPSEHSISR N	181	Trp21 - Asn343
CD70 細胞外ドメイン	QRFAQAQQQLPLESLGWDVAELQNLNHTGPPQDDPRLYQQGFPALGRS FLHGPFLDKGQLRIHRDGLYMVHLQVTLAICSETTASRHHPTTLAV GICSPASRSISLLRLSEHQGCTTASQRLTPLANGDTLCTNLTGELL PSRNTDTEFFGVQVVRP	182	Gln39 - Pro193
HVEM 細胞外ドメイン	LPSCKEEDYPVGSSECPGSPGYRVKEAGGELTGTVCPCPPGTMT AHNLGLSKCLQCCMCDDPAMGLNASRNCSTENAVCGCSPGHFCTVQ DGBHCACACRAATSSPGQRVQKGGTESQDTLCQNCPPGTCTSPGTL EECQHQTCKCSWLVTKAGAQTSSS	183	Leu39 - Ser199
GITRL 細胞外ドメイン	QLETAKEPCMAKFGPLPSKQWQASSEPPCVNKVSDWKEILLQNGLY LHIGQVAPNANYNDVAPFEVRLYKNKDMTQTLTNKSKIQNVGGTIE LHVGETTDLLEFNSHQVLKNNYWGITILLANPQFIS	184	Gln72 - Ser199
CD30L 細胞外ドメイン	QRTDSIPNSPDNVPLKGGNCSEDLICILKRAPFKKSWAYLQVAKHL NKKLKSNNKDGILHGVRYQDGNLVIQFPGLYFIICQLQFLVQCPNN SVDLKLELLINKHKIKQALVTVCESGMQTKHVYQNLSQLLDYLVQV NTTISVNVDTFQYIDTSTFPLENVLSIFLYNSD	185	Gln63 - Asp234
SLAMF2 細胞外ドメイン	QGHVHMTVVSGSNVTLNTESESLPENYKQETWFFYTFDQKTVERDSK KSHYFESKFKRFRVLDPPQSGAIVTSKVQKEDNSTYIMFVKKKTGNE QEWKINLQVLDPVPKPVIKIEKYEDMDNDNCYLKLSCVIPGESVNYT WYGDKRPTPKELQNSVLETTLMPHNYSRCYTCQVNSVSSKNGTVC LSPPCTLAR	186	Gln27 - Arg219
Ly-9 細胞外ドメイン	KDSAPTIVVSGILGGSVTLPLNISVDTEIENVIWIGPKNALAFARPK ENVTIMVKSYLEGLDITKWSYSLCISNLTNDAGSYKAQINQRNFE VTTEEEFTLFVYEQLQEPQVTMKSVKVSENFSCNITLMCSVKGAEK SVLYSWTPREPHASESNGGSILTVSRTPCDPDLPYICTAQNVPVSQR SSLPVHVQGQCTDPGASRGTTGETTVVGVLEPVTLPALPACRDT EKVVVLFNTSIIISKEREAAATADPLIKSRDPYKNRVVWSSQDCSLK ISQLKIEDAGPYHAYVCEASSVTSMTHVTLLIYRRLRKPKITWSL RHSEGDICRISLTCSEVDGGNTVMYTWTPLQKEAVVSQGESHLNVS WRSSENHPNLCTASNPVSRSSHQFLSENICSGPERNTK	187	Lys48 - Lys454
CD84 細胞外ドメイン	KDSEIFTVNGILGESVTFPVNIQEPQVKIITAWTSKTSVAYVTPGD SETAPVVTVTHRNYERIHALGNYNLVISDLRMEDAGDYKADINT QADPYTTTKRYNLQIYRRLGKPKITQSLMASVNSTCNVTILTCVEK EKNVTYNWSPLGEEGNVLQIFQTPEDQELTYTCTAQNVPVSNNSDS ISARQLCADIAMGFRTHHTG	188	Lys22 - Gly225
Ly108 (a/k/a SLAMF6) 細胞外ドメイン	QSSLTPLMVGILGESVTLPLEPAGKVNNTTWLFNETSLAFIVP BETKSPFIHVTPKQKPLNFTQSYSLQLSNLKMEDTGSPYRAQIST KTSARLSSYTLRLRLQLRNIQVTNHSQLEQNMTCLEHLTCSVEDAD DNVSFRWEALGNTLSSQPNLTVSWDPRTSSSQDYTCIAENAVSNLS FSVSAQKLCEVVKIQYTDTK	189	Gln22 - Lys225

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

MICA 細胞外ドメイン	EPHSLRYNLTVLSWDGSGVQSGFLTEVHLDGQPLFRCDRQKCRKAEQ GQWAEDVLGNKTWDRETFDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQE TFVCEIHEDNSTRSSQHTYYDGEILFSLQNLTKETMTFQSSRAQTL AMNVRNTLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQLRRYLSGVVLRSTVPP MVHVTRSEASEGNITVTCRASGFYEWNIETLSWPQDGVLSLHDTQOW GDVLPDNGSTYQTFVATRICKQGEERETCYMEHSGNHSTHPVPSGK VAVLQSH	190	Glu24 - His306
MICB 細胞外ドメイン	EPHSLRYNLTVLSWDGSGVQSGFLTEVHLDGQPLFRCDRQKCRKAEQ GQWAEDVLGAEFTWDTETEDLTENGQDLRKLTHIKDQKGVQSSRA QTLAMNVTINWEKEDAMKTKTHYRAMQADCLQLRYLKSQVAIRRT VPPMVNVTCEVSEEGNITVTCPASSEYEPNTITLWRQDGVLSLHNT QQWGDVLPDNGSTYQTFVATRICKQGEERETCYMEHSGNHGTHPVP SGKALVLSQRTE	191	Glu24 - Asp266
ULBP1	MAAAASPAILLCLPLHLLSGWSRAGWVDTHCLCYDITVIPKSRPE PQWCEVQGLVDERPELHYDCVNHKAKAFASLGKKVNVTKTWEEQTE TLRDVVDFELKGQLLDIQVENLPIETPLTLQARMSCEHEAHGHRGS WQFLFNGQKELLEDSNNRKWTALHPGAKKMTKEWKNRDVTMTFQK ISLGDCKMWLEEFLLMYEQMLDPTKPPSLAPGTTQPKAMATTLSPW SLILILCFILAGR	192	
ULBP2	MAAAATKILCLPLILLLSGWSRAGRADPHSLCYDITVIPKFRPG PRWCAVQGGVDEKTEFLHYDCGNKTVTPVSPLGKKLNVTTAWKAQNP VLREVVDILTEQLRDIQLENYTPKEPLTLQARMSCEQKAEGHSSGS WQSFSDGQIFLLEFSEKRMWTTVHPGARKMKEKWENDKVAMSTHY FSMGDCTGWLEDFLMGMDSTLEPSAGAPLAMSSGTTQLRATATTLI LCCLILILPCFILPGI	193	
ULBP3	MAAAASPAILPRLAILPYLLFDWSGTGRADHSLWYNFTIHLPRH GQWQCNVQSQVDQKNFLSYDCGSDKVLMSGHLEEQLYATDAWGRQL EMIREVGQRILRIELADTELEDFTPSGPLTLQVRMSCEADGYIRG SWQSFSDGRKELLEDSNNRKWTVVHAGARMKEKWENDKSLTTFEK MVSMDCKSWLRDFLMHRKKRLEPTAPPTMAPGLAQPKAIATTLSP WFLILILCFILPGI	194	
ULBP4 細胞外ドメイン	HSLCFNFTIKSLSRPQGPWCEAQVFLNKNLELQYNSDNNMYKPLGL LGKKVYATSTWGLTQTLGEVGRDLRMLLCDIKPQIKTSDDPSTLQV EMFCQREARCTGASWQFATNGEKSLLEDAMNMTWTVINHEASKIK ETWKDRGLEKYFRKLSKGDCDHWLREFLGHWEAMPEPTVSPVNAS DIHWSSSLPD	195	His31 - Asp225
ULBP5 細胞外ドメイン	GLADPHSLCYDITVIPKFRPGPRWCAVQGGVDEKTEFLHYDCGSKTV TPVSPLGKKLNVTTAWKAQNPVLREVVDILTEQLLDIQLENYTPKE PLTLQARMSCEQKAEGHSGSWQLSFDGQIFLLEDSERNMTTVHP GARKMKEKWENDKDMTMSFHYISMGDCTGWLEDFLMGMDSTLEPSA GAPPTMSSGTAQPR	196	Gly26 - Arg223
ULBP6	MAAAATPALLCLPLLLFLLFGWSRARRDDPHSLCYDITVIPKFRPG PRWCAVQGGVDEKTEFLHYDCGNKTVTPVSPLGKKLNVTTAWKAQNP VLREVVDILTEQLLDIQLENYTPKEPLTLQARMSCEQKAEGHSSGS WQFSIDGQTEFLLEFSEKRMWTTVHPGARKMKEKWENDKDVAMSTHY ISMGDCTGWLEDFLMGMDSTLEPSAGAPLAMSSGTTQLRATATTLI LCCLILILPCFILPGI	197	
B7-H2 (a/k/a ICOSL) 細胞外ドメイン	DTQKEKVRAMVGSQVESSCACPEGSRFDLNDVYVYVYQTESKTVVT YHLPQNSSLENVDSEYRNRAIMSPAGMLRGDFSLALFNVTGQDEQR FHCLVLSQSLGTQEVLSVEVTLHYAANFVYVVSAPHSPSQDELTTE TCTSIINGYPRPNVYWINKTDNSLDAQALQNDTVFLNMRGLYDVVS LRARTPSVNIQCCITENVLLQQLTVGSSQTGNDIGERDKTITENPVS TGKNAAT	198	Asp19 - Thr256
B7-H6 細胞外ドメイン	DLKVENMAGGTQITPLINDNVTIECNLFYSQPLNITSMGTWFWKSL TFDEKVKVDETFGDHQAENRPGAIVSEFWRLKSGDASLRPLGTQLEE AGEYRCEVVVTFPLKAQGTQVLEVVASPAFLILDQVGMKENEDKYM CESSGFYPEANITWKRQTKQKFPDTEISEDVTIGPTIKMDGTEN VTSCLKLNSSQEDPGTVYQCVYRHSRLRTPIRSNFTLTAARHSISE TEKTDNFS	199	Asp25 - Ser262
B7-H5 細胞外ドメイン	FKVATPYSLYVCPGEGQNVTLTCRLLEGVDRKGHDVTFYKTYRSSRG EVQTCSERRRTKRLTFQDLHLHGGHQAANTSHDLQRHGLEASD HBNFSTITMRNLITLDSGLACCLVVEIRHHRSEBRVHGAMELQVQT GKDAPSNQCVYVPSSSQDSENITAA	200	Phe33 - Ala194

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

B7-H3 細胞外ドメイン	LEVQVPEDPVVALVGTBTLCCSFSPSPSFLAQLNLIWQLTDTKQ LVHSFAEGQEQGSAYANPTALEPDLIAQGNASLRQEVVPADEGSF TCEVSIIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDVTITCS SYRGYPEAEVTFQDQGVFLIGNVTTSQMANEQSLFDVHSVLRAVVL GANGTYSCLVRNPVLAQDANGSVTITGQPMTEPPEA	201	Leu29 - Ala248
B7x (a/k/a B7-H4) 細胞外ドメイン	LIIGFGISGRHSITVTTVASAGNIGEDGILSCITEPDILKLSDIVIQ WLKEGVVLGLVHEFKEGKDELSEQDENTFRRTAYTADQVIVGNASLR LKNVQLTDAGTYKCYIITSKKGKNANLENYKTGATSMPEVXVDYNAS SETLRCEAPRWTFPQPTVWVASQVDQGANFSEVENTSTFELNSENVTM KVVSVLNVNTINNTYSCMIENDIAKATGDIKVTESEIKRPSHLQIL NSKASTTENIYEQG	202	Leu25 - Ser259
TMIGD2 細胞外ドメイン	LSVQQSPNLLQVRQGSQATVQCVDQATAWERLVRVWTKDGAILECQ PYITNSSLISIGVCGPQGPLSWQAPSHLTQLQDLPVSLNHSQAYVCWA AVEIPELEFAEGNITRLFVDPDPTQNNRIASEPG	203	Leu23 - Gly150
IL-2	APTSSSTKKTQLQLFHLHLLDLQMIINGINNYKNPKLTRMLTFKPYM PKKATELKHLLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT	204	
IL-7	DCDIEGKDGKQYESVLMVSIDQLLDSMKEIGSNCLNNEFNEFKRHI CDANKEGMFLFRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLKLVSEGTTLILNC TGQVKGRKPAALGHAQPTKSLEENKSLKEQKKLNDLCLFLKRLQLQEI KTCWNKILMGTEKH	205	
IL-12 サブユニットアル ファ	RNLPVATPDPGMFPCLLHSONLLRAVSNMLQKARQTFEYPCCTSEE IDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASR KTSFMMALCLSSIIYEDLKMYQVEFKTMNAKLMDPKRQIFLDQNM AVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILHAFIRIRA VTIDRVMSYLNAS	206	
IL-12 サブユニットベータ	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDSSEV LGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWST DILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTITSTDLTFSVKSSR GSSDPQGVTCGAATLSAERVVRGDNKEYEYSVEQEDSACPAAEESL PIEVMVDVAHVHKLKYNYSSTFFIRDIKPDPPKNLQLKPLKNSROV EVSWEYPTWSTPHSYFSLTECVQVGKSKREKKDRVFTDKTSATV ICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	207	
IL-15	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLE LQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECELE EKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	208	
IL-18	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTI FIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKLIISFKEMNPPDNI KDTKSDIIFQRSVPCHDNKMQFESSYEGYFLACEKERDLFKLIL KKEDELGDRSIMFTVQNE	209	
IL-21	HKSSSQGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVETN CEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPSTNAGRRO KHRLTCPCSDSYEKKPPKEFLERFKSLQLQKMTQHQLSSRTHGSEDS	210	

【0133】

一部の実施形態では、共刺激および／または接着分子は、膜貫通ドメイン (donaim) に連結される。一部の実施形態では、膜貫通ドメインは、CD8、T細胞受容体のアルファ、ベータもしくはゼータ鎖、CD28、CD3イプシロン、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154、KIRDS2、OX40、CD2、CD27、LFA-1 (CD11a、CD18)、ICOS (CD278)、4-1 BB (CD137)、4-1 BBL、GITR、CD40、BAFFR、HVEM (LIGHTR)、SLAMF7、NKp80 (KLRFI)、CD160、CD19、IL2Rベータ、IL2Rガンマ、IL7R a、ITGA1、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150

、I P O - 3)、B L A M E (S L A M F 8)、S E L P L G (C D 1 6 2)、L T B R、P A G / C b p、N K p 4 4、N K p 3 0、N K p 4 6、N K G 2 D および / または N K G 2 C の膜貫通ドメインに由来し得る。一部の実施形態では、膜貫通ドメインは、C D 2 8 の膜貫通ドメインに由来し得る。一部の実施形態では、膜貫通ドメインは、C D 8、例えば、C D 8 α の膜貫通ドメインに由来し得る。

【0134】

理論に制約されることを望むものではないが、レンチウイルス粒子に取り込まれた外来性核酸における外来性接合部（すなわち、接着分子および膜貫通 (transmembrane) ドメインの間の）の低減は、レンチウイルス粒子に対する対象の免疫原性を低減させ得る。

10

【0135】

一部の実施形態では、接着分子は、C D 2 に結合する。C D 2 は、T 1 1、L F A - 2 および赤血球ロゼット受容体としても公知であり、T リンパ球および N K 細胞上に発現される表面タンパク質である。C D 2 は、C D 5 8 の天然のリガンドである。接着機能を果たすことに加えて、C D 2 の会合は、活性化およびエフェクター機能を増強し得る共刺激シグナルを提供する。一部の実施形態では、レンチウイルス粒子は、C D 2 に結合する分子を含む。一部の実施形態では、レンチウイルス粒子は、C D 2 に特異的な抗体、単ドメイン抗体、抗体断片および / またはナノボディを含む。一部の実施形態では、レンチウイルス粒子は、C D 2 に結合する C D 5 8 またはその機能的部分を含む。

【0136】

一部の実施形態では、接着分子は、C D 5 8 である。一部の実施形態では、共刺激分子は、配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含む C D 5 8 ポリペプチドである。一部の実施形態では、共刺激分子は、配列番号 1 7 と少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % または少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む C D 5 8 ポリペプチドである。

20

【0137】

一部の実施形態では、C D 5 8 ポリペプチドは、配列番号 1 8 のヌクレオチド配列によってコードされる。一部の実施形態では、C D 5 8 ポリペプチドは、配列番号 1 8 と少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % または少なくとも 9 9 % 同一であるヌクレオチド配列によってコードされる。

30

【0138】

追加の非ウイルスタンパク質

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、少なくとも 1 種の非ウイルスタンパク質を含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、上記のものに加えて少なくとも 1 種の非ウイルスタンパク質を含む。

【0139】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、標的化リガンドを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、そのネイティブ膜貫通ドメインまたは異種膜貫通ドメインに結合させた、C D 1 9 またはその機能性断片を含む。一部の実施形態では、C D 1 9 は、ブリナツモマブのリガンドとして作用し、よって、ブリナツモマブの抗 C D 3 部分を介して粒子を T 細胞に結合するためのアダプターを提供する。一部の実施形態では、別の型の粒子表面リガンドは、粒子表面リガンドに対する結合部分を含む多特異性抗体を使用して、適切に表面操作されたレンチウイルス粒子を T 細胞に結合するために機能することができる。一部の実施形態では、多特異性抗体は、二特異性抗体、例えば、二特異性 T 細胞エンゲージャー (B i T E) である。

40

【0140】

一部の実施形態では、非ウイルスタンパク質は、サイトカインである。一部の実施形態では、サイトカインは、I L - 2、I L - 7、I L - 1 2、I L - 1 5、I L - 1 8、I L - 2 1 およびそれらの任意の組合せからなる群から選択することができる。使用される

50

非ウイルスタンパク質は、可溶性タンパク質（s c F v または サイトカイン など）である場合、C D 8 の膜貫通ドメインなどの膜貫通ドメインへの融合によって、ウイルス粒子の表面に繫留することができる。あるいは、これは、可溶性タンパク質に結合するように操作された膜貫通タンパク質の使用によって、レンチウイルス粒子に間接的に繫留することができる。1 個または複数の細胞質残基のさらなる包含は、融合タンパク質の安定性を増加させることができる。

【0141】

有糸分裂誘発形質導入エンハンサーおよび／または サイトカイン に基づく形質導入エンハンサーは、抗原結合ドメインを膜貫通ドメインと接続するために「スペーサー配列」を含むことができる。柔軟なスペーサーは、抗原結合ドメインを異なる方向に向かわせて、結合を容易にする。本明細書で使用される場合、用語「に結合させる」は、化学的連結、2 個のタンパク質の C 末端から N 末端への直接の融合；非ペプチドスペーサー（non-peptide space）への化学的連結；ポリペプチドスペーサー（polypeptide space）への化学的連結；およびポリペプチドスペーサー、例えば、スペーサー配列への、ペプチド結合による 2 個のタンパク質の C 末端から N 末端への融合を指す。

【0142】

スペーサー配列は、例えば、l g G 1 F c 領域、l g G 1 ヒンジまたはヒト C D 8 ストーク（stalk）またはマウス C D 8 ストークを含むことができる。あるいは、スペーサーは、l g G 1 F c 領域、l g G 1 ヒンジまたは C D 8 ストークと同様の長さおよび／またはドメインスペーシング特性を有する代替リンカー配列を含むことができる。ヒト l g G 1 スペーサーは、F c 結合モチーフを除去するように変更することができる。一部の実施形態では、スペーサー配列は、ヒタンパク質に由来することができる。

【0143】

一部の実施形態では、スペーサー配列は、C D 8 由来ヒンジを含む。

【0144】

一部の実施形態では、スペーサー配列は、「短い」ヒンジを含む。短いヒンジは、当技術分野で公知の C A R ヒンジ領域と比べてより少ないヌクレオチドを含むヒンジ領域として記載される。

【0145】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 3 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する C D 8 ヒンジを含むポリペプチドを含む。

【0146】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 8 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する C D 8 ヒンジをコードする核酸配列を含む。

【0147】

膜貫通ドメインは、膜にまたがる、有糸分裂誘発形質導入エンハンサーおよび／または サイトカイン に基づく形質導入エンハンサーの配列である。膜貫通ドメインは、疎水性アルファヘリックスを含むことができる。膜貫通ドメインは、C D 2 8 に由来することができる。一部の実施形態では、膜貫通ドメインは、ヒタンパク質に由来する。

【0148】

本発明のウイルス粒子は、ウイルスエンベロープ中に サイトカイン に基づく形質導入エンハンサーを含むことができる。一部の実施形態では、サイトカイン に基づく形質導入エンハンサーは、ウイルス粒子産生の間の宿主細胞に由来する。一部の実施形態では、サイトカイン に基づく形質導入エンハンサーは、宿主細胞によって作製され、細胞表面で発現される。新生ウイルス粒子が、宿主細胞膜から出芽するときに、サイトカイン に基づく形質導入エンハンサーは、パッケージング細胞由来脂質二重層の一部として、ウイルスエンベロープ中に取り込まれ得る。

【0149】

10

20

30

40

50

サイトカインに基づく形質導入エンハンサーは、サイトカインドメインおよび膜貫通ドメインを含むことができる。これは、構造C-S-TMを有することができ、式中、Cは、サイトカインドメインであり、Sは、必要に応じたスパーサードメイン（例えば、スパーサー配列）であり、TMは、膜貫通ドメインである。スパーサードメインおよび膜貫通ドメインは、上に定義されている通りである。

【0150】

サイトカインドメインは、IL2、IL7およびIL15、またはそれらの機能性断片由来など、T細胞活性化サイトカインを含むことができる。本明細書で使用される場合、サイトカインの「機能性断片」は、その特定の受容体に結合し、T細胞を活性化する能力を保持するポリペプチドの断片である。

【0151】

IL2は、T細胞およびある特定のB細胞の成長および分化を調節するための、T細胞によって分泌される因子の1種である。IL2は、応答性T細胞の増殖を誘導するリンホカインである。これは、単一のグリコシル化ポリペプチドとして分泌され、シグナル配列の切断が、その活性に要求される。溶液NMRは、IL2の構造が、2本のより短いヘリックスおよびいくつかの不十分に定義されたループによって挟まれた、4本のヘリックス（A～Dと名付けられる）の束を含むことを示唆する。ヘリックスAにおける、ならびにヘリックスAとBとの間のループ領域における残基は、受容体結合に重要である。

【0152】

ウイルスエンベロープタンパク質

一部の実施形態では、ウイルスエンベロープは、ウイルスエンベロープタンパク質を含む。一部の実施形態では、ウイルスエンベロープタンパク質は、VSV-Gエンベロープタンパク質、麻疹ウイルスエンベロープタンパク質、ニパ（nipha）ウイルスエンベロープタンパク質またはコカルウイルスGタンパク質である。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、LDLR結合親和性を欠如する改変されたVSV-Gタンパク質を含む。一部の実施形態では、そのような変異は、47位（例えば、K47Q）および／または354位（例えば、R354A）における変異を含む。

【0153】

一部の実施形態では、ウイルスエンベロープタンパク質は、コカル系統由来のVSV-Gタンパク質（コカル糖タンパク質）である。一部の実施形態では、VSV-Gタンパク質は、354位における変異（R354）を含有するコカルエンベロープタンパク質である。一部の実施形態では、VSV-Gタンパク質は、47位における変異（K47）を含有するコカルエンベロープタンパク質である。一部の実施形態では、VSV-Gタンパク質は、配列番号5と比べてR354Q変異を含有するコカルエンベロープバリエーションである。一部の実施形態では、VSV-Gタンパク質は、配列番号5と比べてK47Q変異を含有するコカルエンベロープバリエーションである。一部の実施形態では、このバリエーションは、「盲目（blinded）」コカルエンベロープと称される場合がある。説明的なコカルエンベロープバリエーションは、例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれるUS2020/0216502A1に提供される。

【0154】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号5に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含むコカル糖タンパク質を含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号5を含む。

【0155】

一部の実施形態では、ウイルス粒子をコードするヌクレオチド配列は、コカル糖タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、コカル糖タンパク質をコードするヌクレオチド配列は、配列番号10に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を有する。一部の実施形態では、コカル糖タンパク質をコードするヌ

10

20

30

40

50

クレオチド配列は、配列番号 10 の配列を含む。

【0156】

一部の実施形態では、ウイルス粒子をコードするヌクレオチド配列は、コカル糖タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、コカル糖タンパク質をコードするヌクレオチド配列は、配列番号 104 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を有する。一部の実施形態では、コカル糖タンパク質をコードするヌクレオチド配列は、配列番号 104 の配列を含む。

【0157】

様々な融合糖タンパク質を使用して、レンチウイルス粒子をシュードタイプ化することができる。最も一般的に使用されている例は、水疱性口内炎ウイルス由来のエンベロープ糖タンパク質 (VSV-G) であるが、多くの他のウイルスタンパク質もまた、レンチウイルス粒子のシュードタイプ化に使用されてきた。Joglekar et al. Human Gene Therapy Methods 28:291-301 (2017) を参照されたい。本開示は、様々な融合糖タンパク質の置換を企図する。注目すべきことに、いくつかの融合糖タンパク質が、より高いウイルス粒子効率をもたらす。

【0158】

一部の実施形態では、融合糖タンパク質またはその機能的バリエーションのシュードタイプ化は、T 細胞または NK 細胞を含むがこれらに限定されない特異的細胞型の標的化された形質導入を容易にする。一部の実施形態では、融合糖タンパク質またはその機能的バリエーションは、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) gp160、マウス白血病ウイルス (MLV) gp70、テナガザル白血病ウイルス (GALV) gp70、ネコ白血病ウイルス (RD114) gp70、両種指向性レトロウイルス (AmpHo) gp70、10A1 MLV (10A1) gp70、同種指向性レトロウイルス (Eco) gp70、ヒビ白血病ウイルス (BaEV) gp70、麻疹ウイルス (MV) H および F、ニパウイルス (NiV) H および F、狂犬病ウイルス (RabV) G、モコーラ (Mokola) ウイルス (MOKV) G、エボラザイル (Zaire) ウイルス (EboZ) G、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) GP1 および GP2、バキュロウイルス GP64、チクングニアウイルス (CHIKV) E1 および E2、ロスリバーウイルス (RRV) E1 および E2、セムリキ森林ウイルス (SFV) E1 および E2、シンドビスウイルス (SV) E1 および E2、ベネズエラ (Venezuelan) ウマ脳炎ウイルス (VEEV) E1 および E2、西部ウマ脳炎ウイルス (WEEV) E1 および E2、インフルエンザ A、B、C もしくは D HA、家禽ペストウイルス (FPV) HA、抗 CD3 scFv、(CD3)、水疱性口内炎ウイルス VSV-G、またはチャンディプラウイルスおよびピーリー (Piry) ウイルス CNV-G および PRV-G の全長ポリペプチド (複数可)、機能的断片 (複数可)、ホモログ (複数可) または機能的バリエーション (複数可) である。

【0159】

一部の実施形態では、融合糖タンパク質またはその機能的バリエーションは、水疱性口内炎アラゴアス (Alagoas) ウイルス (VSAV)、カラジャス (Carajas) ベシクロウイルス (CJSV)、チャンディプラベシクロウイルス (CHPV)、コカルベシクロウイルス (COCV)、水疱性口内炎インディアナ (Indiana) ウイルス (VSIIV)、イスファハン (Isfahan) ベシクロウイルス (ISFV)、マラバ (Maraba) ベシクロウイルス (MARAV)、水疱性口内炎ニュージャージー (New Jersey) ウイルス (VSNJV)、バ・コンゴ (Bas-Congo) ウイルス (BASV) の G タンパク質の全長ポリペプチド、機能的断片、ホモログまたは機能的バリエーションである。一部の実施形態では、融合糖タンパク質またはその機能的バリエーションは、コカルウイルス G タンパク質である。

【0160】

一部の実施形態では、ベクター粒子は、ニパウイルス (NiV) エンベロープシュードタイプ化レンチウイルス粒子 (「ニパエンベロープシュードタイプ化ベクター」) である

10

20

30

40

50

。一部の実施形態では、ニパエンベロープシュードタイプ化ベクターは、ニパウイルスエンベロープ糖タンパク質NiV-FおよびNiV-Gを使用してシュードタイプ化されている。一部の実施形態では、そのようなニパエンベロープシュードタイプ化ベクターにおけるNiV-Fおよび／またはNiV-G糖タンパク質は、改変されたバリエーションである。一部の実施形態では、そのようなニパエンベロープシュードタイプ化ベクターにおけるNiV-Fおよび／またはNiV-G糖タンパク質は、抗原結合ドメインを含むように改変されている。一部の実施形態では、抗原は、EpCAM、CD4またはCD8である。一部の実施形態では、ニパエンベロープシュードタイプ化ベクターは、EpCAM、CD4またはCD8を発現する細胞を効率的に形質導入することができる。米国特許第9,486,539号およびBender et al. PLoS Pathog. (2016) Jun; 12(6): e1005641を参照されたい。

10

【0161】

例示的なウイルスエンベロープ

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)免疫細胞活性化タンパク質、(ii)共刺激分子、(iii)接着分子、または(iv)(i)～(iii)の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)免疫細胞活性化タンパク質、(ii)共刺激分子、(iii)接着分子、または(iv)(i)～(iii)のうち少なくとも2種の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)免疫細胞活性化タンパク質、および(ii)共刺激分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)免疫細胞活性化タンパク質、および(ii)接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)免疫細胞活性化タンパク質、(ii)共刺激分子、および(iii)接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)免疫細胞活性化タンパク質、(ii)共刺激分子、および(iii)複数の接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。

20

【0162】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)CD28、CD2、CD3、CD28H、LFA-1、OX40、4-1BB、CD40L、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、NKP46、NKP44、NKP30、CD244もしくはNKP80に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii)TCR α鎖、TCR β鎖、TCR γ鎖、CD3ε TCRサブユニット、CD3γ TCRサブユニット、CD3δ TCRサブユニット、CD45、CD2、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD28、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154およびこれらの任意の組合せから選択される共刺激分子、(iii)CD58、HHLA2、ICAM-1、OX40L、4-1BBL、CD40、CD155、CD70、HVEM、GITRL、ICOSL、CD30L、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、B7-H6およびこれらの任意の組合せから選択される接着分子、または(iv)(i)～(iii)の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)CD28、CD2、CD3、CD28H、LFA-1、OX40、4-1BB、CD40L、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、NKP46、NKP44、NKP30、CD244もしくはNKP80に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii)TCR α鎖、TCR β鎖、TCR γ鎖、CD3ε TCRサブユニット、CD3γ TCRサブユニット、CD3δ TCRサブユニット、CD45、CD2、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD28、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154およびこれらの任意の組合せから選択される共刺激分子、(iii)CD58、HHLA2、ICAM-1、OX40L、4-1BBL、C

30

40

50

D40、CD155、CD70、HVEM、GITRL、ICOSL、CD30L、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、B7-H6およびこれらの任意の組合せから選択される接着分子、または (iv) (i) ~ (iii) のうち少なくとも2種の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD28、CD2、CD3、CD28H、LFA-1、OX40、4-1BB、CD40L、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、NKP46、NKP44、NKP30、CD244またはNKP80に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、ならびに (ii) TCR α鎖、TCR β鎖、TCR ζ鎖、CD3ε TCRサブユニット、CD3γ TCRサブユニット、CD3δ TCRサブユニット、CD45、CD2、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD28、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154およびこれらの任意の組合せから選択される共刺激分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD28、CD2、CD3、CD28H、LFA-1、OX40、4-1BB、CD40L、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、NKP46、NKP44、NKP30、CD244もしくはNKP80に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、ならびに (ii) CD58、HLA2、ICAM-1、OX40L、4-1BBL、CD40、CD155、CD70、HVEM、GITRL、ICOSL、CD30L、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、B7-H6およびこれらの任意の組合せから選択される接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD28、CD2、CD3、CD28H、LFA-1、OX40、4-1BB、CD40L、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、NKP46、NKP44、NKP30、CD244もしくはNKP80に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) TCR α鎖、TCR β鎖、TCR ζ鎖、CD3ε TCRサブユニット、CD3γ TCRサブユニット、CD3δ TCRサブユニット、CD45、CD2、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD28、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154およびこれらの任意の組合せから選択される共刺激分子、ならびに (iii) CD58、HLA2、ICAM-1、OX40L、4-1BBL、CD40、CD155、CD70、HVEM、GITRL、ICOSL、CD30L、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、B7-H6およびこれらの任意の組合せから選択される接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。

10

20

30

40

50

【0163】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) CD80、CD86およびそれらの組合せから選択される共刺激分子、(iii) CD58ポリペプチドを含む接着分子、または (iv) (i) ~ (iii) の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) CD80、CD86およびそれらの組合せから選択される共刺激分子、(iii) CD58ポリペプチドを含む接着分子、または (iv) (i) ~ (iii) のうち少なくとも2種の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、および (ii) CD58ポリペプチドを含む接着分子を含むウイルス

エンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) CD 8 0、CD 8 6 およびそれらの組合せから選択される共刺激分子、ならびに (iii) CD 5 8 ポリペプチドを含む接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。

【0164】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) CD 8 0 ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD 5 8 ポリペプチドを含む接着分子、または (iv) (i) ~ (iii) の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) CD 8 0 ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD 5 8 ポリペプチドを含む接着分子、または (iv) (i) ~ (iii) のうち少なくとも2種の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、および (ii) CD 8 0 ポリペプチドを含む共刺激分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、および (ii) CD 5 8 ポリペプチドを含む接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) CD 8 0 ポリペプチドを含む共刺激分子、および (iii) CD 5 8 ポリペプチドを含む接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。

10

20

【0165】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) CD 8 6 ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD 5 8 ポリペプチドを含む接着分子、または (iv) (i) ~ (iii) の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) CD 8 6 ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD 5 8 ポリペプチドを含む接着分子、または (iv) (i) ~ (iii) のうち少なくとも2種の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、および (ii) CD 8 6 ポリペプチドを含む共刺激分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、および (ii) CD 5 8 ポリペプチドを含む接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) CD 8 6 ポリペプチドを含む共刺激分子、および (iii) CD 5 8 ポリペプチドを含む接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。

30

【0166】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片、(ii) CD 8 0 ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD 5 8 ポリペプチドを含む接着分子、または (iv) (i) ~ (iii) の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片、(ii) CD 8 0 ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD 5 8 ポリペプチドを含む接着分子、または (iv) (i) ~ (iii) のうち少なくとも2種の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片、および (ii) CD 8 0 ポリペプチドを含む共刺激分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD 3 に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片、(ii) CD 8 0 ポリペ

40

50

プチドを含む共刺激分子、および (i i i) C D 5 8 ポリペプチドを含む接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。

【 0 1 6 7 】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、 (i) C D 3 に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片、 (i i) C D 8 6 ポリペプチドを含む共刺激分子、 (i i i) C D 5 8 ポリペプチドを含む接着分子、または (i v) (i) ~ (i i i) の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、 (i) C D 3 に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片、 (i i) C D 8 6 ポリペプチドを含む共刺激分子、 (i i i) C D 5 8 ポリペプチドを含む接着分子、または (i v) (i) ~ (i i i) のうち少なくとも 2 種の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、 (i) C D 3 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片、および (i i) C D 8 6 ポリペプチドを含む共刺激分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、 (i) C D 3 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片、および (i i) C D 5 8 ポリペプチドを含む接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、 (i) C D 3 に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片、 (i i) C D 8 6 ポリペプチドを含む共刺激分子、および (i i i) C D 5 8 ポリペプチドを含む接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。

10

【 0 1 6 8 】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、 (i) C D 3 に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片であって、配列番号 1 3 3 の C D R - L 1、配列番号 1 3 4 の C D R - L 2、配列番号 1 3 5 の C D R - L 3、配列番号 4 8 の C D R - H 1、配列番号 3 6 の C D R - H 2 および配列番号 3 8 の C D R - H 3 を含む抗体もしくは抗原結合性断片、 (i i) 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含む C D 8 0 ポリペプチドを含む共刺激分子、 (i i i) 配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含む C D 5 8 ポリペプチドを含む接着分子、または (i v) (i) ~ (i i i) の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、 (i) C D 3 に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片であって、配列番号 1 3 3 の C D R - L 1、配列番号 1 3 4 の C D R - L 2、配列番号 1 3 5 の C D R - L 3、配列番号 4 8 の C D R - H 1、配列番号 3 6 の C D R - H 2 および配列番号 3 8 の C D R - H 3 を含む抗体もしくは抗原結合性断片、 (i i) 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含む C D 8 0 ポリペプチドを含む共刺激分子、 (i i i) 配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含む C D 5 8 ポリペプチドを含む接着分子、または (i v) (i) ~ (i i i) のうち少なくとも 2 種の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、 (i) C D 3 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号 1 3 3 の C D R - L 1、配列番号 1 3 4 の C D R - L 2、配列番号 1 3 5 の C D R - L 3、配列番号 4 8 の C D R - H 1、配列番号 3 6 の C D R - H 2 および配列番号 3 8 の C D R - H 3 を含む抗体または抗原結合性断片、ならびに (i i) 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含む C D 8 0 ポリペプチドを含む共刺激分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、 (i) C D 3 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号 1 3 3 の C D R - L 1、配列番号 1 3 4 の C D R - L 2、配列番号 1 3 5 の C D R - L 3、配列番号 4 8 の C D R - H 1、配列番号 3 6 の C D R - H 2 および配列番号 3 8 の C D R - H 3 を含む抗体または抗原結合性断片、ならびに (i i i) 配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含む C D 5 8 ポリペプチドを含む接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、 (i) C D 3 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号 1 3 3 の C D R - L 1、配列番号 1 3 4 の C D R - L 2、配列番号 1 3 5 の C D R - L 3、配列番号 4 8 の C D R - H 1、配列番号 3 6 の C D R - H 2 および配列番号 3 8 の C D R - H 3 を含む抗体または抗原結合性断片、 (i i) 配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含む C D 8 0 ポリペプチドを含む共刺激分子、ならびに (i i i) 配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含む C D 5 8 ポリペプチドを含む接着分子を含むウイルスエンベロ

20

30

40

50

ープを含む。

【0169】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片であって、配列番号133のCDR-L1、配列番号134のCDR-L2、配列番号135のCDR-L3、配列番号48のCDR-H1、配列番号36のCDR-H2および配列番号38のCDR-H3を含む抗体もしくは抗原結合性断片、(ii) 配列番号23のアミノ酸配列を含むCD86ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) 配列番号17のアミノ酸配列を含むCD58ポリペプチドを含む接着分子、または(iv) (i)～(iii)の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片であって、配列番号133のCDR-L1、配列番号134のCDR-L2、配列番号135のCDR-L3、配列番号48のCDR-H1、配列番号36のCDR-H2および配列番号38のCDR-H3を含む抗体もしくは抗原結合性断片、(ii) 配列番号23のアミノ酸配列を含むCD86ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) 配列番号17のアミノ酸配列を含むCD58ポリペプチドを含む接着分子、または(iv) (i)～(iii)のうち少なくとも2種の任意の組合せを含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号133のCDR-L1、配列番号134のCDR-L2、配列番号135のCDR-L3、配列番号48のCDR-H1、配列番号36のCDR-H2および配列番号38のCDR-H3を含む抗体または抗原結合性断片、ならびに(ii) 配列番号23のアミノ酸配列を含むCD86ポリペプチドを含む共刺激分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号133のCDR-L1、配列番号134のCDR-L2、配列番号135のCDR-L3、配列番号48のCDR-H1、配列番号36のCDR-H2および配列番号38のCDR-H3を含む抗体または抗原結合性断片、ならびに(ii) 配列番号17のアミノ酸配列を含むCD58ポリペプチドを含む接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号133のCDR-L1、配列番号134のCDR-L2、配列番号135のCDR-L3、配列番号48のCDR-H1、配列番号36のCDR-H2および配列番号38のCDR-H3を含む抗体または抗原結合性断片、(ii) 配列番号23のアミノ酸配列を含むCD86ポリペプチドを含む共刺激分子、ならびに(iii) 配列番号17のアミノ酸配列を含むCD58ポリペプチドを含む接着分子を含むウイルスエンベロープを含む。

【0170】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) 免疫細胞活性化タンパク質、(ii) 共刺激分子、(iii) 接着分子、または(iv) (i)～(iii)の任意の組合せ、およびウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) 免疫細胞活性化タンパク質、(ii) 共刺激分子、(iii) 接着分子、または(iv) (i)～(iii)のうち少なくとも2種の任意の組合せ、およびウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) 免疫細胞活性化タンパク質、(ii) 共刺激分子、(iii) 接着分子、および(iv) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) 免疫細胞活性化タンパク質、(ii) 共刺激分子、(iii) 接着分子、および(iv) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。

【0171】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD28、CD2、CD3、CD28H

10

20

30

40

50

、LFA-1、OX40、4-1BB、CD40L、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、NKP46、NKP44、NKP30、CD244もしくはNKP80に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) TCR α鎖、TCR β鎖、TCR γ鎖、CD3ε TCRサブユニット、CD3γ TCRサブユニット、CD3δ TCRサブユニット、CD45、CD2、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD28、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154およびこれらの任意の組合せから選択される共刺激分子、(iii) CD58、HHLA2、ICAM-1、OX40L、4-1BBL、CD40、CD155、CD70、HVEM、GITRL、ICOSL、CD30L、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、B7-H6およびこれらの任意の組合せから選択される接着分子、または(iv) (i) ~ (iii) の任意の組合せ、ならびにウイルスエンベロップタンパク質を含むウイルスエンベロップを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD28、CD2、CD3、CD28H、LFA-1、OX40、4-1BB、CD40L、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、NKP46、NKP44、NKP30、CD244もしくはNKP80に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) TCR α鎖、TCR β鎖、TCR γ鎖、CD3ε TCRサブユニット、CD3γ TCRサブユニット、CD3δ TCRサブユニット、CD45、CD2、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD28、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154およびこれらの任意の組合せから選択される共刺激分子、(iii) CD58、HHLA2、ICAM-1、OX40L、4-1BBL、CD40、CD155、CD70、HVEM、GITRL、ICOSL、CD30L、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、B7-H6およびこれらの任意の組合せから選択される接着分子、または(iv) (i) ~ (iii) のうち少なくとも2種の任意の組合せ、ならびにウイルスエンベロップタンパク質を含むウイルスエンベロップを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD28、CD2、CD3、CD28H、LFA-1、OX40、4-1BB、CD40L、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、NKP46、NKP44、NKP30、CD244またはNKP80に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) TCR α鎖、TCR β鎖、TCR γ鎖、CD3ε TCRサブユニット、CD3γ TCRサブユニット、CD3δ TCRサブユニット、CD45、CD2、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD28、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154およびこれらの任意の組合せから選択される共刺激分子、ならびに(iii) ウイルスエンベロップタンパク質を含むウイルスエンベロップを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD28、CD2、CD3、CD28H、LFA-1、OX40、4-1BB、CD40L、DNAM-1、CD27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、NKP46、NKP44、NKP30、CD244またはNKP80に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) CD58、HHLA2、ICAM-1、OX40L、4-1BBL、CD40、CD155、CD70、HVEM、GITRL、ICOSL、CD30L、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、B7-H6およびこれらの任意の組合せから選択される接着分子、ならびに(iii) ウイルスエンベロップタンパク質を含むウイルスエンベロップを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD28、CD2、CD3、CD28H、LFA-1、OX40、4-1BB、CD40L、DNAM-1、CD

10

20

30

40

50

27、ICOS、LIGHT、GITR、CD30、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、NKG2D、Nkp46、Nkp44、Nkp30、CD244またはNkp80に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii)TCR α 鎖、TCR β 鎖、TCR γ 鎖、CD3 ϵ TCRサブユニット、CD3 γ TCRサブユニット、CD3 δ TCRサブユニット、CD45、CD2、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD28、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154およびこれらの任意の組合せから選択される共刺激分子、(iii)CD58、HHLA2、ICAM-1、OX40L、4-1BBL、CD40、CD155、CD70、HVEM、GITRL、ICOSL、CD30L、SLAM、Ly-9、CD84、Ly108、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、B7-H6およびこれらの任意の組合せから選択される接着分子、ならびに(iv)ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。

10

20

30

40

50

【0172】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii)CD80、CD86およびそれらの組合せから選択される共刺激分子、(iii)CD58ポリペプチドを含む接着分子、または(iv)(i)～(iii)の任意の組合せ、ならびにウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii)CD80、CD86およびそれらの組合せから選択される共刺激分子、ならびに(iii)ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii)CD58ポリペプチドを含む接着分子、および(iii)ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii)CD80、CD86およびそれらの組合せから選択される共刺激分子、(iii)CD58ポリペプチドを含む接着分子、ならびに(iv)ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。

【0173】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii)CD80ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii)CD58ポリペプチドを含む接着分子、または(iv)(i)～(iii)の任意の組合せ、およびウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii)CD80ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii)CD58ポリペプチドを含む接着分子、または(iv)(i)～(iii)の任意の組合せ、およびウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii)CD58ポリペプチドを含む接着分子、および(iii)ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i)CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii)CD80ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii)CD58ポリペプチドを含む接着分子、および(iv)ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。

【0174】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) CD86ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD58ポリペプチドを含む接着分子、または(iv) (i)～(iii)の任意の組合せ、およびウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) CD86ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD58ポリペプチドを含む接着分子、または(iv) (i)～(iii)のうち少なくとも2種の任意の組合せ、およびウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) CD58ポリペプチドを含む接着分子、および(iii) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する免疫細胞活性化タンパク質、(ii) CD86ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD58ポリペプチドを含む接着分子、および(iv) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。

10

【0175】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片、(ii) CD80ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD58ポリペプチドを含む接着分子、または(iv) (i)～(iii)の任意の組合せ、およびウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片、(ii) CD80ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD58ポリペプチドを含む接着分子、または(iv) (i)～(iii)のうち少なくとも2種の任意の組合せ、およびウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片、(ii) CD80ポリペプチドを含む共刺激分子、および(iii) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片、(ii) CD58ポリペプチドを含む接着分子、および(iii) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。

20

30

【0176】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片、(ii) CD80ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD58ポリペプチドを含む接着分子、および(iv) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片、(ii) CD86ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD58ポリペプチドを含む接着分子、または(iv) (i)～(iii)の任意の組合せ、およびウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片、(ii) CD86ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD58ポリペプチドを含む接着分子、または(iv) (i)～(iii)のうち少なくとも2種の任意の組合せ、およびウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片、(ii) CD86ポリペプチドを含む共刺激分子、および(iii) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片、(ii) CD58ポリペプチドを含む接着分子、および(iii)

40

50

i) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片、(ii) CD86ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) CD58ポリペプチドを含む接着分子、および(iv) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。

【0177】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片であって、配列番号133のCDR-L1、配列番号134のCDR-L2、配列番号135のCDR-L3、配列番号48のCDR-H1、配列番号36のCDR-H2および配列番号38のCDR-H3を含む抗体もしくは抗原結合性断片、(ii) 配列番号20のアミノ酸配列を含むCD80ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) 配列番号17のアミノ酸配列を含むCD58ポリペプチドを含む接着分子、または(iv) (i) ~ (iii)の任意の組合せ、ならびにウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片であって、配列番号133のCDR-L1、配列番号134のCDR-L2、配列番号135のCDR-L3、配列番号48のCDR-H1、配列番号36のCDR-H2および配列番号38のCDR-H3を含む抗体もしくは抗原結合性断片、(ii) 配列番号20のアミノ酸配列を含むCD80ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) 配列番号17のアミノ酸配列を含むCD58ポリペプチドを含む接着分子、または(iv) (i) ~ (iii)のうち少なくとも2種の任意の組合せ、ならびにウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号133のCDR-L1、配列番号134のCDR-L2、配列番号135のCDR-L3、配列番号48のCDR-H1、配列番号36のCDR-H2および配列番号38のCDR-H3を含む抗体または抗原結合性断片、(ii) 配列番号20のアミノ酸配列を含むCD80ポリペプチドを含む共刺激分子、ならびに(iii) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号133のCDR-L1、配列番号134のCDR-L2、配列番号135のCDR-L3、配列番号48のCDR-H1、配列番号36のCDR-H2および配列番号38のCDR-H3を含む抗体または抗原結合性断片、(ii) 配列番号17のアミノ酸配列を含むCD58ポリペプチドを含む接着分子、ならびに(iii) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号133のCDR-L1、配列番号134のCDR-L2、配列番号135のCDR-L3、配列番号48のCDR-H1、配列番号36のCDR-H2および配列番号38のCDR-H3を含む抗体または抗原結合性断片、(ii) 配列番号20のアミノ酸配列を含むCD80ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) 配列番号17のアミノ酸配列を含むCD58ポリペプチドを含む接着分子、ならびに(iv) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。

【0178】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片であって、配列番号133のCDR-L1、配列番号134のCDR-L2、配列番号135のCDR-L3、配列番号48のCDR-H1、配列番号36のCDR-H2および配列番号38のCDR-H3を含む抗体もしくは抗原結合性断片、(ii) 配列番号23のアミノ酸配列を含むCD86ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) 配列番号17のアミノ酸配列を含むCD58ポリペプチドを含む接着分子、または(iv) (i) ~ (iii)の任意の組合せ、ならびにウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3に特異的に結合する抗体もしくはその抗原結合性断片であって、配列番号133のCD

R-L 1、配列番号 134 の CDR-L 2、配列番号 135 の CDR-L 3、配列番号 48 の CDR-H 1、配列番号 36 の CDR-H 2 および配列番号 38 の CDR-H 3 を含む抗体もしくは抗原結合性断片、(ii) 配列番号 23 のアミノ酸配列を含む CD86 ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) 配列番号 17 のアミノ酸配列を含む CD58 ポリペプチドを含む接着分子、または (iv) (i) ~ (iii) のうち少なくとも 2 種の任意の組合せ、ならびにウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号 133 の CDR-L 1、配列番号 134 の CDR-L 2、配列番号 135 の CDR-L 3、配列番号 48 の CDR-H 1、配列番号 36 の CDR-H 2 および配列番号 38 の CDR-H 3 を含む抗体または抗原結合性断片、(ii) 配列番号 23 のアミノ酸配列を含む CD86 ポリペプチドを含む共刺激分子、ならびに (iii) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号 133 の CDR-L 1、配列番号 134 の CDR-L 2、配列番号 135 の CDR-L 3、配列番号 48 の CDR-H 1、配列番号 36 の CDR-H 2 および配列番号 38 の CDR-H 3 を含む抗体または抗原結合性断片、(ii) 配列番号 17 のアミノ酸配列を含む CD58 ポリペプチドを含む接着分子、ならびに (iii) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、(i) CD3 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性断片であって、配列番号 133 の CDR-L 1、配列番号 134 の CDR-L 2、配列番号 135 の CDR-L 3、配列番号 48 の CDR-H 1、配列番号 36 の CDR-H 2 および配列番号 38 の CDR-H 3 を含む抗体または抗原結合性断片、(ii) 配列番号 23 のアミノ酸配列を含む CD86 ポリペプチドを含む共刺激分子、(iii) 配列番号 17 のアミノ酸配列を含む CD58 ポリペプチドを含む接着分子、ならびに (iv) ウイルスエンベロープタンパク質を含むウイルスエンベロープを含む。

10

20

30

40

50

【0179】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 107 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有するコカルエンベロープ由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結されたヒンジドメインに作動可能に連結された抗 CD3 s c F v に作動可能に連結された G a u s s i a ルシフェラーゼシグナルペプチドを含むポリペプチドを含む。

【0180】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 109 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有するコカルエンベロープ由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結されたヒンジドメインに作動可能に連結された抗 CD3 s c F v に作動可能に連結された G a u s s i a ルシフェラーゼシグナルペプチドを含むポリペプチドを含む。

【0181】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 111 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有するグリコホリン A 由来膜貫通ドメインおよび HIV エンベロープ由来細胞質尾部に作動可能に連結されたリンカーに作動可能に連結された抗 CD3 s c F v に作動可能に連結された G a u s s i a ルシフェラーゼシグナルペプチドを含むポリペプチドを含む。

【0182】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 113 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する HIV エンベロープ由来膜貫通ドメインおよび

細胞質尾部に作動可能に連結されたリンカーに作動可能に連結された抗CD3 s c F v に作動可能に連結されたG a u s s i a l シフェラーゼシグナルペプチドを含むポリペプチドを含む。

【0183】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号115に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するH I Vエンベロップ由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結されたトリプルG4Sリンカーに作動可能に連結された抗CD3 s c F v に作動可能に連結されたG a u s s i a l シフェラーゼシグナルペプチドを含むポリペプチドを含む。

10

【0184】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号117に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するコカルエンベロップに作動可能に連結されたコカルエンベロップ由来膜貫通ドメイン、細胞質尾部およびT2A自己切断ペプチドに作動可能に連結されたヒンジドメインに作動可能に連結された抗CD3 s c F v に作動可能に連結されたG a u s s i a l シフェラーゼシグナルペプチドを含むポリペプチドを含む。

【0185】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号119に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するグリコホリンA由来ヒンジ、膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結されたリンカーに作動可能に連結された抗CD3 s c F v に作動可能に連結されたG a u s s i a l シフェラーゼシグナルペプチドを含むポリペプチドを含む。

20

【0186】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号13に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するコカル糖タンパク質に由来する細胞質尾部に作動可能に連結された膜貫通ドメインに作動可能に連結された短いヒンジを含むポリペプチドを含む。

30

【0187】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号19に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するコカル糖タンパク質に由来する細胞質尾部に作動可能に連結された膜貫通ドメインに作動可能に連結された長いヒンジを含むポリペプチドを含む。

【0188】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号25に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するH I Vウイルスエンベロップに由来する細胞質尾部に作動可能に連結されたヒトグリコホリンA外部ドメイン膜貫通ドメインに作動可能に連結された218リンカーを含むポリペプチドを含む。

40

【0189】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号31に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するH I Vウイルスエンベロップ膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結された218リンカーを含むポリペプチドを含む。

【0190】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号37に対して少なくとも75%、少な

50

くとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する HIV ウイルスエンベロープ膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結されたトリプル G 4 S リンカーを含むポリペプチドを含む。

【0191】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 97 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有するヒトグリコホリン A に由来する小型の外部ドメイン、膜貫通および細胞質尾部配列に作動可能に連結された Ser - Gly ペプチドを含むポリペプチドを含む。

10

【0192】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 105 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有するヒトグリコホリン A に由来する膜貫通ドメインおよび細胞質尾部配列を含むポリペプチドを含む。

【0193】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 43 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有するコカル糖タンパク質膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結された短いヒンジを含むポリペプチドを含む。

20

【0194】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 4 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する T 2 A リンカーに作動可能に連結された C D 4 由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部を含むポリペプチドを含む。

【0195】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 11 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する G a u s s i a ルシフェラーゼ由来シグナルペプチド配列を含むポリペプチドを含む。

30

【0196】

ウイルス粒子エンベロープ発現カセット

一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス粒子は、本明細書に記載されているポリペプチドのうち少なくとも 1 種をコードするウイルスエンベロープ発現カセットを使用して生成される。

【0197】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5' から 3' への順序で、

- (a) C D 8 由来シグナルペプチド
- (b) 抗 C D 3 s c F V
- (c) C D 8 由来ヒンジドメイン
- (d) C D 4 膜貫通ドメインおよび細胞質尾部
- (e) T 2 A リンカー
- (f) コカル糖タンパク質

40

をコードするウイルスエンベロープ発現カセットを使用して生成される。

【0198】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5' から 3' への順序で、

- (a) G a u s s i a ルシフェラーゼ由来シグナルペプチド
- (b) 抗 C D 3 s c F V
- (c) 短いヒンジドメイン
- (d) コカル糖タンパク質由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部

50

をコードするウイルスエンベロープ発現カセットを使用して生成される。

【0199】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

- (a) G a u s s i a ルシフェラーゼ由来シグナルペプチド
- (b) 抗CD3 s c F V
- (c) 長いヒンジドメイン
- (d) コカル糖タンパク質由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部

をコードするウイルスエンベロープ発現カセットを使用して生成される。

【0200】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

- (a) G a u s s i a ルシフェラーゼ由来シグナルペプチド
- (b) 抗CD3 s c F V
- (c) 218リンカー
- (d) ヒトグリコホリンA外部ドメイン由来膜貫通ドメイン
- (e) H I Vウイルスエンベロープ由来細胞質尾部

をコードするウイルスエンベロープ発現カセットを使用して生成される。

【0201】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

- (a) G a u s s i a ルシフェラーゼ由来シグナルペプチド
- (b) 抗CD3 s c F V
- (c) 218リンカー
- (d) H I Vウイルスエンベロープ由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部

をコードするウイルスエンベロープ発現カセットを使用して生成される。

【0202】

一部の実施形態では、本開示 (the present) のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

- (a) G a u s s i a ルシフェラーゼ由来シグナルペプチド
- (b) 抗CD3 s c F V
- (c) トリプルG4Sリンカー
- (d) H I Vウイルスエンベロープ由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部

をコードするウイルスエンベロープ発現カセットを使用して (using comprise a v iral envelope expression cassette) 生成される。

【0203】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

- (a) G a u s s i a ルシフェラーゼ由来シグナルペプチド
- (b) 抗CD3 s c F V
- (c) 短いヒンジドメイン
- (d) コカル糖タンパク質由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部
- (e) T2Aリンカー
- (f) コカル糖タンパク質

をコードするウイルスエンベロープ発現カセットを使用して生成される。

【0204】

一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス発現カセットは、共刺激分子および／または接着分子をコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス発現カセットは、CD86ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス発現カセットは、CD80ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス発現カセットは、CD58ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。

【0205】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号108に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するコカルエンベロープ由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結されたヒンジドメインに作動可能に連結された抗CD3 s c F vに作動可能に連結されたG a u s s i a ルシフェラーゼシグナルペプチドをコードする核酸を含む。

【0206】

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号110に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するコカルエンベロープ由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結されたヒンジドメインに作動可能に連結された抗CD3 s c F vに作動可能に連結されたG a u s s i a ルシフェラーゼシグナルペプチドをコードする核酸を含む。

10

【0207】

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号112に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するグリコホリンA由来膜貫通ドメインおよびHIVエンベロープ由来細胞質尾部に作動可能に連結されたリンカーに作動可能に連結された抗CD3 s c F vに作動可能に連結されたG a u s s i a ルシフェラーゼシグナルペプチドをコードする核酸を含む。

20

【0208】

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号114に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するHIVエンベロープ由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結されたリンカーに作動可能に連結された抗CD3 s c F vに作動可能に連結されたG a u s s i a ルシフェラーゼシグナルペプチドをコードする核酸を含む。

【0209】

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号116に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するHIVエンベロープ由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結されたトリプルG4Sリンカーに作動可能に連結された抗CD3 s c F vに作動可能に連結されたG a u s s i a ルシフェラーゼシグナルペプチドをコードする核酸を含む。

30

【0210】

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号118に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するコカルエンベロープに作動可能に連結されたコカルエンベロープ由来膜貫通ドメイン、細胞質尾部およびT2A自己切断ペプチドに作動可能に連結されたヒンジドメインに作動可能に連結された抗CD3 s c F vに作動可能に連結されたG a u s s i a ルシフェラーゼシグナルペプチドをコードする核酸を含む。

40

【0211】

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号120に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するグリコホリンA由来ヒンジ、膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結されたリンカーに作動可能に連結された抗CD3 s c F vに作動可能に連結されたG a u s s i a ルシフェラーゼシグナルペプチドをコードする核酸を含む。

【0212】

50

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号 16 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有するコカル糖タンパク質に由来する細胞質尾部に作動可能に連結された膜貫通ドメインに作動可能に連結された短いヒンジをコードする核酸配列を含む。

【0213】

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号 22 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有するコカル糖タンパク質に由来する細胞質尾部に作動可能に連結された膜貫通ドメインに作動可能に連結された長いヒンジをコードする核酸配列を含む。

10

【0214】

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号 28 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する HIV ウイルスエンベロープに由来する細胞質尾部に作動可能に連結されたヒトグリコホリン A 外部ドメイン膜貫通ドメインに作動可能に連結された 218 リンカーをコードする核酸配列を含む。

【0215】

一部の実施形態では、ウイルス粒子ウイルス発現カセット (the viral particle expression cassette) は、配列番号 34 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する HIV ウイルスエンベロープ膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結された 218 リンカーをコードする核酸配列を含む。

20

【0216】

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号 40 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する HIV ウイルスエンベロープ膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結されたトリプル G4S リンカーをコードする核酸配列を含む。

【0217】

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号 98 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する (that shares that shares) ヒトグリコホリン A に由来する小型の外部ドメイン、膜貫通および細胞質尾部配列に作動可能に連結された Ser-Gly ペプチドをコードする核酸配列を含む。

30

【0218】

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号 106 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有するグリコホリン A 膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結されたヒンジをコードする核酸配列を含む。

40

【0219】

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号 47 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する T2A リンカーに作動可能に連結されたコカル糖タンパク質膜貫通ドメインおよび細胞質尾部に作動可能に連結された短いヒンジをコードする核酸配列を含む。

【0220】

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号 9 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する T2A リンカーに作動可能に連結された C

50

D 4 由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部をコードする核酸配列を含む。

【0221】

一部の実施形態では、ウイルス発現カセットは、配列番号14に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するGaussianシフエラーゼ由来シグナルペプチドをコードする核酸配列を含む。

【0222】

粒子の型

一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス粒子は、レトロウイルスである。レトロウイルスは、レンチウイルス、ガンマーレトロウイルスおよびアルファレトロウイルスを含み、これらのそれぞれは、当技術分野で公知の方法を使用して、ポリヌクレオチドの細胞への送達に使用することができる。レンチウイルスは、共通レトロウイルス遺伝子gag、polおよびenvに加えて、調節または構造的機能を有する他の遺伝子を含む、複雑レトロウイルスである。より高い複雑性は、ウイルスが、潜伏感染の経過におけるように、その生活環をモジュレートすることを可能にする。例示的なレンチウイルスとしては、これらに限定されないが、HIV（HIV 1型およびHIV 2型を含むヒト免疫不全ウイルス）；ビスナ・マエディウイルス（VMV）ウイルス；ヤギ関節炎脳炎ウイルス（CAEV）；ウマ伝染性貧血ウイルス（EIAV）；ネコ免疫不全ウイルス（FIV）；ウシ免疫不全ウイルス（BIV）；およびサル免疫不全ウイルス（SIV）が挙げられる。一部の実施形態では、骨格は、HIVに基づくベクター骨格（すなわち、HIVシス作用性配列エレメント）である。レトロウイルス粒子は、HIVビルレンス遺伝子を多重弱毒化することにより生成されており、例えば、遺伝子env、vif、vpr、vpuおよびnefが欠失され、ベクターを生物学的に安全にする。

【0223】

例示的なレンチウイルス粒子は、それぞれの全体が参照により本明細書に組み込まれる、Naldini et al. (1996) Science 272:263-7; Zufferey et al. (1998) J. Virol. 72:9873-9880; Dull et al. (1998) J. Virol. 72:8463-8471; 米国特許第6,013,516号；および米国特許第5,994,136号に記載されているレンチウイルス粒子を含む。一般に、これらの粒子は、粒子を含有する細胞の選択のための、外来性核酸をレンチウイルス粒子に取り込むための、および核酸の標的細胞への移入のための必須配列を保有するように構成されている。

【0224】

一般的に使用されているレンチウイルス粒子系は、いわゆる第三世代系である。第三世代レンチウイルス粒子系は、4種のプラスミドを含む。「移入プラスミド」は、レンチウイルスベクター系によって標的細胞に送達されるポリヌクレオチド配列をコードする。移入プラスミドは一般に、宿主ゲノムへの移入プラスミド配列の組込みを容易にする長鎖末端反復配列（LTR）の配列によって挟まれた、目的の1種または複数種の導入遺伝子配列を有する。安全性の理由から、移入プラスミドは一般に、結果として生じる粒子の複製能力をなくすように設計されている。例えば、移入プラスミドは、宿主細胞における感染性粒子の生成に必要な遺伝要素を欠く。加えて、移入プラスミドは、ウイルスを「自己不活型」（SIN）にする、3'LTRの欠失により設計することができる。Dull et al. (1998) J. Virol. 72:8463-71; Miyoshi et al. (1998) J. Virol. 72:8150-57を参照されたい。ウイルス粒子は、3'非翻訳領域（UTR）および5'UTRを含むこともできる。UTRは、レトロウイルス粒子による細胞の接触後に、細胞へのプロウイルスゲノムのパッケージング、逆転写および組込みを支持するレトロウイルス調節エレメントを含む。

【0225】

第三世代系は、一般に、2種の「パッケージングプラスミド」および1種の「エンベローププラスミド」も含む。「エンベローププラスミド」は一般に、プロモーターに機能的に連結されたEnv遺伝子をコードする。例示的な第三世代系において、Env遺伝子は

、VSV-Gであり、プロモーターは、CMVプロモーターである。例示的な第三世代システムにおいて、Env遺伝子は、コカルGタンパク質（コカル糖タンパク質）であり、プロモーターは、MND（骨髄増殖性肉腫ウイルスエンハンサーであり、負の制御領域が欠失され、dl587revプライマー結合部位が置換されている）プロモーターである。例示的な第三世代システムにおいて、Env遺伝子は、コカルGタンパク質（コカル糖タンパク質）であり、プロモーターは、CMVプロモーターである。第三世代系は、さらなる安全性特色として、2種のパッケージングプラスミドを使用し、そのうち一方は、gagおよびpolをコードし、他方は、revをコードする。－いわゆる第二世代系の単一のパッケージングプラスミドを上回る改善である。より安全ではあるが、第三世代系は、更に別のプラスミドの追加が原因で、使用がより煩雑となり、より低いウイルス力価をもたらす場合がある。例示的なパッキング（packing）プラスミドは、pMD2.G、pRSV-rev、pMDLg-pRREおよびpRRL-GOIを限定することなく含む。

10

【0226】

多くのレトロウイルス粒子系は、「パッケージング細胞系」の使用に頼る。一般に、パッケージング細胞系は、移入プラスミド、パッケージングプラスミド（複数可）およびエンベローププラスミドが細胞に導入された場合に、その細胞が感染性レトロウイルス粒子を産生することができる、細胞系である。トランスフェクションまたは電気穿孔を含む、細胞にプラスミドを導入する様々な方法を使用することができる。一部の事例では、パッケージング細胞系は、レトロウイルス粒子へのレトロウイルス粒子系の高効率パッケージングに適応される。

20

【0227】

本明細書で使用される場合、用語「レトロウイルス粒子」または「レンチウイルス粒子」は、異種タンパク質（例えば、キメラ抗原受容体）をコードするポリヌクレオチド、1種または複数種のカプシドタンパク質、および標的細胞へのポリヌクレオチドの形質導入に必要な他のタンパク質を含むウイルス粒子を指す。レトロウイルス粒子およびレンチウイルス粒子は一般に、RNAゲノム（移入プラスミドに由来する）、Envタンパク質が包埋された脂質二重層エンベロープ、ならびにインテグラーゼ、プロテアーゼおよびマトリックスタンパク質を含む他のアクセサリタンパク質を含む。

【0228】

レトロウイルスまたはレンチウイルス粒子系のex vivo効率は、定量的ポリメラーゼ連鎖反応（qPCR）、デジタル液滴PCR（ddPCR）によるなど、ベクターコピー数（VCN）もしくはベクターゲノム（vg）の測定、または1ミリリットル当たりの感染単位（IU/mL）で表すウイルスの力価を含む、当技術分野で公知の様々な仕方で評価することができる。例えば、力価は、Humbert et al. Development of Third-generation Cocal Envelope Producer Cell Lines for Robust Retroviral Gene Transfer into Hematopoietic Stem Cells and T-cells. Molecular Therapy 24:1237-1246 (2016)に記載されている通り、培養腫瘍細胞系HT1080において行われる機能アッセイを使用して評価することができる。力価が、絶えず分裂している培養細胞系において評価される場合、刺激は要求されず、したがって、測定される力価は、レトロウイルス粒子の表面操作によって影響されない。レトロウイルスベクター系の効率を評価するための他の方法は、Gaererts et al. Comparison of retroviral vector titration methods. BMC Biotechnol. 6:34(2006)に提供される。

30

40

【0229】

一部の実施形態では、本開示のレトロウイルス粒子および／またはレンチウイルス粒子は、ハプテンに特異的に結合する受容体をコードする配列を含むポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ハプテンに特異的に結合する受容体をコードする配列は、プロモーターに機能的に連結される。例示的なプロモーターとしては、サイトメガロウイルス（CMV）プロモーター、CAGプロモーター、SV40プロモーター、SV40/CD4

50

3 プロモーター、EF-1 α プロモーターおよびMND プロモーターを限定することなく含む。

【0230】

一部の実施形態では、キメラ抗原受容体をコードするポリヌクレオチドは、1個または複数のプロモーターに機能的に連結されている。一部の実施形態では、プロモーターは、誘導性プロモーターである。一部の実施形態では、プロモーターは、CMVである。一部の実施形態では、プロモーターは、MNDである。

【0231】

一部の実施形態では、RACRをコードするポリヌクレオチドは、1個または複数のプロモーターに機能的に連結されている。一部の実施形態では、プロモーターは、誘導性プロモーターである。一部の実施形態では、プロモーターは、CMVである。一部の実施形態では、プロモーターは、MNDである。

10

【0232】

一部の実施形態では、レトロウイルス粒子は、形質導入エンハンサーを含む。一部の実施形態では、レトロウイルス粒子は、T細胞活性化因子タンパク質をコードする配列を含むポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、レトロウイルス粒子は、ハプテン結合受容体をコードする配列を含むポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、レトロウイルス粒子は、タグ付けタンパク質を含む。

【0233】

一部の実施形態では、レトロウイルス粒子のそれぞれは、5'から3'への順序で：(i) 5'長鎖末端反復配列(LTR)または非翻訳領域(UTR)、(ii) プロモーター、(iii) ハプテンに特異的に結合する受容体をコードする配列、および(iv) 3'LTRまたはUTRを含むポリヌクレオチドを含む。

20

【0234】

本開示の実施において有用な遺伝子送達ウイルス粒子は、分子生物学の技術分野において公知の方法論を利用して構築することができる。典型的には、導入遺伝子を保有するウイルスベクターは、導入遺伝子、適した調節エレメント、および細胞形質導入を媒介するウイルスタンパク質の産生に必要なエレメントをコードするポリヌクレオチドからアセンブルされる。そのような組換えウイルスは、当技術分野で公知の技法によって、例えば、パッケージング細胞をトランスフェクトすることによって、またはヘルパープラスミドもしくはウイルスによる一過性トランスフェクションによって産生することができる。ウイルスパッケージング細胞の例としては、これらに限定されないが、HeLa細胞、SF9細胞(必要に応じて、バキュロウイルスヘルパーベクターによる)、293細胞などが挙げられる。そのような複製欠損組換えウイルスを産生するための詳細なプロトコールは、例えば、それぞれの全内容が参照により本明細書に組み込まれる、WO95/14785、WO96/22378、米国特許第5,882,877号、米国特許第6,013,516号、米国特許第4,861,719号、米国特許第5,278,056号およびWO94/19478に見出すことができる。

30

【0235】

本開示の組成物および方法において使用可能なウイルスベクターの例示的な例は、それぞれ、その全体が本明細書に組み込まれる、WO2016/139463; WO2017/165245; WO2018111834に開示されている。

40

【0236】

ペイロード

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、ペイロードを含む。一部の実施形態では、ペイロードは、粒子の表面にコンジュゲートされる。一部の実施形態では、ペイロードは、粒子によって被包される。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、ペイロードを標的細胞に送達する。

【0237】

一部の実施形態では、ペイロードは、核酸である。一部の実施形態では、核酸は、コ

50

ド核酸である。一部の実施形態では、核酸は、目的のポリペプチドをコードする。一部の実施形態では、目的のポリペプチドは、治療ポリペプチドである。一部の実施形態では、目的のポリペプチドは、キメラ抗原受容体である。一部の実施形態では、核酸は、標的細胞に形質導入され、目的のポリペプチドは、標的細胞において発現される。一部の実施形態では、核酸は、非コード核酸である。その場合、一部の実施形態では、核酸は、治療非コード核酸である。非コード核酸は、当業者にとって公知であり、s i R N A、m i R N A および s h R N A を含むがこれらに限定されない。

【0238】

一部の実施形態では、ペイロードの発現は、プロモーターによって駆動される。一部の実施形態では、プロモーターは、改変されたモロニーマウス白血病ウイルス (M o M u L V) L T R の U 3 領域と骨髄増殖性肉腫ウイルスエンハンサー 1 3 を含有し、ヒト C D 3 4 + 幹細胞、リンパ球および他の組織において高い発現を有する、ウイルス由来合成プロモーターである、M N D プロモーター (骨髄増殖性肉腫ウイルスエンハンサーであり、負の制御領域が欠失され、d l 5 8 7 r e v プライマー結合部位が置換されている) である。一部の実施形態では、翻訳の間にリボソームスキッピングおよび切断を誘導する 2 A ペプチド配列によって分離されて、別々のタンパク質が発現される。一部の実施形態では、プロモーターは、C M V プロモーターである。一部の実施形態では、プロモーターは、E F 1 a プロモーターである。他の実施形態では、プロモーターは、H T L V プロモーターである。

【0239】

キメラ抗原受容体

一部の実施形態では、本明細書に記載のウイルス粒子を使用して、1 種または複数種のキメラ抗原受容体 (C A R) をコードする核酸配列 (ポリヌクレオチド) を細胞 (例えば、T リンパ球) に形質導入する。一部の実施形態では、ウイルス粒子の形質導入の結果、形質導入された細胞における 1 種または複数種の C A R の発現がもたらされる。

【0240】

C A R は、T リンパ球を抗原に向かわせ、抗原を提示している細胞を死滅させるように T リンパ球を刺激する、人工的な膜結合タンパク質である。例えば、Eshhar、米国特許第 7, 7 4 1, 4 6 5 号を参照されたい。一般に、C A R は、抗原、例えば、細胞上の抗原に結合する細胞外ドメイン、必要に応じたリンカー、膜貫通ドメイン、ならびに活性化シグナルを免疫細胞に伝達する共刺激ドメインおよび／またはシグナル伝達ドメインを含む細胞内 (細胞質) ドメインを含む、遺伝子操作された受容体である。C A R を用いると、特異的な抗原の認識と、その抗原に結合したときの、その抗原を有する細胞への攻撃および破壊のための免疫細胞の活性化とが両方なされるように、単一の受容体をプログラムすることができる。これらの抗原が腫瘍細胞上に存在する場合、C A R を発現する免疫細胞は腫瘍細胞を標的とし、死滅させることができる。C A R が、例えば T リンパ球の表面上に発現され、C A R の細胞外ドメインが抗原に結合すると他の全ての条件が満たされ、細胞内シグナル伝達ドメインが T リンパ球にシグナルを伝達して T リンパ球を活性化および／または増殖させ、抗原が細胞表面上に存在する場合には抗原を発現する細胞を死滅させる。T リンパ球は、最大限に活性化するためには 2 種のシグナル、一次活性化シグナルおよび共刺激シグナルが必要とするので、C A R は、刺激ドメインおよび共刺激ドメインを含み得、したがって、抗原が細胞外ドメインに結合すると、一次活性化シグナルおよび共刺激シグナルの両方の伝達もたらされる。説明的な C A R は、当技術分野で公知であり、例えば、参照により本明細書に組み込まれる (例えば、Guedan S, Calderon H, Posey AD, Maus MV, Molecular Therapy - Methods & Clinical Development. 2019; 12: 145-156 を参照) に記載されている通り、モジュラー様式で設計され得る (may be designed)。

【0241】

一部の実施形態では、本明細書に開示されているウイルス粒子は、細胞外ドメイン、必要に応じて、ヒンジドメイン、膜貫通ドメインおよび細胞内シグナル伝達ドメインを含む

CARをコードする。一部の実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激ドメインおよび活性化ドメインを含む。一部の実施形態では、共刺激および活性化ドメインは、細胞に共刺激および活性化シグナルの両方を提供する、単一のドメイン、例えば、単一の細胞内ドメインである。他の実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激ドメインまたは活性化ドメインのいずれかを含む。一部の実施形態では、CARは、細胞外ドメイン、CD8aヒンジ、CD8a膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態では、本明細書に開示されているウイルス粒子は、細胞外ドメイン、CD28ヒンジドメイン、CD28膜貫通ドメイン、CD28共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインをコードする。一部の実施形態では、本明細書に開示されているウイルス粒子は、細胞外ドメイン、IgG4ヒンジドメイン、CD28膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインをコードする。一部の実施形態では、本明細書に開示されているウイルス粒子は、細胞外ドメイン、CD8aヒンジ、CD28膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含むCARをコードする。

10

【0242】

CAR TおよびCAR NK細胞を含むCAR細胞に適した説明的なCAR構築物を下に示す：

- (1) scFv-CD8_{TM}-4-1BB_{IC}-CD3 ζ s (例えば、Liu E, Tong Y, Dotti G, et al., Leukemia. 2018; 32: 520-531を参照)；
- (2) scFv-CD28_{TM}+IC-CD3 ζ s (例えば、Han J, Chu J, Keung CW et al., Sci Rep. 2015; 5: 11483; Kruschinski A, Moosmann A, Poschke I et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2008; 105: 17481-17486; およびChu J, Deng Y, Benson DM et al., Leukemia. 2014; 28: 917-927を参照)；
- (3) scFv-DAP12_{TM}+IC (例えば、Muller N, Michen S, Tietze S et al., J Immunother. 2015; 38: 197-210を参照)；
- (4) scFv-CD8_{TM}-2B4_{IC}-CD3 ζ s (例えば、Xu Y, Liu Q, Zhong M et al., J Hematol Oncol. 2019; 12: 49を参照)；
- (5) scFv-2B4_{TM}+IC-CD3 ζ s (例えば、Altvater B, Landmeier S, Pscherer S et al., Clin Cancer Res. 2009; 15: 4857-4866を参照)；
- (6) scFv-CD28_{TM}+IC-4-1BB_{IC}-CD3 ζ s (例えば、Kloss S, Oberschmidt O, Morgan M et al., Hum Gene Ther. 2017; 28: 897-913を参照)；
- (7) scFv-CD16_{TM}-2B4_{IC}-CD3 ζ s (例えば、Li Y, Hermanson DL, Moriarity BS Kaufman DS, Cell Stem Cell. 2018; 23: 181-192を参照)；
- (8) scFv-NKp44_{TM}-DAP10_{IC}-CD3 ζ s (例えば、Li Y, Hermanson DL, Moriarity BS Kaufman DS, Cell Stem Cell. 2018; 23: 181-192を参照)；
- (9) scFv-NKp46_{TM}-2B4_{IC}-CD3 ζ s (例えば、Li Y, Hermanson DL, Moriarity BS Kaufman DS, Cell Stem Cell. 2018; 23: 181-192を参照)；
- (10) scFv-NKG2D_{TM}-2B4_{IC}-CD3 ζ s (例えば、Li Y, Hermanson DL, Moriarity BS Kaufman DS, Cell Stem Cell. 2018; 23: 181-192を参照)；
- (11) scFv-NKG2D_{TM}-4-1BB_{IC}-CD3 ζ s (例えば、Li Y, Hermanson DL, Moriarity BS Kaufman DS, Cell Stem Cell. 2018; 23: 181-192を参照)；
- (12) scFv-NKG2D_{TM}-2B4_{IC}-DAP12_{IC}-CD3 ζ s (例えば

20

30

40

50

、Li Y, Hermanson DL, Moriarity BS Kaufman DS, Cell Stem Cell. 2018; 23: 181-192を参照) ;

(13) s c F v - N K G 2 D T M - 2 B 4 I c - D A P 1 0 I c - C D 3 ζ s (例えば、Li Y, Hermanson DL, Moriarity BS Kaufman DS, Cell Stem Cell. 2018; 23: 181-192を参照) ;

(14) s c F v - N K G 2 D T M - 4 - 1 B B I c - 2 B 4 I c - C D 3 ζ S (例えば、Li Y, Hermanson DL, Moriarity BS Kaufman DS, Cell Stem Cell. 2018; 23: 181-192を参照) ; および

(15) s c F v - N K G 2 D T M - C D 3 ζ S (例えば、Li Y, Hermanson DL, Moriarity BS Kaufman DS, Cell Stem Cell. 2018; 23: 181-192を参照) 。

10

【0243】

CAR細胞内ドメイン

一部の実施形態では、CARの細胞内ドメインは、Tリンパ球の表面上に発現され、前記Tリンパ球の活性化および／または増殖を誘発するタンパク質の細胞内ドメインまたはモチーフであるまたはそれを含む。そのようなドメインまたはモチーフは、CARの細胞外部分への抗原の結合に応答して、Tリンパ球の活性化に必要なシグナルを伝達することができる。一部の実施形態では、このドメインまたはモチーフは、ITAM（免疫受容活性化チロシンモチーフ）を含むまたはITAMである。CARに適したITAM含有ポリペプチドとしては、例えば、ゼータCD3鎖（CD3ζ）またはそのITAM含有部分が挙げられる。一部の実施形態では、細胞内ドメインは、CD3ζ細胞内シグナル伝達ドメインである。一部の実施形態では、細胞内ドメインは、リンパ球受容体鎖、TCR／CD3複合体タンパク質、Fc受容体サブユニットまたはIL-2受容体サブユニットに由来するものである。一部の実施形態では、CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、例えば、CD3ζ、CD3ε、CD22、CD79a、CD66dまたはCD39シグナル伝達ドメインに由来するものであり得る。「細胞内シグナル伝達ドメイン」は、標的抗原への有効なCAR結合のメッセージを免疫エフェクター細胞の内部に伝えて、エフェクター細胞機能、例えば、活性化、サイトカイン産生、増殖、およびCARが結合した標的細胞に対する細胞傷害性因子の放出を含めた細胞傷害活性、または細胞外CARDドメインへの抗原の結合後に引き出される他の細胞応答を引き出すことに関与する、CARポリペプチドの一部を指す。

20

30

【0244】

一部の実施形態では、CARの細胞内ドメインは、ゼータCD3鎖（CD3ゼータ）である。

【0245】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、その細胞内ドメインが、配列番号54に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するCD3ゼータドメインを含む、CARを含むポリペプチドを含む。

【0246】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号66に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するCD3ゼータドメインを含むCARの細胞内ドメインをコードする核酸を含む。

40

【0247】

一部の実施形態では、CARは、1種または複数種の共刺激ドメインまたはモチーフを、例えば、ポリペプチドの細胞内ドメインの一部として、さらに含む。共刺激分子は、抗原受容体またはFc受容体以外の、抗原に結合した際のTリンパ球の効率的な活性化および機能に必要な第2のシグナルをもたらす周知の細胞表面分子である。1種または複数種の共刺激ドメインまたはモチーフは、例えば、共刺激CD27ポリペプチド配列、共刺激CD28ポリペプチド配列、共刺激OX40（CD134）ポリペプチド配列、共刺激4

50

ー1BB (CD137) ポリペプチド配列、または共刺激誘導性T細胞共刺激 (ICOS) ポリペプチド配列、または他の共刺激ドメインまたはモチーフ、またはこれらの任意の組合せのうちの1つまたは複数であり得るまたはそれを含み得る。一部の実施形態では、1種または複数種の共刺激ドメインは、4-1BB、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54 (ICAM)、CD83、CD134 (OX40)、CD150 (SLAMF1)、CD152 (CTLA4)、CD223 (LAG3)、CD270 (HVEM)、CD278 (ICOS)、DAP10、LAT、NKD2CSLP76、TRIM、およびZAP70の細胞内ドメインからなる群から選択される。

【0248】

一部の実施形態では、共刺激ドメインは、4-1BB、CD28またはOX40の細胞内ドメインである。CD28シグナル伝達ドメインを含む例示的なCAR構築物は、参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第7,446,190号に開示されている。4-1BBシグナル伝達ドメインを含む例示的なCAR構築物は、それぞれ参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第9,856,322号および米国特許第8,399,964号に開示されている。

【0249】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、CD3ゼータシグナル伝達ドメインに機能的に連結された4-1BB共刺激ドメインに機能的に連結されたCD28膜貫通ドメインに機能的に連結されたIgG4リンカーを含むCARをコードする。

【0250】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、CD3ゼータシグナル伝達ドメインに機能的に連結された4-1BB共刺激ドメインに機能的に連結されたCD8a膜貫通ドメインに機能的に連結されたIgG4リンカーを含むCARをコードする。

【0251】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、CD3ゼータシグナル伝達ドメインに機能的に連結されたCD28共刺激ドメインに機能的に連結されたCD8a膜貫通ドメインに機能的に連結されたIgG4リンカーを含むCARをコードする。

【0252】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、CD3ゼータシグナル伝達ドメインに機能的に連結された4-1BB共刺激ドメインに機能的に連結されたCD8a膜貫通ドメインに機能的に連結されたCD8aリンカーを含むCARをコードする。

【0253】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、CD3ゼータシグナル伝達ドメインに機能的に連結されたCD28共刺激ドメインに機能的に連結されたCD28膜貫通ドメインに機能的に連結されたCD28リンカーを含むCARをコードする。

【0254】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、その細胞内ドメインが、配列番号53に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する共刺激4-1BBポリペプチド配列を含む、CARを含むポリペプチドを含む。

【0255】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号65に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する共刺激4-1BB配列を含むCARの細胞内ドメインをコードする核酸を含む。

【0256】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、その細胞内ドメインが、配列番号80に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するCD3ゼータドメインに機能的に連結された共刺激4-1BBポリペプチドに機能的に連結されたCD28由来膜

10

20

30

40

50

貫通ドメインに機能的に連結された I g G 4 リンカーを含む、C A R を含むポリペプチドを含む。

【0257】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 86 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する C D 3 ゼータドメインに機能的に連結された共刺激 4-1 B B ポリペプチドに機能的に連結された C D 28 由来膜貫通ドメインに機能的に連結された I g G 4 リンカーを含む C A R の細胞内ドメインをコードする核酸を含む。

【0258】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、その細胞内ドメインが、配列番号 90 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する C D 3 ゼータドメインに機能的に連結された共刺激 4-1 B B ポリペプチドに機能的に連結された C D 28 由来膜貫通ドメインに機能的に連結された I g G 4 リンカーを含む、C A R を含むポリペプチドを含む。

【0259】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 95 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する C D 3 ゼータドメインに機能的に連結された共刺激 4-1 B B ポリペプチドに機能的に連結された C D 28 由来膜貫通ドメインに機能的に連結された I g G 4 リンカーを含む C A R の細胞内ドメインをコードする核酸を含む。

【0260】

一部の実施形態では、細胞内ドメインを、検出可能なタンパク質、例えば、蛍光タンパク質（例えば、緑色蛍光タンパク質）またはその公知の任意のバリエーションをコードするようにさらに改変することができる。

【0261】

C A R 膜貫通領域

膜貫通領域は、機能性 C A R に組み入れることができる任意の膜貫通領域、例えば、C D 28、C D 4 または C D 8 分子由来の膜貫通領域であり得る。

【0262】

一部の実施形態では、C A R の膜貫通ドメインは、C D 8、T 細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖もしくはゼータ鎖の膜貫通ドメイン、C D 28、C D 3 イプシロン、C D 4 5、C D 4、C D 5、C D 8、C D 9、C D 16、C D 22、C D 33、C D 37、C D 64、C D 80、C D 86、C D 134、C D 137、C D 154、K I R D S 2、O X 40、C D 2、C D 27、L F A-1 (C D 11a、C D 18)、I C O S (C D 278)、4-1 B B (C D 137)、4-1 B B L、G I T R、C D 40、B A F F R、H V E M (L I G H T R)、S L A M F 7、N K p 80 (K L R F I)、C D 160、C D 19、I L 2 R ベータ、I L 2 R ガンマ、I L 7 R a、I T G A 1、V L A 1、C D 49a、I T G A 4、I A 4、C D 49D、I T G A 6、V L A-6、C D 49f、I T G A D、C D 11d、I T G A E、C D 103、I T G A L、C D 11a、L F A-1、I T G A M、C D 11b、I T G A X、C D 11c、I T G B 1、C D 29、I T G B 2、C D 18、L F A-1、I T G B 7、T N F R 2、D N A M 1 (C D 226)、S L A M F 4 (C D 244、2B4)、C D 84、C D 96 (T a c t i l e)、C E A C A M 1、C R T A M、L y 9 (C D 229)、C D 160 (B Y 55)、P S G L 1、C D 100 (S E M A 4 D)、S L A M F 6 (N T B-A、L y 108)、S L A M (S L A M F 1、C D 150、I P O-3)、B L A M E (S L A M F 8)、S E L P L G (C D 162)、L T B R、P A G / C b p、N K p 44、N K p 30、N K p 46、N K G 2 D、および／または N K G 2 C に由来するものであり得る。一部の実施形態では、C A R の膜貫通ドメインは、C D 28 の膜貫通ドメインに由来し得る。一部の実施形態では、C A R の膜貫通ドメインは、C D 8、例えば、C D 8 α の膜貫通ドメインに由来し得る。

【0263】

CARリンカー領域

細胞外ドメインと膜貫通ドメインの間に置かれたCARの必要に応じたリンカーまたはヒンジは、約2～100アミノ酸超の長さのポリペプチドであり得る。リンカーは、グリシンおよびセリンなどの柔軟な残基を含み得るまたはそれから構成され得、したがって、隣接するタンパク質ドメインが互いに対して自由に移動する。例えば、2つの隣接するドメインが互いに立体的に干渉しないことを確実にすることが望ましい場合には、より長いリンカーを使用することができる。より長いリンカーは、標的抗原が細胞表面により近い場合に有利となることもあり得る。

【0264】

一部の実施形態では、リンカーは、いずれかの免疫グロブリンのヒンジ領域またはヒンジ領域の部分に由来する。一部の実施形態では、リンカーは、免疫グロブリン、例えば、IgG4に由来する。一部の実施形態では、リンカーは、CD28の細胞外ドメインに由来する。他の実施形態では、リンカーは、CD8の細胞外ドメインに由来する。

【0265】

一部の実施形態では、リンカーは、配列番号52に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するCD28由来膜貫通ドメインに作動可能に連結されたIgG4リンカーである。

【0266】

一部の実施形態では、リンカーは、配列番号64に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するCD28由来膜貫通ドメインに作動可能に連結されたIgG4リンカーである。

【0267】

CAR細胞外ドメイン

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用して細胞に形質導入される核酸は、ポリペプチドをコードする配列を含み、ここで、ポリペプチドの細胞外ドメインは、目的の抗原に結合するものである。一部の実施形態では、細胞外ドメインは、前記抗原に結合する受容体または受容体の一部を含む。一部の実施形態では、細胞外ドメインは、抗体もしくはその抗原結合部分を含むまたは抗体もしくはその抗原結合部分である。一部の実施形態では、細胞外ドメインは、単鎖Fvドメインを含むまたは単鎖Fvドメインである。単鎖Fvドメインは、例えば、フレキシブルリンカーによって連結したVLとVHを含み得、前記VLとVHが前記抗原に結合する抗体に由来する。

【0268】

一部の実施形態では、CARの細胞外ドメインは、所望の抗原（例えば、前立腺新生抗原または目的の腫瘍上に発現される抗原）に結合する任意のポリペプチドを含有し得る。細胞外ドメインは、scFv、抗体の一部または代替足場を含み得る。CARを、2種またはそれよりも多くの所望の抗原に結合するように操作することもでき、その場合、タンデムに配置し、リンカー配列によって隔てることができる。例えば、1つまたは複数のドメイン抗体、scFv、ラマVHH抗体または他のVHのみの抗体断片をリンカーによってタンデムに組織化して、CARに二特異性または多特異性をもたらすことができる。

【0269】

ポリペプチドの細胞外ドメインが結合する抗原は、任意の目的の抗原であり得、例えば、腫瘍細胞上の抗原であり得る。腫瘍細胞は、例えば、固形腫瘍内の細胞、または血液がんの細胞であり得る。抗原は、任意の腫瘍またはがん型の細胞、例えば、リンパ腫、肺がん、乳がん、前立腺がん、副腎皮質癌、甲状腺癌、鼻咽頭癌、黒色腫、例えば悪性黒色腫、皮膚癌、結腸直腸癌、デスモイド腫瘍、線維形成性小円形細胞腫瘍、内分泌腫瘍、ユーイング肉腫、末梢原始神経外胚葉性腫瘍、固形胚細胞腫瘍、肝芽腫、神経芽細胞腫、非横紋筋肉腫、軟部組織肉腫、骨肉腫、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、ウィルムス腫瘍、神経膠

10

20

30

40

50

芽腫、粘液腫、線維腫、脂肪腫などの細胞上に発現される任意の抗原であり得る。一部の実施形態では、前記リンパ腫は、慢性リンパ球性白血病（小リンパ球性リンパ腫）、B細胞前リンパ球性白血病、リンパ形質細胞性リンパ腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、脾臓辺縁帯リンパ腫、形質細胞骨髄腫、形質細胞腫、節外辺縁帯B細胞リンパ腫、MAL Tリンパ腫、節性辺縁帯B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、縦隔（胸腺）大細胞型B細胞リンパ腫、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、バーキットリンパ腫、Tリンパ球前リンパ球性白血病、Tリンパ球大顆粒リンパ球性白血病、アグレッシブNK細胞白血病、成人Tリンパ球白血病／リンパ腫、節外性NK／Tリンパ球リンパ腫、鼻型、腸症型Tリンパ球リンパ腫、肝脾Tリンパ球リンパ腫、芽球性NK細胞リンパ腫、菌状息肉腫、セザリー症候群、原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫、リンパ腫様丘疹症、血管免疫芽球性Tリンパ球リンパ腫、末梢性Tリンパ球リンパ腫（不特定）、未分化大細胞型リンパ腫、ホジキンリンパ腫、または非ホジキンリンパ腫であり得る。がんが慢性リンパ球性白血病（CLL）である一部の実施形態では、CLLのB細胞は正常な核型を有する。がんが慢性リンパ球性白血病（CLL）である一部の実施形態では、CLLのB細胞は、17p欠失、11q欠失、12qトリソミー、13q欠失またはp53欠失を有する。

10

20

30

40

50

【0270】

一部の実施形態では、抗原は、B細胞悪性腫瘍細胞、再発性／不応性CD19発現悪性腫瘍細胞、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）細胞、バーキット型大細胞型B細胞リンパ腫（Burkitt's type large B-cell lymphoma）（B-LBL）細胞、濾胞性リンパ腫（FL）細胞、慢性リンパ球性白血病（CLL）細胞、急性リンパ球性白血病（ALL）細胞、マントル細胞リンパ腫（MCL）細胞、血液悪性腫瘍細胞、結腸がん細胞、肺がん細胞、肝臓がん細胞、乳がん細胞、腎がん細胞、前立腺がん細胞、卵巣がん細胞、皮膚がん細胞、黒色腫細胞、骨がん細胞、脳がん細胞、扁平上皮癌細胞、白血病細胞、骨髄腫細胞、B細胞リンパ腫細胞、腎臓がん細胞、子宮がん細胞、腺癌細胞、膵がん細胞、慢性骨髄性白血病細胞、神経膠芽腫細胞、神経芽細胞腫細胞、髄芽腫細胞または肉腫細胞上に発現される。

【0271】

一部の実施形態では、抗原は、腫瘍関連抗原（TAA）または腫瘍特異的抗原（TSA）である。一部の実施形態では、これだけに限定することなく、腫瘍関連抗原または腫瘍特異的抗原は、B細胞成熟化抗原（BCMA）、B細胞活性化因子（BAFF）、GPRC5D、FCRL5／FCRH5、ROR1、L1-CAM、CD22、フォレート受容体、炭酸脱水酵素IX（CAIX）、クローディン18.2、FAP、メソテリン、IL13Ra2、Lewis Y、CCNA1、WT-1、TACI、CD38、SLAMF7、CD138、DLL3、膜貫通4L6ファミリーメンバー1（transmembrane 4 L six family member 1；TM4SF1）、上皮細胞接着分子（EPCAM）、PD-1、PD-L1、CTLA-4、AXL、ROR2、グリピカン-3（GPC3）、CD133、CD147、EGFR、MUC1、GD2、Her2、前立腺幹細胞抗原（PSCA）、前立腺特異的膜抗原（PSMA）アルファフエトプロテイン（AFP）、癌胎児性抗原（CEA）、EGFRvIII、がん抗原-125（CA-125）、CA19-9、カルレチニン、MUC-1、上皮膜タンパク質（EMA）、上皮腫瘍抗原（ETA）、チロシナーゼ、黒色腫関連抗原（MAGE）、CD19、CD20、CD34、CD45、CD99、CD117、クロモグラニン、サイトケラチン、デスミン、グリア原線維酸性タンパク質（GFAP）、肉眼的嚢胞性疾患液体タンパク質（gross cystic disease fluid protein）（GCDFP-15）、HMB-45抗原、タンパク質メラニンA（Tリンパ球によって認識される黒色腫抗原；MART-1）、myo-D1、筋肉特異的アクチン（MSA）、ニューロフィラメント、神経特異的エノラーゼ（NSE）、胎盤アルカリホスファターゼ、シナプトフィジン（synaptophysin）、サイログロブリン、甲状腺転写因子-1、血管内皮成長因子受容体（VEGFR）、二量体形態のピルビン酸キナーゼアイソザイムM2型（腫瘍M2-PK）、

異常な r a s タンパク質、または異常な p 5 3 タンパク質である。一部の実施形態では、C A R は、本明細書に開示されている 2 種またはそれよりも多い抗原を任意の組合せで標的とする結合ドメインを含む。例示的な抗原組合せは、C D 1 9 と C D 3、B C M A と C D 3、G P R C 5 D と C D 3、F C R L 5 と C D 3、C D 3 8 と C D 3、C D 1 9 と C D 2 0、C D 1 9 と C D 2 2、B C M A と G P R C 5 D、または C D 2 0 と C D 2 2 を含む。一部の実施形態では、C A R は、同じ標的タンパク質における 2 種またはそれよりも多い抗原、例えば、C D 1 9、B C M A または本明細書に開示されているいずれか他の抗原における 2 種のエピトープを標的とする結合ドメインを含む。

【0272】

他の実施形態では、C A R は、ユニバーサル C A R であり、それ自体は腫瘍抗原を特異的に標的としない。例えば、タグおよび腫瘍標的化ドメインを含む外因性薬剤が、ユニバーサル C A R T 細胞を標的腫瘍に向けることができるように、C A R は、タグ特異的 s c F v を含むことができる。

【0273】

一部の実施形態では、C A R は、4-1 B B 共刺激ドメインおよび C D 3 ゼータ細胞内シグナル伝達ドメインに連結された抗フルオレセイン s c F v で構成された第二世代 C A R である。

【0274】

一部の実施形態では、抗原は、C D 1 9 である。C D 1 9 を標的化する C A R T 療法は、F D A によって承認されており、イエスカルタ (Yescarta)、テカルタス (Tecartus)、キムリア (Kymriah) およびブレヤンジ (Breyanzi) を含む。C D 1 9 を標的化する C A R は、例えば、それぞれ参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第 2 0 1 6 0 1 5 2 7 2 3 号、米国特許第 1 0, 7 3 6, 9 1 8 号、米国特許第 1 0, 3 5 7, 5 1 4 号および米国特許第 7, 4 4 6, 1 9 0 号に記載されている。

【0275】

一部の実施形態では、C A R は、C D 1 9 結合のための F M C 6 3 s c F v 結合ドメインを含む細胞外ドメインを含む。一部の実施形態では、C A R は、4-1 B B 共刺激ドメインおよび C D 3 ゼータ細胞内シグナル伝達ドメインに連結された F M C 6 3 マウス抗ヒト C D 1 9 s c F v で構成された第二世代 C A R である。一部の実施形態では、C A R は、C D 1 9 のための結合ドメイン、C D 8 a ヒンジ、C D 8 a 膜貫通ドメイン、4-1 B B 共刺激ドメインおよび C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態では、C A R は、C D 1 9 のための結合ドメイン、I g G 4 ヒンジ、C D 2 8 膜貫通ドメイン、4-1 B B 共刺激ドメインおよび C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態では、C A R は、C D 1 9 のための結合ドメイン、C D 2 8 ヒンジ、C D 2 8 膜貫通ドメイン、C D 2 8 共刺激ドメインおよび C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態では、C A R は、C D 1 9 結合のための F M C 6 3 s c F v 結合ドメインを含む細胞外ドメイン、C D 8 a ヒンジ、C D 8 a 膜貫通ドメイン、4-1 B B 共刺激ドメインおよび C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態では、C A R は、C D 1 9 結合のための F M C 6 3 s c F v 結合ドメインを含む細胞外ドメイン、I g G 4 ヒンジ、C D 2 8 膜貫通ドメイン、4-1 B B 共刺激ドメインおよび C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態では、C A R は、C D 1 9 結合のための F M C 6 3 s c F v 結合ドメインを含む細胞外ドメイン、C D 2 8 ヒンジ、C D 2 8 膜貫通ドメイン、C D 2 8 共刺激ドメインおよび C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインを含む。

【0276】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、その細胞外ドメインが、配列番号 5 0 に対して少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % の同一性を共有するシグナルペプチドを含む、C A R を含むポリペプチドを含む。

【0277】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、その細胞外ドメインが、配列番号 51 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する α CD19 s c F v (CD19 V H に連結された CD19 V L) を含む、C A R をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0278】

この s c F v の相補性決定領域 (CDR) は、R A S Q D I S K Y L N (CDR-L1 ; 配列番号 39)、H T S R L H S (CDR-L2 ; 配列番号 41)、Q Q G N T L P Y T (CDR-L3 ; 配列番号 42)、D Y G V (CDR-H1 ; 配列番号 44)、V I W G S E T T Y Y N S A L K S (CDR-H2 ; 配列番号 45)、H Y Y Y G G S Y A M D Y (CDR-H3 ; 配列番号 46) である。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、その細胞外ドメインがこれらの CDR を有する α CD19 s c F v を含む C A R をコードするポリヌクレオチドを含み、必要に応じて、 α CD19 s c F v は、配列番号 51 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する。

【0279】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、その細胞外ドメインがこれらの CDR を有する α CD19 s c F v を含む、C A R をコードするポリヌクレオチドを含み、必要に応じて、 α CD19 s c F v は、配列番号 51 または 89 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する。

【0280】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 62 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する C A R の細胞外ドメインのためのシグナルペプチドをコードする核酸を含む。

【0281】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 63 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する α CD19 s c F v を含む C A R の細胞外ドメインをコードする核酸を含む。

【0282】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、その細胞外ドメインが、配列番号 79 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する α CD19 s c F v を含む、C A R を含むポリペプチドを含む。

【0283】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 85 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する α CD19 s c F v を含む C A R の細胞外ドメインをコードする核酸を含む。

【0284】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、その細胞外ドメインが、配列番号 89 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する α CD19 s c F v を含む C A R をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0285】

この s c F v の相補性決定領域 (CDR) は、R A S Q D I S K Y L N (CDR-L1 ; 配列番号 39)、H T S R L H S (CDR-L2 ; 配列番号 41)、Q Q G N T L P Y T (CDR-L3 ; 配列番号 42)、D Y G V (CDR-H1 ; 配列番号 44)、V I W

10

20

30

40

50

G S E T T Y Y N S A L K S (C D R - H 2 ; 配列番号 4 5)、H Y Y Y G G S Y A M D Y (C D R - H 3 ; 配列番号 4 6) である。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、その細胞外ドメインがこれらの C D R を有する α C D 1 9 s c F v を含む、C A R をコードするポリヌクレオチドを含み、必要に応じて、 α C D 1 9 s c F v は、配列番号 8 9 に対して少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % の同一性を共有する。

【 0 2 8 6 】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 9 4 に対して少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % の同一性を共有する α C D 1 9 s c F v を含む C A R の細胞外ドメインをコードする核酸を含む。

10

【 0 2 8 7 】

一部の実施形態では、C A R は、C D 2 8 共刺激ドメインおよび C D 3 ゼータ細胞内シグナル伝達ドメインに連結された F M C 6 3 マウス抗ヒト C D 1 9 s c F v で構成された第二世代 C A R である。一部の実施形態では、C A R は、C D 8 膜貫通ドメイン、4 - 1 B B 共刺激ドメインおよび C D 3 ゼータ細胞内シグナル伝達ドメインに連結された F M C 6 3 マウス抗ヒト C D 1 9 s c F v で構成された第二世代 C A R である。

【 0 2 8 8 】

一部の実施形態では、C A R は、抗 F I T C C A R であり、リガンドは、所望の標的細胞（がん細胞等）に結合する薬剤にコンジュゲートされたフルオレセインまたはフルオレセインイソチオシアネート（F I T C）部分で構成される。例示的なリガンドは、上のセクションに記載されている。一部の実施形態では、リガンドは、F I T C - フォレートである。

20

【 0 2 8 9 】

一部の実施形態では、C A R は、s c F v ドメインを含む。一部の実施形態では、s c F v ドメインは、抗フルオレセインイソチオシアネート（F I T C）E 2 を含む。一部の実施形態では、s c F v ドメインは、軽鎖可変ドメイン（V L）、リンカーおよび重鎖可変ドメイン（V H）を含む。

【 0 2 9 0 】

一部の実施形態では、s c F v V L は、配列番号 1 5 7 または 1 6 4 のヌクレオチド配列と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v V L は、配列番号 1 5 7 または 1 6 4 のヌクレオチド配列と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v V L は、配列番号 1 5 7 または 1 6 4 のヌクレオチド配列と少なくとも 8 5 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v V L は、配列番号 1 5 7 または 1 6 4 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v V L は、配列番号 1 5 7 または 1 6 4 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 5 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v V L は、配列番号 1 5 7 または 1 6 4 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 6 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v V L は、配列番号 1 5 7 または 1 6 4 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 7 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v V L は、配列番号 1 5 7 または 1 6 4 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 8 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v V L は、配列番号 1 5 7 または 1 6 4 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 9 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v V L は、配列番号 1 5 7 または 1 6 4 のヌクレオチド配列と少なくとも 1 0 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v V L は、配列番号 1 5 7 または 1 6 4 のヌクレオチド配列からなる。

30

40

【 0 2 9 1 】

50

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

【 0 2 9 6 】

一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 5 または 1 6 3 のヌクレオチド配列と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 5 または 1 6 3 のヌクレオチド配列と少なくとも 8 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 5 または 1 6 3 のヌクレオチド配列と少なくとも 8 5 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 5 または 1 6 3 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 5 または 1 6 3 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 5 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 5 または 1 6 3 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 6 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 5 または 1 6 3 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 7 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 5 または 1 6 3 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 8 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 5 または 1 6 3 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 9 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 5 または 1 6 3 のヌクレオチド配列と少なくとも 1 0 0 % 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 5 または 1 6 3 のヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 5 または 1 6 3 のヌクレオチド配列からなる。

10

20

【0297】

一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 % 同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列と少なくとも 9 6 % 同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列と少なくとも 9 7 % 同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列と少なくとも 9 8 % 同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列と少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列と少なくとも 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、s c F v は、配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列からなる。

30

【0298】

一部の実施形態では、抗フルオレセイン E 2 s c F v は、それぞれ T S N I G N N Y V S (配列番号 1 6 7)、L M I Y D V S K R P S (配列番号 1 6 8) および A A W D D S L S E F (配列番号 1 6 9) に対して少なくとも 8 0 % アミノ酸同一性、少なくとも 9 0 % アミノ酸同一性または少なくとも 9 5 % アミノ酸同一性を有する C D R L 1、C D R L 2 および C D R L 3、ならびにそれぞれ F T F G S F S M S (配列番号 1 7 0)、W V A G L S A R S S L T H Y (配列番号 1 7 1) および R R S Y D S S G Y W G H F Y S Y M D V (配列番号 1 7 2) に対して少なくとも 8 0 % アミノ酸同一性、少なくとも 9 0 % アミノ酸同一性または少なくとも 9 5 % アミノ酸同一性を有する C D R H 1、C D R H 2 および C D R H 3 を含む。

40

【0299】

一部の実施形態では、抗原は、B C M A である。B C M A を標的化する C A R T 療法

50

は、FDAによって承認されており、アベクマ (Abecma) およびカービクティ (Carvykti) を含む。BCMAを標的化するCARは、例えば、それぞれが参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第2020/0246381号；米国特許第10,918,665号；米国特許出願公開第2019/0161553号に記載されている。一部の実施形態では、CARは、BCMAのための結合ドメイン、CD8aヒンジ、CD8a膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態では、CARは、BCMAのための結合ドメイン、IgG4ヒンジ、CD28膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態では、CARは、BCMAのための結合ドメイン、CD28ヒンジ、CD28膜貫通ドメイン、CD28共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む。

10

【0300】

一部の実施形態では、抗原は、Gタンパク質共役型受容体クラスCグループ5メンバーD (GPCR5D) である。GPCR5Dを標的化するCARは、例えば、それぞれが参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第2018/0118803号および同第2021/10393689号に記載されている。一部の実施形態では、CARは、GPCR5Dのための結合ドメイン、CD8aヒンジ、CD8a膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態では、CARは、GPCR5Dのための結合ドメイン、IgG4ヒンジ、CD28膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態では、CARは、GPCR5Dのための結合ドメイン、CD28ヒンジ、CD28膜貫通ドメイン、CD28共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む。

20

【0301】

一部の実施形態では、抗原は、Fc受容体様5 (FcRL5) である。FcRL5を標的化するCARは、例えば、参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開番号US2017/0275362に記載されている。一部の実施形態では、CARは、FcRL5のための結合ドメイン、CD8aヒンジ、CD8a膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態では、CARは、FcRL5のための結合ドメイン、IgG4ヒンジ、CD28膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態では、CARは、FcRL5のための結合ドメイン、CD28ヒンジ、CD28膜貫通ドメイン、CD28共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む。

30

【0302】

一部の実施形態では、抗原は、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1 (ROR1) である。ROR1を標的化するCARは、例えば、参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第2022/0096651号に記載されている。一部の実施形態では、CARは、ROR1のための結合ドメイン、CD8aヒンジ、CD8a膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態では、CARは、ROR1のための結合ドメイン、IgG4ヒンジ、CD28膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態では、CARは、ROR1のための結合ドメイン、CD28ヒンジ、CD28膜貫通ドメイン、CD28共刺激ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む。

40

【0303】

一部の実施形態では、CARは、4-1BB共刺激ドメインおよびCD3ゼータ細胞内シグナル伝達ドメインに連結された抗BCMA scFvを含んだ第二世代CARである。一部の実施形態では、CARは、4-1BB共刺激ドメインおよびCD3ゼータ細胞内シグナル伝達ドメインに連結された抗GPCR5D scFvを含んだ第二世代CARである。一部の実施形態では、CARは、4-1BB共刺激ドメインおよびCD3ゼータ細胞内シグナル伝達ドメインに連結された抗CD28 scFvを含んだ第二世代CARである。

50

胞内シグナル伝達ドメインに連結された抗 R O R 1 s c F v を含んだ第二世代 C A R である。

【0304】

一部の実施形態では、T A A または T S A は、がん／精巣（C T）抗原、例えば、B A G E、C A G E、C T A G E、F A T E、G A G E、H C A 6 6 1、H O M-T E S-8 5、M A G E A、M A G E B、M A G E C、N A 8 8、N Y-E S O-1、N Y-S A R-3 5、O Y-T E S-1、S P A N X B 1、S P A 1 7、S S X、S Y C P 1、または T P T E である。

【0305】

一部の実施形態では、T A A または T S A は、炭水化物またはガングリオシド、例えば、f u c-G M 1、G M 2（癌胎児性抗原-免疫原性-1；O F A-I-1）；G D 2（O F A-I-2）、G M 3、G D 3 などである。

【0306】

一部の実施形態では、T A A または T S A は、アルファ-アクチニン-4、B a g e-1、B C R-A B L、B c r-A b l 融合タンパク質、ベータカテニン、C A 1 2 5、C A 1 5-3（C A 2 7. 2 9 \ B C A A）、C A 1 9 5、C A 2 4 2、C A-5 0、C A M 4 3、C a s p-8、c d c 2 7、c d k 4、c d k n 2 a、C E A、c o a-1、d e k-c a n 融合タンパク質、E B N A、E F 2、エプスタイン・バーウイルス抗原、E T V 6-A M L 1 融合タンパク質、H L A-A 2、H L A-A l l、h s p 7 0-2、K I A A O 2 0 5、M a r t 2、M u m-1、2、および 3、n e o-P A P、ミオシンク
ラス I、O S-9、p m l-R A R α 融合タンパク質、P T P R K、K-r a s、N-r a s、トリオースリン酸イソメラーゼ、G a g e 3、4、5、6、7、G n T V、H e r v-K-m e l、L a g e-1、N A-8 8、N Y-E s o-1 / L a g e-2、S P 1 7、S S X-2、T R P 2-I n t 2、g p 1 0 0（P m e l 1 7）、チロシナーゼ、T R P-1、T R P-2、M A G E-1、M A G E-3、R A G E、G A G E-1、G A G E-2、p 1 5（5 8）、R A G E、S C P-1、H o m / M e l-4 0、P R A M E、p 5 3、H-R a s、H E R-2 / n e u、E 2 A-P R L、H 4-R E T、I G H-I G K、M Y L-R A R、ヒトパピローマウイルス（H P V）抗原 E 6 および E 7、T S P-1 8 0、M A G E-4、M A G E-5、M A G E-6、p 1 8 5 e r b B 2、p 1 8 0 e r b B-3、c-m e t、n m-2 3 H 1、P S A、T A G-7 2-4、C A 1 9-9、C A 7 2-4、C A M 1 7. 1、N u M a、K-r a s、1 3-カテニン、M u m-1、p 1 6、T A G E、P S M A、C T 7、テロメラーゼ、4 3-9 F、5 T 4、7 9 1 T g p 7 2、1 3 H C G、B C A 2 2 5、B T A A、C D 6 8 \ K P 1、C O-0 2 9、F G F-5、G 2 5 0、G a 7 3 3（E p C A M）、H T g p-1 7 5、M 3 4 4、M A-5 0、M G 7-A g、M O V 1 8、N B \ 7 0 K、N Y-C O-1、R C A S 1、S D C C A G 1 6、T A-9 0、T A A L 6、T A G 7 2、T L P、T P S、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 2 7、C D 3 0、C D 7 0、C D 1 2 3、C D 1 3 3、B 細胞成熟抗原、C S 1、G P C R 5、G D 2（ガングリオシド G 2）、E G F R v I I I（上皮成長因子バリエーション I I I）、精子タンパク質 1 7（S p 1 7）、メソテリン、P A P（前立腺酸性ホスファターゼ）、プロステイン、T A R P（T 細胞受容体ガンマ代替読み枠タンパク質）、T r p-p 8、S T E A P 1（前立腺の 6 回膜貫通型上皮抗原 1）、異常な R a s タンパク質、または異常な p 5 3 タンパク質である。一部の実施形態では、前記腫瘍関連抗原または腫瘍特異的抗原は、インテグリン α v β 3（C D 6 1）、ガラクトシン、K-R a s（V-K i-r a s 2 K i r s t e n ラット肉腫ウイルス癌遺伝子）、または R a l-B である。他の腫瘍関連抗原および腫瘍特異的抗原は当業者に公知である。

【0307】

T S A および T A A に結合する抗体、および s c F v は、当技術分野で公知である抗体および s c F V、同様にそれらをコードするヌクレオチド配列を含む。

【0308】

一部の実施形態では、抗原は、T S A または T A A とはみなされないが、それにもかか

ならず、腫瘍細胞、または腫瘍によって引き起こされる損傷に関連する抗原である。一部の実施形態では、例えば、抗原は、例えば、成長因子、サイトカインまたはインターロイキン、例えば、血管新生または脈管形成に関連する成長因子、サイトカイン、またはインターロイキンである。そのような成長因子、サイトカイン、またはインターロイキンには、例えば、血管内皮成長因子（VEGF）、塩基性線維芽細胞成長因子（bFGF）、血小板由来成長因子（PDGF）、肝細胞成長因子（HGF）、インスリン様成長因子（IGF）、またはインターロイキン-8（IL-8）が含まれ得る。腫瘍はまた、腫瘍に局所的な低酸素環境も創出し得る。したがって、一部の実施形態では、抗原は、低酸素症関連因子、例えば、HIF-1 α 、HIF-1 β 、HIF-2 α 、HIF-2 β 、HIF-3 α 、またはHIF-3 β である。腫瘍はまた、正常な組織に対する限局性の損傷も引き起こし、それにより、損傷関連分子パターン分子（DAMP；アラミンとしても公知）としても公知の分子の放出を引き起こし得る。したがって、一部の実施形態では、抗原は、DAMP、例えば、熱ショックタンパク質、クロマチン関連タンパク質高移動性群ボックス1（HMGB1）、S100A8（MRP8、カルグラニユリンA）、S100A9（MRP14、カルグラニユリンB）、血清アミロイドA（SAA）である、またはデオキシリボ核酸、アデノシン三リン酸、尿酸、もしくはヘパリン硫酸であり得る。

10

【0309】

本明細書に記載のポリペプチドの一部の実施形態では、細胞外ドメインを前記膜貫通ドメインと直接またはリンカー、スペーサーもしくはヒンジポリペプチド配列、例えば、CD28由来の配列またはCTLA4由来の配列によって接合する。

20

【0310】

一部の実施形態では、所望の抗原に結合する細胞外ドメインは、本明細書に記載の技術を使用して生成された抗体またはそれらの抗原結合断片に由来するものであり得る。

【0311】

ユニバーサルCAR

一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス粒子は、ユニバーサルCARをコードするヌクレオチド配列を含む。ユニバーサルCARは、CARの抗原特異性を変化させる必要がなくがん細胞への標的化を可能にする。ユニバーサルCARは、例えば、それぞれが参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開番号US2016/0348073、US2018/0085399、US2019/0256597およびUS2014/0349402に記載されている。

30

【0312】

一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス粒子は、ユニバーサル、モジュラー、抗タグキメラ抗原受容体（UniCAR）をコードするヌクレオチド配列を含む。本システムは、複数の抗原に対するUniCAR移植免疫細胞の再標的化を可能にする（例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許公開US20170240612A1；その全体が参照により本明細書に組み込まれるCartellieri et al., (2016) Blood Cancer Journal 6, e458を参照）。

【0313】

一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス粒子は、スイッチ可能な（switchable）CARおよび／またはCARエフェクター細胞（CAR-EC）スイッチをコードするヌクレオチド配列を含む。本システムにおいて、CAR-ECスイッチは、CAR-EC上のCARによって結合される第1の領域と、標的細胞上の細胞表面分子に結合する第2の領域とを有し、これにより、結合された標的細胞に対して細胞傷害性であるCAR-ECからの免疫応答を刺激する。一部の実施形態では、CAR-ECスイッチは、CAR-EC活性のための「オン・スイッチ」として作用し得る。活性は、スイッチの投与を低減または中止することにより、「オフにする」ことができる。このようなCAR-ECスイッチは、がん等の疾患または状態の処置のために、本明細書に開示されているCAR-ECならびに既存のCAR-T細胞と共に使用することができ、この場合、標的細胞は、悪性細胞である。そのような処置は、スイッチ可能な免疫療法と本明細書で

40

50

称され得る（その全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許公開 U S 9 6 2 4 2 7 6 B 2）。

【0314】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、ペプチドネオエピトープ（PNE）に結合するユニバーサル免疫受容体（例えば、スイッチ可能なCAR、sCAR）をコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、ペプチドネオエピトープ（PNE）は、抗原を標的化する抗体（抗体スイッチ）内の定義された異なる場所に取り込まれている。したがって、sCAR-T細胞特異性は、PNEのみに対して向け直され、ヒトプロテオームにおいて生じず、よって、sCAR-T細胞および抗体スイッチの間の直交性相互作用を可能にする。このようにして、sCAR-T細胞は、完全に活性化されるようになるために抗体スイッチの存在に厳密に依存し、よって、抗体スイッチの非存在下における内因性組織または抗原のCAR-T細胞オフターゲット認識を除外する（その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Arcangeli et al., (2016) Transl Cancer Res 5(Suppl 2):S174-S177）。スイッチ可能なCARの他の例は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願 U S 2 0 1 6 0 2 7 2 7 1 8 A 1 によって提供される。

10

【0315】

本明細書で使用される場合、用語「タグ」は、上記の通り、ユニバーサル免疫受容体、タグ、スイッチまたは免疫グロブリンのFc領域を包含する。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、タグ結合ドメインを含むCARをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、CARは、フルオレセインイソチオシアネート（FITC）、ストレプトアビジン、ビオチン、ジニトロフェノール、ペリジニクロロフィルタンパク質複合体、緑色蛍光タンパク質、フィコエリトリン（PE）、西洋わさびペルオキシダーゼ、パルミトイル化、ニトロシル化、アルカリ（alkalanine）ホスファターゼ、グルコースオキシダーゼまたはマルトース結合タンパク質に結合する。

20

【0316】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、標的化小分子と共に使用されるべきCAR細胞を生成するためにCARをコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、CARは、処置されている対象の細胞によって産生も発現もされない部分を標的とする。よって、このCARシステムは、がん細胞等の標的細胞への免疫細胞の集中的な標的化を可能にする。2構成成分CARシステムは、例えば、それぞれが参照により本明細書に組み込まれる、U S 2 0 1 5 / 0 3 2 0 7 9 9 ; U S 2 0 1 9 / 0 2 2 4 2 3 7 ; および U S 2 0 2 0 / 0 0 2 3 0 0 9 に以前に記載されている。

30

【0317】

一部の実施形態では、標的化小分子は、腫瘍細胞受容体のリガンドを含む。CAR発現免疫細胞と共に標的化小分子を投与することによって、免疫細胞応答は、腫瘍受容体を発現する細胞のみに標的とされ、これにより、オフターゲット毒性を低減させ得、免疫細胞の活性化は、標的化小分子の急速クリアランスにより容易に制御され得る。付け加えられた利点として、CAR発現免疫細胞は、別々のCAR構築物を調製する必要なく多種多様な腫瘍を標的とするためにユニバーサル細胞傷害性細胞として使用することができる。CARによって認識される標的化小分子は、一定のままであってもよい。システムが異なる同一性のがん細胞を標的とすることを可能にするために変更される必要があるのは、標的化小分子のリガンド部分のみである。

40

【0318】

一部の実施形態では、標的化小分子は、選択された腫瘍細胞受容体のリガンドに連結されたフルオレセインを含む。一部の実施形態では、標的化小分子は、選択された腫瘍細胞受容体のリガンドに連結されたFITCを含む。一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルスベクターは、抗フルオレセインscFvを含むCARをコードする。一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルスベクターは、抗FITC scFvを含むCARをコードする。よって、このCARは、健康な非標的細胞によって発現さ

50

れる場合もある腫瘍関連抗原の代わりにフルオレセインまたはF I T Cを標的とする。2種の構成成分が、がんを有する対象に投与され、標的化小分子は、標的腫瘍細胞によって結合される（同族腫瘍細胞受容体への分子のリガンド部分の結合を介して）。次に、標的化小分子のF I T C部分は、T細胞によって発現された抗F I T C C A R（第2の構成成分）によって認識および結合される。結合により、抗F I T C C A R発現免疫細胞が活性化され、腫瘍細胞が殺傷される。当業者には明らかな通り、免疫細胞は、腫瘍細胞への最初の結合なしに細胞を死滅させることができない。さらに明らかな通り、C A Rの認識領域が、対象の細胞によって産生も発現もされないF I T Cのみを認識および結合するため、免疫細胞は、非標的細胞に結合しない。よって、標的化小分子は、免疫細胞および標的腫瘍細胞の間の橋として作用する。標的化小分子の標的化された部分が、宿主において見出されない部分である限り、免疫細胞の活性は、標的細胞に限定され得る。さらに、C A R発現免疫細胞の活性化は、副作用が検出される場合に、対象に投与される標的化小分子の量を限定することにより、例えば、標的化小分子の注入を操作すること（manipulating）により調節され得る。例示的な抗フルオレセインおよび抗F I T C C A Rは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願U S 2 0 2 0 0 4 0 5 7 6 0 A 1に記載されている。

10

20

30

40

50

【0319】

一部の実施形態では、標的化小分子は、2，4-ジニトロフェノール（D N P）、2，4，6-トリニトロフェノール（T N P）、ビオチン、ジゴキシゲニン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート（F I T C）、N H S-フルオレセイン、ペンタフルオロフェニルエステル、テトラフルオロフェニルエステル、ノッチン、センチリン（centyrin）、D A R P i n、アフィボディ（affibody）、アフィリン（affilin）、アンチカリン（anticalin）、アトリマー（atrimmer）、アビマー（avimer）、二環式ペプチド（bicyclic peptide）、F N 3足場、c y s-ノット、フィノマー（fynomer）、クニツツドメインまたはオボディ（Obody）を含む。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、2，4-ジニトロフェノール（D N P）、2，4，6-トリニトロフェノール（T N P）、ビオチン、ジゴキシゲニン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート（F I T C）、N H S-フルオレセイン、ペンタフルオロフェニルエステル、テトラフルオロフェニルエステル、ノッチン、センチリン、D A R P i n、アフィボディ、アフィリン、アンチカリン、アトリマー、アビマー、二環式ペプチド、F N 3足場、c y s-ノット、フィノマー、クニツツドメインまたはオボディに結合する細胞外結合ドメインを含むC A Rをコードするヌクレオチド配列を含む。

【0320】

一部の実施形態では、C A Rシステムは、C A R発現細胞および標的とされたがん細胞の間の橋としてコンジュゲート分子を利用する。コンジュゲート分子は、ハプテンおよび細胞標的化部分、例えば、いずれか適した腫瘍細胞特異的リガンドを含むコンジュゲートである。C A Rによって認識および結合され得る説明的なハプテンは、F I T C（フルオレセインイソチオシアネート）、N H S-フルオレセインおよびペンタフルオロフェニルエステル（P F P）およびテトラフルオロフェニルエステル（T F P）誘導体、ノッチン、センチリンならびにD A R P i nを含む、フルオレセインおよびその誘導体と共に、D N P（2，4-ジニトロフェノール）、T N P（2，4，6-トリニトロフェノール）、ビオチンおよびジゴキシゲニン等、小さい分子量の有機分子を含む。それ自体がC A Rのハプテンとして作用し得る、適した細胞標的化部分は、ノッチン（Kolmar H. et al., The FEBS Journal. 2008. 275(11):26684-90を参照）、センチリンおよびD A R P i n（Reichert, J.M. MAbs 2009. 1(3):190-209を参照）を含む。

【0321】

一部の実施形態では、細胞標的化部分は、ナノモル濃度の親和性（ $K_D = 14 \text{ nM}$ ；K ularatne, S.A. et al., Mol Pharm. 2009. 6(3):780-9を参照）でP S M A陽性ヒト前立腺がん細胞によって結合されるリガンドである、D U P A（D U P A-（99m）T c）である。一実施形態では、D U P A誘導体は、標的化部分に連結された小分

子リガンドのリガンドであり得、DUPA誘導体は、参照により本明細書に組み込まれるWO2015/057852に記載されている。

【0322】

一部の実施形態では、細胞標的化部分は、CCK2R陽性がん細胞（例えば、甲状腺、肺、膵、卵巣、脳、胃、胃腸管間質および結腸のがん； Wayua, C. et al., Molecular Pharmaceuticals, 2013, ePublicationを参照）によって結合されるリガンドである、CCK2Rリガンドである。

【0323】

一部の実施形態では、細胞標的化部分は、卵巣、子宮頸部、子宮内膜、肺、腎臓、脳、乳房、結腸のがんおよび頭頸部がんを含むがんの細胞上の葉酸受容体によって結合されるリガンドである、葉酸塩、葉酸またはそれらのアナログである； Sega, E.I. et al., Cancer Metastasis Rev. 2008, 27(4):655-64)を参照。

10

【0324】

一部の実施形態では、細胞標的化部分は、NK-1Rリガンドである。NK-1Rリガンド(NK-1R the ligand)に対する受容体は、例えば、結腸および膵のがんに見出される。一部の実施形態では、NK-1Rリガンドは、参照により本明細書に組み込まれる国際特許出願番号PCT/US2015/044229に開示されている方法に従って合成することができる。

【0325】

一部の実施形態では、細胞標的化部分は、ペプチドリガンドであり得、例えば、リガンドは、NK1受容体に対する内因性リガンドであるペプチドリガンドであり得る。一部の実施形態では、小さいコンジュゲート分子リガンドは、タキキニン受容体を標的とするタキキニンのファミリーに属する調節ペプチドであってよい。そのような調節ペプチドは、サブスタンスP(SP)、ニューロキニンA(サブスタンスK)およびニューロキニンB(ニューロメジンK)を含む(Hennig et al., International Journal of Cancer: 61, 786-792を参照)。

20

【0326】

一部の実施形態では、細胞標的化部分は、CAIXリガンドである。CAIXリガンドに対する受容体は、例えば、腎、卵巣、外陰部および乳がんに見出した(found)。CAIXリガンドは、CA9と本明細書で称される場合もある。

30

【0327】

一部の実施形態では、細胞標的化部分は、ガンマグルタミルトランスぺプチダーゼのリガンドである。トランスぺプチダーゼは、例えば、卵巣がん、結腸がん、肝臓がん、星細胞性神経膠腫、黒色腫および白血病において過剰発現される。

【0328】

一部の実施形態では、細胞標的化部分は、CCK2Rリガンドである。CCK2Rリガンドに対する受容体は、とりわけ甲状腺、肺、膵、卵巣、脳、胃、胃腸管間質および結腸のがんに見出した。

【0329】

一実施形態では、細胞標的化部分は、約10,000ダルトン未満、約9000ダルトン未満、約8,000ダルトン未満、約7000ダルトン未満、約6000ダルトン未満、約5000ダルトン未満、約4500ダルトン未満、約4000ダルトン未満、約3500ダルトン未満、約3000ダルトン未満、約2500ダルトン未満、約2000ダルトン未満、約1500ダルトン未満、約1000ダルトン未満または約500ダルトン未満の質量を有することができる。別の実施形態では、小分子リガンドは、約1~約10,000ダルトン、約1~約9000ダルトン、約1~約8,000ダルトン、約1~約7000ダルトン、約1~約6000ダルトン、約1~約5000ダルトン、約1~約4500ダルトン、約1~約4000ダルトン、約1~約3500ダルトン、約1~約3000ダルトン、約1~約2500ダルトン、約1~約2000ダルトン、約1~約1500ダルトン、約1~約1000ダルトンまたは約1~約500ダルトンの質量を有すること

40

50

ができる。

【0330】

一説明的实施形態では、本明細書に記載されているコンジュゲートにおける連結は、直接的な連結（例えば、FITCのイソチオシアネート基および小分子リガンドの遊離アミン基の間の反応）であり得る、または連結は、中間リンカーを介し得る。一実施形態では、存在するのであれば、中間リンカーは、二価リンカー等、当技術分野で公知のいずれかの生体適合性リンカーであり得る。一説明的实施形態では、二価リンカーは、約1～約30個の炭素原子を含むことができる。別の説明的实施形態では、二価リンカーは、約2～約20個の炭素原子を含むことができる。他の実施形態では、より低い分子量の二価リンカー（すなわち、約30～約300Daの近似分子量を有するもの）が用いられる。別の実施形態では、適したリンカーの長さは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39もしくは40個またはそれよりも多い原子を有するリンカーを含むがこれらに限定されない。

10

【0331】

一部の实施形態では、ハプテンおよび細胞標的化部分は、FITCのイソチオシアネート基および小さいリガンド（例えば、フォレート、DUPAおよびCCK2Rリガンド）の遊離アミン基の間の反応等の手段により直接的にコンジュゲートされ得る。しかし、2個の分子を接続するための連結ドメインの使用は、可動性および安定性を提供し得ることから役立つ可能性がある。適した連結ドメインの例は、1）ポリエチレングリコール（PEG）；2）ポリプロリン；3）親水性アミノ酸；4）糖；5）非天然ペプチドグリカン（peptidoglycan）；6）ポリビニルピロリドン；7）プルロニック（登録商標）F-127を含む。適したリンカーの長さは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39もしくは40個またはそれよりも多い原子を有するリンカーを含むがこれらに限定されない。

20

【0332】

一部の实施形態では、リンカーは、1個または複数のスペーサーを含み得る二価リンカーであってよい。

30

【0333】

本開示の説明的なコンジュゲートは、次の分子を含む：FITC-（PEG）₁₂-フォレート、FITC-（PEG）₂₀-フォレート、FITC-（PEG）₁₀₈-フォレート、FITC-DUPA、FITC-（PEG）₁₂-DUPA、FITC-CCK2Rリガンド、FITC-（PEG）₁₂-CCK2Rリガンド、FITC-（PEG）₁₁-NK1RリガンドおよびFITC-（PEG）₂-CA9。

【0334】

リガンドおよびがん細胞受容体が結合する親和性は、変動し得、一部の事例では、低親和性結合が好ましい場合がある（約1μM等）が、リガンドおよびがん細胞受容体の結合親和性は一般に、少なくとも約100μM、1nM、10nMまたは100nM、好ましくは少なくとも約1pMまたは10pM、さらにより好ましくは少なくとも約100pMである。

40

【0335】

コンジュゲートおよびこれを作製する方法の例は、全て参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願US2017/0290900、US2019/0091308およびUS2020/0023009に提供される。

【0336】

ラパマイシン活性化細胞表面受容体（RACR）

一部の实施形態では、ウイルス粒子は、マルチパーティット細胞表面受容体をコードする

50

ヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、マルチパート細胞表面受容体は、増殖性受容体である。

【0337】

一部の実施形態では、マルチパート細胞表面受容体は、ラパマイシン活性化細胞表面受容体（RACR）である。

【0338】

一部の実施形態では、マルチパート細胞表面受容体は、化学的に誘導可能な細胞表面受容体である。

【0339】

一部の実施形態では、マルチパート細胞表面受容体は、FKBP-ラパマイシン複合体結合ドメイン（FRBドメイン）またはその機能的バリエーションをコードするポリヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、マルチパート細胞表面受容体は、FK506結合タンパク質ドメイン（FKBP）またはその機能的バリエーションをコードするポリヌクレオチド配列をさらに含む。一部の実施形態では、FKBPは、FKBP12である。

10

【0340】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号57に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するFKBP12に作動可能に連結されたシグナルペプチドを含むRACRポリペプチドを含む。

20

【0341】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号58に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する細胞質ドメインに作動可能に連結されたIL-2Rガンマ膜貫通ドメインを含むRACRポリペプチドを含む。

【0342】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号55に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するP2A自己切断ペプチドを含むRACRポリペプチドを含む。

30

【0343】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号59に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するFRBに作動可能に連結されたシグナルペプチドを含むRACRポリペプチドを含む。

【0344】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号60に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する細胞質ドメインに作動可能に連結されたIL-2Rベータ膜貫通ドメインを含むRACRポリペプチドを含む。

40

【0345】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号70に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するFKBP12に作動可能に連結されたシグナルペプチドをコードする核酸を含む。

【0346】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号71に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する細胞質ドメインに作動可能に連結されたIL-2Rガンマ膜貫通ドメインをコードする核酸を含む。

50

【0347】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号72に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するP2A自己切断ペプチドをコードする核酸を含む。

【0348】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号73に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するFRBに作動可能に連結されたシグナルペプチドをコードする核酸を含む。

10

【0349】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号74に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する細胞質ドメインに作動可能に連結されたIL-2Rベータ膜貫通ドメインをコードする核酸を含む。

【0350】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号77に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するP2Aペプチドに作動可能に連結されたIL-2Rガンマドメインに作動可能に連結されたFKBP12を含むRACRポリペプチドを含む。

20

【0351】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号78に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するP2Aペプチドに作動可能に連結されたIL-2Rベータドメインに作動可能に連結されたFRBを含むRACRポリペプチドを含む。

【0352】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号83に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するP2Aに作動可能に連結されたIL-2Rガンマドメインに作動可能に連結されたFKBP12をコードする核酸を含む。

30

【0353】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号84に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するP2Aに作動可能に連結されたIL-2Rベータドメインに作動可能に連結されたFRBをコードする核酸を含む。

【0354】

一部の実施形態では、FKBPドメインおよびFRBドメインは、T細胞活性化因子タンパク質複合体を形成する。FKBPおよびFRBドメインによって形成された複合体は、細胞の成長および／または生存を促進する。一部の実施形態では、FKBPおよびFRBドメインによって形成された複合体は、リガンドによって制御される。

40

【0355】

一部の実施形態では、リガンドは、ラパマイシンである。

【0356】

一部の実施形態では、FRBドメインおよびFKBPは、ラパマイシンと3成分複合体を形成し、これにより、形質導入された細胞においてラパマイシンは隔離される。

【0357】

一部の実施形態では、リガンドは、タンパク質、抗体、小分子または薬物である。一部の実施形態では、リガンドは、ラパマイシンまたはラパマイシンアナログ（ラパログ）である。一部の実施形態では、ラパログは、ラパマイシンと比べて次の改変のうち1種また

50

は複数を有するラパマイシンのバリエーションを含む：C 7、C 4 2 および／または C 2 9 におけるメトキシの脱メチル化、排除または置き換え；C 1 3、C 4 3 および／または C 2 8 におけるヒドロキシの排除、誘導体化または置き換え；C 1 4、C 2 4 および／または C 3 0 におけるケトンの低減、排除または誘導体化；5 員プロリル環による 6 員ピペコレート (pipecolate) 環の置き換え；ならびにシクロヘキシル環における代替的置換、または置換シクロペンチル環によるシクロヘキシル環の置き換え。よって、一部の実施形態では、ラパログは、エベロリムス、ノボリムス (novolimus)、ピメクロリムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス (umirolimus)、ゾタロリムス、C C I-7 7 9、C 2 0-メタリルラパマイシン、C 1 6-(S)-3-メチルインドールラパマイシン、C 1 6-i R a p、A P 2 1 9 6 7、ミコフェノール酸 (mycophenolic acid) ナトリウム、ベニジピン塩酸塩、ラパミン (rapamine)、A P 2 3 5 7 3 もしくは A P 1 9 0 3、またはそれらの代謝物、誘導体および／もしくは組合せである。一部の実施形態では、リガンドは、I M I D クラス薬物 (例えば、サリドマイド、ポマリドミド (pomalidimide)、レナリドミドまたは関連アナログ) である。

10

【0358】

一部の実施形態では、分子は、F K 1 0 1 2、タクロリムス (F K 5 0 6)、F K C s A、ラパマイシン、クーママイシン (coumermycin)、ジベレリン、H a X S、T M P-H T a g および A B T-7 3 7、またはそれらの機能的誘導体から選択される。

【0359】

一部の実施形態では、F K B P ドメインは、I L 2 R ガンマドメインに作動可能に連結されている。一部の実施形態では、F R B ドメインは、I L 2 R ベータドメインに作動可能に連結されている。一部の実施形態では、I L 2 R ガンマドメインおよび I L 2 R ベータドメインは、ヘテロ二量体化する。一部の実施形態では、I L 2 R ガンマドメインおよび I L 2 R ベータドメインは、リガンドの存在下でヘテロ二量体化して、細胞の成長および／または生存を促進する。一部の実施形態では、I L 2 R ガンマドメインおよび I L 2 R ベータドメインは、ラパマイシンの存在下でヘテロ二量体化して、細胞の成長および／または生存を促進する。一部の実施形態では、I L 2 R ガンマドメインおよび I L 2 R ベータドメインは、ラパマイシンの存在下でヘテロ二量体化して、T 細胞活性化を促進する。

20

【0360】

サイトゾル F R B

一部の実施形態では、ベクターゲノムは、免疫抑制剤に対する抵抗性を付与するヌクレオチド配列を含む。

30

【0361】

一部の実施形態では、免疫抑制剤に対する抵抗性を付与するヌクレオチドは、ラパマイシンに結合する。一部の実施形態では、免疫抑制剤に対する抵抗性を付与するポリヌクレオチドは、サイトゾル (「ネイキッド」) F R B ドメインをコードする。ネイキッド F R B ドメインは、m T O R タンパク質キナーゼから抽出されたおよそ 1 0 0 アミノ酸ドメインである。これは、自由に拡散性の可溶性タンパク質としてサイトゾル中に発現される。F R B ドメインの目的は、形質導入された細胞における m T O R におけるラパマイシンの阻害効果を低減させることであり、これにより、形質導入された T 細胞の一貫した活性化が可能となり、ナイティブ T 細胞を上回る増殖上の利点を与えられる筈である。

40

【0362】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 5 6 に対して少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % の同一性を共有するサイトゾル F R B ドメインを含むポリペプチドを含む。

【0363】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 6 8 に対して少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9

50

9 % または 100 % の同一性を共有するサイトゾル F R B ドメインをコードする核酸を含む。

【0364】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する P2A ペプチドに作動可能に連結されたサイトゾル F R B ドメインを含むポリペプチドを含む。

【0365】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 82 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する P2A に作動可能に連結された (operable linked) サイトゾル F R B ドメインをコードする核酸を含む。

【0366】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 88 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する P2A ペプチドに作動可能に連結されたサイトゾル F R B ドメインを含むポリペプチドを含む。

【0367】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 93 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有する P2A に作動可能に連結されたサイトゾル F R B ドメインをコードする核酸を含む。

【0368】

一部の実施形態では、キメラ抗原受容体の発現は、デグロン融合ポリペプチドによってモジュレートされ、デグロン融合ポリペプチドの抑制は、リガンドによって化学的に誘導可能である。

【0369】

一部の実施形態では、キメラ抗原受容体の発現は、F R B - デグロン融合ポリペプチドによってモジュレートされ、F R B - デグロン融合ポリペプチドの抑制は、リガンドによって化学的に誘導可能である。

【0370】

一部の実施形態では、リガンドは、本明細書に記載されている通り、ラパマイシンまたはラパログである。

【0371】

T G F - β 二重陰性 (T G F - β D N)

腫瘍細胞は、がん進行を可能にしつつ免疫を阻害する手段としてトランスフォーミング成長因子 β (T G F - β) を分泌する。T 細胞における T G F - β シグナル伝達の遮断は、浸潤し、増殖し、抗腫瘍応答を媒介するその能力を増加させる (Kloss et al., Mol. Therapy 26(7):1855-1866 (2018))。ドミナントネガティブ T G F - β (T G F - β D N) は、トランケートされ、下流シグナル伝達に必要な細胞内ドメインを欠如する。

【0372】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、ドミナントネガティブ T G F - β のポリヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 91 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % または 100 % の同一性を共有するドミナントネガティブ T G F - β を含むポリペプチドを含む。

【0373】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 96 に対して少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 %

10

20

30

40

50

9 % または 1 0 0 % の同一性を共有するドミナントネガティブ T G F - β をコードする核酸を含む。

【 0 3 7 4 】

例示的なペイロード

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、いずれかの順序で、ポリシストロニック転写物において、プロモーター、治療タンパク質（例えば、C A R）、必要に応じて、サイトゾル F R B ドメインまたはその部分、および必要に応じて、合成サイトカインポリペプチド（例えば、R A C R）をコードするポリヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、ポリシストロニック転写物は、プロモーターおよび C A R を含む。説明的なプロモーターは、サイトメガロウイルス（C M V）プロモーター、C A G プロモーター、S V 4 0 プロモーター、S V 4 0 / C D 4 3 プロモーターおよび M N D プロモーターを限定することなく含む。

10

【 0 3 7 5 】

一部の実施形態では、ポリシストロニック構築物は、5 ' から 3 ' への順序で、F R B をコードするヌクレオチド配列、合成サイトカインポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、および C A R をコードするヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、合成サイトカインポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、5 ' から 3 ' への順序で、F R B : I L 2 R G をコードする第 1 のヌクレオチド配列、および F K B P 1 2 : I L 2 R B をコードする第 2 のヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、合成サイトカインポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、5 ' から 3 ' への順序で、F K B P 1 2 : I L 2 R G をコードする第 1 のヌクレオチド配列、および s F R B : I L 2 R B をコードする第 2 のヌクレオチド配列を含む。

20

【 0 3 7 6 】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5 ' から 3 ' への順序で、ポリシストロニック転写物において、

- (a) M N D プロモーター；
- (b) C A R ；
- (c) サイトゾル F R B ドメインまたはその部分；
- (d) R A C R 細胞表面受容体；および
- (e) W P R E 配列

30

をコードするポリヌクレオチド配列を含む。

【 0 3 7 7 】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5 ' から 3 ' への順序で、

- (a) C A R ；
- (b) サイトゾル F R B ドメインまたはその部分；および
- (c) R A C R 細胞表面受容体

をコードするポリヌクレオチド配列を含む。

【 0 3 7 8 】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 3 5 に対して少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % の同一性を共有する核酸配列を含む。

40

【 0 3 7 9 】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 4 9 に対して少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % の同一性を共有するポリペプチド配列を含む。

【 0 3 8 0 】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 6 1 に対して少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % の同一性を共有する核酸配列を含む。

【 0 3 8 1 】

50

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、ポリシストロニック転写物において、

- (a) MNDプロモーター；
- (b) サイトゾルFRBドメインまたはその部分；
- (c) RACR細胞表面受容体；
- (d) CAR；および
- (e) WPRE配列

をコードするポリヌクレオチド配列を含む。

【0382】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

10

- (a) サイトゾルFRBドメインまたはその部分；
- (b) RACR細胞表面受容体；および
- (c) CAR

をコードするポリヌクレオチド配列を含む。

【0383】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号75に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するポリペプチド配列を含む。

【0384】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号81に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する核酸配列を含む。

20

【0385】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、ポリシストロニック転写物において、

- (a) MNDプロモーター；
- (b) サイトゾルFRBドメインまたはその部分；
- (c) CAR；
- (d) TGF- β DNドメインまたはその部分；および
- (e) WPRE配列

30

をコードするポリヌクレオチド配列を含む。

【0386】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

- (a) サイトゾルFRBドメインまたはその部分；
- (b) CAR；および
- (c) TGF- β DNドメインまたはその部分

をコードするポリヌクレオチド配列を含む。

【0387】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号87に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するポリペプチド配列を含む。

40

【0388】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号92に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する核酸配列を含む。

【0389】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

(a) RSVプロモーター、(b) 5'LTR、(c) HIV-1パッケージングシグナル(Psi)、(d) HIV-1のRev応答エレメント(RRE)、(e) gp41ペプチド、(f) cPPT/CTS、(g) MNDプロモーター、(h) CMV2伸長、(

50

i) ヒトCSF2Rシグナルペプチド、(j) 抗CD19 scFv、(k) IgG4ヒンジドメイン、(l) ヒトCD28膜貫通ドメイン、(m) 41BB、(n) CD3ζ、(o) P2A、(p) サイトゾルFRBDドメイン、(q) P2A、(r) 好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン、ERシグナル伝達ドメイン、(s) FKBP12、(t) IL2RG、(u) 膜貫通ドメイン、(v) 細胞質ドメイン、(w) P2A、(x) CD8aシグナルペプチド、(y) Frb (DmrC) [T2098L変異]、(z) IL2RB、(aa) 膜貫通ドメイン、(bb) 細胞質ドメイン、(cc) WPREおよび(dd) 3'LTRをコードするポリヌクレオチド配列を含み、ポリヌクレオチド配列は、配列番号121に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する。

10

【0390】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号121に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する核酸配列を含む。

【0391】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

(a) ヒトサイトメガロウイルス(CMV)最初期エンハンサーおよびCMVプロモーター、(b) HIV-1由来の5'LTR、(c) HIV-1パッケージングシグナル(Psi)、(d) HIV-1のRev応答エレメント(RRE)、(e) HIV-1の中央ポリプリントラクトおよび中央終結(cPPT/CTS)配列、(f) MNDプロモーター、(g) ヒトCSF2Rシグナルペプチド、(h) 抗CD19 scFv、(i) IgG4ヒンジドメイン、(j) ヒトCD28膜貫通ドメイン、(k) ヒトCD28膜貫通ドメイン、(l) 41BBドメイン、(m) CD3ζ、(n) P2A、(o) サイトゾルFRBDドメイン、(p) P2A、(q) 好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン、ERシグナル伝達ドメイン、(r) FKBP12、(s) IL2RG、(t) 膜貫通ドメイン、(u) 細胞質ドメイン、(v) P2A、(w) CD8aシグナルペプチド、(x) Frb (DmrC) [T2098L変異]、(y) IL2RB、(z) 膜貫通ドメイン、(aa) 細胞質ドメイン、(bb) 3'LTRならびに(cc) 合成ポリAシグナルをコードするポリヌクレオチド配列を含み、ポリヌクレオチド配列は、配列番号122に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する。

20

30

【0392】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号122に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する核酸配列を含む。

【0393】

ヘルパープラスミド

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、ポリシストロニック転写物において、

(a) gagタンパク質；および

(b) polタンパク質

をコードするポリヌクレオチド配列を含む。

40

【0394】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号99に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するGagタンパク質アミノ酸配列を含む。

【0395】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号100に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するPolタンパク質アミノ酸配列を含む。

50

【0396】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号101に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するgag-pol核酸配列を含む。

【0397】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号124に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するgag-pol核酸配列を含む。

【0398】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

(a) ヒトCMVエンハンサーおよびCMVプロモーター、(b) ヒトベクターグロビンイントロン、(c) HIV-1 gag、(d) HIV-1 pol、(d) cPPT/CTS、(e) RRE、(f) ベクターグロビンポリAシグナルをコードするポリヌクレオチド配列を含み、ポリヌクレオチド配列は、配列番号131に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する。

【0399】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号131に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するgag-pol核酸配列を含む。

【0400】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号102に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するRevタンパク質アミノ酸配列を含む。

【0401】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号103に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するRev核酸配列を含む。

【0402】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号125に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するRev核酸配列を含む。

【0403】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

(a) RSVプロモーター、(b) HXB3 Rev、(c) HIV-1 ポリA LTRをコードするポリヌクレオチド配列を含み、ポリヌクレオチド配列は、配列番号132に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する。

【0404】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号132に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するgag-pol核酸配列を含む。

【0405】

コカルエンベローププラスミド

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、コカルエンベロープおよび抗CD3 scFvをコードする核酸により生成される。

【0406】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号128に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するコカルエンベロープおよび抗CD3 scFv

10

20

30

40

50

核酸配列により生成される。

【0407】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

- (a) MNDプロモーター；
- (b) CD8由来シグナルペプチド；
- (c) 抗CD3 scFv；
- (d) CD8由来ヒンジ；
- (e) CD4由来膜貫通ドメインおよび細胞質尾部；
- (f) T2A；
- (g) コカルエンベロープ；
- (h) WPRE；ならびに

10

(i) ポリAシグナルをコードするポリヌクレオチド配列により生成され、ポリヌクレオチド配列は、配列番号128に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する。

【0408】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

(a) ヒトCMVエンハンサーおよびCMVプロモーター、(b) ヒトベータグロビンイントロン、(c) 抗CD3 scFv、(d) コカルエンベロープ、(d) 膜貫通ドメイン、(e) 細胞質尾部ドメイン、(f) T2Aペプチド、(g) BGHポリAシグナルをコードするポリヌクレオチド配列により生成され、ポリヌクレオチド配列は、配列番号129に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する。

20

【0409】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号129に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する核酸配列により生成される。

【0410】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

(a) ヒトCMVエンハンサーおよびCMVプロモーター、(b) ヒトベータグロビンイントロン、(c) コカルエンベロープ、(d) 膜貫通ドメイン、(e) 細胞質尾部ドメイン、(f) ウシ成長ホルモンポリアデニル化(BGHポリA)シグナルをコードするポリヌクレオチド配列により生成され、ポリヌクレオチド配列は、配列番号123に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する。

30

【0411】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号123に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する核酸配列により生成される。

【0412】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

(a) MNDプロモーター、(b) コカルエンベロープ、(c) 膜貫通ドメイン、(d) 細胞質尾部ドメイン、(e) WPRE、(f) BGHポリAシグナルをコードするポリヌクレオチド配列により生成され、ポリヌクレオチド配列は、配列番号130に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する。

40

【0413】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号130に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する核酸配列により生成される。

50

【0414】

抗CD3プラスミド

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号15に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する抗CD3アミノ酸配列を含む。

【0415】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号126に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する抗CD3核酸配列により生成される。

【0416】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

(a) ヒトCMVエンハンサーおよびCMVプロモーター、(b) ヒトベータグロビンイントロン、(c) Gaussialucシグナルペプチド、(d) 抗CD3 VL鎖、(e) G4Sリンカー、(f) 抗CD3 VH鎖、(g) ヒンジドメイン、(h) 膜貫通ドメイン、(i) 細胞質尾部ドメイン、(j) BGHポリAシグナルをコードするポリヌクレオチド配列により生成され、ポリヌクレオチド配列は、配列番号126に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する。

【0417】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号127に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する抗CD3核酸配列により生成される。

【0418】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、5'から3'への順序で、

(a) ヒトCMVエンハンサーおよびCMVプロモーター、(b) ヒトベータグロビンイントロン、(c) Gaussialucシグナルペプチド、(d) 抗CD3 VL鎖、(e) G4Sリンカー、(f) 抗CD3 VH鎖、(g) グリコホリンA膜貫通ドメイン、(h) グリコホリンA細胞質尾部ドメイン、(i) BGHポリAシグナルをコードするポリヌクレオチド配列により生成され、ポリヌクレオチド配列は、配列番号127に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する。

【0419】

共刺激および接着分子プラスミド

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号17に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するCD58アミノ酸配列を含む。

【0420】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号18に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有するCD58核酸配列により生成される。

【0421】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、(a) ヒトCMVエンハンサーおよびCMVプロモーター、(b) ヒトベータグロビンイントロン、(c) 内因性シグナルペプチド、(d) CD58ポリヌクレオチド、(e) BGHポリAシグナルを含むポリヌクレオチド配列により生成され、CD58ポリヌクレオチド配列は、配列番号18に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または100%の同一性を共有する。

【0422】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号20に対して少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも9

10

20

30

40

50

9 % または 1 0 0 % の同一性を共有する C D 8 0 アミノ酸配列を含む。

【 0 4 2 3 】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 2 1 に対して少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % の同一性を共有する C D 8 0 核酸配列により生成される。

【 0 4 2 4 】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、(a) ヒト C M V エンハンサーおよび C M V プロモーター、(b) ヒトベーターグロビンイントロン、(c) 内因性シグナルペプチド、(d) C D 8 0 ポリヌクレオチド、(e) B G H ポリ A シグナルを含むポリヌクレオチド配列により生成され、C D 8 0 ポリヌクレオチド配列は、配列番号 2 1 に対して

10

【 0 4 2 5 】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 2 3 に対して少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % の同一性を共有する C D 8 6 アミノ酸配列を含む。

【 0 4 2 6 】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、配列番号 2 4 に対して少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 9 % または 1 0 0 % の同一性を共有する C D 8 6 核酸配列により生成される。

20

【 0 4 2 7 】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、(a) ヒト C M V エンハンサーおよび C M V プロモーター、(b) ヒトベーターグロビンイントロン、(c) 内因性シグナルペプチド、(d) C D 8 6 ポリヌクレオチド、(e) B G H ポリ A シグナルを含むポリヌクレオチド配列により生成され、C D 8 6 ポリヌクレオチド配列は、配列番号 2 4 に対して

【 0 4 2 8 】

遺伝子編集

多数の遺伝子編集法が当技術分野で公知であり、さらなる方法が絶えず創出されている。本開示の方法および組成物は、標的細胞のゲノムおよび／または遺伝子編集系（C R I S P R - C a s、メガヌクレアーゼ、ホーミングエンドヌクレアーゼ、ジンクフィンガー酵素など）への挿入が意図されたポリヌクレオチドを含めた種々の遺伝学的ペイロードを送達することが可能である。複数の実施形態では、ポリヌクレオチド（例えば、導入遺伝子）、酵素、および／またはガイド R N A は、同じ型（例えば、レンチウイルス、A A V など）または異なる型（例えば、非ウイルスベクターとウイルスベクターの組合せまたは異なる型のウイルスベクターの組合せを含む）の 1 つ、2 つ、3 つまたはそれよりも多くのベクターで送達される。点変異（複数可）、挿入、欠失などを生じさせるために本開示の方法およびシステムを使用することができる。ランダム変異誘発および多遺伝子座遺伝子編集も本開示の範囲内に入る。

30

【 0 4 2 9 】

産生／パッケージング細胞系

本開示は、本開示に従うウイルス粒子の産生のための宿主細胞を提供する。一部の実施形態では、宿主細胞は、細胞表面において 1 種または複数の外因性および／または組換え形質導入エンハンサーを発現する。一部の実施形態では、宿主細胞は、細胞表面において活性化タンパク質、共刺激分子および接着分子を発現する。一部の実施形態では、宿主細胞は、抗 C D 3 s c F v、C D 8 6、C D 8 0 および／または C D 5 8 のうち 1 種または複数を発現する。一部の実施形態では、宿主細胞は、少なくとも抗 C D 3 s c F v および C D 5 8 を発現する。一部の実施形態では、宿主細胞は、少なくとも抗 C D 3 s c F v および C D 8 0 を発現する。一部の実施形態では、宿主細胞は、少なくとも抗 C D 3

50

s c F v および C D 8 6 を発現する。一部の実施形態では、宿主細胞は、少なくとも抗 C D 3 s c F v、C D 8 0 および C D 5 8 を発現する。一部の実施形態では、宿主細胞は、少なくとも抗 C D 3 s c F v、C D 8 6 および C D 5 8 を発現する。

【0430】

一部の実施形態では、宿主細胞は、前記の実施形態に従うウイルスベクターの産生のためのものである。一部の実施形態では、宿主細胞は、ウイルス粒子の精製に有用なタグ付けタンパク質を含む。

【0431】

一部の実施形態では、宿主細胞は、パッケージング細胞であり、次の遺伝子のうち1種または複数を含む：g a g、p o l、e n v および r e v。一部の実施形態では、レトロウイルスベクターのためのパッケージング細胞は、g a g、p o l および e n v 遺伝子を含む。一部の実施形態では、レンチウイルスベクターのためのパッケージング細胞は、g a g、p o l、e n v および r e v 遺伝子を含む。

【0432】

一部の実施形態では、宿主細胞は、プロデューサー細胞であり、g a g、p o l、e n v および必要に応じて r e v 遺伝子ならびにレトロウイルスまたはレンチウイルスベクターゲノムを含む。遺伝子療法における使用のための典型的な組換えレトロウイルスまたはレンチウイルスベクターにおいて、g a g-p o l および e n v タンパク質コード領域のうち1種または複数の少なくとも一部が、ウイルスから除去されて、パッケージング細胞によって提供されてよい。これにより、ウイルスは、自身のゲノムを宿主ゲノムに組み込むことが可能であるが、改変されたウイルスゲノムは、構造タンパク質の欠如が原因で自身を増殖させることができないため、ウイルスベクターは複製欠損になる。

【0433】

パッケージング細胞は、ウイルスベクターの量を増殖および単離するために、すなわち、標的細胞の形質導入のためのレトロウイルスベクターの適した力価を調製するために使用される。

【0434】

一部の実施形態では、増殖 (propagation) および単離は、パッケージング細胞系を産生するために、レトロウイルス g a g p o l および e n v (およびレンチウイルスの場合は r e v) 遺伝子の単離ならびに宿主細胞へのそれらの別々の導入を必要とする場合がある。パッケージング細胞系は、レトロウイルス DNA のパッケージングに要求されるタンパク質を産生するが、p s i 領域の欠如が原因でカプシド形成をもたらすことができない。しかし、p s i 領域を保有する組換えベクターが、パッケージング細胞系に導入されると、ヘルパータンパク質は、p s i 陽性組換えベクターをパッケージングして、組換えウイルスストックを産生することができる。

【0435】

利用できるパッケージングシステムの概要は、"Retroviruses" (1997 Cold Spring Harbour Laboratory Press Eds: JM Coffin, SM Hughes, HE Varmus pp 449) に提示されている。

【0436】

パッケージング細胞系に独立してトランスフェクトされる別々の発現プラスミドに g a g、p o l および e n v (およびレンチウイルスベクターの場合は r e v) ウイルスコード領域が保有されているため、野生型ウイルス産生のために3回の組換え事象が要求される、パッケージング細胞も開発された。

【0437】

一過性トランスフェクションは、安定したベクター産生細胞系の生成に要求される、より長い時間を回避し、ベクターまたはレトロウイルスパッケージング構成成分が細胞にとって有毒である場合に使用される。レトロウイルス／レンチウイルス (lentiviral) ベクターを生成するために典型的に使用される構成成分は、G a g / P o l タンパク質をコードするプラスミド、E n v タンパク質 (およびレンチウイルスベクターの場合は r e v タ

10

20

30

40

50

ンパク質)をコードするプラスミド、およびレトロウイルス／レンチウイルスベクターゲノムを含む。ベクター産生は、これらの構成成分のうち1種または複数の、他の要求される構成成分を含有する細胞への一過性トランスフェクションが関与する。本発明のパッケージング細胞は、レトロウイルス／レンチウイルスベクター粒子を産生することが可能ないずれかの哺乳動物細胞型であってよい。パッケージング細胞は、懸濁物において成長および血清なしでの成長に適応された、293T細胞、または293T細胞のバリエーションであってよい。

【0438】

一部の実施形態では、パッケージング細胞は、

- a) 移入ベクター
- b) gag pol 発現ベクター
- c) env 発現ベクター

による一過性トランスフェクションによって作製される。一部の実施形態では、env 遺伝子は異種であり、シュードタイプ化レトロウイルスベクターを生じる。例えば、一部の実施形態では、env 遺伝子は、RD114またはそのバリエーションの1種、VSV-Gに由来し、これは、コカルエンベロップ、テナガザル白血病ウイルス(GALV)、両種指向性エンベロップ(envelope)もしくは麻疹エンベロップもしくはヒビレトロウイルスエンベロップ糖タンパク質、または本明細書に記載されているいずれかの例示的なエンベロップタンパク質を含む。

【0439】

レンチウイルスベクターの場合、一部の実施形態では、revベクターによる一過性トランスフェクションも行われる。

【0440】

本開示は、前記の実施形態に従うウイルス粒子を発現する宿主細胞を提供する。一部の実施形態では、宿主細胞は、細胞表面において、1種または複数の形質導入エンハンサーを発現する。一部の実施形態では、本発明は、パッケージング細胞によって産生されたレトロウイルスまたはレンチウイルスベクターが、前記の実施形態に記載されている通りのものになるように、細胞表面において、

- (a) 活性化タンパク質；および／または
- (b) 共刺激タンパク質；および／または
- (c) 接着分子

を発現するように操作された宿主細胞を提供する。

【0441】

一部の実施形態では、パッケージング細胞によって産生されたレトロウイルスまたはレンチウイルスベクターが、前記のセクションに記載している特徴を有するように、宿主細胞は、細胞表面において、捕捉部分に結合する結合ドメイン；および膜貫通ドメインを含むタグ付けタンパク質も発現し、このタグ付けタンパク質は、捕捉部分へのタグ付けタンパク質の結合により、細胞上清からのウイルスベクターの精製を容易にする。

【0442】

タグ付けタンパク質は、結合ドメインおよび膜貫通ドメインの間のスペーサーを含んでよい。

【0443】

宿主細胞という用語は、パッケージング細胞またはプロデューサー細胞を表すために使用することができる。パッケージング細胞は、次の遺伝子のうち1種または複数を含むことができる：gag、pol、envおよび／またはrev。プロデューサー細胞は、gag、pol、envおよび必要に応じてrev遺伝子を含むことができ、また、レトロウイルスまたはレンチウイルスゲノムも含む。一部の実施形態では、宿主細胞は、有糸分裂誘発および／またはサイトカイン形質導入エンハンサーを安定して発現するいずれか適した細胞系であり得る。これは、移入ベクター、gag pol、env（およびレンチウイルスの場合はrev）を一過性にトランスフェクトされて、複製能力がないレトロウイ

10

20

30

40

50

ルス／レンチウイルスベクターを産生し得る。

【0444】

本開示はまた、上記に従う宿主細胞を作製するための方法であって、1種または複数の形質導入エンハンサーをコードする核酸を細胞に形質導入またはトランスフェクトするステップを含む方法を提供する。前記の実施形態に従うウイルスベクターを産生するための方法であって、本発明の第2の態様に従う細胞においてレトロウイルスまたはレンチウイルスゲノムを発現させるステップを含む方法も提供される。

【0445】

システムおよびキット

一部の実施形態では、本開示は、

(a) 標的化部分およびマスクされたハプテンを含むアダプター分子であって、マスクされたハプテンが、ハプテンに連結されたマスキング部分を含む、アダプター分子と、

(b) 複数の組換えレトロウイルス粒子であって、

レトロウイルス粒子のそれぞれが、5'から3'への順序で、

(i) 5'長鎖末端反復配列(LTR)または非翻訳領域(UTR)、

(ii) プロモーター、

(iii) ハプテンに特異的に結合する受容体をコードする配列、および

(iv) 3'LTRまたはUTR

を含むポリヌクレオチドを含み、レトロウイルス粒子のそれぞれが、

(i) ウイルス融合糖タンパク質、および

(ii) 1種または複数の形質導入エンハンサー

を含むウイルスエンベロープを含み、必要に応じて、形質導入エンハンサーのそれぞれが、T細胞活性化受容体、NK細胞活性化受容体、共刺激分子および接着分子からなる群から選択される、複数の組換えレトロウイルス粒子と

を含む、システム、治療システムまたは組成物を提供する。

【0446】

本開示はまた、システムと、システムの使用のための指示とを含むキットを提供する。

【0447】

トランスジェニック免疫細胞

本開示は、活性化されたトランスジェニック免疫細胞を作製するための方法であって、免疫細胞を前記の実施形態のいずれかに従うウイルスベクターと接触させるステップを含む方法を提供する。免疫細胞は、*in vivo*または*ex vivo*で形質導入され得る。一部の実施形態では、*ex vivo*で宿主細胞を単離および操作する必要が全くなく、免疫細胞が*in vivo*で形質導入されるように、ウイルスベクターは、生きている対象に投与される。一部の実施形態では、免疫細胞は、*ex vivo*で操作され、次いでそれを必要とする対象に戻される。

【0448】

免疫細胞は、一般に、哺乳動物細胞であり、典型的には、ヒト細胞であり、より典型的には、初代ヒト細胞、例えば、同種異系または自家ドナー細胞である。細胞は、試料、例えば、生体試料、例えば、対象から得られるかまたはそれに由来する試料から単離され得る。一部の実施形態では、細胞が単離される対象は、疾患もしくは状態を有するかまたは細胞療法を必要としているかまたは細胞療法が投与されることになる対象である。対象は、一部の実施形態では、細胞が単離、処理および／または操作されている目的である養子細胞療法等の特定の治療介入を必要としているヒトである。一部の実施形態では、細胞は、血液、骨髄、リンパまたはリンパ系臓器に由来し、リンパ球、典型的にはT細胞および／またはNK細胞を含む、免疫系の細胞、例えば、自然または適応免疫系の細胞、例えば、骨髄系またはリンパ系細胞である。他の例示的な細胞は、人工多能性幹細胞(iPSC)を含む、複能性および多能性幹細胞等の幹細胞を含む。細胞は典型的に、対象から直接的に単離されたおよび／または対象から単離されて凍結された、初代細胞等、初代細胞である。一部の実施形態では、細胞は、機能、活性化状態、成熟度、分化能、増大、再循環

10

20

30

40

50

、局在および／または持続能力、抗原特異性、抗原受容体の型、特定の臓器もしくは区画における存在、マーカーもしくはサイトカイン分泌プロファイル、および／または分化の程度によって定義されたもの等、全T細胞集団、CD4+細胞、CD8+細胞およびそれらの亜集団等、T細胞または他の細胞型の1種または複数のサブセットを含む。

【0449】

T細胞および／またはCD4+および／またはCD8+T細胞のサブタイプおよび亜集団の中でも、ナイーブT（TN）細胞、エフェクターT細胞（TEFF）、メモリーT細胞およびそれらのサブタイプ、例えば、幹細胞メモリーT（TSCM）、セントラルメモリーT（TCM）、エフェクターメモリーT（TEM）または終末分化したエフェクターメモリーT細胞、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、未成熟T細胞、成熟T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、粘膜関連インバリアントT（MAIT）細胞、天然に存在するおよび適応制御性T（Treg）細胞、ヘルパーT細胞、例えば、TH1細胞、TH2細胞、TH3細胞、TH17細胞、TH9細胞、TH22細胞、濾胞性ヘルパーT細胞、アルファ／ベータT細胞ならびにデルタ／ガンマT細胞である。

10

【0450】

一部の実施形態では、本明細書において、提供される細胞は、細胞傷害性Tリンパ球である。「細胞傷害性Tリンパ球」（CTL）は、例えば、その表面上にCD8を発現するTリンパ球（例えば、CD8+T細胞）を含むことができるがこれに限定されない。一部の実施形態では、そのような細胞は、好ましくは、抗原を経験した「メモリー」T細胞（TM細胞）である。一部の実施形態では、細胞は、前駆T細胞である。一部の実施形態では、前駆T細胞は、造血幹細胞である。一部の実施形態では、細胞は、ナイーブCD8+T細胞、セントラルメモリーCD8+T細胞、エフェクターメモリーCD8+T細胞およびバルクCD8+T細胞からなる群から選択されるCD8+T細胞傷害性リンパ球細胞である。一部の実施形態では、細胞は、ナイーブCD4+T細胞、セントラルメモリーCD4+T細胞、エフェクターメモリーCD4+T細胞およびバルクCD4+T細胞からなる群から選択されるCD4+Tヘルパーリンパ球細胞である。[0260]本明細書で 사용되는場合、トランスジェニックT細胞もしくは形質導入されたT細胞またはそれらの使用のいかなる参照も、本明細書に開示されている他の免疫細胞型のいずれに適用されてもよい。

20

【0451】

本開示はまた、1種または複数の外因性核酸分子を含むトランスジェニック免疫細胞を提供する。一部の実施形態では、トランスジェニック免疫細胞は、ハプテン結合受容体をコードするポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、トランスジェニック免疫細胞は、形質導入エンハンサーをコードするポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、トランスジェニック免疫細胞は、T細胞活性化因子タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、トランスジェニック免疫細胞は、ハプテン結合受容体をコードするポリヌクレオチドおよびT細胞活性化因子タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

30

【0452】

標的免疫細胞

40

本明細書に記載されているウイルス粒子の標的であり得る細胞の非限定的な例は、Tリンパ球、樹状細胞（DC）、Treg細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞およびマクロファージを含む。一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス粒子は、アルファベータT細胞を形質導入することが可能である。一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス粒子は、アルファベータT細胞を形質導入することが可能である。一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス粒子は、ガンマデルタT細胞を形質導入することが可能である。一部の実施形態では、本明細書に記載されているウイルス粒子は、NK細胞を形質導入することが可能である。

【0453】

T細胞

50

T細胞（「Tリンパ球」）は、細胞性免疫において中心的な役割を果たすリンパ球（それ自体が白血球の1つの型である）の1つの型である。T細胞サブセットがいくつか存在し、それぞれが別個の機能を有する。T細胞は、細胞表面上にT細胞受容体（TCR）が存在することにより、B細胞およびNK細胞などの他のリンパ球と区別することができる。TCRは、主要組織適合性遺伝子複合体（MHC）分子と結合した抗原の認識を担い、2つの異なるタンパク質鎖で構成される。T細胞の95%で、TCRは、アルファ（ α ）鎖とベータ（ β ）鎖とからなる。これらのT細胞は、アルファベータT細胞と呼ばれる。ガンマデルタT細胞と呼ばれる他のT細胞においては、TCRは、ガンマ（ γ ）鎖とデルタ（ δ ）鎖とを含む。TCRが抗原ペプチドおよびMHC（ペプチド／MHC複合体）と会合すると、関連する酵素、共受容体、特殊化アダプター分子、および活性化または放出された転写因子によって媒介される一連の生化学的事象により、Tリンパ球が活性化される。

10

【0454】

一部の実施形態では、本発明で提供される方法において使用される細胞は、初代Tリンパ球（例えば、初代ヒトTリンパ球）である。本発明で提供される方法において使用される初代Tリンパ球は、ナイーブTリンパ球またはMHC拘束Tリンパ球であり得る。一部の実施形態では、Tリンパ球はCD4⁺である。他の実施形態では、Tリンパ球はCD8⁺である。一部の実施形態では、初代Tリンパ球は、腫瘍浸潤性リンパ球（TIL）である。一部の実施形態では、初代Tリンパ球は、腫瘍生検材料から単離されたものである、または腫瘍生検材料から単離されたTリンパ球から増大させたものである。一部の実施形態では、初代Tリンパ球は、末梢血、臍帯血、もしくはリンパから単離されたものである、または末梢血、臍帯血、もしくはリンパから単離されたTリンパ球から増大させる。一部の実施形態では、Tリンパ球は、特定の個体、例えば、前記Tリンパ球のレシピエントに対して同種のもの（allogeneic）である。ある特定の他の実施形態では、Tリンパ球は、ある特定の個体、例えば、前記Tリンパ球のレシピエントに対して同種のものではない。一部の実施形態では、Tリンパ球は、特定の個体、例えば、前記Tリンパ球のレシピエントに対して自己のもの（autologous）である。

20

【0455】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法において使用される初代Tリンパ球は、腫瘍から単離されるものであり、例えば、腫瘍浸潤性リンパ球である。一部の実施形態では、そのようなTリンパ球は、腫瘍特異的抗原（TSA）または腫瘍関連抗原（TAA）に対して特異的である。一部の実施形態では、初代Tリンパ球を個体から得、必要に応じて増大させ、次いで、それに、本明細書に記載の方法を使用して、1種または複数種のキメラ抗原受容体（CAR）をコードする核酸を形質導入し、次いで、必要に応じて増大させる。Tリンパ球は、例えば、培養物中のTリンパ球を、CD3および／またはCD28に対する抗体、例えば、ビーズまたは細胞培養プレートの表面に付着させた抗体と接触させることによって増大させることができる；例えば、米国特許第5,948,893号；同第6,534,055号；同第6,352,694号；同第6,692,964号；同第6,887,466号；および同第6,905,681号を参照されたい。一部の実施形態では、抗体は、抗CD3および／または抗CD28であり、抗体は、固体表面に結合していない（例えば、抗体とTリンパ球を溶液中で接触させる）。一部の実施形態では、抗CD3抗体または抗CD28抗体のいずれかは固体表面（例えば、ビーズ、組織培養皿プラスチック）に結合しており、他方の抗体は固体表面に結合していない（例えば、溶液中に存在する）。

30

40

【0456】

NK細胞

ナチュラルキラー（NK）細胞は、自然免疫系の主要な構成成分を構成する細胞傷害性リンパ球である。NK細胞は、典型的には、正常な末梢血中の単核細胞画分のおよそ10～15%を構成する。NK細胞は、ヒトにおいて、T細胞抗原受容体（TCR）、CD3、または表面免疫グロブリン（Ig）B細胞受容体を発現しないが、通常は表面マーカー

50

CD16 (FcγRIII) および CD56 を発現する。NK 細胞は、細胞傷害性である；それらの細胞質における小顆粒は、パーフォリンおよびグランザイムとして公知のプロテアーゼなどの特別なタンパク質を含有する。パーフォリンは、死滅させることが予定された細胞の極めて近傍に放出されると、標的細胞の細胞膜に孔を形成し、それを通じてグランザイムおよび関連分子が侵入し、アポトーシスを誘導し得る。グランザイムの1つであるグランザイムB (グランザイム2 および細胞傷害性Tリンパ球関連セリンエステラーゼ1としても公知) は、細胞媒介性免疫応答における標的細胞アポトーシスの迅速な誘導のために極めて重要なセリンプロテアーゼである。

【0457】

NK 細胞は、インターフェロンまたはマクロファージ由来サイトカインに応答して活性化される。活性化されたNK 細胞は、リンホカイン活性化キラー (LAK) 細胞と称される。NK 細胞は、細胞の細胞傷害活性を制御する、「活性化受容体」および「抑制性受容体」と呼ばれる2つの型の表面受容体を有する。

【0458】

他の活性の中でも、NK 細胞は、腫瘍の宿主拒絶反応において役割を果たす。多くのがん細胞は、減少したクラスI MHC 発現を有するかまたはクラスI MHC 発現を有さないもので、NK 細胞の標的になり得る。ナチュラルキラー細胞は、主要組織適合性遺伝子複合体 (MHC) タンパク質を欠く、または低下したレベルの主要組織適合性遺伝子複合体 (MHC) タンパク質を示す細胞によって活性化され得る。直接の細胞傷害性殺傷への関与に加えて、NK 細胞はまた、がんおよび感染症を制御するために重要であり得るサイトカイン産生においても役割を果たす。活性化および増大させたNK 細胞およびLAK 細胞は、進行がんを有する患者の *ex vivo* 治療および *in vivo* 処置の両方に使用されており、白血病などの骨髄関連疾患；乳がん；および特定の型のリンパ腫に対して、いくつか成功している。

【0459】

ポリヌクレオチドの *in vivo* 送達

一部の実施形態では、本開示は、*in vivo* で細胞に核酸を送達する方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、*in vivo* で免疫細胞に核酸を送達する方法を提供する。一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、*in vivo* で免疫細胞を活性化および形質導入する。

【0460】

一部の実施形態では、CAR をコードするヌクレオチド配列は、対象に投与され、これにより、*in vivo* での CAR の産生が可能になる。一部の実施形態では、そのようなウイルス粒子の投与は、CAR の直接的投与と同様の効果を *in vivo* で生成する。一部の実施形態では、そのようなウイルス粒子の投与は、粒子の *in vivo* 形質導入効率を改善する。

【0461】

一部の実施形態では、そのようなウイルス粒子の *in vivo* 送達は、経時的な CAR 発現を生じる (例えば、数時間以内に開始し、数日間持続する)。一部の実施形態では、そのようなウイルス粒子の *in vivo* 送達は、コードされる CAR の望ましい薬物動態、薬力学および／または安全性プロファイルをもたらす。

【0462】

一部の実施形態では、ヌクレオチド配列は、免疫活性化を防止する、安定性を増加させる、経時的などの凝集するいかなる傾向も低下させる、および／または不純物を回避するための、1種または複数種の手段によって最適化することができる。そのような最適化は、改善された細胞内安定性および翻訳効率のために、改変されたヌクレオシド、改変されたおよび／もしくは特定の5' UTR、3' UTRならびに／またはポリ(A)尾部改変の使用を含むことができる (例えば、Stadler et al., 2017, Nat. Med. を参照)。そのような改変は、当技術分野で公知である。

【0463】

10

20

30

40

50

ポリヌクレオチド（例えば、mRNA）の *in vivo* 送達のための戦略は、当技術分野で公知である。戦略の概要については、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Mol Ther. 2019 Apr 10; 27(4): 710-728を参照されたい。

【0464】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、多段階作用機構を有する：

(a) ウイルス粒子は、免疫細胞活性化タンパク質（例えば、抗CD3 scFv）、共刺激分子（例えば、CD28リガンド）、細胞接着分子（例えば、CD58）またはこれらの任意の組合せを介して *in vivo* でT細胞に結合し、T細胞を活性化し、コカル糖タンパク質との相互作用によりウイルス粒子内部移行を容易にし、

(b) ベクターRNAゲノムは、DNAへと逆転写され、核にシャトルされ、ゲノム内に組み込まれ、

(c) 形質導入されたT細胞は、目的のポリペプチドを発現する。

【0465】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、多段階作用機構を有する：

(a) ウイルス粒子は、免疫細胞活性化タンパク質（例えば、抗CD3 scFv）、共刺激分子（例えば、CD28リガンド）、細胞接着分子（例えば、CD58）またはこれらの任意の組合せを介して *in vivo* でT細胞に結合し、T細胞を活性化し、コカル糖タンパク質との相互作用によりウイルス粒子内部移行を容易にし、

(b) CARをコードするベクターRNAゲノムは、DNAへと逆転写され、核にシャトルされ、ゲノム内に組み込まれ、

(c) 形質導入されたT細胞は、CARを発現し、細胞を標的としつつ、ラパマイシン制御サイトカインシグナル伝達のためにFRBおよびRACRシステムも発現する。

【0466】

免疫細胞活性化

一部の実施形態では、対象に対する粒子の投与は、免疫細胞の活性化をもたらす。

【0467】

一部の実施形態では、免疫細胞の活性化は、1種または複数種の細胞マーカーのレベルによって測定される。一部の実施形態では、免疫細胞の活性化は、1種または複数種の細胞マーカーが陽性である免疫細胞のパーセンテージによって測定される。一部の実施形態では、免疫細胞は、T細胞（Tリンパ球）またはNK細胞である。一部の実施形態では、免疫細胞は、CD4+T細胞またはCD8+T細胞である。一部の実施形態では、1種または複数種の細胞マーカーは、CD71、CD25およびこれらのいずれかの組合せからなる群から選択される。

【0468】

一部の実施形態では、免疫細胞の活性化は、CD71陽性である免疫細胞のパーセンテージによって測定される。一部の実施形態では、ウイルス粒子の投与は、CD71+免疫細胞のパーセンテージを、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%または少なくとも90%増加させる。一部の実施形態では、免疫細胞の活性化は、免疫細胞の表面上に発現されるCD71のレベルによって測定される。一部の実施形態では、ウイルス粒子の投与は、免疫細胞の表面上に発現されるCD71のレベルを、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも1倍、少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも5倍、少なくとも7倍または少なくとも10倍増加させる。

【0469】

一部の実施形態では、免疫細胞の活性化は、CD25陽性である免疫細胞のパーセンテージによって測定される。一部の実施形態では、ウイルス粒子の投与は、CD25+免疫細胞のパーセンテージを、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも

80%または少なくとも90%増加させる。一部の実施形態では、免疫細胞の活性化は、免疫細胞の表面上に発現されるCD25のレベルによって測定される。一部の実施形態では、ウイルス粒子の投与は、免疫細胞の表面上に発現されるCD25のレベルを、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも1倍、少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも5倍、少なくとも7倍または少なくとも10倍増加させる。

【0470】

一部の実施形態では、対象におけるウイルス粒子の投与は、免疫細胞の活発な増殖をもたらす。一部の実施形態では、免疫細胞の増殖は、ベクターによる形質導入の数および／またはそれに対する感受性を増加させる。

10

【0471】

一部の実施形態では、対象におけるウイルス粒子の投与は、G0期の免疫細胞（例えば、T細胞）の数の減少および／または非G0期の免疫細胞（例えば、T細胞）の数の増加をもたらす。

【0472】

一部の実施形態では、対象におけるウイルス粒子の投与は、ベクターの形質導入に対して代謝適応状態にある免疫細胞の数および／またはパーセンテージを増加させる。

【0473】

一部の実施形態では、対象におけるウイルス粒子の投与は、リンパ節における免疫細胞の蓄積をもたらす。一部の実施形態では、対象におけるウイルス粒子の投与は、腫瘍部位における免疫細胞の蓄積をもたらす。

20

【0474】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、レンチウイルス粒子である。一部の実施形態では、免疫細胞は、T細胞である。一部の実施形態では、本明細書における免疫細胞は、CARの少なくとも1個の抗原特異的結合ドメインによって認識され得る、*in vivo*における免疫細胞のサブセットである。一部の実施形態では、免疫細胞は、リンパ節に存する。

【0475】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、形質導入されていない免疫細胞を活性化する。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、形質導入されていない免疫細胞を増大させる。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、腫瘍浸潤リンパ球を活性化および／または増大させる。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、腫瘍流入領域リンパ節または転移性リンパ節に存在する腫瘍反応性T細胞を活性化および／または増大させる。

30

【0476】

投与経路

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、非経口、静脈内、筋肉内、皮下（*subcutaneous*）、腫瘍内、腹腔内およびリンパ内からなる群から選択される経路により投与される。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、複数回投与される。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、ウイルス粒子のリンパ内注射によって投与される。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、ウイルス粒子の腹腔内注射によって投与される。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、節内注射によって投与される。すなわち、ウイルス粒子は、鼠径部リンパ節等のリンパ節への注射により投与され得る。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、腫瘍部位へのウイルス粒子の注射によって投与される（すなわち、腫瘍内）。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、皮下投与される。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、全身性投与される。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、静脈内投与される。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、動脈内投与される。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、レンチウイルス粒子である。

40

【0477】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、腹腔内、皮下または節内注射によって投与され

50

る。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、腹腔内注射によって投与される。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、皮下注射によって投与される。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、節内注射によって投与される。

【0478】

一部の実施形態では、本開示のポリヌクレオチドを含む形質導入された免疫細胞は、対象に投与される。

【0479】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、単回注射として投与される。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9または少なくとも10回の注射として投与される。

10

【0480】

剤形および投与レジメン

ウイルス粒子

ウイルス粒子は、いずれか有効な投薬量において、*in vivo*で細胞の感染に使用することができる。一部の実施形態では、ウイルス粒子は、治療を必要としている細胞、組織、臓器または対象への直接的注射によって、*in vivo*で対象に投与される。

【0481】

一部の実施形態では、ウイルス粒子は、細胞と接続した状態で投与され得る。ウイルス粒子は、ウイルス粒子が細胞と会合するような、細胞とウイルス粒子とのインキュベーションによって細胞と接続され得る。一部の実施形態では、送達されるべき産物の用量は、ウイルス粒子結合細胞の数に基づき決定される。

20

【0482】

ウイルス粒子は、ウイルス力価 (TU/mL) に従って送達することもできる。直接注射されるレンチウイルスの量は、総TUによって決定され、部位に実施可能に注射される体積、および注射される組織の型の両方に基づいて変動し得る。一部の実施形態では、注射1回当たり約 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 、約 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ 、約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^9$ 、約 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^{10}$ 、約 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^{11}$ もしくは約 $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{11}$ TU またはそれよりも多い送達されるウイルス力価を使用することができる。一部の実施形態では、注射1回当たり約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 、約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^9$ 、約 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^{10}$ 、約 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{11}$ 、約 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{12}$ もしくは約 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{12}$ またはそれよりも多い送達されるウイルス力価を使用することができる。例えば、脳注射部位は、非常に少ない体積のウイルスが注射されることしか許容しない場合があるため、高力価プレップが好まれ、注射1回当たり約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 、約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^9$ 、約 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^{10}$ 、約 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{11}$ 、約 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{12}$ もしくは約 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{12}$ またはそれよりも多いTUを使用することができる。しかし、全身送達は、はるかにより多いTUを適応することができ、約 1×10^8 、約 1×10^9 、約 1×10^{10} 、約 1×10^{11} 、約 1×10^{12} 、約 1×10^{13} 、約 1×10^{14} または約 1×10^{15} の負荷を送達することができる。

30

40

【0483】

一部の実施形態では、ベクターは、対象の総体重1キログラム (vg) 当たり約 $1 \times 10^{12} \sim 5 \times 10^{14}$ の間のベクターゲノム (vg) のベクター (vg/kg) の用量で投与される。一部の実施形態では、ベクターは、約 $1 \times 10^{13} \sim 5 \times 10^{14} \text{vg}/\text{kg}$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ベクターは、約 $5 \times 10^{13} \sim 3 \times 10^{14} \text{vg}/\text{kg}$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ベクターは、約 $5 \times 10^{13} \sim 1 \times 10^{14} \text{vg}/\text{kg}$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ベクターは、約 $1 \times 10^{12} \text{vg}/\text{kg}$ 未満、約 $3 \times 10^{12} \text{vg}/\text{kg}$ 未満、約 $5 \times 10^{12} \text{vg}/\text{kg}$ 未満、約 $7 \times 10^{12} \text{vg}/\text{kg}$ 未満、約 $1 \times 10^{13} \text{vg}/\text{kg}$ 未満、約 3

50

$\times 10^{13}$ v g / k g 未満、約 5×10^{13} v g / k g 未満、約 7×10^{13} v g / k g 未満、約 1×10^{14} v g / k g 未満、約 3×10^{14} v g / k g 未満、約 5×10^{14} v g / k g 未満、約 7×10^{14} v g / k g 未満、約 1×10^{15} v g / k g 未満、約 3×10^{15} v g / k g 未満、約 5×10^{15} v g / k g 未満または約 7×10^{15} v g / k g 未満の用量で投与される。

【0484】

一部の実施形態では、ベクターは、対象の総体重1キログラム (v p) 当たり約 1×10^{12} ~ 5×10^{14} の間のベクター粒子 (v p) のベクター (v p / k g) の用量で投与される。一部の実施形態では、ベクターは、約 1×10^{13} ~ 5×10^{14} v p / k g の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ベクターは、約 5×10^{13} ~ 3×10^{14} v p / k g の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ベクターは、約 5×10^{13} ~ 1×10^{14} v p / k g の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ベクターは、約 1×10^{12} v p / k g 未満、約 3×10^{12} v p / k g 未満、約 5×10^{12} v p / k g 未満、約 7×10^{12} v p / k g 未満、約 1×10^{13} v p / k g 未満、約 3×10^{13} v p / k g 未満、約 5×10^{13} v p / k g 未満、約 7×10^{13} v p / k g 未満、約 1×10^{14} v p / k g 未満、約 3×10^{14} v p / k g 未満、約 5×10^{14} v p / k g 未満、約 7×10^{14} v p / k g 未満、約 1×10^{15} v p / k g 未満、約 3×10^{15} v p / k g 未満、約 5×10^{15} v p / k g 未満または約 7×10^{15} v p / k g 未満の用量で投与される。

【0485】

一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子の投与は、対象におけるB細胞の数を、少なくとも1%、少なくとも2%、少なくとも3%、少なくとも5%、少なくとも7%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%または少なくとも90%減少させる。一部の実施形態では、減少は、ウイルス粒子が投与されてから1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11または12週間後に、B細胞の数によって評価され、参照数は、ビヒクル対照を投与された対象におけるB細胞の数である。一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子の投与は、対象におけるB細胞の数を少なくとも95%減少させる。

【0486】

一部の実施形態では、B細胞は、対象の末梢血中に存在する。一部の実施形態では、B細胞は、対象の骨髓中に存在する。一部の実施形態では、B細胞は、対象の脾臓中に存在する。

【0487】

一部の実施形態では、B細胞は、ウイルス粒子の投与後、少なくとも7日間、少なくとも10日間、少なくとも20日間、少なくとも30日間、少なくとも40日間、少なくとも50日間、少なくとも60日間、少なくとも70日間または少なくとも80日間にわたり対象において枯渇される。

【0488】

一部の実施形態では、B細胞は、ウイルス粒子の投与後、少なくとも80日間にわたり対象において枯渇される。

【0489】

ラパマイシン

Rapamune (登録商標) (シロリムス、ラパマイシン) は、経口液剤または錠剤として利用でき、次の適応症のためにFDA承認されている：

- － 腎移植における臓器拒絶反応の予防
- － 腎移植における使用の限定
- － リンパ脈管筋腫症患者の処置。

【0490】

米国処方情報 (US Prescribing Information) (USPI) によると、ラパマイ

20

30

40

50

一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.001\text{mg}/\text{m}^2 \sim 100\text{mg}/\text{m}^2$ （対象の表面積）の間の用量で投与される。一部の実施形態では、対象は、ヒトである。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.001\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.1\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $0.01\text{mg}/\text{m}^2 \sim 1\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $0.1\text{mg}/\text{m}^2 \sim 10\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $1\text{mg}/\text{m}^2 \sim 100\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $0.001\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.05\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $0.005\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.25\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $0.01\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.5\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $0.05\text{mg}/\text{m}^2 \sim 2.5\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $0.1\text{mg}/\text{m}^2 \sim 5\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $0.5\text{mg}/\text{m}^2 \sim 25\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $1\text{mg}/\text{m}^2 \sim 50\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $2\text{mg}/\text{m}^2 \sim 100\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $0.001\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.01\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $0.005\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.05\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $0.01\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.1\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $0.05\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.5\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $0.1\text{mg}/\text{m}^2 \sim 1\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $0.5\text{mg}/\text{m}^2 \sim 5\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $1\text{mg}/\text{m}^2 \sim 10\text{mg}/\text{m}^2$ の間、約 $5\text{mg}/\text{m}^2 \sim 50\text{mg}/\text{m}^2$ の間または約 $10\text{mg}/\text{m}^2 \sim 100\text{mg}/\text{m}^2$ の間（それらの間のあらゆる範囲および部分範囲を含む）の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.001\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.005\text{mg}/\text{m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.002\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.01\text{mg}/\text{m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.003\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.015\text{mg}/\text{m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.004\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.02\text{mg}/\text{m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.005\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.025\text{mg}/\text{m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.006\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.03\text{mg}/\text{m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.007\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.035\text{mg}/\text{m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.008\text{mg}/\text{m}^2 \sim 0.04\text{mg}/\text{m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約

50

される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.04 \text{ mg/m}^2 \sim 0.8 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.05 \text{ mg/m}^2 \sim 1 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.06 \text{ mg/m}^2 \sim 1.2 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.07 \text{ mg/m}^2 \sim 1.4 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.08 \text{ mg/m}^2 \sim 1.6 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.09 \text{ mg/m}^2 \sim 1.8 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.1 \text{ mg/m}^2 \sim 2 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.2 \text{ mg/m}^2 \sim 4 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.3 \text{ mg/m}^2 \sim 6 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.4 \text{ mg/m}^2 \sim 8 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.5 \text{ mg/m}^2 \sim 10 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.6 \text{ mg/m}^2 \sim 12 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.7 \text{ mg/m}^2 \sim 14 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.8 \text{ mg/m}^2 \sim 16 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $0.9 \text{ mg/m}^2 \sim 18 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $1 \text{ mg/m}^2 \sim 20 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $2 \text{ mg/m}^2 \sim 40 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $3 \text{ mg/m}^2 \sim 60 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $4 \text{ mg/m}^2 \sim 80 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンは、約 $5 \text{ mg/m}^2 \sim 100 \text{ mg/m}^2$ の間の用量で投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンの用量は、24時間の期間内の総用量である。

【0493】

一部の実施形態では、ラパマイシンの用量は、毎日投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンの用量は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14日毎に投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンの用量は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9または10週間毎に投与される。一部の実施形態では、ラパマイシンの用量は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9または10ヶ月毎に投与される。

【0494】

一部の実施形態では、ウイルス粒子の第1の投与後に、ラパマイシンの初回投与は、ウイルス粒子の第1の投与の約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14日後に投与される。一部の実施形態では、ウイルス粒子の第1の投与後に、ラパマイシンの初回投与は、ウイルス粒子の第1の投与の約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14週間後に投与される。一部の実施形態では、ウイルス粒子の第1の投与後に、ラパマイシンの初回投与は、ウイルス粒子の第1の投与の約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13または14ヶ月後に投与される。一部の実施形態では、ウイルス粒子の第1の投与後に、ラパマイシンの初回投与は、ウイルス粒子の第1の投与の約1～3日、約2～6日、約3～9日、約4～12日、約5～15日、約1～3週間、約2～4週間、約3～6週間または約4～8週間後に投与される。

【0495】

一部の実施形態では、ラパマイシンの投与は、対象におけるまたは対象の特定の臓器／領域におけるウイルス粒子形質導入免疫細胞（例えば、CAR T細胞）の数を増加させる。一部の実施形態では、対象の臓器／領域は、血液である。一部の実施形態では、対象の臓器／領域は、脾臓である。一部の実施形態では、対象の臓器／領域は、骨髄である。一部の実施形態では、ラパマイシンの投与は、対象におけるウイルス粒子形質導入免疫細胞

胞（例えば、CAR T細胞）の数を、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも1倍、少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも5倍、少なくとも7倍または少なくとも10倍増加させる。一部の実施形態では、増加は、ラパマイシンの初回投与（ウイルス粒子が投与された後の）の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11または12週間後に、ウイルス粒子形質導入免疫細胞の数によって評価され、参照数は、ラパマイシンの初回投与の当日におけるウイルス粒子形質導入免疫細胞の数である。一部の実施形態では、増加は、ラパマイシンの初回投与（ウイルス粒子が投与された後の）の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11または12ヶ月後に、ウイルス粒子形質導入免疫細胞の数によって評価され、参照数は、ラパマイシンの初回投与の当日におけるウイルス粒子形質導入免疫細胞の数である。

10

【0496】

一部の実施形態では、ラパマイシンの投与は、対象におけるまたは対象の特定の臓器／領域におけるウイルス粒子形質導入免疫細胞（例えば、CAR T細胞）のパーセンテージを増加させる。一部の実施形態では、対象の臓器／領域は、血液である。一部の実施形態では、対象の臓器／領域は、脾臓である。一部の実施形態では、対象の臓器／領域は、骨髄である。一部の実施形態では、ラパマイシンの投与は、対象におけるウイルス粒子形質導入免疫細胞（例えば、CAR T細胞）のパーセンテージを、少なくとも1%、少なくとも2%、少なくとも3%、少なくとも5%、少なくとも7%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%または少なくとも90%増加させる。一部の実施形態では、増加は、ラパマイシンの初回投与（ウイルス粒子が投与された後の）の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11または12週間後に、ウイルス粒子形質導入免疫細胞のパーセンテージによって評価され、参照パーセンテージは、ラパマイシンの初回投与の当日におけるウイルス粒子形質導入免疫細胞のパーセンテージである。一部の実施形態では、増加は、ラパマイシンの初回投与（ウイルス粒子が投与された後の）の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11または12ヶ月後に、ウイルス粒子形質導入免疫細胞のパーセンテージによって評価され、参照パーセンテージは、ラパマイシンの初回投与の当日におけるウイルス粒子形質導入免疫細胞のパーセンテージである。一部の実施形態では、パーセンテージは、対象におけるまたは対象の特定の臓器／領域における、総免疫細胞におけるウイルス粒子形質導入免疫細胞のパーセンテージである。一部の実施形態では、パーセンテージは、対象におけるまたは対象の特定の臓器／領域における、同じ型の免疫細胞（例えば、T細胞）におけるウイルス粒子形質導入免疫細胞のパーセンテージである。

20

30

【0497】

医薬組成物および製剤

本開示の製剤および組成物は、任意の数のウイルス粒子の組合せ、ならびに、必要に応じて、細胞、組織、器官、または動物に、単独で、または1種もしくは複数の他の治療モダリティと組み合わせて投与するために薬学的に許容されるまたは生理的に許容される組成物として製剤化された1種または複数種の追加の医薬品（ポリペプチド、ポリヌクレオチド、化合物など）を含み得る。一部の実施形態では、1種または複数種の追加の医薬品は、ベクターの形質導入効率をさらに上昇させるものである。

40

【0498】

一部の実施形態では、本開示は、1種または複数種の薬学的に許容される担体（添加剤）および／または希釈剤と一緒に製剤化された治療有効量の本明細書に記載のウイルス粒子を含む組成物を提供する。一部の実施形態では、組成物は、他の作用剤、例えば、サイトカイン、成長因子、ホルモン、小分子または種々の薬学的に活性な作用剤などをさらに含む。

【0499】

50

一部の実施形態では、本開示に従って使用されるウイルス粒子の組成物および製剤を、凍結乾燥製剤または水性液剤の形態で保存するために、所望の程度の純度を有するウイルス粒子を必要に応じた薬学的に許容される担体、賦形剤または安定剤と混合することによって調製することができる (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed.(1980))。許容される担体、賦形剤、または安定剤は、使用される投与量および濃度で、レシピエントに対して非毒性である。一部の実施形態では、1種または複数種の薬学的に許容される界面活性剤 (界面活性物質)、バッファー、等張剤、塩、アミノ酸、糖、安定剤および／または抗酸化剤を製剤に使用する。

【0500】

適切な薬学的に許容される界面活性物質は、これだけに限定されないが、ポリエチレン-ソルビタン-脂肪酸エステル、ポリエチレン-ポリプロピレングリコール、ポリオキシエチレン-ステアレートおよびドデシル硫酸ナトリウムを含む。適切なバッファーは、これだけに限定されないが、ヒスチジンバッファー、クエン酸バッファー、コハク酸バッファー、酢酸バッファーおよびリン酸バッファーを含む。

10

【0501】

等張剤は、等張製剤をもたらすために使用される。等張製剤は、液体、または、固体形態、例えば凍結乾燥形態から再構成される液体であり、生理塩類溶液および血清などの、比較対象のいくつかの他の溶液と同じ張度を有する溶液を意味する。適切な等張剤は、これだけに限定されないが、塩化ナトリウム (NaCl) または塩化カリウムを含めた塩、これだけに限定されないが、グルコース、スクロース、トレハロースを含めた糖、または、およびアミノ酸、糖、塩およびこれらの組合せの群からの任意の構成成分を含むが、これだけに限定されない。一部の実施形態では、等張剤は、一般に、約 5 mM ~ 約 350 mM の総量で使用される。

20

【0502】

塩の非限定的な例としては、カチオンであるナトリウム、カリウム、カルシウムまたはマグネシウムと、アニオンであるクロライド、ホスフェート、シトレート、スクシネート、サルフェートの任意の組合せの塩、またはそれらの混合物が挙げられる。アミノ酸の非限定的な例は、アルギニン、グリシン、オルニチン、リシン、ヒスチジン、グルタミン酸、アスパラギン酸、イソロイシン、ロイシン、アラニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、メチオニン、セリン、プロリンを含む。本発明による糖の非限定的な例としては、トレハロース、スクロース、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、グルコース、マンノース、マルトース、ガラクトース、フルクトース、ソルボース、ラフィノース、グルコサミン、N-メチルグルコサミン (「メグルミン」とも称される)、ガラクトサミンおよびノイラミン酸ならびにこれらの組合せが挙げられる。安定剤の非限定的な例としては、上記のアミノ酸および糖ならびに当技術分野で公知の任意の種類および分子量の市販のシクロデキストリンおよびデキストランが挙げられる。抗酸化剤の非限定的な例としては、メチオニン、ベンジルアルコールまたは酸化を最小限にするために使用される任意の他の賦形剤などの賦形剤が挙げられる。

30

【0503】

「薬学的に許容される」という句は、ヒトに投与された場合にアレルギー反応または同様の不都合な反応を生じさせない分子実体および組成物を指す。タンパク質を活性成分として含有する水性組成物の調製は当技術分野において十分に理解されている。典型的には、そのような組成物は、注射剤として、液剤または懸濁剤のいずれかとして調製される；注射前に液体中に入れて溶液または懸濁液にするのに適した固体形態を調製することもできる。調製物を乳化することもできる。

40

【0504】

本明細書で使用される場合、「担体」は、ありとあらゆる溶媒、分散媒、ビヒクル、コーティング、希釈剤、抗細菌および抗真菌剤、等張および吸収遅延剤、バッファー、担体溶液、懸濁液、コロイドなどを包含する。医薬活性物質のためのそのような媒体および作用剤の使用は当技術分野において周知である。活性成分と適合しない従来の媒体または作

50

用剤を除く限りでは、任意の従来の媒体または作用剤の治療用組成物への使用が意図されている。補足の活性成分を組成物に組み入れることもできる。

【0505】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」は、薬学的に許容される細胞培養培地を含めた、生理的に適合性のありとあらゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗細菌および抗真菌剤、等張および吸収遅延剤などを包含する。一部の実施形態では、担体を含む組成物は、非経口投与、例えば、血管内（静脈内もしくは動脈内）、腹腔内または筋肉内投与に適するものである。薬学的に許容される担体は、滅菌水溶液または分散液、および滅菌注射液または分散液を即時調製するための滅菌粉末を含む。薬学的に活性な物質のためのそのような媒体および作用剤の使用は当技術分野において周知である。形質導入された細胞と適合しない従来の媒体または作用剤を除く限りでは、任意の従来の媒体または作用剤の本開示の医薬組成物への使用が意図されている。

10

【0506】

組成物は、細胞または動物に単独で、または1つもしくは複数の他の治療モダリティと組み合わせて投与するための、薬学的に許容されるまたは生理的に許容される溶液中に製剤化された、1つまたは複数のポリペプチド、ポリヌクレオチド、それを含むベクター、ベクターの形質導入効率を上昇させる化合物をさらに含み得る。所望であれば、本開示の組成物を他の作用剤、例えば、サイトカイン、成長因子、ホルモン、小分子または種々の薬学的に活性な作用剤などとも組み合わせて投与することができることも理解されよう。組成物に同様に含めることができる他の構成成分に関して、追加の作用剤が意図された治療を送達する組成物の能力に悪影響を及ぼさないという条件で、事実上制限はない。

20

【0507】

本開示は、本明細書に開示される発現カセットまたはベクター（例えば、治療用ベクター）と、1種または複数種の薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤とを含む医薬組成物も提供する。一部の実施形態では、医薬組成物は、本明細書に開示される発現カセットを含むレンチウイルスベクターを含み、ここで、例えば、発現カセットは、1種または複数種のキメラ抗原受容体（CAR）およびそのバリエーションをコードする1種または複数種のポリヌクレオチド配列を含む。

【0508】

発現カセットまたはベクターを含有する医薬組成物は、選択された投与様式、例えば、脳室内、心筋内、冠動脈内、静脈内、動脈内、腎臓内、尿道内、硬膜外、髄腔内、腹腔内または筋肉内投与に適した任意の形態であってよい。ベクターは、単独の活性薬剤として、または他の活性薬剤と組み合わせて、単位投与形態で、従来の医薬支持物との混合物として、動物およびヒトに投与することができる。一部の実施形態では、医薬組成物は、本開示によるベクターのいずれかを *ex vivo* で形質導入された細胞を含む。

30

【0509】

一部の実施形態では、ウイルス粒子（例えば、レンチウイルス粒子）、またはそのウイルス粒子を含む医薬組成物は、全身的に投与されると有効である。例えば、本開示のウイルスベクターは、一部の 경우에는、対象（例えば、霊長類、例えば、非ヒト霊長類またはヒトなど）に静脈内投与されると有効性を示す。一部の実施形態では、本開示のウイルスベクターは、全身的に投与されると、種々の免疫細胞における（例えば、T細胞、樹状細胞、NK細胞における）CARの発現を誘導することが可能である。

40

【0510】

種々の実施形態では、医薬組成物は、注射可能な製剤のための薬学的に許容されるビヒクル（例えば、担体、希釈剤および賦形剤）を含有する。例示的な賦形剤としては、ポロキサマーが挙げられる。ウイルスベクター用の製剤バッファーは、一般に、凝集を防止するための塩、およびウイルス粒子の粘着性を低減するための他の賦形剤（例えば、ポロキサマー）を含有する。これらは、特に、等張滅菌食塩溶液中（リン酸一ナトリウムもしくは二ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウムもしくは塩化マグネシウムなど、もしくはそのような塩の混合物）、または、滅菌水または生理食塩水の添加の

50

際に、場合により注射液の構成を可能にする、乾燥、特にフリーズドライ組成物であり得る。一部の実施形態では、製剤は、凍結（例えば、0℃未満、約-60℃、または約-72℃）させた場合、保管および使用に関して安定である。一部の実施形態では、製剤は、凍結保存した溶液である。

【0511】

本開示の医薬組成物、薬学的に許容される賦形剤および担体溶液の製剤は、例えば、経口、非経口、静脈内、鼻腔内、腹腔内、および筋肉内投与および製剤を含めた種々の処置レジメンにおいて本明細書に記載の特定の組成物を使用するための適切な投与および処置レジメンの開発と同様に、当業者に周知である。

【0512】

ある特定の状況では、本明細書に開示される組成物を非経口、静脈内、筋肉内、または腹腔内送達することが望ましい。例えば、米国特許第5,543,158号；同第5,641,515号および同第5,399,363号（それぞれの全体が参照により具体的に本明細書に組み込まれる）。遊離塩基または薬理学的に許容される塩としての活性化合物の溶液を、ヒドロキシプロピルセルロースなどの界面活性物質と適切に混合した水中で調製することができる。グリセロール、液体ポリエチレングリコール、およびそれらの混合物中、ならびに油中の分散液を調製することもできる。保管および使用の通常の条件下で、これらの調製物は、微生物の成長を防止するために保存剤を含有する。

【0513】

注射による使用に適した医薬形態としては、滅菌水溶液または分散液、および滅菌注射液または分散液を即時調製するための滅菌粉末が挙げられる（米国特許第5,466,468号、その全体が参照により具体的に本明細書に組み込まれる）。全ての場合において、形態は、滅菌されているべきであり、かつ、簡単に注射できる程度に流体であるべきである。製造および保管の条件下で安定であるべきであり、かつ、細菌および真菌などの微生物の汚染作用から保護されるべきである。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）、それらの適切な混合物、および／または植物油を含有する溶媒または分散媒であり得る。適当な流動性を、例えば、レシチンなどのコーティングを使用することによって、分散の場合では必要な粒子サイズを維持することによって、および界面活性物質を使用することによって、維持することができる。微生物の作用の防止は、種々の抗細菌および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサルなどによって容易にすることができる。一部の実施形態では、等張剤、例えば、糖または塩化ナトリウムを添加する。吸収を遅延させる作用剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを組成物中に使用することにより、注射用組成物の持続的な吸収をもたらすことができる。

【0514】

水溶液としての非経口投与に関しては、例えば、必要であれば溶液を適切に緩衝化するべきであり、まず液体希釈剤に十分な食塩水またはグルコースを用いて等張性を付与する。これらの特定の水溶液は、静脈内、筋肉内、皮下および腹腔内投与に特に適する。一部の実施形態では、皮下投与が意図される溶液は、ヒアルロニダーゼを含む。これに関連して、使用することができる滅菌水性媒体は、本開示を考慮すれば、当業者には分かる。例えば、1つの投与量を等張NaCl溶液1mlに溶解させ、皮下注入流体1000mlに添加するか、または提唱された注入部位に注射することができる（例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, Baltimore, Md.: Lippincott Williams & Wilkins, 2005を参照されたい）。処置を受ける対象の状態に応じて、投与量のいくらかの変動が必ず生じる。いずれにしても、投与責任者が、個々の対象に対して適当な用量を決定する。さらに、ヒト投与に関しては、調製物は、必要に応じてFDA Office of Biologics standardsによる、無菌性、発熱性、ならびに一般的な安全性および純度の基準を満たすべきである。

10

20

30

40

50

【0515】

一部の実施形態では、本開示は、これだけに限定されないが、レトロウイルス（例えば、レンチウイルス）ベクターを含めたウイルスベクター系の送達（すなわち、ウイルス媒介性形質導入）に適した製剤または組成物を提供する。

【0516】

併用療法

本開示は、ウイルス粒子の形質導入効率を改善する1種または複数の追加の薬剤を使用してよいことをさらに企図する。

【0517】

一部の実施形態では、方法は、対象に1種または複数の抗がん療法を投与するステップをさらに含む。

【0518】

一部の実施形態では、1種または複数の抗がん療法は、自家幹細胞移植（ASCT）、放射線照射、外科手術、化学療法剤、免疫調節剤および標的化がん療法からなる群から選択される。

【0519】

一部の実施形態では、1種または複数の抗がん療法は、レナリドミド、サリドマイド、ボマリドミド、ボルテゾミブ、カルフィルゾミブ、エロツズマブ（elotuzumab）、イキサゾミブ、メルファラン、デキサメタゾン、ビンクリスチン、シクロホスファミド、ヒドロキシダウノルビシン、プレドニゾン、リツキシマブ、イマチニブ、ダサチニブ、ニロチニブ、ボスチニブ、ボナチニブ、バフェチニブ（bafetinib）、サラカチニブ（saracatinib）、トザセルチブ（tozasertib）もしくはダヌセルチブ（danusertib）、シタラビン、ダウノルビシン、イダルビシン、ミトキサントロン、ヒドロキシウレア、デシタビン、クラドリビン、フルダラビン、トポテカン、エトポシド、6-チオグアニン、コルチコステロイド、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、アザシチジン、三酸化ヒ素およびオールトランスレチノイン酸、またはこれらの任意の組合せからなる群から選択される。

【0520】

一部の実施形態では、ウイルス粒子と共にまたはその後に投与されるべき1種または複数の薬剤は、1種または複数のアダプター分子を含む。一部の実施形態では、このようなアダプター分子は、標的化部分およびハプテンを含んでよい。そのような実施形態では、ウイルス粒子は、ハプテン特異的CARをコードする配列を含んでよい。例示的な組合せは、それぞれその全体が本明細書に組み込まれるWO2021/076788およびUS20170290900に開示されている。

【0521】

操作された細胞療法のEx-vivo製造

一部の態様では、本開示は、ex vivoで細胞に核酸を送達する方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、ex vivoで免疫細胞に核酸を送達する方法を提供する。一部の実施形態では、本開示のウイルス粒子は、ex vivoで免疫細胞を活性化および形質導入する。

【0522】

一部の実施形態では、本開示は、ex vivo CAR T製造プロセスにおいて細胞に核酸を送達する方法を提供する。そのような方法は典型的に、白血球アフェレーシスによる患者からのPBMCの単離が関与する。このような細胞は、洗浄され、必要に応じて1種または複数の選択ステップによりさらに精製されて、目的の特定のT細胞集団を単離する。一部の態様では、これらは、CD4+および／またはCD8+T細胞を含むことができる。洗浄された細胞は、必要に応じて活性化され、次いでレンチウイルスベクターを使用して形質導入され得る。洗浄および精製された細胞は、必要に応じて活性化され、次いでレンチウイルスベクターを使用して形質導入され得る。精製された細胞は、必要に応じて活性化され、次いでレンチウイルスベクターを使用して形質導入され得る。活性化

ステップは、基材に結合された抗CD3および抗CD28抗体等の外因性活性化剤と細胞を接触させること、または結合されていない抗体を使用することを含むことができる。例示的な活性化剤は、抗CD3および抗CD28提示ビーズならびに／または可溶性ポリマーを含む。形質導入後に、細胞は、必要に応じてさらに洗浄されて、収集まで培養される。CAR T細胞を含む操作された細胞療法を製造する方法は、当技術分野で公知である（例えば、それぞれが参照により本明細書に組み込まれる、Abou-el-Enein, M. et al. Blood Cancer Discov (2021), Vol 2(5): 408-422; Arcangeli, S. et al. Front. Immunol (19 Jun 2020), Vol. 11 (1217) 1-13; Ghassemi, S. et al. Nat Biomed Eng (Feb 2022), Vol 6(2): 118-128; Vormittag, P. et al. Curr Opin Biotechnol (Oct 2018), Vol. 54: 164-181を参照）。自家CAR T製造の例示的な方法は、それぞれその全体が本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第2019/0269727号、同第2016/0122782号、同第2021/0163893号およびUS2017/0037369に開示されている。

10

20

30

40

50

【0523】

一部の実施形態では、本開示は、ex-vivo閉ループ製造プロセスにおいて細胞に核酸を送達する方法を提供する。一部の実施形態では、ex-vivo製造プロセスは、体外プロセスである。例示的な実施形態では、本明細書に開示されているレンチウイルスベクターは、閉ループプロセスにおける標的細胞への核酸の送達を可能にする。閉ループおよび／または体外プロセスの例示的な方法は、両者共にそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第2021/0244871およびWO2022072885に開示されている。一部の実施形態では、本明細書に開示されているレンチウイルスベクターを使用して、ex-vivoで細胞に形質導入することができる。例えば、例示的な閉ループ製造プロセスにおいて、細胞は、閉ループシステムにおいて、対象から得られ、洗浄され、レンチウイルス粒子と共にインキュベートおよび／または接触され、必要に応じて再び洗浄され、対象に注入される。そのような実施形態では、本明細書に開示されているレンチウイルス粒子は、細胞の事前の活性化なしであっても有用であり、短いインキュベーションおよび／または接触ステップにおいて細胞に結合することが可能である。一部の実施形態では、インキュベーションおよび／または接触ステップは、およそ1時間またはそれ未満である。一部の実施形態では、インキュベーションおよび／または接触ステップは、およそ2時間もしくはそれ未満、およそ3時間もしくはそれ未満、およそ4時間もしくはそれ未満またはおよそ（approximately）5時間もしくはそれ未満である。一部の実施形態では、インキュベーションおよび／または接触ステップは、12時間未満または24時間未満である。一部の実施形態では、核酸がex-vivoで細胞に進入するように、核酸は、レンチウイルスベクターによる形質導入によって細胞に送達される。一部の実施形態では、核酸は、レンチウイルスベクターを細胞の表面に接触させることにより、細胞に送達される。そのような実施形態では、細胞（レンチウイルスベクターと複合体を形成）が対象に戻し注入された後に、核酸は、ex-vivoまたはin-vivoで細胞に進入することができる。

【0524】

一部の実施形態では、本明細書に開示されているレンチウイルスベクターは、ex-vivo活性化ステップの必要をなくす。そのような実施形態では、単離された細胞は、白血球アフェレーシス、洗浄または選択の直後に形質導入され得る。本明細書に記載されている表面操作が、本明細書に開示されているレンチウイルス粒子が、単一のステップにおいて細胞を活性化および形質導入することを可能にすると企図される。そのような実施形態では、本明細書に開示されているレンチウイルス粒子は、短いもしくは短縮された製造プロセス、1種もしくは複数の単位操作（例えば、形質導入に先立つ活性化）を排除することによるex-vivo製造に費やされる時間の低減、および／または形質導入後細胞培養に必要とされる時間量の低減を可能にすることができる。

【0525】

疾患

本開示は、疾患、障害または状態を処置するために使用することができるウイルス粒子も提供する。一部の実施形態では、疾患または障害は、がんである。一部の実施形態では、がんは、血液悪性腫瘍または固形腫瘍である。一部の実施形態では、対象は、以前の抗がん治療薬を用いた処置から再発性または以前の抗がん治療薬を用いた処置に対して不応性である。

【0526】

一部の実施形態では、本明細書に開示されているウイルス粒子の治療適用は、他の非CAR T細胞処置選択肢に失敗した悪性腫瘍を処置することである。

【0527】

血液悪性腫瘍

一部の実施形態では、がんは、血液悪性腫瘍である。

【0528】

一部の実施形態では、血液悪性腫瘍は、リンパ腫、B細胞悪性腫瘍、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、DLBCL、FL、MCL、辺縁帯B細胞リンパ腫（MZL）、粘膜関連リンパ組織リンパ腫（MALT）、CLL、ALL、AML、ワルデンストレーママクログロブリン血症またはT細胞リンパ腫である。

【0529】

一部の実施形態では、固形腫瘍は、肺がん、肝がん、子宮頸がん、結腸がん、乳がん、卵巣がん、膵がん、黒色腫、神経膠芽腫、前立腺がん、食道がんまたは胃がん（gastric cancer）である。WO2019057124A1には、CD19に結合するT細胞リダイレクト治療薬を用いた処置に適するがんが開示されている。

【0530】

一部の実施形態では、血液悪性腫瘍は、多発性骨髄腫、くすぶり型多発性骨髄腫、意義不明の単クローン性免疫グロブリン血症（MGUS）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、バーキットリンパ腫（BL）、濾胞性リンパ腫（FL）、マントル細胞リンパ腫（MCL）、ワルデンストレーママクログロブリン血症、形質細胞白血病、軽鎖アミロイドーシス（AL）、前駆B細胞リンパ芽球性白血病、前駆B細胞リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病（AML）、骨髄異形成症候群（MDS）、慢性リンパ球性白血病（CLL）、B細胞悪性腫瘍、慢性骨髄性白血病（CML）、ヘアリー細胞白血病（HCL）、芽球性形質細胞様樹状細胞新生物、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、辺縁帯B細胞リンパ腫（MZL）、粘膜関連リンパ組織リンパ腫（MALT）、形質細胞白血病、未分化大細胞リンパ腫（ALCL）、白血病またはリンパ腫である。

【0531】

一部の実施形態では、少なくとも1つの遺伝子異常は、8番染色体と21番染色体の間の転座、16番染色体における転座または逆位、15番染色体と17番染色体の間の転座、11番染色体における変化、または、f i n s 関連チロシンナーゼ3（FLT3）、ヌクレオフォスミン（NPM1）、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ1（IDH1）、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ2（IDH2）、DNA（シトシン-5）-メチルトランスフェラーゼ3（DNMT3A）、CCAAT/エンハンサー結合タンパク質アルファ（CEBPA）、U2核内低分子RNA補助因子1（U2AF1）、z e s t e 2ポリコーム抑制複合体2サブユニットのエンハンサー（EZH2）、1A番染色体の構造維持（SMC1A）もしくは3番染色体の構造維持（SMC3）における変異である。

【0532】

一部の実施形態では、血液悪性腫瘍は、ALLである。

【0533】

一部の実施形態では、ALLは、B細胞系統ALL、T細胞系統ALL、成人ALLまたは小児ALLである。

【0534】

一部の実施形態では、ALLを有する対象は、フィラデルフィア染色体を有する、またはBCR-ABLキナーゼ阻害剤を用いた処置に対して抵抗性であるもしくは獲得抵抗性を有する。

【0535】

Ph染色体は、ALLを有する成人の約20%、およびALLを有する小児のごく一部に存在し、予後不良に関連付けられる。再発時に、Ph+陽性ALLを有する患者は、チロシンキナーゼ阻害剤(TKI)レジメンを受けている可能性があり、したがって、TKIに対する耐性を生じている可能性がある。したがって、選択的なまたは部分的に選択的なBCR-ABL阻害剤に対する耐性を生じている対象に本明細書に記載の方法を投与することができる。例示的なBCR-ABL阻害剤は、例えば、イマチニブ、ダサチニブ、ニロチニブ、ボスチニブ、ボナチニブ、パフェチニブ、サラカチニブ、トザセルチブまたはダヌセルチブである。

10

【0536】

一部の実施形態では、対象は、t(v;11q23)(MLL再編成)、t(1;19)(q23;p13.3);TCF3-PBX1(E2A-PBX1)、t(12;21)(p13;q22);ETV6-RUNX1(TEL-AML1)またはt(5;14)(q31;q32);IL3-IGH染色体再編成を伴うALLを有する。

【0537】

染色体再編成は、周知の方法、例えば、蛍光in situハイブリダイゼーション、核型分析、パルスフィールドゲル電気泳動、または配列決定を使用して同定することができる。

20

【0538】

一部の実施形態では、血液悪性腫瘍は、くすぶり型多発性骨髄腫、MGUS、ALL、DLBCL、BL、FL、MCL、ワルデンストレームマクログロブリン血症、形質細胞白血病、AL、前駆B細胞リンパ芽球性白血病、前駆B細胞リンパ芽球性白血病、骨髄異形成症候群(MDS)、CLL、B細胞悪性腫瘍、CML、HCL、芽球性形質細胞様樹状細胞新生物、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、MZL、MALT、形質細胞白血病、ALCL、白血病、またはリンパ腫である。

【0539】

一部の実施形態では、がんは、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)である。一部の実施形態では、がんは、バーキット型大細胞型B細胞リンパ腫(B-LBL)である。一部の実施形態では、がんは、濾胞性リンパ腫(FL)である。一部の実施形態では、がんは、慢性リンパ球性白血病(CLL)である。一部の実施形態では、がんは、急性リンパ球性白血病(ALL)である。一部の実施形態では、がんは、マントル細胞リンパ腫(MCL)である。

30

【0540】

固形腫瘍

一部の実施形態では、がんは、固形腫瘍である。

【0541】

一部の実施形態では、固形腫瘍は、前立腺がん、肺がん、非小細胞肺がん(NSCLC)、肝がん、子宮頸がん、結腸がん、乳がん、卵巣がん、子宮体がん、膵がん、黒色腫、食道がん、胃がん(gastric cancer)、胃がん(stomach cancer)、腎癌、膀胱がん、肝細胞癌、腎細胞癌、尿路上皮癌、頭頸部がん、神経膠腫、神経膠芽腫、結腸直腸がん、甲状腺がん、上皮がん、または腺癌である。

40

【0542】

一部の実施形態では、前立腺がんは、再発した前立腺がんである。一部の実施形態では、前立腺がんは、不応性前立腺がんである。一部の実施形態では、前立腺がんは、悪性前立腺がんである。一部の実施形態では、前立腺がんは、去勢抵抗性前立腺がんである。

【0543】

定義

50

他に規定がなければ、本明細書で使用されているあらゆる用語（技術および科学用語を含む）は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されている意味と同じ意味を有する。一般的に使用されている辞書で定義されている用語等の用語が、本出願および関連する技術分野の文脈におけるその意味と一貫した意味を有すると解釈されるべきであり、本明細書で明確にそうであると定義されていない限り、理想化されたまたは過度に型通りの意味で解釈されるべきではないことがさらに理解される。本明細書で使用されている用語法は、単に特定の実施形態を表すことを目的としており、限定を意図するものではない。本明細書で言及されているあらゆる刊行物、特許出願、特許および他の参考文献は、それらの全体が参照により組み込まれる。用語法に矛盾が生じる場合、本明細書が優先する。

10

【0544】

「同一」またはパーセント「同一性」という用語は、2つまたはそれよりも多くの核酸またはポリペプチド配列に関しては、2つまたはそれよりも多くの配列または部分配列が、以下の配列比較アルゴリズムのうちの1つを使用してまたは手動でのアラインメントおよび目視検査によって測定して、比較ウィンドウまたは指定された領域にわたって最大に対応について比較し、アラインメントした場合に、特定の領域にわたって、参照配列と、同じである、または特定のパーセンテージの同じアミノ酸残基もしくはヌクレオチドを有する（すなわち、少なくとも約80%の同一性、例えば、少なくとも約85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%の同一性を共有する）ことを指す。したがって、そのような配列は「実質的に同一」と言われる。この定義は、試験配列の相補物（compliment）も指す。一部の実施形態では、少なくとも約25アミノ酸またはヌクレオチドの長さの領域にわたって、例えば、50、100、200、300、400アミノ酸もしくはヌクレオチド長さの領域にわたって、または参照配列の全長にわたって同一性が存在する。

20

【0545】

配列比較に関しては、典型的には、1つの配列が、試験配列の比較対象となる参照配列として作用する。配列比較アルゴリズムを使用する場合、試験配列および参照配列をコンピュータに入力し、必要であれば、部分配列座標を指定し、配列アルゴリズムプログラムパラメータも指定する。初期設定のプログラムパラメータを使用することもでき、代替パラメータを指定することもできる。次いで、配列比較アルゴリズムにより、試験配列について参照配列と比べたパーセント配列同一性をプログラムパラメータに基づいて算出する。一部の実施形態では、BLASTおよびBLAST 2.0アルゴリズムおよび初期設定パラメータを使用する。

30

【0546】

「比較ウィンドウ」は、本明細書で 사용되는場合、2つの配列を最適にアラインメントした後に配列を同じ数の連続した位置の参照配列と比較することができる、20～600、通常は約50～約200、より通常は約100～約150からなる群から選択される連続した位置の数のうちのいずれか1つのセグメントへの言及を包含する。比較のために配列をアラインメントする方法は当技術分野で周知である。比較のための配列の最適なアラインメントは、例えば、Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2: 482 (1981)の局所相同性アルゴリズムによって、Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48: 443 (1970)の相同性アラインメントアルゴリズムによって、Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85: 2444 (1988)の類似性の検索法によって、これらのアルゴリズムのコンピュータ化されたインプリメンテーションによって (Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WIにおけるGAP、BESTFIT、FASTA、およびTFASTA)、または手動でのアラインメントおよび目視検査によって行うことができる（例えば、Ausubel et al., eds., Current Protocols in Molecular Biology (1995 supplement)を参照されたい）。パーセント配列同一性および配列類似性を決定す

40

50

るための適切なアルゴリズムの例は、BLASTおよびBLAST 2.0アルゴリズムであり、これらは、それぞれAltschul et al., J. Mol. Biol. 215: 403-410(1990)およびAltschul et al., Nucleic Acids Res.25: 3389-3402 (1977)に記載されている。BLAST解析を実施するためのソフトウェアは、National Center for Biotechnology Information (ワールドワイドウェブncbi.nlm.nih.gov/)を通じて公的に入手可能である。

【0547】

下記の通り、2つの核酸配列またはポリペプチドが実質的に同一であることの指標は、第1の核酸によってコードされるポリペプチドが第2の核酸によってコードされるポリペプチドに対して生じる抗体と免疫学的に交差反応性であることである。したがって、ポリペプチドは、典型的には、第2のポリペプチドと、例えば、2つのペプチドが保存的置換のみで異なる場合には、実質的に同一である。2つの核酸配列が実質的に同一であることの別の指標は、2つの分子またはそれらの相補物がストリンジェントな条件下で互いにハイブリダイズすることである。2つの核酸配列が実質的に同一であることのさらに別の指標は、同じプライマーを使用してこれらの配列を増幅することができることである。

10

【0548】

本発明の記載および添付の特許請求の範囲において使用される場合、単数形「ある(a)」、「ある(an)」および「その(the)」は、文脈がそれ以外のことを明らかに指し示さない限り、同様に複数形も含むことを意図する。

20

【0549】

また、本明細書で使用される場合、「および／または」は、関連する収載された項目のうち1種または複数のありとあらゆる可能な組合せと共に、代替手段（または）で解釈される場合は組合せの欠如を指しこれを包含する。

【0550】

本明細書で使用される場合、「投与すること(administering)」は、例えば、経腸、非経口、肺、および局部／経皮投与を含めた、局所および全身投与を指す。本明細書に記載の方法において使用される医薬成分（例えば、ベクター）の投与経路としては、例えば、対象への、経口(oral)（経口(per os)(P.O.))投与、経鼻もしくは吸入投与、坐薬としての投与、局部接触、経皮送達（例えば、経皮吸収パッチによるもの）、髄腔内(IT)投与、静脈内(「iv」)投与、腹腔内(「ip」)投与、筋肉内(「im」)投与、病巣内投与、もしくは皮下(「sc」)投与、または緩効性デバイス、例えばミニ浸透圧ポンプの埋め込み、デポ剤製剤などが挙げられる。投与は、非経口および経粘膜（例えば、経口、経鼻、膣、直腸、または経皮）を含めた任意の経路によるものであり得る。非経口投与としては、例えば、静脈内、筋肉内、動脈内、腎臓内、尿道内、心臓内、冠動脈内、心筋内、皮内、硬膜外、皮下、腹腔内、脳室内、イオン泳動および頭蓋内が挙げられる。他の送達様式としては、これだけに限定されないが、リポソーム製剤、静脈内注入、経皮吸収パッチなどの使用が挙げられる。

30

【0551】

「全身投与(systemic administration)」および「全身に投与される(systemically administered)」という用語は、医薬成分または組成物を哺乳動物に、医薬成分または組成物が、医薬作用の標的にされる部位を含めた体内の部位に循環系によって送達されるように投与する方法を指す。全身投与としては、これだけに限定されないが、経口、鼻腔内、直腸および非経口（例えば、筋肉内、静脈内、動脈内、経皮および皮下などの、消化管を通るもの以外）投与が挙げられる。

40

【0552】

「共投与すること(co-administering)」または「並行投与」という用語は、例えば、医薬成分（例えば、ベクター）および／またはその類似体と別の活性薬剤（例えば、多特異性抗体）に関して使用される場合、医薬成分および／または類似体と

50

活性薬剤を、それらがどちらも生理作用を同時に達成することができるように投与することを指す。しかし、2種の薬剤を一緒に投与する必要はない。一部の実施形態では、一方の薬剤の投与が他方の薬剤の投与に先行し得る。同時の生理作用には、必ずしも両方の薬剤が循環中に同時に存在することを求める必要はない。しかし、一部の実施形態では、共投与の結果、典型的には、両方の薬剤が任意の所与の用量に関してそれらの最高血清中濃度に対して有意な割合（例えば、20%またはそれよりも大きい、例えば、30%または40%またはそれよりも大きい、例えば、50%または60%またはそれよりも大きい、例えば、70%または80%または90%またはそれよりも大きい）で同時に体内（例えば、血漿中）に存在する。

【0553】

10

「有効量」または「薬学的有効量」という用語は、所望の結果をもたらすために必要な、1つまたは複数の医薬成分（例えば、ベクター）の量および／もしくは投与量、ならびに／または投与量レジームを指す。

【0554】

「投与をもたらす（cause to be administered）」という句は、問題の薬剤（複数可）／化合物（複数可）の対象への投与を管理および／または許容する、医療専門家（例えば、医師）または対象の診療を管理する人によって取られる行動を指す。投与をもたらすことには、対象に対する、適当な治療もしくは予防レジメンの診断および／もしくは決定、ならびに／または特定の薬剤（複数可）／化合物の処方が伴い得る。そのような処方には、例えば、処方形態を立案すること、診断記録に注釈をつけることなどが含まれ得る。

20

【0555】

本明細書で使用される場合、「処置すること（treating）」および「処置（treatment）」という用語は、この用語が適用される疾患もしくは状態、またはそのような疾患もしくは状態の1つもしくは複数の症状のいずれかの発症を遅延させること、その進行を阻止するもしくは逆転させること、その重症度を低下させること、またはそれを軽減もしくは防止することを指す。「処置すること（treating）」および「処置（treatment）」という用語はまた、疾患または状態の1つまたは複数の症状を防止すること、緩和すること、好転させること、低減すること、阻害すること、排除すること、および／または逆転させることも包含する。

30

【0556】

「緩和すること（mitigating）」という用語は、その病変もしくは疾患の1つもしくは複数の症状の低減もしくは排除、および／またはその病変もしくは疾患の1つもしくは複数の症状の発症もしくは重症度の率の低下もしくは遅延、および／またはその病変もしくは疾患の防止を指す。一部の実施形態では、病変または疾患の1つまたは複数の症状の低減また排除には、例えば、腫瘍体積の測定可能かつ持続的な減少が含まれ得る。

【0557】

本明細書で使用される場合、「から本質的になる」という句は、方法または組成物に関して列挙されている活性な医薬品の属または種を指し、それ自体では列挙されている適応症または目的に関して実質的な活性を有さない他の薬剤をさらに含み得る。

40

【0558】

「対象」、「個体」および「患者」という用語は、互換的に、哺乳動物、好ましくはヒトまたは非ヒト霊長類を指すが、飼育慣らされた哺乳動物（例えば、イヌ科の動物またはネコ科の動物）、実験用哺乳動物、および農業用哺乳動物も指す。種々の実施形態では、対象は、ヒト（例えば、成人男性、成人女性、青年男性、青年女性、男児、女児）であり得る。

【0559】

用語「ウイルス粒子」は、本明細書で使用される場合、別の薬剤とは独立して細胞に外来性核酸分子を送達することが可能な高分子複合体を指す。粒子は、ウイルス粒子または

50

非ウイルス粒子であり得る。ウイルス粒子は、レトロウイルス粒子およびレンチウイルス粒子を含む。非ウイルス粒子は、細胞内へのポリヌクレオチドの送達のための、リポソーム、ナノ粒子および他の被包システムに限定される。

【0560】

遺伝子の名称の前にある略語「α」または「抗」は、標的に特異的に結合する抗体または抗体の抗原結合性断片（s c F v等）を指す。例えば、α C D 1 9は、抗 C D 1 9抗体またはその抗原結合性断片を指し、α C D 3は、抗 C D 3抗体またはその抗原結合性断片を指す。

【0561】

本明細書で使用される場合、「発現カセット」または「ベクターゲノム」という用語は、適当な状況において、前記発現カセットに組み入れられるポリペプチド（例えば、キメラ抗原受容体）をコードするポリヌクレオチド（「導入遺伝子」または「ペイロード」）の発現を駆動することが可能なDNAセグメントを指す。宿主細胞に導入されると、発現カセットは、とりわけ、細胞の機構に指示して、導入遺伝子をRNAに転写させることが可能であり、次いで、転写されたRNAは通常さらにプロセッシングされ、最終的にポリペプチドに翻訳される。発現カセットは、粒子（例えば、ウイルス粒子）に含めることができる。一般に、発現カセットという用語は、5' I T Rに対して5'側のポリヌクレオチド配列および3' I T Rに対して3'側のポリヌクレオチド配列を除外する。

【0562】

用語「導入遺伝子」または「ペイロード」は、移入される核酸それ自体を指す。導入遺伝子は、ネイキッド核酸分子（プラスミド等）またはRNAであってよい。導入遺伝子は、1種または複数のポリペプチド（例えば、キメラ抗原受容体）をコードするポリヌクレオチドを含み得る。導入遺伝子は、1種または複数の異種タンパク質（例えば、キメラ抗原受容体）、1種または複数のカプシドタンパク質、および標的細胞へのポリヌクレオチドの形質導入に必要な他のタンパク質をコードするポリヌクレオチドを含み得る。

【0563】

「由来する（derived）」という用語は、細胞をそれらの生物学的供給源から得、i n v i t r oで成長させたまたは他の方法でマニピュレートした（例えば、集団を増大させるためおよび／または細胞株を作製するために成長培地で培養した）ことを示すために使用される。

【0564】

「形質導入する」という用語は、核酸を細胞または宿主生物体内に粒子（例えば、レンチウイルス粒子）によって導入することを指す。したがって、導入遺伝子の細胞内へのウイルス粒子による導入は、細胞の「形質導入」と称され得る。導入遺伝子を形質導入された細胞のゲノム核酸に組み込んでもよく、組み込まなくてもよい。導入された導入遺伝子がレシピエント細胞または生物体の核酸（ゲノムDNA）に組み込まれる場合、その導入遺伝子はその細胞において安定に維持され得る。あるいは、導入された導入遺伝子は、レシピエント細胞または宿主生物体の染色体外に、または一過性にのみ、存在し得る。したがって、「形質導入された細胞」は、形質導入によって導入遺伝子が導入された細胞である。したがって、「形質導入された」細胞は、ポリヌクレオチドが導入された細胞である。

【0565】

「形質導入効率」という用語は、細胞培養物を粒子と接触させると導入遺伝子を発現するまたは形質導入する細胞の割合の表現である。一部の実施形態では、効率は、所与の数の細胞を所与の数の粒子と接触させた場合に導入遺伝子を発現する細胞の数として表すことができる。一部の実施形態では、「相対的な形質導入効率」は、1つの条件で所与の数のウイルス粒子によって形質導入された細胞の、同様の数の同じ細胞型の細胞を含む別の条件で同じ数の粒子によって形質導入された細胞の割合に対する割合である。相対的な形質導入効率は、ほとんどの場合、形質導入効率のモジュレーターの、そのモジュレーターで処置される細胞および／もしくは動物または処置されない細胞および／もしくは動物に

対する影響を比較するために使用される。

【0566】

本明細書で言及されているあらゆる刊行物および特許は、あたかも個々の刊行物または特許のそれぞれが参照により本明細書に組み込まれると具体的にかつ個々に指し示されているかのように、これによりそれらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。矛盾が生じる場合、本明細書におけるいかなる定義も含めて本出願が優先する。しかし、本明細書に引用されているいずれかの参考文献、論文、刊行物、特許、特許公開および特許出願の言及は、それらが有効な先行技術を構成するかまたは世界のいずれかの国における共通の一般知識の一部を形成することの承認でもいずれかの形態の示唆でもなく、そのようなものとして解釈されるべきではない。

10

【0567】

本明細書で使用されているセクション見出しは、単なる構成を目的としており、記載されている主題の限定として解釈されるべきではない。

【0568】

説明的な実施形態を説明および記載してきたが、本発明の精神および範囲から逸脱することなく、その中に様々な変更を行い得ることが十分に理解される。

【実施例】

【0569】

次の実施例は、本明細書に記載されている組成物および方法をどのように使用、作製および評価することができるかについての記載を当業者に提供できるように示されており、純粋に例示的であることを意図するものである。

20

【0570】

(実施例1)

粒子生成

本研究の目的は、ウイルス粒子の表面への共刺激分子、CD80および／または接着タンパク質、CD58の取込みの影響を調査することであった。そのようなウイルス粒子の概略図は、図1に提示されている。

【0571】

ウイルス産生

2.5 ml 完全DMEM培地の総体積中1.2 × 10⁶個の293T細胞を、TC処理6ウェルプレートに播種した。24時間後に、細胞をトランスフェクトした（6ウェルプレートの1ウェルのために書かれたプロトコル；全ての試薬を室温にするべきである）。

30

【0572】

次のDNAを500 μl 無血清OptiMEM培地に添加した：2 μg 移入プラスミド、1 μg Gag/po1プラスミド、1 μg REVプラスミド、1 μg エンベローププラスミド。次に、15 μl (15 μg) PEIを培地／DNAミックスに添加した。混合物を十分に混合し、室温で20分間インキュベートした。次に、培地／DNA／PEIミックスを2.5 ml 新鮮完全DMEM培地に添加した。293T含有ウェル内の播種培地を除去し、トランスフェクション試薬を含有する新鮮培地に置き換え、37℃加湿インキュベーター内に置いた。48時間後に、上清を収集し、0.45 μm PVDFフィルターを通して濾過した。Amicon-Ultra 15 100Kカラムを使用して上清を濃縮し、3000 × gにて30分間4℃で遠心分離した。次に、ウイルスを4℃で使用まで貯蔵した。

40

【0573】

293T形質導入力価

1 ml 完全DMEM培地中1 × 10⁵個の293T細胞を、TC処理12ウェルプレートに播種した。24時間後に、空ウェルを3 × 計数して、力価を計算した。次に、ウェル当たり量：2 μl、1 μl、0.5 μl、0.2 μl、0.1 μl、0.05 μlのウイルスで、ウイルスをウェルに添加する。293T細胞に添加する前に、ウイルスを1：1

50

00希釈した。3日後に、フローサイトメトリーによる解析のために293T細胞を収集した。培地を除去し、細胞をPBSにおいて洗浄し、次いで細胞をトリプシンにおいて洗浄し、37℃インキュベーター内で約3～5分間インキュベートした。細胞を1ml FACS緩衝液に再懸濁し、約100～200ulを96ウェルV底プレートに添加した。mCherry発現についてフローサイトメトリー解析を行った。

【0574】

293T力価計算：

$TU/ml = (形質導入時の細胞の\# \times \%mCherry + \times 100) / (ul単位のベクター体積 \times 1000)$

【0575】

CD3scFV単独またはCD3scFV+CD80、CD3scFV+CD58またはCD3scFV+CD80+CD58のいずれかを含有する抗CD19 CARをパッケージングする操作された粒子を、2～3名のドナー由来のPBMCに添加した。

【0576】

(実施例2)

共刺激または接着分子を発現するウイルス粒子は、T細胞活性化および形質導入を増強する

ウイルス粒子上における共刺激分子および／または接着分子の取込みが、ウイルス粒子の形質導入を増強することができるかどうか決定するために、実施例1で生成されたウイルス粒子をPBMCと共にインキュベートした。

【0577】

ウイルス産生

使用された全ての溶液は、実施例1に記載されているものと同じであった。28×10⁶個の293T細胞を、16×T175フラスコ（ベクター当たり8×）内に、それぞれ25ml完全DMEM培地の総体積中28e6個の293T細胞で播種した。24時間後に、細胞をトランスフェクトした。実施例1に記載されている通りにウイルスを産生した。全てのウイルスが、コカルエンベロープタンパク質を含んだ。

研究のために作製されたウイルス調製物のリスト：

1. CD3scfvのみ

2. CD3scfv+CD58

3. CD3scfv+CD80

【0578】

PBMC形質導入およびフローサイトメトリーのための染色

50×10⁶個のPBMCを解凍し、完全培地（例えば、RPMIまたはOptimem）中に2×10⁶個の細胞/mlになるように希釈した。50IU/mlの最終濃度になるようにIL-2を添加した。

【0579】

500μl（1e6個の細胞）を、非TC処理48ウェルプレートのウェルに添加した。ベクターを、SupT1 ddPCR力価に基づきMOI=10、5および2でウェルに添加し、プレートを37℃インキュベーター内に置いた。

【0580】

3日後、ベクターを洗い流し、500μl新鮮RPMI培地+IL-2（50IU/ml）に置き換えた。細胞を混合し、100～300μlを、活性化フローサイトメトリー解析のために96ウェルV底プレート内のウェルに添加した。次に、細胞を200μl FACS緩衝液で洗浄した。細胞ペレットを、LiveDead Stain（1：1000）を含有する50～100μl PBSに再懸濁し、4℃で20分間インキュベートし、続いて200μl FACS緩衝液でもう1回洗浄した。細胞を50μlのFACS緩衝液+表面染色カクテルに再懸濁し、30分間4℃でインキュベートし、200μl FACS緩衝液で洗浄した。

【0581】

10

20

30

40

50

結果および結論

共刺激分子を有するウイルス粒子が、ヒトT細胞をより良く活性化することができるか査定するために、ベクター粒子を、いくつかのMOIでヒトPBMCに添加した。3日後に、ウイルスを除去し、細胞に新鮮培地を与え、活性化マーカーCD25について解析した。CD3scfv+CD58およびCD3scfv+CD80粒子は、CD3scfvのみと比較して、CD8 T細胞を強力に活性化した(図2Aおよび図2B)。さらに、CD25上方調節は、用量依存性であった(図2Aおよび図2B)。CD3scfvのみウイルス粒子は、CD80またはCD58を有する粒子と比較して、最小レベルのCD25を誘導した(図2Aおよび図2B)。

【0582】

形質導入を試験するために、ベクター添加の合計6日後に、試料を抗CD19 CAR発現について解析した。3日目のCD25発現に酷似して、CD3scfv+CD58およびCD3scfv+CD80粒子は、刺激されていないPBMCに形質導入することが可能であったが、CD3scfvのみ粒子は、より少ない程度で、刺激されていないPBMCに形質導入した(図2C~図2F)。さらに、形質導入は、CD3およびCD8 T細胞の両方について用量依存性様式で生じた(図2C~図2F)。データは、CD3scfv+CD58およびCD3scfv+CD80粒子が、CD3scfvのみと比較して、*in vitro*で、刺激されていないPBMCを効率的に活性化および形質導入することを示す。重要なことに、増強された粒子は、増加した数のCAR+T細胞をもたらす(図2D~図2F)。

【0583】

粒子への共刺激分子の添加が、*in vitro*でCAR+細胞のRapa媒介性増大を増強するか決定するために、CD3scfvのみ粒子と比較して、CD3scfv+CD80粒子を使用してCD8 T細胞の増大倍率を決定した。IL-2のみ培地またはラパマイシンのみ培地のいずれかにおいてPBMCを培養した(were cultures)。共刺激分子の添加は、IL-2のみと共に培養された場合に増大倍率に影響を与えなかった(図2G)が、共刺激分子は、ラパマイシン-培地と共に培養された場合に劇的な増大を誘導した(図2H)。これらの結果は、粒子への共刺激分子の添加が、*in vitro*でCAR+細胞のラパマイシン媒介性増大を増強することを実証する。

【0584】

本研究は、*in vitro*で、刺激されていないPBMCへと抗CD19 CARからなるペイロードを送達するCD3scfv+共刺激分子エンベロープ構築物の能力を実証した。CD3scfv+CD58およびCD3scfv+CD80粒子は、CD25発現によって測定されるT細胞の活性化を誘導し、この活性化は、抗CD19 CARを発現するT細胞および総CAR+T細胞の%によって測定される形質導入と相関した。さらに、活性化および形質導入は、用量依存性様式で生じた。共刺激分子はまた、*in vitro*でCAR+細胞のラパマイシン媒介性増大を増強する。このデータは、*in vitro*および*in vivo*で、刺激されていないPBMCにCARペイロードを送達するためのCD3scfv+CD58およびCD3scfv+CD80粒子の使用をさらに支持する。

【0585】

(実施例3)

共刺激および／または接着分子を発現するウイルス粒子は、T細胞活性化、形質導入およびその後の腫瘍細胞殺傷を増強する

共刺激分子(CD80)および接着タンパク質(CD58)の組合せが、T細胞活性化および形質導入をさらに増強することができるかどうか決定するために、両方の分子を有する粒子を生成した。このような粒子を、抗CD3scfvのみを有する粒子と比較して、刺激されていないヒトPBMCを活性化および形質導入するその能力について試験した。

【0586】

ウイルス産生

使用された全ての溶液は、実施例 1 に記載されているものと同じであった。28×10⁶個の293T細胞を、16×T175フラスコ（ベクター当たり8×）に、それぞれ25ml完全DMEM培地の総体積中28×10⁶個の293T細胞で播種した。24時間後に、細胞をトランスフェクトした。実施例 1 に記載されている通りにウイルスを産生した。

研究のために作製されたウイルス調製物のリスト：

1. CD3scfvのみ
 2. CD3scfv+CD58
 3. CD3scfv+CD80
 4. CD3scfv+CD80+CD58
- 【0587】

PBMC形質導入および解析

実施例 2 に記載されている通りに、PBMCに形質導入し、発現について解析した。

【0588】

上清サイトカイン解析は、形質導入の3日後にMeso Scale Discovery (MSD) によって測定した。

【0589】

総K562、CD19、RajiおよびNALM6腫瘍細胞を、最大15日間Incucyte（登録商標）において経時的に追跡した。

【0590】

結果および結論

共刺激分子および接着分子を有するウイルス粒子が、T細胞活性化および形質導入を増強するかどうか査定するために、ウイルス粒子を、いくつかのMOIでヒトPBMCに添加した。3日後に、ウイルスを除去し、細胞に新鮮培地を与え、活性化マーカーCD25について解析した。CD3scfv+CD80+CD58粒子は、CD3scfv+CD58、CD3scfv+CD80およびCD3scfvのみと比較して、CD8 T細胞を強力に活性化した（図3Aおよび図3B）。さらに、CD25上方調節は、用量依存性であり、CD3scfv+CD80+CD58粒子は、はるかにより低い用量で、CD8 T細胞を活性化した（図3Aおよび図3B）。CD3scfv+CD58、CD3scfv+CD80およびCD3scfvのみウイルス粒子は、CD3scfv+CD80+CD58粒子と比較して、最小レベルのCD25を誘導した（図3Aおよび図3B）。

【0591】

T細胞活性化をさらに特徴付けするために、ベクター添加の合計3日後に、サイトカイン発現について試料を解析した。CD25発現と同様に、CD3scfv+CD80およびCD3scfv+CD80+CD58粒子は、より低い用量で、刺激されていないPBMCのIFN-γ産生を誘導することが可能であった一方で、CD3scfv+CD58およびCD3scfvのみ粒子は、より少ない程度で、刺激されていないPBMCに形質導入した（図3C）。さらに、CD3scfv+CD80+CD58粒子は、頑強なIL-2およびTNF-αを誘導した一方で、CD3scfv+CD58、CD3scfv+CD80およびCD3scfvのみは、これを誘導しなかった（図3Dおよび図3E）。データは、CD3scfv+CD80+CD58粒子が、CD3scfv+CD58、CD3scfv+CD80およびCD3scfvのみと比較して、*in vitro*で、刺激されていないPBMCにおけるサイトカイン産生を効率的に誘導することを示す。

【0592】

形質導入におけるCD80およびCD58の役割を試験するために、ベクター添加の合計3日後に、CD3scfv+CD58、CD3scfv+CD80およびCD3scfvのみと比較して、CD3scfv+CD80およびCD3scfv+CD58混合粒子（図3Fおよび図3G）または同じ粒子上のCD3scfv+CD80+CD58（図3Hおよび図3I）により抗CD19 CAR発現について試料を解析した。CD3scfv

10

20

30

40

50

v + CD 8 0 および CD 3 s c f v + CD 5 8 混合粒子または同じ粒子上の CD 3 s c f v + CD 8 0 + CD 5 8 は両者共に、CD 3 s c f v + CD 5 8、CD 3 s c f v + CD 8 0 および CD 3 s c f v のみよりも大きい程度で、刺激されていない P B M C に形質導入することが可能であった（図 3 F、図 3 G、図 3 H および 図 3 I）。さらに、形質導入は、CD 3 および CD 8 T 細胞の両方について用量依存性様式で生じた（図 3 F、図 3 G、図 3 H および 図 3 I）。データは、CD 5 8 および CD 8 0 の両方が、混合粒子中または同じ粒子上のいずれであっても、CD 3 s c f v + CD 5 8、CD 3 s c f v + CD 8 0 および CD 3 s c f v のみと比較して、in v i t r o で、刺激されていない P B M C をより良く活性化および形質導入することを示す。

【0593】

共刺激および／または接着分子を有するウイルス粒子が、T 細胞への粒子結合を増強したかどうか決定するために、粒子を P B M C と共に 6 時間培養し、次いで T 細胞における粒子会合分子（コカル、CD 8 0 および CD 5 8）について解析した。CD 3 s c f v + CD 5 8 および CD 3 s c f v + CD 8 0 + CD 5 8 の両方が、コカル染色を増加させ（図 3 J）、CD 3 s c f v + CD 8 0 + CD 5 8 のみが、CD 8 0（図 3 K）および CD 5 8（図 3 L）の高い染色（high staining）を実証した。データは、CD 3 s c f v + CD 8 0 + CD 5 8 の組合せが、T 細胞への粒子結合を増強することを示す。

【0594】

異なる T 細胞サブタイプが、ウイルス粒子によって生成されるかどうか決定するために、ウイルス粒子と共に培養された P B M C を、生存可能な、CD 3 + および CD 8 + に関してプロファイリングおよびゲーティングした。フローによって細胞をさらに解析し、収載されたパラメーター：CCR 7、CD 4 5 R、CD 4 5 R A、CD 2 7、CD 2 5、C A R +、総細胞、CD 4 および CD 8 に基づき主成分解析を行った。解析は、3 種の主な表面抗原分類が、異なる粒子によって産生されることを明らかにした（図 3 M）。

【0595】

次に、粒子によって生成された T 細胞サブタイプをプロファイリングした。10 の M O I における形質導入の 7 日後に、CD 4 5 R A および C C R 7 マーカーを使用して細胞を査定した。ナイーブ T 細胞は CD 4 5 R A + C C R 7 + であり、エフェクター T 細胞（T e f f）は CD 4 5 R A - C C R 7 - であり、セントラルメモリー T 細胞（T c m）は CD 4 5 R A - C C R 7 + であり、終末分化したエフェクターメモリー T 細胞（T e m r a）は CD 4 5 R A + C C R 7 - である。第 1 の実験において、CD 3 s c f v のみ粒子は、T e f f 細胞の大部分を産生した一方で、CD 3 s c f v + CD 8 0 粒子は、T c m 細胞の大部分を産生した（図 3 N）。第 2 の実験において、CD 3 s c f v のみ粒子は、T e f f および T c m 細胞の両方を産生し、CD 3 s c f v + CD 8 0 粒子は、T c m 細胞の大部分を産生し、CD 3 s c f v + CD 5 8 粒子は、T c m 細胞の大部分を産生し、CD 3 s c f v + CD 8 0 + CD 5 8 は、T c m 細胞の大部分を産生した（図 3 O）。データは、粒子への CD 8 0 および／または CD 5 8 の添加の両方が、T c m 細胞表現型を一貫して産生することを示す。CD 4 5 R A - C C R 7 + T c m 細胞は、増加した長寿命および増殖能力を有し、in v i v o におけるより優れた抗腫瘍応答と相関することが考えられる。

【0596】

共刺激および／または接着分子を発現するウイルス粒子を使用して生成された C A R T 細胞の抗腫瘍（ant-tumor）有効性を査定するために、P B M C に形質導入し、腫瘍細胞と共に培養した。具体的には、抗 CD 1 9 C A R をコードするヌクレオチド配列を含む粒子を 10 の M O I で、5 : 1 の P B M C : 腫瘍比の腫瘍細胞（K 5 6 2、CD 1 9 または R a j i 細胞）と共に、P B M C に添加し、I n c u c y t e に直接かけた。腫瘍細胞殺傷を経時的に測定した。最高の殺傷は、CD 3 s c f v に加えて少なくとも CD 8 0 で構成された粒子により観察された（図 4 A および 図 4 B）。その後の実験において、10 の M O I による形質導入の 7 日後に腫瘍細胞殺傷を測定した。C A R + 細胞の総数を計算し、それぞれ 0.5 および 1 の E : T 比で、K 5 6 2、CD 1 9 または R a j i 細胞

10

20

30

40

50

のいずれかと共にインキュベートした。CD80またはCD58を有する個々の粒子の混合物を使用して、CAR T細胞を生成した。同様に、最高の殺傷は、CD80+CD58を含む、CD3scfvに加えて少なくともCD80で構成された粒子により観察された（図4Cおよび図4D）。追加の実験は、CD80およびCD58の両方を有する単一のウイルス粒子により生成されたCAR T細胞の効果を決定した。MOI 10における形質導入の7日後に、腫瘍細胞殺傷を測定した。CAR+細胞の総数を計算し、それぞれ1:1のE:T比で、K562、CD19またはNALM6細胞のいずれかと共にインキュベートした。CD80+CD58二重粒子は、最高の細胞傷害性機能を提供した（図4Eおよび図4F）。

【0597】

本研究は、CD3scfv+CD80+CD58粒子が、最低のMOIで、T細胞の最高の分化および最高のサイトカイン産生を誘導したことを実証した。CD3scfv+CD80+CD58粒子は、最高のT細胞結合をさらに有した。さらに、本研究は、CD3scfv+CD80+CD58粒子が、*in vitro*で最高の細胞溶解性機能を提供したことを実証した。

【0598】

（実施例4）

共刺激および／または接着分子を有するウイルス粒子によるT細胞の*in vivo*形質導入からの腫瘍制御

本研究は、CD3scfvまたはCD3scfv+CD80を有するレンチウイルス粒子によるT細胞の*in vivo*形質導入からの腫瘍制御を査定した。レンチウイルス粒子は、抗CD19 CARをコードするポリヌクレオチドを含有する。NSG MHC I / II KOマウスへの静脈内注射によりレンチウイルス粒子を送達した。研究において使用されるマウスは、免疫無防備状態であり、移植されたヒトT細胞および循環するヒトB細胞を含有する。

【0599】

研究設計

ウイルス調製、動物系統、細胞系

施設のガイドライン（Fred Hutchinson Cancer Research Center）に従って、11匹の雌NSG MHC I / II KOマウス（Jackson laboratory）を収容した（were and housed）。

【0600】

研究プロトコール

11匹の雌NSG MHC I / II KOマウスは、受け取り後1週間にわたり順化させた。－7日目に、フローサイトメトリー解析のために全マウスから血液を収集して、ヒト化の程度を定量した。マウスを、その総ヒトCD3レベルに従って、表2に記載されている処置群へとランダム化した。

【表2】

表2: 研究処置群

群	N	ウイルス型	投与経路*	ウイルス用量(力価単位)
1	6	CD3scfv	IV	5千万 TU 0日目
2	5	CD3scfv+CD80	IV	5千万 TU 0日目

【0601】

研究タイムライン

研究0日目（SD0）に、 20×10^6 個のPBMCを腹腔内に注射した。次に、マウスに、上の表に従ってウイルス粒子を投与し、続いて、静脈内で 5×10^5 個のルシフェラーゼ+NaIm6腫瘍細胞をチャレンジした。腫瘍負荷を研究期間にわたって測定した。SD11に、血液を収集し、CAR T細胞を測定した。

【0602】

SD75に、生き残ったマウスに、 5×10^6 個のNaIm6細胞を再チャレンジした。

【0603】

結果および結論

研究11日目に、両方の群から血液を収集した。血液中のCAR T細胞のレベルは、CD3scfv粒子処置群と比較して、CD3scfv+CD80粒子処置群においてより高かった（図5A）。CD3scfv+CD80粒子処置群はまた、CD3scfv粒子処置群と比較して、初回チャレンジおよびその後の再チャレンジにおいて腫瘍負荷を減少させることができた（図5Bおよび図5C）。

【0604】

まとめると、静脈内送達された場合、CD3scfvおよびCD3scfv+CD80操作レンチウイルス粒子は、*in vivo*でT細胞の形質導入に成功した。両方の群が、初回チャレンジおよびその後の再チャレンジ後に腫瘍負荷を減少させたが、共刺激分子CD80を有する粒子が、より優れた抗腫瘍有効性および抗腫瘍免疫応答を提供した。

【0605】

（実施例5）

短時間のインキュベーション期間の後の効率的なT細胞形質導入

本研究は、短いインキュベーション期間でT細胞に形質導入する本明細書に記載されている操作されたウイルス粒子の能力を査定した。理論に制約されることを望むものではないが、本研究は、記載されている操作された粒子が、体外静脈内システムにおいて有用となり得るという概念実証支持を提供する。

【0606】

3名の健康なドナー由来のPBMCを解凍し、全般的に実施例2に記載されている通りに、CD3scfv+コカルまたはCD3scfv+CD80+CD58+コカルのいずれかによりシュードタイプ化されたCD19 CAR-mCherryペイロードを含有するベクター粒子と共に培養した。指し示される時点の後に、IL2、ヒトab血清、HEPESおよびグルタミンを含有する無血清培地において細胞を洗浄した。次に、24ウェル非TC処理プレート内のIL-2入り1ml無血清培地において、細胞をプレATINGした。3日後に、細胞を収集し、生存可能T細胞におけるフローサイトメトリーによってCD25発現を測定した（図6A）。残っている細胞を洗浄し、IL-2を含有する1ml新鮮培地において再プレATINGした。4日後（形質導入後7日目）に、生存可能T細胞をCAR表面発現についてフローサイトメトリーによって解析した（図6B）。抗CD19 mAbおよびmCherry発現について染色することにより、%CARを測定した。

【0607】

図6A～図6Bに示す通り、活性化、共刺激および接着分子を含むベクター粒子（例えば、CD3scfv+CD80+CD58粒子）は、短いインキュベーション期間の後に、共刺激および接着構成成分なしでCD3scfvを含む粒子よりも大きい程度で、T細胞に効率的に形質導入した。これらの結果は、本明細書に記載されているベクター粒子が、例えば、閉ループおよび／または体外システムにおいて、*ex vivo*で短いインキュベーション期間においてT細胞形質導入を可能にし得ることを指し示す。

【0608】

（実施例6）

ブラインド化エンベロープタンパク質の形質導入レスキュー

本研究は、変異したエンベロープタンパク質を含むウイルス粒子の形質導入潜在能を査

10

20

30

40

50

定した。VSV-Gまたはコカル等のエンベロープタンパク質は、LDL受容体に結合することができなくなるように変異され得る。これらの改変は、ウイルス粒子の特異性を増強し、オフターゲット形質導入を低減または排除することができる。

【0609】

SupT1細胞を、全般的に実施例2に記載されている通りに生成されたCD19 CAR-mCherryペイロードを含有するベクター粒子と共に培養した。具体的には、0.02uLの濃縮粒子を 3.75×10^4 個のSupT1細胞に添加し、3日後にCAR発現について査定した。細胞を次の条件で培養した：

【表4】

条件	粒子の説明
α CD3/CD58/CD80; VSVGなし	CD3scFv+CD80+CD58; エンベロープなし
VSVG	VSV-Gのみ
VSVG (R354Q)	VSV-G (R354Q)のみ
VSVG (K47Q)	VSV-G (K47Q)のみ
α CD3/CD58/CD80; VSVG	CD3scFv+CD80+CD58; VSV-G
α CD3/CD58/CD80; VSVG (R354Q)	CD3scFv+CD80+CD58; VSV-G (R354Q)
α CD3/CD58/CD80; VSVG (K47Q)	CD3scFv+CD80+CD58; VSV-G (K47Q)

10

【0610】

図7Aの上の列に示す通り、ブラインド化VSV-G変異体エンベロープ単独を含むウイルス粒子(CD3scFv+CD80+CD58なし)は、非ブラインド化VSV-G対照と比較して、SupT1細胞の大幅に低減された形質導入を示した。図7Aに描写される下の列は、ブラインド化VSV-G変異体エンベロープタンパク質を含む粒子における活性化、共刺激および接着分子の添加が、増加された形質導入をもたらしたことを示す。

20

【0611】

T細胞系を使用して見られた結果を確認することを望んで、PBMCを使用して実験を再現した。0日目に、2名のドナー由来のPBMCを解凍し、 2×10^6 個の細胞を24ウェルプレートのウェル内に置いた。全般的に実施例2に記載されている通りに生成されたCD19 CAR-mCherryペイロードを含有するベクター粒子を、次のチャートに従って各細胞含有ウェルに添加した。

30

【表5-1】

条件	粒子の説明
α CD3/CD58/CD80; VSVGなし	抗CD3scFv+CD80+CD58; エンベロープなし
VSVG	VSV-Gのみ
VSVG (R354Q)	VSV-G (R354Q)のみ
VSVG (K47Q)	VSV-G (K47Q)のみ
α CD3/CD58/CD80; VSVG	抗CD3scFv+CD80+CD58; VSV-G
α CD3/CD58/CD80; VSVG (R354Q)	抗CD3scFv+CD80+CD58; VSV-G (R354Q)

40

【表5-2】

α CD3/CD58/CD80; VSVG (K47Q)	抗CD3scFv+CD80+CD58; VSV-G (K47Q)
-------------------------------------	----------------------------------

【0612】

3日目に、培地を交換し、新鮮培地で細胞を再プレーティングし、フローサイトメトリーによる形質導入の査定のために試料を採取した。図7B～図7Cに示す通り、ブラインド化VSV-Gエンベロープを含むウイルス粒子は、CD4(図7B)およびCD8(図

50

7 C) T細胞の両方において、非ブラインド化VSV-G対照と比較して、低減された形質導入をもたらした。加えて、ウイルス粒子へのCD3scFv+CD80+CD58の添加は、CD3scFv+CD80+CD58がないウイルス粒子と比較して、増加された形質導入をもたらした。加えて、VSV-GなしでCD3scFv+CD80+CD58を含むウイルス粒子はまた、不十分な形質導入を示した。

【0613】

5日目に、フローサイトメトリーによる形質導入の査定のために追加の試料を採取した。5日目のCARの発現は、3日目の発現と同様であった（データ図示せず）。

【0614】

本研究の結果は、ブラインド化エンベロープタンパク質ならびに活性化、共刺激および接着分子を含むウイルス粒子が、初代T細胞に形質導入することが可能であるという仮説を支持する。

【0615】

（実施例7）

形質導入されていない細胞の*in vivo*増大

本研究は、CD3scFvまたはCD3scFv+CD80+CD58を有するレンチウイルス粒子の投与後に、形質導入されていないT細胞の増大を査定した。レンチウイルス粒子は、抗CD19 CARをコードするポリヌクレオチドを含有する。レンチウイルス粒子を静脈内注射によりマウスに送達した。

【0616】

研究設計

マウスは、受け取り後1週間にわたり順化させた。-7日目に、フローサイトメトリー解析のために全マウスから血液を収集して、ヒト化の程度を定量した。マウスを、その総ヒトCD3レベルに従って、下の表に記載されている処置群へとランダム化した。

【表6】

ウイルス型	投与経路	ウイルス用量(力価単位)
CD3scFv	IV	1億 TU
CD3scFv	IV	5千万 TU
CD3scFv+CD58+CD80	IV	1億 TU
CD3scFv+CD58+CD80	IV	5千万 TU
CD3scFv+CD58+CD80	IV	2千5百万 TU

【0617】

研究タイムライン

研究0日目（SD0）に、次に、マウスに、上の表に従ってウイルス粒子を投与した。SD11に、血液を収集し、CAR陰性T細胞を測定した。

【0618】

結果および結論

研究11日目に、両方の群から血液を収集した。血液中のCAR陰性T細胞のレベルは、CD3scFv粒子処置群と比較して、CD3scFv+CD58+CD80粒子処置群においてより高く、用量依存性であった（図8）。これらの結果は、静脈内送達された場合、CD3scFv+CD58+CD80操作レンチウイルス粒子が、*in vivo*で、形質導入されていないT細胞であっても活性化および増大するようであることを指し示す。理論に制約されることを望むものではないが、形質導入されていない細胞が抗腫瘍活性を示すことができるため、形質導入されていないT細胞のこのような活性化は、操作されたウイルス粒子のより低い用量を可能にし得る。

【0619】

(実施例 8)

共刺激および接着分子を発現するウイルス粒子は、T細胞活性化および腫瘍制御を増強する

共刺激分子 (CD80) および接着タンパク質 (CD58) の組合せが、T細胞活性化を増強するかどうか決定するために、両方の分子を有する粒子を生成した。このような粒子を、抗CD3scFvのみを有する粒子と比較して、NALM6腫瘍細胞を活性化および形質導入するその能力について試験した。

【0620】

ウイルス産生

実施例 1 に記載されている通りにウイルスを産生した。

研究のために作製されたウイルス調製物のリスト：

1. CD3scFvのみ
2. CD3scFv + CD58 (別々に発現されたタンパク質)
3. CD3scFv + CD80 (別々に発現されたタンパク質)
4. CD3scFv + CD80 + CD58 (別々に発現されたタンパク質)

【0621】

上に指し示されるウイルス粒子を使用して、抗CD19 CAR + T細胞を生成した。抗CD19 CAR T細胞をNALM6腫瘍細胞と共に、様々なE:T比で22時間培養した。上清サイトカイン解析を、形質導入後にMesoscale Discovery (MSD) によって測定した。

【0622】

結果および結論

共刺激分子および接着分子を有するウイルス粒子が、T細胞活性化を増強するかどうか査定するために、サイトカイン発現について試料を解析した。3名のPBMCドナー由来のCD8 T細胞によるベクター結合アッセイを行った。MOI = 10でウイルス粒子をPBMCと共に6時間培養し、続いて、CD8 T細胞においてコカル糖タンパク質の表面染色を行った (図9A)。操作されたウイルス粒子による形質導入の3日後に、3名のPBMCドナー由来のCD8 T細胞上のCD25発現を解析した (図9B)。MOI = 2で代表的な試料から得られたフローサイトメトリプロットを図9Bに示す。抗CD19 CARをパッケージングする操作されたウイルス粒子を、3名のドナー由来のPBMCに添加した。7日後に、CD8 T細胞上におけるCAR発現を査定した (図9C)。CD3scFv + CD80 + CD58 (別々に発現されたタンパク質) 粒子は、より低い用量で、NALM6腫瘍細胞においてIFN- γ 産生を誘導することができた一方で、CD3scFv + CD58 (別々に発現されたタンパク質)、CD3scFv + CD80 (別々に発現されたタンパク質) およびCD3scFvのみ粒子は、より少ない程度でNALM6腫瘍細胞に形質導入した (図9Dおよび図9E)。CD3scFv + CD80 + CD58粒子は、頑強なIL-2およびTNF- α 産生を誘導した一方で、CD3scFv + CD58、CD3scFv + CD80およびCD3scFvのみは、これを誘導しなかった (図9F、図9Gおよび図9H)。データは、CD3scFv + CD80 + CD58粒子が、CD3scFv + CD58、CD3scFv + CD80およびCD3scFvのみと比較して、*in vitro*でNALM6腫瘍細胞においてサイトカイン産生を効率的に誘導することを示す。CD3scFv + CD80 + CD58 (別々に発現されたタンパク質) を提示する操作された粒子は、*in vitro*で粒子-T細胞結合、活性化およびT細胞の形質導入を増加させた。

【0623】

ウイルス粒子によって異なるT細胞サブタイプが生成されるかどうか決定するために、3名のドナー由来のPBMCを抗CD19 CARをパッケージングするウイルス粒子と共に培養し、生存可能およびCD8 + T細胞に関してプロファイリングおよびゲーティングした。7日後に、細胞表面マーカーCCR7、CD28、CD27およびCD57を含むフローサイトメトリーによって細胞を解析した。CD3scFvのみ粒子は、より高分

10

20

30

40

50

化の細胞表現型を産生し、CD3scfv+CD80+CD58粒子は、より低分化の細胞表現型を産生した（図10）。CD3scfv+CD80+CD58（別々に発現されたタンパク質）を提示する操作された粒子により生成されたCAR T細胞は、CD3scfvのみを提示する粒子（particled）と比較して、より低分化の表現型を示し、*in vitro*でより機能的であった。

【0624】

共刺激および接着分子を発現するウイルス粒子を使用して生成されたCAR T細胞の抗腫瘍（ant-tumor）有効性を査定するために、PBMCに形質導入し、NALM6腫瘍細胞と共に培養した。具体的には、抗CD19 CAR+T細胞を、2～3日毎にNALM6腫瘍細胞で連続刺激した。経時的に腫瘍細胞殺傷の測定値を提供するIncucyte（登録商標）を使用して、総NALM6腫瘍細胞を経時的に測定した。最高の細胞傷害性機能は、CD3scfv+CD80+CD58で構成された粒子により観察された（図11）。本研究は、CD3scfv+CD80+CD58粒子が、T細胞の最高のサイトカイン産生を誘導し、*in vitro*で最高の細胞溶解性機能を提供したことを実証した。

【0625】

CD3scfvまたはCD3scfv+CD80+CD58を有するレンチウイルス粒子によるT細胞の*in vivo*形質導入による腫瘍制御を査定した。レンチウイルス粒子は、抗CD19 CAR導入遺伝子をコードするポリヌクレオチドを含有する。レンチウイルス粒子を静脈内注射によりNSG MHC I / II KOマウスに送達した。研究において使用されるマウスは、免疫無防備状態であり、移植されたヒトT細胞および循環するヒトB細胞を含有する。

【表3】

表 3: 研究処置群

群	ウイルス粒子表面分子	投与経路	ウイルス用量 (形質導入単位)
1	ビヒクル	IV	
2	CD3scfv	IV	5千万 TU
3	CD3scfv	IV	1 億 TU
4	CD3scfv+CD80+CD58 (別々に発現されたタンパク質)	IV	2千5百万 TU
5	CD3scfv+CD80+CD58 (別々に発現されたタンパク質)	IV	5千万 TU
6	CD3scfv+CD80+CD58 (別々に発現されたタンパク質)	IV	1億 TU

【0626】

NSG MHC I / II KOマウスは、受け取り後1週間にわたり順化させた。-4日目に、 2.5×10^5 個のルシフェラーゼ+NALM6 / ffLuc細胞を静脈内注射した。研究-1日目に、 20×10^6 個のPBMCを腹腔（intraperitoneal cavity）内に注射した。研究0日目に、マウスに、表3に従ってウイルス粒子を投与した（図1

2 A)。

【0627】

ウイルス粒子投与の4日後に、細胞を収集し、血液中の生存可能CD3+T細胞においてフローサイトメトリーによって活性化マーカーCD25およびCD71発現を測定した(図12B)。11日目に、血液に見出される総抗CD19 CAR+CD3+T細胞をCAR表面発現についてフローサイトメトリーによって解析した(図12C)。血液中のCAR T細胞のレベルは、CD3scfv粒子処置群と比較して、CD3scfv+CD80+CD58粒子処置群においてより高かった(図12C)。活性化、共刺激および接着分子を含むウイルス粒子(例えば、CD3scfv+CD80+CD58粒子)は、共刺激および接着構成成分なしでCD3scfvを含む粒子よりも大きい程度で、T細胞に効率的に形質導入した。これらの結果は、本明細書に記載されているウイルス粒子が、*in vivo*で用量依存性T細胞形質導入および活性化を可能にし得ることを指し示す。

10

【0628】

腫瘍負荷を全光束として査定し、*In vivo*イメージングシステム(IVIS(登録商標))を使用して研究期間にわたって測定した。CD3scfv+CD80+CD58粒子処置群は、CD3scfv粒子処置群と比較して、増強された腫瘍制御を実証した(図13Aおよび図13B)。

【0629】

まとめると、静脈内送達された場合、CD3scfvおよびCD3scfv+CD80+CD58操作レンチウイルス粒子は、*in vivo*でT細胞の形質導入に成功した。両方の群が腫瘍負荷を減少させたが、共刺激分子CD80および接着分子CD58を有する粒子が、より優れた抗腫瘍有効性および抗腫瘍免疫応答を提供した。CD3scfv+CD80+CD58操作レンチウイルス粒子は、*in vivo*異種移植モデルにおいて用量依存性T細胞形質導入および抗腫瘍免疫を示す。

20

【0630】

(実施例9)

CD58、CD80および抗CD3 scfv三融合ポリペプチドを提示するウイルス粒子によるT細胞活性化および形質導入

本実施例は、CD58、CD80および抗CD3 scfv三融合ポリペプチドを提示するウイルス粒子によるT細胞活性化および形質導入を示す。

30

【0631】

3名の正常ドナー由来のヒトPBMCを、T細胞成長(TCGM)培地(RPMI1640+5%HuAB血清+1×GlutaMax+HEPES)において培養した。レンチウイルス形質導入のため、ウイルス粒子をPBMC細胞に添加した。

【0632】

T細胞活性化を解析するために、3日後に細胞をペレットにし、次いでフローサイトメトリーによって解析した。細胞染色緩衝液で1:100希釈した抗CD25-PE/Cy7抗体を使用したhCD25マーカーの検出によってT細胞活性化を測定した。CAR発現レベルおよび形質導入効率を測定するために、レンチウイルス形質導入に続く7日の産生期間の後に細胞をペレットにした。次に、細胞をフローサイトメトリーによって解析した。抗CD19 CAR表面発現を検出し、全てのフローサイトメトリー解析をAttune(商標)NxTフローサイトメーターにおいて行い、FlowJo(商標)で解析した。抗CD19 CARを発現する7日目の形質導入初代T細胞を計数し、再懸濁し、NALM6腫瘍細胞に添加した。標的NALM6細胞の殺傷を、Incucyte(商標)生細胞解析システムにおいて解析した。各ウェルを6時間毎に撮像し、NALM6細胞の数を定量して、T細胞細胞傷害性の動態を査定した。24時間後に、製造業者のプロトコルに従ったサイトカイン測定のために各ウェルから上清を収集した。

40

【0633】

健康なドナーのPBMC(3名のドナー由来)を、MOI 2で、抗CD19 CAR

50

導入遺伝子を保有し、表面操作された三融合タンパク質を提示するレンチウイルスと1時間未満接触させた(図14A)。操作されたレンチウイルス粒子へのT細胞の一貫したかつ効率的な結合が観察され、コカルについて陽性に染色するCD3+T細胞のパーセンテージによって測定された(図14B)。選択的T細胞結合は、CD3-T細胞と比べたCD3+T細胞に対するコカル染色ピークシフト(Cocal staing peak shift)において観察された(図14C)。活性化は、3日目にhCD25染色に基づき決定され(図14D)、CAR発現レベルを測定した(図14E)。操作されたレンチウイルス粒子は、短い期間(<1時間)の培養後に、T細胞結合に対する頑強なアビディティおよび選択性を実証した。形質導入されたPBMCをNa lm6腫瘍細胞と共に培養した。具体的には、抗CD19 CAR+T細胞を、2~3日毎にNa lm6腫瘍細胞で連続刺激した。経時的に腫瘍細胞殺傷の測定値を提供するIncucyte(登録商標)を使用して、総Na lm6腫瘍細胞を経時的に測定した(図15)。このアッセイは、複数の腫瘍細胞を増大および死滅させるCAR T細胞の能力を経時的に測定し、CD58、CD80および抗CD3 scFv三融合タンパク質を提示するレンチウイルス粒子により生成された抗CD19 CAR T細胞が、in vitroで連続殺傷を実証したことを示した。
【0634】

10

腫瘍異種移植モデルにおける血液悪性腫瘍の研究において、-4日目に、 2.5×10^5 個のNa lm6細胞をNSG MHC I/II KOマウスに静脈内注射した。研究-1日目に、 20×10^6 個のPBMCを腹腔内に注射した。研究0日目に、マウスに、CD58、CD80および抗CD3 scFv三融合タンパク質を提示するウイルス粒子を投与した(図16A)。

20

【0635】

ウイルス粒子投与の4日後に、細胞を収集し、血液中の生存可能CD3+T細胞におけるフローサイトメトリーによって、活性化マーカーCD25(図16B)およびCD71(図16C)の発現ならびにサイトカインIFN- γ 産生(図16D)を測定した。CAR T細胞増大を、1千万および5千万形質導入単位(TU)の用量で解析した。11日目に、血液に見出される総抗CD19 CAR+T細胞をCAR表面発現についてフローサイトメトリーによって解析した(図16E)。腫瘍負荷を全光束として査定し、In vivoイメージングシステム(IVIS(登録商標))を使用して研究期間にわたって測定した(図16F)。

30

【0636】

(実施例10)

体外接触によるCD58、CD80および抗CD3 scFv三融合ポリペプチドを提示するレンチウイルス粒子によるT細胞のin vivo形質導入

本実施例は、血液悪性腫瘍異種移植モデルにおいて体外接触によるCD58、CD80および抗CD3 scFv三融合ポリペプチド(図17F)を提示するレンチウイルス粒子によるT細胞の形質導入を解析した。

【0637】

研究-5日目に、NSG MHC I/II d KOマウスに、尾静脈注射により、ホタルシフェラーゼ(ffluc)を発現する 2.5×10^5 個のNa lm6細胞を注射した(図17A)。研究0日目に、アフレーシス血液をLupagen(商標)機械で洗浄し、2のMOIのウイルス粒子およびT細胞($50 \times 10^6 \sim 100 \times 10^6$ 個の細胞)を体外接触下に置き、1時間インキュベートした。インキュベーション後に、次いで粒子結合細胞を洗浄して結合していない粒子を除去して、 $15 \sim 35 \times 10^6$ 個の細胞/mlの範囲に及ぶ細胞濃度を生じる「最終」材料を生成した。ドナー1のため、 25×10^6 個の細胞を注射し、ドナー2のため、 15×10^6 個の細胞を注射した。粒子-T細胞結合、T細胞活性化および形質導入のin vitro特徴付けを並行して評価した。

40

【0638】

粒子結合細胞を、ドナー1およびドナー2におけるCAR T細胞増大について査定した(図17B)。腫瘍負荷を全光束として査定し、In vivoイメージングシステム

50

(I V I S (登録商標))を使用して、ドナー1およびドナー2について研究期間にわたって測定した(図17C)。研究49日目(再チャレンジ(rechallenge)0日目)に、マウスに、尾静脈注射により、ホタルルシフェラーゼ(f f l u c)を発現する追加の2.5E5個のNa lm6細胞を注射して、再チャレンジ腫瘍再チャレンジのクリアランスを査定した(図17D)。腫瘍負荷を全光束として査定し、In vivoイメージングシステム(I V I S (登録商標))を使用して、ドナー1およびドナー2について再チャレンジ(rechallenge)研究の期間にわたり測定した(図17E)。CD58、CD80および抗CD3 s c F v三融合ポリペプチドを提示するウイルス粒子は、抗CD19 C A R T細胞を生成し、in vivoで一次腫瘍クリアランス後の持続(persistence)および腫瘍再チャレンジからの保護を示した。

10

配列

【表7-1】

配列

1	CD8 シグナルペプチド	MALPVTALLLPLALLLHAARP
2	抗CD3 scFv (VL-G4S x 3 リンカー-VH)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPG KAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYFTISSLQPEDI ATYYCQQWSSNPFTFGQGTKLQITRTSGGGGSGGGGSGG GGSQVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMH WVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDN SKNTAFLQMDSLRLPEDTGVYFCARYYDDHYCLDYWGQG TPVTVSSAAAKP
3	CD8 ヒンジ	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEASRPAAGGAVHTRGLDF ASD

20

30

40

50

【表 7 - 2】

4	CD4 TM および 細胞質尾部 _T2A	MALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFCVRCRHRRRRQSGSEGRGSL LTCGDVEENPGP
5	コカルエンペロープアミ ノ酸	NFLLLTFFIVLPLCSHAKFSIVFPQSQKGNWKNVPSSYHYCP SSSDQNWHDLLGITMKVKMPKTHKAIQADGWMCHAAK WITTCDFRWYGPKEYITHSIHSIQPTSEQCKESIKQTKQGTW MSPGFPPQNCGYATVTDVAVVVQATPHHVLVDEYTGE WIDSQFPNGKCETEECETVHNSTVWYSDYKVTGLCDATL VDTEITFFSEDGKKESIGKPNTGYRSNYFAYEKGDKVCKM NYCKHAGVRLPSGVWFEFVDQDVYAAAKLPECPVGATIS APTQTSVDVSLILDVERILDYSLCQETWSKIRSKQPVSPVD LSYLAPKNPGTGPAFTIINGTLKYFETRYIRIDIDNPIISKMV GKISGSQTERELWTEWFPYEGVEIGPNGILKTPTGYKFPLF MIGHGMLDSDLHKTSQAEVFEHPLAEAPKQLPEEETLFF GDTGISKNPVELIEGWFSWKSTVVTTFFFAIGVFILLYVVA RIVIAVRYRYQGSNNKRIYNDIEMSRFRK
6	CD8シグナルペプチド	ATGGCACTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCACTGGCC CTGCTGCTGCACGCAGCACGCCCA
7	抗CD3 scFv (VL-G4S x 3 リンカー-VH)	GATATCCAGATGACCCAGTCCCCAAGCTCCCTGAGCGC CTCCGTGGGCGACCGGGTGACAATCACCTGCAGCGCCT CTAGCTCCGTGTCCTACATGAACTGGTATCAGCAGACA CCTGGCAAGGCCCCAAAGAGATGGATCTACGATACCAG CAAGCTGGCCTCCGGCGTGCTTCTAGGTTTTCTGGCAG CGGCTCCGGCACAGATTATACATTCACCATCTCTAGCCT GCAGCCAGAGGACATCGCCACCTACTATTGCCAGCAGT GGTCCTCTAATCCCTTTACATTCGGCCAGGGCACCAAGC TGCAGATCACAAGAACCTCTGGAGGAGGAGGAAGCGG AGGAGGAGGATCCGGCGGCGGCGGCTCTCAGGTGCAGC TGGTGCAGAGCGGAGGAGGAGTGGTGCAGCCAGGCAG AAGCCTGAGGCTGTCCTGTAAGGCCTCTGGCTACACATT CACCAGATATACAATGCACTGGGTGAGGCAGGCACCAG GCAAGGGACTGGAGTGGATCGGCTACATCAACCCCTCC AGGGGCTACACCAACTATAATCAGAAGGTGAAGGATCG GTTCACCATCAGCAGGGACAACCTCCAAGAATACCGCCT TCCTGCAGATGGACAGCCTGAGGCCAGAGGATACCGGC GTGTACTTTTGCGCCCGGTACTATGACGATCACTACTGT CTGGATTATTGGGGCCAGGGAACACCAGTGACCGTGAG CTCCGCCGCAGCAAAGCCT
8	CD8ヒンジ	ACCACAACCCCTGCCCAAGGCCACCTACACCCGCCCC TACCATCGCCTCTCAGCCACTGAGCCTGAGGCCAGAGG CATCCAGGCCTGCCGCAGGGGGGGCCGTGCACACCCGG GGCCTGGACTTTGCCTCTGAT
9	CD4 TM および 細胞質尾部 _T2A	ATGGCACTGATCGTGCTGGGAGGAGTGGCAGGACTGCT GCTGTTTCATCGGACTGGGCATCTTCTTTTGCCTGCGCTG TAGGCACCGGAGAAGGCAGGGATCTGGAGAGGGAAGG GGAAGCCTGCTGACATGCGGCGACGTGGAGGAGAACCC AGGACCA

10

20

30

40

50

【表 7 - 3】

10	コカルエンペローブ ヌクレオチド配列	AATTTTCTGCTGCTGACCTTCATCGTGCTGCCTCTGTGC AGCCACGCCAAGTTTTCCATCGTGTCCACAGTCCCAG AAGGGCAACTGGAAGAATGTGCCCTCTAGCTACCACTA TTGCCCTTCTCTAGCGACCAGAACTGGCACAATGATCT GCTGGGCATCACAATGAAGGTGAAGATGCCCAAGACCC ACAAGGCCATCCAGGCAGATGGATGGATGTGCCACGCA GCCAAGTGGATCACAACTGTGACTTTCGGTGGTACGG CCCCAAGTATATCACACACTCCATCCACTCTATCCAGCC TACCTCCGAGCAGTGCAAGGAGTCTATCAAGCAGACAA AGCAGGGCACCTGGATGAGCCCTGGCTTCCCACCCAG AACTGTGGCTACGCCACAGTGACCGACTCCGTGGCAGT GGTGGTGCAGGCAACACCTCACCACGTGCTGGTGGATG AGTATACCGGCGAGTGGATCGACAGCCAGTTTCCAAAC GGCAAGTGCGAGACAGAGGAGTGTGAGACCGTGCACA ATTCTACAGTGTGGTACAGCGATTATAAGGTGACAGGC CTGTGCGACGCCACCCTGGTGGATACAGAGATCACCTT CTTTTCTGAGGACGGCAAGAAGGAGAGCATCGGCAAGC CCAACACCGGCTACAGATCCAATTACTTCGCCTATGAG AAGGGCGATAAAGGTGTGCAAGATGAATTATTGTAAGCA CGCCGGGGTGC GGCTGCCTAGCGGCGTGTGGTTTGAGT TCGTGGACCAGGACGTGTACGCAGCAGCAAAGCTGCCT GAGTGCCAGTGGGAGCAACCATCTCCGCCCCAACACA GACCTCCGTGGACGTGTCTCTGATCCTGGATGTGGAGC GCATCCTGGACTACAGCCTGTGCCAGGAGACCTGGAGC AAGATCCGGTCCAAGCAGCCCGTGTCCCCTGTGGACCT GTCTTACCTGGCACCAAAGAACCCAGGAACCGGACCAG CCTTTACAATCATCAATGGCACCCCTGAAGTACTTCGAGA CCCGCTATATCCGGATCGACATCGATAACCCTATCATCA GCAAGATGGTGGGCAAGATCTCTGGCAGCCAGACAGAG AGAGAGCTGTGGACCGAGTGGTTCCCTTACGAGGGCGT GGAGATCGGCCCAAATGGCATCCTGAAGACACCAACCG GCTATAAGTTTCCCCTGTTTCATGATCGGCCACGGCATGC TGGACAGCGATCTGCACAAGACCTCCCAGGCCGAGGTG TTTGAGCACCCACACCTGGCAGAGGCACCAAAGCAGCT GCCTGAGGAGGAGACACTGTTCTTTGGCGATACCGGCA TCTCTAAGAACCCCGTGGAGCTGATCGAGGGCTGGTTT CCTCTTGGAAGAGCACAGTGGTGACCTTCTTTTCGCCA TCGGCGTGTTTCATCCTGCTGTACGTGGTGGCCAGAATCG TGATCGCCGTGAGATACAGGTATCAGGGCTCCAACAAT AAGAGGATCTATAATGACATCGAGATGTCTCGCTTCCG GAAG
11	Gaussia ルシフェラー ゼ SP	MGVKVLFALICIAVAEA
12	抗 CD3 scFv VL-G4S x 3 リンカー-VH	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQTPG KAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSGSGSDYFTFTISLQPEDI ATYYCQQWSSNPFTFGQGTKLQITRTSGGGSGGGSGG GGSQVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMH WVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDN SKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYCLDYWGQG TPVTVSSAS

10

20

30

40

50

【表 7 - 4】

13	コカル Env 由来の 短いヒンジ-TM-CT	GVELIEGWFSWKSTVVTFFFAIGVFILLYVVARIVIAVRY RYQGSNNKRIYNDIEMSRFRK
14	Gaussian ルシフェラー ゼ SP	ATGGGCGTGAAAGTGCTGTTCGCCCTGATCTGCATCGC AGTTGCTGAAGCC
15	抗 CD3 scFv VL-G4S x 3 リンカー-VH	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTAGCAGCCTCAGCGC TAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACATGTAGCGCCA GCAGCAGCGTGTCTACATGAACTGGTACCAGCAAACA CCTGGAAGGCCCTAAAAGGTGGATCTATGACACATC TAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCATCTAGATTTTCTGGCAG CGGCTCCGGCACTGATTATACATTCACCATCAGCAGCCT GCAGCCCGAGGATATCGCCACCTACTACTGTCAGCAGT GGTCCTCTAATCCCTTCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGC TGCAGATCACCAGAACCAGCGGCGGGGAGGAAGCGG CGGGGGAGGATCTGGCGGCGGCGGCAGCCAGGTGCAG CTGGTGCAGAGCGGCGGCGGCGGTGGTGAACCTGGCAG AAGCCTGAGACTGAGCTGCAAGGCCTCTGGCTACACCT TCACCCGGTACACCATGCATTGGGTGCGGCAGGCCCT GGCAAGGGCCTGGAATGGATTGGATACATCAACCCAG CAGAGGCTACACCAACTACAACCAGAAGGTGAAGGAC AGATTCACAATTTCTCGGGACAACAGCAAGAATACCGC CTTCCTGCAAATGGACTCCCTGCGCCAGAAAGATACCG GCGTGTACTTCTGCGCTAGATATTACGACGACCACTACT GCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGTGACCGTG TCCAGCGCCTCC
16	コカル Env 由来の 短いヒンジ-TM-CT	GGAGTGGAAGTATCGAGGGGCTGGTTCAGCAGCTGGAA AAGCACCGTGGTTACATTCTTTTCGCCATCGGCGTGTT CATCCTGCTGTACGTGGTTCGCCAGAATTGTGATCGCCGT GCGGTATAGATACCAGGGCAGCAACAACAAGCGGATCT ACAACGACATCGAGATGAGCAGATTTCAGAAAG
17	CD58	MVAGSDAGRALGVLSVCLLHCFGFISCFSSQIYGVVYGN VTFHVPNSVPLKEVLWKKQKDKVAELENSEFRAFSSFKNR VYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEMESPNTDTMKFFLYVL ESLPSTLTLCALTNGSIEVQCMIEPHYNSHRGLIMYSWDCP MEQCKRNSTSIYFKMENDLPQKIQCTLSNPLFNTTSSILTT CIPSSGHSRHRYPALIPPLAVITTCIVLYMNGILKCDRKPDR TNSN
18	CD58	atggftgctgggagcgacgcggggcgggccctgggggtcctcagcgtggtctgctgctg cactgctfttggttcacagctgttttcccaacaaatatatgggtgtgtatgggaatgtaacttt ccatglaccaagcaatgigcctttaaagaggtectatggaaaaacaaaaggataaagtig cagaactggaaaatctgagttcagagctttctcatctttaaataagggttatttagacactgt gtcaggtagcctcaclatclacaacttaacatcatcagatgaagatgagatgaaatggaatc gccaatattactgatacatgaagtcttttattgtgcttgagtccttccatcctccacacta actgtgcattgactaatggaagcattgaagtccaatgcatgataccagagcattacaacagc catcgaggactataatgtacatcatgggattgtcctatggagcaatglaaacgtaactcaacca gtatataatgaatggaaaatgacttccacaaaaatacagtgactcttagcaatccattatt taataacaatcatcaatcatcttgacaacctgtatccaagcagcgggtcattcaagacacaga

10

20

30

40

50

【表 7 - 5】

		tatgcacttataccataccattagcagtaattacaacatgtattgtgctgtatatgaatggattc tgaaatgacagaaaaccagacagaaccaactccaat
19	コカル Env 由来の 長いヘンジ-TM- CT	SGFEHPLAEAPKQLPEEETLFFGDTGISKNPVELIEGWSS WKSTVVTFFFAIGVFILLYVVARIVAVRYRYQGSNNKRIY NDIEMSRFRK
20	CD80	MGHTRRQGTSPSKCPYLNFFQLLVLAGLSHFCSGVIHVTK EVKEVATLSCGHNVSEELAQTIRYWQKEKKMVLTMMS GDMNIWPEYKNRTIFDITNNLSIVILALRPSDEGTYESVVL KYEKDAFKREHLAEVTLVKADFPTPSISDFEIPTSNIRRIIC STSGGFPEPHLSWLENGEELNAINTTVSQDPETELYAVSSK LDFNMTTNHSMCLIKYGHILRVNQTFNWNNTKQEHFPDN LLPSWAITLISVNGIFVICCLTYCFAPRCRERRRNERLRRES VRPV
21	CD80	ATGGGCCACACACGGAGGCAGGGAACATCACCATCCAA GTGTCCATACCTCAATTTCTTTAGCTCTTGGTGCTGGC TGGTCTTTCTCACTTCTGTTTCAGGTGTTATCCACGTGAC CAAGGAAGTGAAAGAAGTGGAACGCTGTCCTGTGGTC ACAATGTTTCTGTTGAAGAGCTGGCACAAACTCGCATCT ACTGGCAAAAGGAGAAGAAAATGGTGCTGACTATGATG TCTGGGGACATGAATATATGGCCCGAGTACAAGAACCG GACCATCTTTGATATCACTAATAACCTCTCCATTGTGAT CCTGGCTCTGCGCCCATCTGACGAGGGCACATACGAGT GTGTTGTTCTGAAGTATGAAAAAGACGCTTTCAAGCGG GAACACCTGGCTGAAGTGACGTTATCAGTCAAAGCTGA CTTCCCTACACCTAGTATATCTGACTTTGAAATTCCAAC TTCTAATATTAGAAGGATAATTGCTCAACCTCTGGAGG TTTTCCAGAGCCTCACCTCTCCTGGTTGGAAAATGGAGA AGAATTAATGCCATCAACACAACAGTTTCCCAAGATC CTGAAACTGAGCTCTATGCTGTTAGCAGCAAACCTGGAT TTCAATATGACAACCAACCACAGCTTCATGTGTCTCATC AAGTATGGACATTTAAGAGTGAATCAGACCTTCAACTG GAATACAACCAAGCAAGAGCATTTTCCTGATAACCTGC TCCCATCCTGGGCCATTACCTTAATCTCAGTAAATGGAA TTTTTGTGATATGCTGCCTGACCTACTGCTTTGCCCCAA GATGCAGAGAGAGAAGGAGGAATGAGAGATTGAGAAG GGAAAGTGTACGCCCTGTA
22	コカル Env 由来の 長いヘンジ-TM- CT	TCCGGATTTCGAGCACCCCCACCTGGCCGAGGCCCTAA GCAGCTGCCTGAAGAAGAGACACTGTTTTTCGGAGATA CCGGCATCAGCAAAAACCCCGTGGAGCTGATCGAGGGC TGGTTCAGCTCTTGGAAGAGCACCGTGGTCACATTCTTT TTCGCCATCGGCGTCTTTATCCTGCTGTACGTGGTAGCC AGAATCGTGATCGCCGTGCGGTACAGATACCAGGGCAG CAACAACAAGCGGATCTACAACGACATCGAGATGAGCC GGTTCAGAAAG
23	CD86	MDPQCTMGLSNILFVMAFLLSGAAPLKIQA YFNETADLPC QFANSQNQSLSELVVFWDQENLVNEVYLGKEKFDVSH SKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHHKPTG MIRIHQMNSELSVLANFSQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHG YPEPKKMSVLLRRTKNSTIEYDGVMMQKSQDNVTELYDVSIS

10

20

30

40

50

【表 7 - 6】

		LSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPOPPPDHI PWITAVLPTVIICVMVFCILILWKWKKKRPRNSYKCGTNT MEREESEQTKKREKIHIPERSDEAQRVFKSSKTSSCDKSDT CF
24	CD86	ATGGATCCCCAGTGCACCTATGGGACTGAGTAACATTCT CTTTGTGATGGCCTTCTCTGCTCTCTGGTGCTGCTCCTCTG AAGATTCAAGCTTATTTCAATGAGACTGCAGACCTGCC ATGCCAATTTGCAAACCTCTCAAAACCAAAGCCTGAGTG AGCTAGTAGTATTTTGGCAGGACCAGGAAAACTTGGTT CTGAATGAGGTATACTTAGGCAAAGAGAAATTTGACAG TGTTCAATCCAAGTATATGGGCCGCACAAGTTTGTATTC GGACAGTTGGACCCTGAGACTTCACAATCTTCAGATCA AGGACAAGGGCTTGTATCAATGTATCATCCATCACAAA AAGCCCACAGGAATGATTCGCATCCACCAGATGAACTC TGAAGTGTCAAGTGTCTGCTAACTTCAGTCAACCTGAAAT AGTACCAATTTCTAATATAACAGAAAAATGTGTACATAA ATTTGACCTGCTCATCTATACACGGTTACCCAGAACCTA AGAAGATGAGTGTCTTTGCTAAGAACCAAGAACTCAACT ATCGAGTATGATGGTGTATGCAGAAATCTCAAGATAA TGTCACAGAACTGTACGACGTTTCCATCAGCTTGCTGT TTCATTCCCTGATGTTACGAGCAATATGACCATCTTCTG TATTCTGGAAACTGACAAGACGCGGCTTTTATCTTCACC TTTCTCTATAGAGCTTGAGGACCCTCAGCCTCCCCCAGA CCACATTCTTGGATTACAGCTGTACTTCCAACAGTTAT TATATGTGTGATGGTTTTCTGTCTAATTCTATGGAAATG GAAGAAGAAGAAGCGGCCTCGCAACTCTTATAAATGTG GAACCAACACAATGGAGAGGGAAGAGAGTGAACAGAC CAAGAAAAGAGAAAAAATCCATATACCTGAAAGGTCTG ATGAAGCCCAGCGTGTCTTTTAAAGTTCGAAGACATCTT CATGCGACAAAAGTGATACATGTTTT
25	218 リンカー_ヒトグリ コホリンAエクト -TM_HIV Env CT	SGGSTSGSGKPGSGEGSTKGPEITLIIFGVMAGVIGTILLISY GIRRLALKYWWNLLQYWSQELKNSAVSLLNATAIAVAEG TDRVIEVVQGACRAIRHIPRRIRQGLERILL
26		
27		
28	リンカー_ヒトグリコホリ ンAエクト -TM_HIV Env CT	TCCGGAGGATCTACAAGCGGCTCTGGCAAGCCTGGCAG CGGAGAAGGCAGCACCAAGGGCCCTGAGATCACACTG ATCATCTTCGGCGTGATGGCCGGCGTCATCGGCACCATC CTGCTGATCAGCTACGGCATCAGAAGACTGGCTCTGAA GTACTGGTGGAATCTGCTGCAATACTGGAGCCAGGAGC TGAAAAACAGCGCCGTGTCCCTGCTCAACGCCACCGCC ATCGCCGTGGCCGAGGGCACCGACAGAGTGATCGAGGT GGTGCAGGGAGCCTGCAGAGCTATTCGGCACATCCCCA GACGGATCAGGCAGGGCCTGGAAAGAATCCTGCTG
29		
30		

10

20

30

40

50

【表 7 - 7】

31	218リンカー_HIV Env-TM-CT	SGGSTSGSGKPGSGEGSTKGNWLWYIRIFIIIIVGSLIGLRIVF AVLSLVNRGWEALKYWWNLLQYWSQELKNSAVSLLNAT AIAVAEGTDRVIEVVQGACRAIRHIPRRIRQGLERILL
32		
33		
34	218リンカー_HIV Env-TM-CT	TCCGGAGGAAGCACCAGCGGCTCTGGCAAGCCTGGCAG CGGCGAGGGCTCTACCAAGGGCAATTGGCTGTGGTACA TCAGAATCTTCATCATCATCGTGGGCAGCCTGATCGGCC TGAGAATCGTGTTCCGCCGTGCTGAGCCTGGTGAACCGG GGCTGGGAAGCTCTGAAGTACTGGTGGAACCTGCTGCA ATACTGGTCCCAGGAGCTGAAAAACAGCGCTGTGTCCC TGCTCAACGCCACCGCCATCGCCGTCGCCGAGGGAACA GACAGAGTGATCGAGGTGGTGCAGGGAGCCTGCAGAG CCATTCCGGCACATCCCCAGACGCATCAGACAGGGCCTG GAAAGAATCCTGCTG
35	MND プロモーター	GAACAGAGAAACAGGAGAATATGGGCCAAACAGGATA TCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAG AACAGTTGGAACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATAT CTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGA ACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTT TCTAGAGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGG ACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATC AGTTCGCTTCTCGCTTCTGTTTCGCGCGCTTCTGCTCCCCG AGCTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAG ATCGCTAGC
36	抗CD3 CDRH2	YNPSRGYTNYNQKVKD
37	G4Sx3 リンカー_HIV Env- TM-CT	SGGGGSGGGGSGGGGSYIRIFIIIIVGSLIGLRIVFAVLSLVN RGWEALKYWWNLLQYWSQELKNSAVSLLNATAIAVAEG TDRVIEVVQGACRAIRHIPRRIRQGLERILL
38	抗CD3 CDRH3	YYDDHYCLDY
39	抗CD19 CDRL1	RASQDISKYLN
40	G4Sx3 リンカー_HIV Env- TM-CT	TCCGGAGGCGGTGGAGGCTCTGGTGGCGGAGGGAGCG GTGGCGGAGGCAGCTACATCAGAATCTTCATCATCATC GTGGGCAGCCTGATCGGCCTGAGAATCGTGTTCCCGT TCTGAGCCTGGTGAACCGGGGCTGGGAAGCCCTGAAGT ACTGGTGGAATCTGCTCCAGTACTGGTCTCAGGAGCTG AAGAACAGCGCCGTGTCCCTGCTGAACGCTACAGCTAT CGCCGTCGCCGAGGGCACCGACAGAGTGATCGAGGTGG TGCAGGGCGCCTGCAGAGCCATCCGGCACATCCCTAGA AGGATTCGGCAAGGCCTGGAAAGAATCCTGCTG
41	抗CD19 CDRL2	HTSRLHS
42	抗CD19 CDRL3	QQGNTLPYT

10

20

30

40

50

【表 7 - 8】

43	コカル Env_T2A 由来の短いヘンジ -TM- CT	GVELIEGWFSWKSTVVTFFFAIGVFILLYVVARIVIAVRY RYQGSNNKRIYNDIEMSRFRKGSGEGRSLLTCGDVEENP GP
44	抗CD19 CDRH1	DYGV
45	抗CD19 CDRH2	VIWGSETTYNSALKS
46	抗CD19 CDRH3	HYYYGGSYAMDY
47	コカル Env_T2A 由来の短いヘンジ -TM- CT	GGAGTGGAAGCTGATCGAGGGCTGGTTCAGCAGCTGGAA AAGCACCGTGGTTACATTCTTTTCGCCATCGGCGTGTT CATCCTGCTGTACGTGGTCGCCAGAATTGTGATCGCCGT GCGGTATAGATACCAGGGCAGCAACAACAAGCGGATCT ACAACGACATCGAGATGAGCAGATTGAGAAAGGGATCT GGAGAGGGAAGGGGAAGCCTGCTGACATGCGGCGACG TGGAGGAGAACCCAGGACCA
48	抗CD3 CDRH1	RYTMH
49	α CD19 CAR_FRB_RAC R レンチウイルスベク ター	MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIQMTQTTSSLSASLGDRVT ISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSR FSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGT KLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVQLQESGPGLVAPSQSL SVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY YNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDETAIYYCAKH YYYGGSYAMDYWGQTSVTVSSESKYGPPCPPCPMFVW LVVVGGLVACYLLVTVAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQPFM RPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQ QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALPPRSGGATNFSLLKQAGDVE ENPGPEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMEFVLEPLHAM MERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVK DLLQAWDLYYHVFRISKGSGATNFSLLKQAGDVEENPG PMPLGLLWLGLALLGALHAQAGVQVETISPGDGRTPFKR GQTCVVHYTGMLDGGKFDSSRDNRNPKFKFMLGKQEVIR GWEEGVAQMSVGQRAKLTIAPDYAYGATGHPGIIPPHATL VFDVELLKLGEESNTSKENPFLFALEAVVISVGSMLIISLL CVYFWLERTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNFSAWSGVSKG LAESLQPDYSERLCLVSEIPPKGALGEGPGASPCNQHSFY WAPPCYTLKPETGSGATNFSLLKQAGDVEENPGMALPV TALLPLALLLHAARPILWHEMWHEGLEEASRLYFGERN VKGMEFVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEA QEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRISKGKDTIP WLGHLLVGLSGAFGIILVYLLINCRNTGPWLKKVLKCN PDPSKFSQLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEISP LEVLERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLSCTFNQGY FFFHLPDALEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAPTGSSP QPLQPLSGEDDAYCTFPSRDDLLLFSPSLLGGPSPPSTAPGG SGAGEERMPPSLQERVPRDWDPLQPLGPPTPGVPDLVDFQP

10

20

30

40

50

【表 7 - 9】

		PPELVLEAGEEVPDAGPREGVSFPWSRPPGQGEFRALNA RLPLNTDAYLSLQELQGQDPTHLV
50	シグナルペプチド (ヒトCSF2R)	MLLLVTSLLLCELPHPAFLIP
51	CD19 VL_リンカー_VH	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKP DGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQE DIATYFCQQGNTLPYTFGGGKTLEITGSTSGSGKPGSGEGS TKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWI RQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTHKDNSKSQ VFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTS VTVSS
52	IgG4 リンカー - CD28 TM	ESKYGPPCPPCPMFVVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV
53	4-1BB シグナルドメ イン	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGC EL
54	CD3ゼータ	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK GERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
55	P2A 自己切断ペプチ ド	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
56	ネイキッド FRB	EMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMEFVLEPLHAMMERGP QTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQA WDLYYHVFRISK
57	シグナルペプチド - FKBP12	MPLGLLWLGLALLGALHAQAGVQVETISPGDGRTFPKRG QTCVVHYTGMLLEDGKKFDSSRDNRNPKFKFMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVQGQRAKLISPDIYAYGATGHPGIIPPHATLV FDVELLKL
58	-2R ガンマ TM- 細胞質ドメイン	GEGSNTSKENPFLFALEAVVISVGSMGLIISLLCVYFWLER TMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNFSAWSGVSKGLAESLQPDY SERLCLVSEIPPKGALGEGPGASPCNQHSPLYWAPPCYTL KPET
59	シグナルペプチド - FRB	MALPVTALLLPLALLHAARPILWHEMWHEGLEEASRLY FGERNVKGMEFVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRD LMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRISK
60	IL-2R ベータ TM- 細胞質ドメイン	GKDTIPWLGHLLVGLSGAFGHILVYLLINCRNTGPWLKKV LKCNTPDPSKFFSQLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGL APEISPLEVLERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLSCT NQGYFFFHLPDALEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAP TGSSPQPLQPLSGEDDAYCTFSPRDDLLLFSPSLLGGPSPPS TAPGGSGAGEERMPPSLQERVPRDWDPPQPLGPPTPGVPDL VDFQPPPELVLEAGEEVPDAGPREGVSFPWSRPPGQGEF RALNARLPLNTDAYLSLQELQGQDPTHLV
61	α CD19 CAR_FRB_RAC R レンチウイルスベク ター	ATGCTGCTGCTGGTGACCTCCCTGCTGCTGTGCGAGCTG CCTCACCCAGCCTTTCTGCTGATCCCCGACATCCAGATG ACACAGACCACAAGCTCCCTGTCTGCCAGCCTGGGCGA CAGAGTGACCATCTCCTGTAGGGCCTCTCAGGATATCA GCAAGTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCAGATGGC ACAGTGAAGCTGCTGATCTACCACACCTCCAGGCTGCA CTCTGGAGTGCCAAGCCGGTCTCCGGATCTGGAAGCG

10

20

30

40

50

	GCACCGACTATTCCCTGACAATCTCTAACTTGGAGCAG GAGGATATCGCCACATACTTTTGCCAGCAGGGCAATAC CCTGCCATATACATTTCGGCGGAGGAACCAAGCTGGAGA TCACCGGATCCACATCTGGAAGCGGCAAGCCAGGAAGC GGAGAGGGATCCACAAAGGGAGAGGTGAAGCTGCAGG AGAGCGGACCAGGACTGGTGGCACCATCCCAGTCTCTG AGCGTGACCTGTACAGTGTCCGGCGTGTCTCTGCCTGAC TACGGCGTGTCTGGATCAGGCAGCCACCTAGGAAGGG ACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTGGGGCTCTGAGACCA CATACTATAATTCTGCCCTGAAGAGCCCGCTGACCATCA TCAAGGACAACCTCCAAGTCTCAGGTGTTTCTGAAGATG AATAGCCTGCAGACCGACGATACAGCCATCTACTATTG CGCCAAGCACTACTATTACGGCGGCTCCTACGCCATGG ATTATTGGGGCCAGGGCACCTCCGTGACAGTGTCTAGC GAGTCTAAGTATGGCCACCCCTGCCCTCCATGTCCAATG TTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGAGGCGTGTCTGGCCTG TTACTCCCTGCTGGTGACCGTGGCCTTTATCATCTTCTG GGTGAAGAGAGGCAGGAAGAAGCTGCTGTATATCTTTA AGCAGCCCTTCATGCGCCCTGTGCAGACCACACAGGAG GAGGACGGCTGCAGCTGTCCGTTTCCAGAGGAGGAGGA GGGAGGATGCGAGCTGCGCGTGAAGTTCAGCCGGTCCG CCGATGCCCTGCCCTACCAGCAGGGCCAGAACCAAGCTG TATAACGAGCTGAATCTGGGCCGGAGAGAGGAGTACGA CGTGCTGGATAAGAGGAGGGGAAGGGACCCAGAGATG GGAGGCAAGCCTCGGAGAAAGAACCCACAGGAGGGCC TGTAACAATGAGCTGCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCC TATTCTGAGATCGGCATGAAGGGAGAGAGGCGCCGGGG CAAGGGACACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCG CCACAAAGGACACATATGATGCCCTGCACATGCAGGCC CTGCCACCTAGGGGATCTGGAGCCACCAACTTTAGCCT GCTGAAGCAGGCAGGCGATGTGGAGGAGAATCCAGGA CCTGAGATGTGGCACGAGGGACTGGAGGAGGCAAGCA GGCTGTACTTTGGCGAGCGGAATGTGAAGGGCATGTT GAGGTGCTGGAGCCACTGCACGCAATGATGGAGAGGG GACCACAGCCCTGAAGGAGACATCCTTCAACAGGCCA TACGGAAGGGACCTGATGGAGGCACAGGAGTGGTGCC GGAAGTATATGAAGTCTGGCAATGTGAAGGACCTGCTG CAGGCCTGGGATCTGTATTACCACGTGTTTAGAAGGAT CAGCAAGGGCTCCGGCGCCACCAACTTCTCCCTGCTGA AGCAGGCCGGCGATGTGGAAGAAAATCCAGGACCAAT GCCTCTGGGACTGCTGTGGCTGGGACTGGCCCTGCTGG GCGCCCTGCACGCCCAGGCCGGCGTGCAGGTGGAGACA ATCAGCCCTGGCGACGGCAGAACCTTTCCAAAGAGGGG CCAGACATGCGTGGTGCCTACACCGGCATGCTGGAGG ATGGCAAGAAGTTCGACTCCTCTCGCGATCGGAACAAG CCCTTTAAGTTCATGCTGGGCAAGCAGGAAGTGATCAG AGGCTGGGAGGAGGGCGTGGCCAGATGCTGTGGGCC AGAGGGCCAAGCTGACAATCAGCCAGACATGTCATAC GGAGCAACCGGACACCCTGGAATCATCCACCACACGC CACACTGGTGTTCGATGTGGAGCTGCTGAAGCTGGGCG
--	---

40

【表 7 - 1 1】

		AGGGCTCTAACACCAGCAAGGAGAATCCATTTCTGTTC GCACTGGAGGCAGTGGTCATCTCCGTGGGCTCTATGGG CCTGATCATCTCCCTGCTGTGCGTGTACTTTTGGCTGGA GAGAACAATGCCAAGGATCCCCACCCTGAAGAACCCTGG AGGACCTGGTGACCGAGTACCACGGCAATTTACGCGCC TGGTCCGGCGTGTCTAAGGGACTGGCAGAGTCCCTGCA GCCAGATTATTCTGAGCGGCTGTGCCTGGTGAGCGAGA TCCCTCCAAAGGGAGGCGCCCTGGGAGAGGGACCAGG AGCCAGCCCCCTGCAACCAGCACTCCCCTTACTGGGCCC CCCCTTGTTATACCCTGAAGCCAGAGACAGGCTCTGGC GCCACCAACTTCAGCCTGCTGAAGCAAGCCGGCGACGT GGAAGAAAACCCAGGACCAATGGCACTGCCAGTGACC GCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCC AGACCCATCCTGTGGCACGAAATGTGGCATGAAGGCCT GGAGGAGGCAAGCAGACTGTACTTTGGCGAGAGAAAT GTGAAAGGAATGTTTGAGGTGCTGGAGCCTCTGCACGC CATGATGGAGAGGGGCCCTCAGACCCTGAAGGAGACAT CCTTTAACCAGGCCTACGGCAGAGACCTGATGGAGGCC CAGGAGTGGTGACGGAAGTATATGAAGAGCGGAAATG TGAAAGACCTGCTGCAGGCCTGGGATCTGTACTACCAC GTGTTCCGCCGATCTCTAAGGGCAAGGATACAATCCC TTGGCTGGGACACCTGCTGGTGGGACTGAGCGGAGCCT TTGGCTTCATCATCCTGGTGTATCTGCTGATCAACTGCA GAAATACAGGCCCATGGCTGAAGAAGGTGCTGAAGTGT AACACCCCTGACCCATCCAAGTTCTTTTCTCAGCTGAGC TCCGAGCACGGCGGCGATGTGCAGAAGTGGCTGTCTAG CCCCTTTCCTTCCTCTAGCTTCAGCCCTGGAGGACTGGC ACCTGAGATCTCCCCACTGGAGGTGCTGGAGAGGGACA AGGTGACCCAGCTGCTGCTGCAGCAGGATAAGGTGCCA GAGCCCGCCTCCCTGTCCTCTAACCACAGCCTGACCTCC TGCTTTACAAATCAGGGCTACTTCTTTTCCACCTGCCA GACGCACTGGAGATCGAGGCATGTCAGGTGTATTTAC ATACGATCCCTATAGCGAGGAGGACCCTGATGAGGGAG TGGCCGGCGCCCCAACCGGAAGCTCCCCTCAGCCACTG CAGCCACTGAGCGGAGAGGACGATGCATATTGTACATT TCCTTCCCGCGACGATCTGCTGCTGTTCTCTCCAAGCCT GCTGGGAGGACCATCTCCACCCAGCACCGCACCTGGAG GATCCGGGGCAGGGGAGGAGCGGATGCCTCCATCTCTG CAGGAGAGAGTGCCAAGGGACTGGGATCCACAGCCTCT GGGACCACCTACCCCTGGAGTGCCAGACCTGGTGGATT TCCAGCCACCCCTGAGCTGGTGCTGCGGGAGGCAGGA GAGGAGGTGCCAGACGCAGGACCTAGAGAGGGCGTGA GCTTTCCCTGGTCCAGGCCACCAGGACAGGGAGAGTTC CGCGCCCTGAACGCCCGGCTGCCCCTGAATACAGACGC CTACCTGTCTCTGCAGGAGCTGCAGGGCCAGGATCCTA CCACCTGGTGTGA	10
62	シグナルペプチド (ヒトCSF2R)	ATGCTGCTGCTGGTGACCTCCCTGCTGCTGTGCGAGCTG CCTCACCCAGCCTTTCTGCTGATCCCC	20
63	αCD19 scFv (VL_リンカー_VH)	GACATCCAGATGACACAGACCACAAGCTCCCTGTCTGC CAGCCTGGGCGACAGAGTGACCATCTCCTGTAGGGCCT	30
			40

【表 7 - 1 2】

		CTCAGGATATCAGCAAGTACCTGAACTGGTATCAGCAG AAGCCAGATGGCACAGTGAAGCTGCTGATCTACCACAC CTCCAGGCTGCACTCTGGAGTGCCAAGCCGGTTCTCCG GATCTGGAAGCGGCACCGACTATTCCCTGACAATCTCT AACCTGGAGCAGGAGGATATCGCCACATACTTTTGCCA GCAGGGCAATACCCCTGCCATATACATTTCGGCGGAGGAA CCAAGCTGGAGATCACCGGATCCACATCTGGAAGCGGC AAGCCAGGAAGCGGAGAGGGATCCACAAAGGGAGAGG TGAAGCTGCAGGAGAGCGGACCAGGACTGGTGGCACC ATCCCAGTCTCTGAGCGTGACCTGTACAGTGTCCGGCGT GTCTCTGCCTGACTACGGCGTGTCTGGATCAGGCAGCC ACCTAGGAAGGGACTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTGGG GCTCTGAGACCACATACTATAATTCTGCCCTGAAGAGC CGCCTGACCATCATCAAGGACAACCTCCAAGTCTCAGGT GTTTCTGAAGATGAATAGCCTGCAGACCGACGATACAG CCATCTACTATTGCGCCAAGCACTACTATTACGGCGGCT CCTACGCCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCTCCGTG ACAGTGTCTAGC	
64	IgG4リンカー- CD28 TM	GAGTCTAAGTATGGCCACCCTGCCCTCCATGTCCAATG TTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGAGGCGTGCTGGCCTG TTACTCCCTGCTGGTGACCGTGGCCTTTATCATCTTCTG GGTG	10
65	4-1BBシグナルドメイ ン	AAGAGAGGCAGGAAGAAGCTGCTGTATATCTTTAAGCA GCCCTTCATGCGCCCTGTGCAGACCACACAGGAGGAGG ACGGCTGCAGCTGTCGGTTTCCAGAGGAGGAGGAGGGA GGATGCGAGCTG	20
66	CD3ゼータ	CGCGTGAAGTTCAGCCGGTCCGCCGATGCCCTGCCTA CCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGTATAACGAGCTGAATC TGGGCCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGAG GAGGGGAAGGGACCCAGAGATGGGAGGCAAGCCTCGG AGAAAGAACCCACAGGAGGGCCTGTACAATGAGCTGC AGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCTATTCTGAGATCGGC ATGAAGGGAGAGAGGCGCCGGGGCAAGGGACACGATG GCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCACAAAGGACACA TATGATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCACCTAGG	
67	P2A自己切断ペプチ ド	GGATCTGGAGCCACCAACTTTAGCCTGCTGAAGCAGGC AGGCGATGTGGAGGAGAATCCAGGACCT	30
68	ネイキッドFRB	GAGATGTGGCACGAGGGACTGGAGGAGGCAAGCAGGC TGTACTTTGGCGAGCGGAATGTGAAGGGCATGTTTCGAG GTGCTGGAGCCACTGCACGCAATGATGGAGAGGGGACC ACAGACCCTGAAGGAGACATCCTTCAACCAGGCATACG GAAGGGACCTGATGGAGGCACAGGAGTGGTGCCGGAA GTATATGAAGTCTGGCAATGTGAAGGACCTGCTGCAGG CCTGGGATCTGTATTACCACGTGTTTAGAAGGATCAGC AAG	
69	P2A自己切断ペプチ ド	GGCTCCGGCGCCACCAACTTCTCCCTGCTGAAGCAGGC CGGCGATGTGGAAGAAAATCCAGGACCA	
70	シグナルペプチド- FKBP12	ATGCCTCTGGGACTGCTGTGGCTGGGACTGGCCCTGCTG GGCGCCCTGCACGCCAGGCCGGCGTGACAGGTGGAGAC	40

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 3】

		AATCAGCCCTGGCGACGGCAGAACCTTTCCAAAGAGGG GCCAGACATGCGTGGTGCCTACACCGGCATGCTGGAG GATGGCAAGAAGTTCGACTCCTCTCGCGATCGGAACAA GCCCTTTAAGTTCATGCTGGGCAAGCAGGAAGTGATCA GAGGCTGGGAGGAGGGCGTGGCCAGATGTCTGTGGGC CAGAGGGCCAAGCTGACAATCAGCCCAGACTATGCATA CGGAGCAACCGGACACCCTGGAATCATCCCACCACACG CCACACTGGTGTTCGATGTGGAGCTGCTGAAGCTG
71	IL-2R ガンマ TM-細胞質ドメイン	GGCGAGGGCTCTAACACCAGCAAGGAGAATCCATTCT GTTTCGCACTGGAGGCAGTGGTCATCTCCGTGGGCTCTAT GGGCCTGATCATCTCCCTGCTGTGCGTGTACTTTTGGCT GGAGAGAACAATGCCAAGGATCCCCACCCTGAAGAACC TGGAGGACCTGGTGACCGAGTACCACGGCAATTTACAGC GCCTGGTCCGGCGTGTCTAAGGGACTGGCAGAGTCCCT GCAGCCAGATTATTCTGAGCGGCTGTGCCTGGTGAGCG AGATCCCTCCAAAGGGAGGCGCCCTGGGAGAGGGACC AGGAGCCAGCCCCTGCAACCAGCACTCCCCTTACTGGG CCCCCCTTGTTATACCCTGAAGCCAGAGACA
72	P2A	GGCTCTGGCGCCACCAACTTCAGCCTGCTGAAGCAAGC CGGCGACGTGGAAGAAAACCCAGGACCA
73	シグナルペプチド - FRB	ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCC CTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCATCCTGTGGCACGA AATGTGGCATGAAGGCCTGGAGGAGGCAAGCAGACTGT ACTTTGGCGAGAGAAATGTGAAAGGAATGTTTGAGGTG CTGGAGCCTCTGCACGCCATGATGGAGAGGGGCCCTCA GACCCTGAAGGAGACATCCTTTAACCAGGCCTACGGCA GAGACCTGATGGAGGCCAGGAGTGGTGCAGGAAGTAT ATGAAGAGCGGAAATGTGAAAGACCTGCTGCAGGCCTG GGATCTGTACTACCACGTGTTCCGCCGGATCTCTAAG
74	IL-2R ベータTM- 細胞質ドメイン	GGCAAGGATACAATCCCTTGGCTGGGACACCTGCTGGT GGGACTGAGCGGAGCCTTTGGCTTCATCATCCTGGTGTA TCTGCTGATCAACTGCAGAAATACAGGCCCATGGCTGA AGAAGGTGCTGAAGTGTAACACCCCTGACCCATCCAAG TTCTTTTCTCAGCTGAGCTCCGAGCACGGCGGCGATGTG CAGAAGTGGCTGTCTAGCCCCCTTTCCTTCCTCTAGCTTC AGCCCTGGAGGACTGGCACCTGAGATCTCCCCACTGGA GGTGCTGGAGAGGGACAAGGTGACCCAGCTGCTGCTGC AGCAGGATAAGGTGCCAGAGCCCGCCTCCCTGTCTCT AACCACAGCCTGACCTCCTGCTTTACAAATCAGGGCTA CTTCTTTTCCACCTGCCAGACGCACTGGAGATCGAGGC ATGTCAGGTGTATTTACATACGATCCCTATAGCGAGG AGGACCCTGATGAGGGAGTGGCCGGCGCCCCAACCGGA AGCTCCCCTCAGCCACTGCAGCCACTGAGCGGAGAGGA CGATGCATATTGTACATTTCTTCCCGCGACGATCTGCT GCTGTTCTCTCCAAGCCTGCTGGGAGGACCATCTCCACC CAGCACCGCACCTGGAGGATCCGGGGCAGGGGAGGAG CGGATGCCTCCATCTCTGCAGGAGAGAGTGCCAAGGGA CTGGGATCCACAGCCTCTGGGACCACCTACCCCTGGAG TGCCAGACCTGGTGGATTTCAGCCACCCCTGAGCTG

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 4】

		GTGCTGCGGGAGGCAGGAGAGGAGGTGCCAGACGCAG GACCTAGAGAGGGCGTGAGCTTTCCCTGGTCCAGGCCA CCAGGACAGGGAGAGTTCCGCGCCCTGAACGCCCGGCT GCCCCTGAATACAGACGCCTACCTGTCTCTGCAGGAGC TGCAGGGCCAGGATCCTACCCACCTGGTG
75	FRB_RACR_αC D19 CAR レンチウイルスベクター	MEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERG PQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQ AWDLYYHVFRISKGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMPL GLLWLGLALLGALHAQAGVQVETISPGDGRTFPRGQTC VVHYTGMLLEDGKKFDSSDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEE GVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDV ELLKLGECSNTSKENPFLFALEAVVISVGSMLIISLLCVYF WLERTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNFSAWSGVSKGLAESL QPDYSERLCLVSEIPPKGGALGEGPGASPCNQHSPLYWAPP CYTLKPETGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMALPVTALLL PLALLLHAARPILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMF EVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCR KYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRISKGKDTIPWLGHLL VGLSGAFGFHILVYLLINCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFF SQLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEISPLEVLERD KVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLSCTFNQGYFFFHLPDA LEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAPTGSSPQPLQPLSG EDDAYCTFPSRDDLLLFSPSLLGGSPSPSTAPGSGGAGEER MPPSLQERVPRDWDPPQLGPPTPGVVDLVDFQPPPELVLR EAGEEVPDAGPREGVSFPWSRPPGQGEFRALNARLPLNTD AYLSLQELQGQDPHTLVGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIQMTQTTSSLSASLGDRVT ISCRASQDISKYLWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSR FSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGT KLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSL SVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY YNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDBAIYYCAKH YYYGGSYAMDYWGQGTSTVTSSESKYGPPCPPCPMFVW LVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKKLLYIFKQPFM RPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQ QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALPPR
76	ネイキッド FRB_P2A	MEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERG PQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQ AWDLYYHVFRISKGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
77	RACRg (FKBP12_IL-2R ガンマ)_P2A	MPLGLLWLGLALLGALHAQAGVQVETISPGDGRTFPRG QTCVVHYTGMLLEDGKKFDSSDRNKPFFKMLGKQEVIRG WEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLV FDVELLKLGECSNTSKENPFLFALEAVVISVGSMLIISLLC VYFWLERTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNFSAWSGVSKGL AESLQPDYSERLCLVSEIPPKGGALGEGPGASPCNQHSPLY WAPPCYTLKPETGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP

10

20

30

40

【表 7 - 1 5】

78	RACRb (FRB_IL-2R ペータ)_P2A	MALPVTALLLPLALLLHAARPILWHEMWHEGLEEASRLY FGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRD LMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKGK DTIPWLGHLLVGLSGAFGFHLLVYLLINCRNTGPWLKKVLK CNTDPDSKFFSQLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGLAP EISPLEVLERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLSCTFN QGYFFFHLPDALEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAPT GSSPQPLQPLSGEDDAYCTFPSRDDLLFSPSLLGGPSPST APGGSGAGEERMPPSLQERVPRDWDQPPLGPPTPGVPDLV DFQPPPELVREAGEEVPDAGPREGVSEFWSRPPGQGEFR ALNARLPLNTDAYLSLQELQGQDPHTLVGSGATNFSLLKQ AGDVEENPGP
79	α CD19 scFv	MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIQMTQTSSLSASLGDRVT ISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSR FSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGT KLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSL SVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY YNSALKSRLTIHKDNSKSQVFLKMNSLQTDDBTAIYYCAKH YYYGGSYAMDYWGQGSTVTSS
80	IgG4リンカー- CD28 TM_4- 1BB-CD3ゼータ	ESKYGPCCPPCPMFVVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFVW KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
81	FRB_RACR_ α C D19 CAR レンチウイルスベクター	ATGGAGATGTGGCACGAGGGACTGGAGGAGGCAAGCA GACTGTACTTTGGCGAGAGGAACGTGAAGGGCATGTTC GAGGTGCTGGAGCCACTGCACGCAATGATGGAGAGGG GACCACAGACCTGAAGGAGACATCTTTCAACCAGGCA TACGGAAGGGACCTGATGGAGGCACAGGAGTGGTGCC GGAAGTATATGAAGAGCGGCAATGTGAAGGACCTGCTG CAGGCCTGGGATCTGTACTATCACGTGTTTCGGAGAATC TCCAAGGGCTCTGGCGCCACCAACTTCTCCCTGCTGAAG CAGGCCGCGCATGTGGAGGAGAATCCTGGACCAATGCC ACTGGGACTGCTGTGGCTGGGACTGGCCCTGCTGGGCG CCCTGCACGCCCAGGCCGGCGTGCAGGTGGAGACAATC AGCCCTGGCGACGGACGCACCTTTCCAAAGAGGGGACA GACATGCGTGGTGCACTACACCGGCATGCTGGAGGATG GCAAGAAGTTCGACAGCTCCAGAGATAGGAATAAGCCC TTTAAGTTCATGCTGGGCAAGCAGGAAGTGATCAGGGG ATGGGAGGAGGGAGTGGCACAGATGTCTGTGGGACAG CGGGCCAAGCTGACAATCAGCCCAGACTATGCATACGG AGCAACCGGACACCCTGGAATCATCCCACCTCACGCCA CACTGGTGTTTGATGTGGAGCTGCTGAAGCTGGGCGAG GGCAGCAACACCTCCAAGGAGAATCCATTTCTGTTCGC CCTGGAGGCCGTGGTCATCTCTGTGGGCAGCATGGGCC TGATCATCTCCCTGCTGTGCGTGTACTTTTGGCTGGAGC GCACAATGCCACGGATCCCCACCCTGAAGAACCTGGAG GACCTGGTGACCGAGTACCACGGCAATTTCTCCGCCTG GTCTGGCGTGAGCAAGGGACTGGCAGAGTCTCTGCAGC CAGATTATAGCGAGCGGCTGTGCCTGGTGAGCGAGATC

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 6】

	CCACCCAAGGGAGGCGCCCTGGGAGAGGGACCAGGAG CCTCCCCCTTGCAACCAGCACTCTCCTTACTGGGCCCCCTC CATGTTATACCTGAAGCCAGAGACAGGCAGCGGAGCT ACTAACTTCTCCCTGCTGAAGCAAGCAGGCGACGTGGA AGAAAATCCTGGACCAATGGCACTGCCAGTGACCGCCC TGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCAGAC CCATCCTGTGGCACGAAATGTGGCATGAAGGCCTGGAG GAGGCAAGCAGGCTGTACTTTGGCGAGCGGAATGTGAA AGGAATGTTTGAAGTGCTGGAGCCTCTGCACGCCATGA TGGAGAGGGGCCCTCAGACCCTGAAGGAGACATCCTTT AACCAGGCCTACGGCAGAGACCTGATGGAGGCCCAGG AGTGGTGCAGGAAGTATATGAAGTCTGGAAATGTGAAA GACCTGCTGCAGGCCTGGGATCTGTATTATCACGTGTTT AGGCGCATCTCTAAGGGCAAGGATACAATCCCTTGGCT GGGACACCTGCTGGTGGGACTGAGCGGAGCCTTTGGCT TCATCATCCTGGTGTATCTGCTGATCAACTGCCGCAATA CAGGCCCATGGCTGAAGAAGGTGCTGAAGTGTAACACC CCCGACCTTCCAAGTTCTTTTCTCAGCTGTCTAGCGAG CACGGCGGGGATGTGCAGAAGTGGCTGTCCTCTCCATT CCCAGCTCCTCTTTCAGCCAGGAGGACTGGCACCAGA GATCTCCCCACTGGAGGTGCTGGAGAGGGACAAGGTGA CCCAGCTGCTGCTGCAGCAGGATAAGGTGCCTGAGCCA GCCTCCCTGAGCTCCAACCACTCCCTGACCTCTTGCTTT ACAAATCAGGGCTACTTCTTTTCCACCTGCCAGACGCA CTGGAGATCGAGGCATGTCAGGTGTATTTACATACGA TCCCTATAGCGAGGAGGACCCTGATGAGGGAGTGGCCG GCGCCCCAACCGGATCTAGCCCACAGCCTCTGCAGCCA CTGAGCGGAGAGGACGATGCATATTGTACATTTCTTCC CGCGACGATCTGCTGCTGTTCTCTCCAAGCCTGCTGGGA GGACCAAGCCCACCTTCCACCGCACCAGGCGGCTCCGG GGCAGGGGAGGAGCGGATGCCACCCTCTCTGCAGGAGA GAGTGCCAAGGGACTGGGATCCACAGCCACTGGGACCT CCAACCCCTGGAGTGCCAGACCTGGTGGATTTCCAGCC CCCTCCAGAGCTGGTGTGCTGAGAGAGGCAGGAGAGGAG GTGCCTGACGCAGGACCAAGAGAGGGCGTGAGCTTTCC TTGGTCCAGGCCACCTGGACAGGGAGAGTTTACAGAGCCC TGAACGCCAGGCTGCCCCCTGAATACAGACGCCTACCTG TCTCTGCAGGAGCTGCAGGGCCAGGATCCTACACACCT GGTGCGATCTGGCGCCACCAACTTTAGCCTGCTGAAGC AGGCAGGCGACGTGGAAGAGAACCCCTGGACCAATGCT GCTGCTGGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCAC ACCCTGCCTTCCCTGCTGATCCCAGATATCCAGATGACAC AGACCACATCCTCTCTGTCCGCCTCTCTGGGCGACAGAG TGACCATCTCTTGTAGGGCCAGCCAGGATATCTCCAAGT ACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGACGGCACAGTG AAGCTGCTGATCTACCACACCTCTAGGCTGCACAGCGG AGTGCCATCCCGGTTTACGCGGATCCGGATCTGGAACAG ACTATTCTCTGACCATCAGCAACCTGGAGCAGGAGGAT ATCGCCACATACTTTTGCCAGCAGGGCAATACCCTGCC ATATACATTGCGCGGAGGAACCAAGCTGGAGATCACCG
--	---

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 7】

		GAAGCACATCCGGATCTGGCAAGCCAGGATCCGGAGAG GGATCTACAAAGGGAGAGGTGAAGCTGCAGGAGAGCG GACCAGGACTGGTGGCACCCAGCCAGTCCCTGTCTGTG ACCTGTACAGTGTCTGGCGTGAGCCTGCCCCGATTACGG CGTGTCTGGATCAGACAGCCACCAAGGAAGGGACTGG AGTGGCTGGGCGTGATCTGGGGCTCTGAGACCACATAC TATAATAGCGCCCTGAAGTCCCGGCTGACCATCATCAA GGACAACAGCAAGTCCCAGGTGTTTCTGAAGATGAATA GCCTGCAGACCGACGATACAGCCATCTACTATTGCGCC AAGCACTACTATTACGGCGGCTCCTACGCCATGGATTAT TGGGGCCAGGGCACCTCCGTGACAGTGAGCTCCGAGTC TAAGTATGGCCCTCCATGCCCCCTTGTCTATGTTCTG GGTGCTGGTGGTGGTGGGAGGCGTGCTGGCCTGTTACT CCCTGCTGGTGACCGTGGCCTTTATCATCTTCTGGGTGA AGCGCGGCCGGAAGAAGCTGCTGTATATCTTTAAGCAG CCCTTCATGAGACCTGTGCAGACCACACAGGAGGAGGA CGGCTGCAGCTGTAGGTTTCCAGAGGAGGAGGAGGGAG GATGCGAGCTGCGCGTGAAGTTCTCTCGGAGCGCCGAT GCCCCCTGCCTACCAGCAGGGACAGAACCAGCTGTATAA CGAGCTGAATCTGGGCCGGAGAGAGGAGTACGACGTGC TGGATAAGAGAGGAGGGGAAGAGACCCAGAGATGGGAGG CAAGCCTCGGAGAAAGAACCCACAGGAGGGCCTGTAC AATGAGCTGCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCTATTC CGAGATCGGCATGAAGGGAGAGAGGCGCCGGGGCAAG GGACACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCAC AAAGGACACCTATGATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGC CACCCAGGTGA	10
82	ネイキッドFRB_P2A	ATGGAGATGTGGCACGAGGGACTGGAGGAGGCAAGCA GACTGTACTTTGGCGAGAGGAACGTGAAGGGCATGTTT GAGGTGCTGGAGCCACTGCACGCAATGATGGAGAGGG GACCACAGACCCTGAAGGAGACATCTTTCAACCAGGCA TACGGAAGGGACCTGATGGAGGCACAGGAGTGGTGGC GGAAGTATATGAAGAGCGGCAATGTGAAGGACCTGCTG CAGGCCTGGGATCTGTAATATCACGTGTTTCGGAGAATC TCCAAGGGCTCTGGCGCCACCAACTTCTCCCTGCTGAAG CAGGCCGGCGATGTGGAGGAGAATCCTGGACCA	20
83	RACRg (FKBP12_IL-2R ガンマ)_P2A	ATGCCACTGGGACTGCTGTGGCTGGGACTGGCCCTGCT GGGCGCCCTGCACGCCCAGGCCGGCGTGACGCTGGAGA CAATCAGCCCTGGCGACGGACGCACCTTTCCAAAGAGG GGACAGACATGCGTGGTGCCTACACCGGCATGCTGGA GGATGGCAAGAAGTTCGACAGCTCCAGAGATAGGAATA AGCCCTTTAAGTTCATGCTGGGCAAGCAGGAAGTGATC AGGGGATGGGAGGAGGGAGTGGCACAGATGTCTGTGG GACAGCGGGCCAAGCTGACAATCAGCCCAGACTATGCA TACGGAGCAACCGGACACCCTGGAATCATCCACCTCA CGCCACACTGGTGTGTTGATGTGGAGCTGCTGAAGCTGG GCGAGGGCAGCAACACCTCCAAGGAGAATCCATTTCTG TTCGCCCTGGAGGCCGTGGTCATCTCTGTGGGCAGCATG GGCCTGATCATCTCCCTGCTGTGCGTGTACTTTGGCTG GAGCGCACAATGCCACGGATCCCCACCCTGAAGAACCT	30
			40

【表 7 - 1 8】

		GGAGGACCTGGTGACCGAGTACCACGGCAATTTCTCCG CCTGGTCTGGCGTGAGCAAGGGACTGGCAGAGTCTCTG CAGCCAGATTATAGCGAGCGGCTGTGCCTGGTGAGCGA GATCCCACCCAAGGGAGGCGCCCTGGGAGAGGGACCA GGAGCCTCCCCTTGCAACCAGCACTCTCCTTACTGGGCC CCTCCATGTTATACCCTGAAGCCAGAGACAGGCAGCGG AGCTACTAACTTCTCCCTGCTGAAGCAAGCAGGCGACG TGGAAGAAAATCCTGGACCA
84	RACRb (FRB_IL-2R ペーダ)_P2A	ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCC CTGCTGCTGCACGCAGCCAGACCCATCCTGTGGCACGA AATGTGGCATGAAGGCCTGGAGGAGGCAAGCAGGCTGT ACTTTGGCGAGCGGAATGTGAAAGGAATGTTTGAAGTG CTGGAGCCTCTGCACGCCATGATGGAGAGGGGCCCTCA GACCCTGAAGGAGACATCCTTTAACCAGGCCTACGGCA GAGACCTGATGGAGGCCCAGGAGTGGTGCAGGAAGTAT ATGAAGTCTGGAAATGTGAAAGACCTGCTGCAGGCCTG GGATCTGTATTATCACGTGTTCAAGCGCATCTCTAAGGG CAAGGATACAATCCCTTGGCTGGGACACCTGCTGGTGG GACTGAGCGGAGCCCTTGGCTTCATCATCCTGGTGTATC TGCTGATCAACTGCCGCAATACAGGCCCATGGCTGAAG AAGGTGCTGAAGTGTAACACCCCCGACCCTTCCAAGTT CTTTTCTCAGCTGTCTAGCGAGCACGGCGGCGATGTGCA GAAGTGGCTGTCTCTCCATTTCCCAGCTCCTCTTTCAG CCCAGGAGGACTGGCACCAGAGATCTCCCCACTGGAGG TGCTGGAGAGGGACAAGGTGACCCAGCTGCTGCTGCAG CAGGATAAGGTGCCTGAGCCAGCCTCCCTGAGCTCCAA CCACTCCCTGACCTCTTGCTTTACAAATCAGGGCTACTT CTTTTCCACCTGCCAGACGCACTGGAGATCGAGGCAT GTCAGGTGTATTTACATACGATCCCTATAGCGAGGAG GACCCTGATGAGGGAGTGGCCGGCGCCCCAACCGGATC TAGCCCACAGCCTCTGCAGCCACTGAGCGGAGAGGACG ATGCATATTGTACATTTCTTCCCGCGACGATCTGCTGC TGTTCTCTCCAAGCCTGCTGGGAGGACCAAGCCCACCT CCACCGCACCAAGCGGCTCCGGGGCAGGGGAGGAGCG GATGCCACCCTCTCTGCAGGAGAGAGTGCCAAGGGACT GGGATCCACAGCCACTGGGACCTCCAACCCCTGGAGTG CCAGACCTGGTGGATTTCCAGCCCCCTCCAGAGCTGGT GCTGAGAGAGGCAGGAGAGGAGGTGCCTGACGCAGGA CCAAGAGAGGGCGTGAGCTTTCCTTGGTCCAGGCCACC TGGACAGGGAGAGTTCAGAGCCCTGAACGCCAGGCTGC CCCTGAATACAGACGCCTACCTGTCTCTGCAGGAGCTG CAGGGCCAGGATCCTACACACCTGGTCCGATCTGGCGC CACCAACTTTAGCCTGCTGAAGCAGGCAGGCGACGTGG AAGAGAACCCTGGACCA
85	αCD19 scFv	ATGCTGCTGCTGGTGACCAAGCCTGCTGCTGTGCGAGCTG CCACACCCTGCCTTCCTGCTGATCCAGATATCCAGATG ACACAGACCACATCCTCTCTGTCCGCCTCTCTGGGCGAC AGAGTGACCATCTCTTGTAGGGCCAGCCAGGATATCTC CAAGTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGACGGCA CAGTGAAGCTGCTGATCTACCACACCTCTAGGCTGCAC

10

20

30

40

50

【表 7 - 1 9】

		AGCGGAGTGCCATCCCGGTTTCAGCGGATCCGGATCTGG AACAGACTATTCTCTGACCATCAGCAACCTGGAGCAGG AGGATATCGCCACATACTTTTGCCAGCAGGGCAATACC CTGCCATATACATTTCGGCGGAGGAACCAAGCTGGAGAT CACCGGAAGCACATCCGGATCTGGCAAGCCAGGATCCG GAGAGGGATCTACAAAGGGAGAGGTGAAGCTGCAGGA GAGCGGACCAGGACTGGTGGCACCCAGCCAGTCCCTGT CTGTGACCTGTACAGTGTCTGGCGTGAGCCTGCCCGATT ACGGCGTGTCTGGATCAGACAGCCACCAAGGAAGGGA CTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTGGGGCTCTGAGACCAC ATACTATAATAGCGCCCTGAAGTCCCGGCTGACCATCA TCAAGGACAACAGCAAGTCCCAGGTGTTTCTGAAGATG AATAGCCTGCAGACCGACGATACAGCCATCTACTATTG CGCCAAGCACTACTATTACGGCGGCTCCTACGCCATGG ATTATTGGGGCCAGGGCACCTCCGTGACAGTGAGCTCC	10
86	IgG4リンカー- CD28 TM 4- 1BB-CD3ゼータ	GAGTCTAAGTATGGCCCTCCATGCCCCCTTGTCTCTATG TTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGAGGCGTGCTGGCCTG TTACTCCCTGCTGGTGACCGTGGCCTTTATCATCTTCTG GGTGAAGCGCGGCCCGGAAGAAGCTGCTGTATATCTTTA AGCAGCCCTTCATGAGACCTGTGCAGACCACACAGGAG GAGGACGGCTGCAGCTGTAGGTTTCCAGAGGAGGAGGA GGGAGGATGCGAGCTGCGCGTGAAGTTCTCTCGGAGCG CCGATGCCCCCTGCCTACCAGCAGGGACAGAACCAGCTG TATAACGAGCTGAATCTGGGCCCGGAGAGAGGAGTACGA CGTGCTGGATAAGAGGAGGGGAAGAGACCCAGAGATG GGAGGCAAGCCTCGGAGAAAAGAACCCACAGGAGGGCC TGTAACAATGAGCTGCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCC TATTCCGAGATCGGCATGAAGGGAGAGAGGCGCCGGG GCAAGGGACACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACC GCCACAAAGGACACCTATGATGCCCTGCACATGCAGGC CCTGCCACCCAGG	20
87	FRB_αCD19 CAR_TGFβDN レンチウイルスベクター	MEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERG PQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQ AWDLYYHVFRISKSGGATNFSLLKQAGDVEENPGPMLL LVTSLLLCELPHPAFLIPDIQMTQTSSLSASLGDRVTISC RASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFS GSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKL EITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSV TCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVWIGSETTYYN SALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYY YGGSYAMDYWGQGTSTVTSSESKYGPPCPPCPMFWVLV VVGGLVACYSLLVTVAFIHFWVKRGRKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQG QNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQG LSTATKDTYDALHMQALPPRGSGATNFSLLKQAGDVEEN PGPMGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSVNNDMI VTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSIC EKPQEVCAVVRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA	30 40

【表 7 - 20】

		SPK CIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNP DLLLVIFQVTGISLLPPLGV AISVIIIIFYCYRVNRQQKRRR
88	ネイキッド FRB_P2A	MEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERG PQTLKETSFNQAYGRDLMEAEWCRKYMKSGNVKDLLQ AWDLYYHV FRRISKGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
89	α CD19 scFv	MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIQMTQTSSLSASLGDRV TISCRAQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSR FSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGT KLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSL SVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY YNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKH YYYGGSYAMDYWGQGTSTVTVSS
90	IgG4リンカー- CD28 TM_4- 1BB- CD3ゼータ_P2A	ESKYGPPCPPCPMFVVLVVGVLACYSLLVTVAFIIFWV KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRG SGATNFSLLKQAGDVEENPGP
91	TGFベータDN	MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSVNNDMIVTD NNGAVKFPQLCKFCDFRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKP QEVCAVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAAAPK CIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLL LVIFQVTGISLLPPLGV AISVIIIIFYCYRVNRQQKRRR
92	FRB_ α CD19 CAR_ TGFbDN レンチウイルスベクター	ATGGAGATGTGGCAGGAGGACTGGAGGAGGCATCCA GACTGTACTTCGGCGAGAGGAACGTGAAGGGCATGTTT GAGGTGCTGGAGCCACTGCACGCCATGATGGAGAGAGG CCCCCAGACCTGAAGGAGACATCTTTCAACCAGGCCT ATGGAAGGGACCTGATGGAGGCACAGGAGTGGTGCCG GAAGTACATGAAGAGCGGCAATGTGAAGGACCTGCTGC AGGCTGGGATCTGTACTATCACGTGTTCCGGAGAATC AGCAAGGGCTCCGGCGCCACCAACTTTAGCCTGCTGAA GCAGGCAGGCGACGTGGAGGAGAATCCAGGACCTATG CTGCTGCTGGTGACATCCCTGCTGCTGTGCGAGCTGCCA CAGGAGCCTTCCTGCTGATCCCCGATATCCAGATGACC CAGACCACAAGCTCCCTGAGCGCCTCCCTGGGCGACAG GGTGACAATCTCTTGTGCGGCCAGCCAGGATATCTCCA AGTATCTGAATTGGTACCAGCAGAAGCCGACGGCACC GTGAAGCTGCTGATCTATCACACATCTAGACTGCACAG CGGCGTGCTTCCAGGTTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCAC CGACTACTCTCTGACAATCAGCAACCTGGAGCAGGAGG ATATCGCCACCTATTTCTGCCAGCAGGGCAATACCTGCT CTTACACATTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCACC GGCTCTACAAGCGGATCCGGCAAGCCAGGATCCGGAGA GGGATCTACCAAGGGAGAGGTGAAGCTGCAGGAGAGC GGACCTGGACTGGTGGCACCATCTCAGAGCCTGTCCGT GACCTGTACAGTGTCTGGCGTGAGCCTGCCAGATTATG GCGTGAGCTGGATCAGGCAGCCACCTAGGAAGGGACTG GAGTGGCTGGGCGTGATCTGGGGCTCCGAGACCATATA CTATAACAGCGCCCTGAAGTCCCGCCTGACCATCATCA

10

20

30

40

50

【表 7 - 2 1】

		AGGACAACCTCTAAGAGCCAGGTGTTCTGAAGATGAAT TCCCTGCAGACCGACGATACAGCCATCTACTATTGCGCC AAGCACTACTATTACGGCGGCTCTTATGCCATGGATTAC TGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGAGTAC CAAGTACGGGCCACCCTGCCCTCCATGTCCCATGTTTTG GGTGCTGGTGGTGGTGGGAGGCGTGCTGGCCTGTTATT CCCTGCTGGTGACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTGA AGCGCGGCCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTCAAGCAG CCCTTCATGAGACCCGTGCAGACCACACAGGAGGAGGA CGGCTGCAGCTGTAGGTTCCCAGAGGAGGAGGAGGGA GGATGCGAGCTGAGGGTGAAGTTTTCCCGGTCTGCCGA TGCCCTGCCTATCAGCAGGGCCAGAATCAGCTGTACA ACGAGCTGAATCTGGGCAGGCGCGAGGAGTACGACGTG CTGGATAAGAGGAGAGGAAGGGACCCTGAGATGGGAG GCAAGCCAAGGCGCAAGAACCCTCAGGAGGGCCTGTAT AATGAGCTGCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCTACTC CGAGATCGGCATGAAGGGAGAGCGGAGAAGGGGCAAG GGACACGATGGCCTGTATCAGGGCCTGAGCACCGCCAC AAAGGACACCTACGATGCACTGCACATGCAGGCCCTGC CACCTAGAGGATCTGGAGCCACAACTTCAGCCTGCTG AAGCAGGCCGCGCATGTGGAGGAGAATCCTGGACCAAT GGGAAGAGGACTGCTGAGGGGACTGTGGCCACTGCACA TCGTGCTGTGGACCAGGATCGCCTCTACAATCCCACCCC ACGTGCAGAAGAGCGTGAACAATGACATGATCGTGACC GATAACAATGGCGCCGTGAAGTTTCCCCAGCTGTGCAA GTTCTGTGACGTGCGCTTTTCCACCTGTGATAACCAGAA GTCCTGCATGTCTAATTGTAGCATCACATCCATCTGCGA GAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAAGA ACGACGAGAATATCACCTGGAGACAGTGTGCCACGAT CCCAAGCTGCCTTATCACGACTTCATCCTGGAGGATGCC GCCTCTCCTAAGTGTATCATGAAGGAGAAGAAGAAGCC AGCGGAGACCTTCTTTATGTGCAGCTGTTCTCTGACGA GTGCAACGATAATATCATCTTCTCCGAGGAGTACAACA CCTCTAATCCTGACCTGCTGCTGGTCATCTTTCAGGTGA CAGGCATCTCCTGCTGCCTCCACTGGGCGTGGCCATCT CTGTGATCATCATCTTTTATTGTTACAGAGTGAACAGGC AGCAGAAGCGCCGGCGCTAG
93	ネイキッド FRB_P2A	ATGGAGATGTGGCACGAGGGACTGGAGGAGGCATCCA GACTGTACTTCGGCGAGAGGAACGTGAAGGGCATGTTT GAGGTGCTGGAGCCACTGCACGCCATGATGGAGAGAGG CCCCAGACCCTGAAGGAGACATCTTTCAACCAGGCCT ATGGAAGGGACCTGATGGAGGCACAGGAGTGGTGCCG GAAGTACATGAAGAGCGGCAATGTGAAGGACCTGCTGC AGGCCTGGGATCTGTACTATCACGTGTTCCGGAGAATC AGCAAGGGCTCCGGCGCCACCAACTTTAGCCTGCTGAA GCAGGCAGGCGACGTGGAGGAGAATCCAGGACCT
94	α CD19 scFv	ATGCTGCTGCTGGTGACATCCCTGCTGCTGTGCGAGCTG CCACACCCAGCCTTCCTGCTGATCCCCGATATCCAGATG ACCCAGACCACAAGCTCCCTGAGCGCCTCCCTGGGCGA CAGGGTGACAATCTCTTGTCGGGCCAGCCAGGATATCT

10

20

30

40

50

【表 7 - 2 2】

		CCAAGTATCTGAATTGGTACCAGCAGAAGCCCCGACGGC ACCGTGAAGCTGCTGATCTATCACACATCTAGACTGCA CAGCGGCGTGCCCTTCCAGGTTTTCTGGCAGCGGCTCCGG CACCGACTACTCTCTGACAATCAGCAACCTGGAGCAGG AGGATATCGCCACCTATTTCTGCCAGCAGGGCAATACC CTGCCTTACACATTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGAT CACCGGCTCTACAAGCGGATCCGGCAAGCCAGGATCCG GAGAGGGATCTACCAAGGGAGAGGTGAAGCTGCAGGA GAGCGGACCTGGACTGGTGGCACCATCTCAGAGCCTGT CCGTGACCTGTACAGTGTCTGGCGTGAGCCTGCCAGATT ATGGCGTGAGCTGGATCAGGCAGCCACCTAGGAAGGGA CTGGAGTGGCTGGGCGTGATCTGGGGCTCCGAGACCAC AACTATAACAGCGCCCTGAAGTCCCGCCTGACCATCA TCAAGGACAACCTCTAAGAGCCAGGTGTTCTGAAGATG AATCCCTGCAGACCGACGATACAGCCATCTACTATTGC GCCAAGCACTACTATTACGGCGGCTCTTATGCCATGGAT TACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGC	10
95	IgG4リンカー- CD28 TM_4- 1BB- CD3ゼータ_P2A	GAGTCCAAGTACGGCCCCACCCTGCCCTCCATGTCCCATG TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGAGGCGTGCTGGCCTGT TATCCCTGCTGGTGACCGTGCCCTTCATCATCTTTTGG GTGAAGCGCGGCCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTCAA GCAGCCCTTCATGAGACCCGTGCAGACCACACAGGAGG AGGACGGCTGCAGCTGTAGGTCCCAGAGGAGGAGGA GGGAGGATGCGAGCTGAGGGTGAAGTTTTCCCGGTCTG CCGATGCCCTGCCTATCAGCAGGGCCAGAATCAGCTG TACAACGAGCTGAATCTGGGCAGGCGCGAGGAGTACGA CGTGCTGGATAAGAGGAGAGGAAGGGACCCTGAGATG GGAGGCAAGCCAAGGCGCAAGAACCCTCAGGAGGGCC TGTATAATGAGCTGCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCC TACTCCGAGATCGGCATGAAGGGAGAGCGGAGAAGGG GCAAGGGACACGATGGCCTGTATCAGGGCCTGAGCACC GCCACAAAGGACACCTACGATGCACTGCACATGCAGGC CCTGCCACCTAGAGGATCTGGAGCCACAACTTCAGCC TGCTGAAGCAGGCCGCGCATGTGGAGGAGAATCCTGGA CCA	20
96	TGFベータ DN	ATGGGAAGAGGACTGCTGAGGGGACTGTGGCCACTGCA CATCGTGCTGTGGACCAGGATCGCCTCTACAATCCCACC CCACGTGCAGAAGAGCGTGAACAATGACATGATCGTGA CCGATAACAATGGCGCCGTGAAGTTTCCCAGCTGTGC AAGTTCTGTGACGTGCGCTTTTCCACCTGTGATAACCAG AAGTCCTGCATGTCTAATTGTAGCATCACATCCATCTGC GAGAAGCCTCAGGAGGTGTGCGTGGCCGTGTGGCGGAA GAACGACGAGAATATCACCTGGAGACAGTGTGCCACG ATCCCAAGCTGCCTTATCACGACTTCATCCTGGAGGATG CCGCCTCTCCTAAGTGTATCATGAAGGAGAAGAAGAAG CCAGGCGAGACCTTCTTTATGTGCAGCTGTTCTCTGAC GAGTGCAACGATAAATATCATCTTCTCCGAGGAGTACAA CACCTCTAATCCTGACCTGCTGCTGGTCATCTTTCAGGT GACAGGCATCTCCCTGCTGCCTCCACTGGGCGTGGCCAT	30 40

【表 7 - 2 3】

		CTCTGTGATCATCATCTTTTATTGTTACAGAGTGAACAG GCAGCAGAAGCGCCGGCGCTAG
97	ヒトグリコホリン A TM_ CT	SGHFSEPEITLIIFGYMAGVIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVKP LPSPD TDVPLSSVEIENPETS DQ 下線を引いた配列は、膜貫通ドメイン断片を表示する
98	リンカー_ヒトグリコホリ ンAエクト-TM_HIV Env CT	TCCGGACACTTCAGCGAGCCTGAGATCACCTGATCAT CTTCGGCGTGATGGCCGGAGTGATCGGCACAATCCTGC TGATCAGCTACGGCATCAGAAGACTGATTAAGAAATCC CCATCTGATGTGAAGCCTCTGCCTTCTCCTGACACCGAC GTCCCCCTGAGCAGCGTGGAATCGAGAACCCCGAAAC CAGCGACCAG
99	Gag	MGARASVLSGGELDRWEKIRLRPGGKKKYKLKHIVWASR ELERFAVNPGLLETSEGCRQILGQLQPSLQTGSEELRSLYN TVATLYCVHQRIEIKDTKEALDKIEEEQNKSKKKAQAAAA DTGHSNQVSQNYPIVQNIQGMVHQAI SPRTLNAWVKVV EEKA FSPEVIPMFSALSEGATPQDLNTMLNTVGGHQAAM QMLKETINEEAAEWDRVHPVHAGPIAPGQMREPRGSDIA GTTSTLQEQIGWMTHNPPVGEIYKRWIILGLNKIVRMY S PTSILDIRQGPKEPFRDYVDRFYKTLRAEQASQEVKNWMT ETLLVQNANPDCKTILKALGPGATLEEMMTACQGVGGPG HKARVLAEAMSQVTNPATIMIQKGNFRNQRKT V KCFNCG KEGHI AKNCRAPRKKG CWKCGKEGHQMKDCTERQANFL GKIWP SHKGRPGNFLQSRPEPTAPPEESFRFGEETTTPSQK QEPIDKELYPLASLSLFGSDPSSQ
100	Pol	FFREDLAFPQGKAREFSSEQTRANSPTRRELQVWGRDNNS LSEAGADRQGTVSFSFPQITLWQRPLVTIKIGGQLKEALLD TGADDTVLEEMNLPGRWKPKMIGGIGGFIKVRQYDQILIEI CGHKAIGTVLVGPTPVNIIGRNLLTQIGCTLNFPISPIETVPV KLKPGMDGPKVKQWPLTEEKIKALVEICTEMEKEGKISKI GPENPYNTPVFAIKKKDSTKWRKLVDRELNKR TQDFWE VQLGIPHPAGLKQKKS VTVLDVGDAYFSVPLDKDFRKYT AFTIPSINNETPGIRYQYNVLPQGWKGSPAIFQCSMTKILEP FRKQNPDI VIYQYMDDLYVGS DLEIGQHRTKIEELRQHLL RWGFTTPDKKHQKEPPFLWMGYELHPDKWTVQPIVLPEK DSWTVNDIQKL VGKLNWASQIYAGIKVRQLCKLLRGTKA LTEVVPLTEEA ELELAENREILKEPVHGVVYDPSKDLIAEI QKQGGQGW TYQIYQEPFKNLKTGKYARMKGAHTNDVK QLTEAVQKIATESI VIWGTKPKFKLP IQKETWEAWWTEYW QATWIPWEFEVNTPLVLWYQLEKEPIIGAETFYVDGAA NRETKLGKAGYVTD RGRQKV VPLTDTTNQKTELQAIHLA LQDSGLEVNIVTDSQYALGIIQAQPDKSESELVSQIIEQLIK KEKVYLAWVPAHKGIGGNEQVDKLVSAGIRKVLFLDGID KAQEEHEKYHSNWRAMASDFNLPPVVAKEIVASCDKQCL KGEAMHGVDCSPGIWQLDCTHLEGKVILVAVHVASGYI EAEVIPAETGQETAYFLLKLAGRWPVKT VHTDNGSNFTST TVKAACWWAGIKQEF GIPYNPQSQGVIESMNKELKKIIGQ VRDQAEHLKTAVQMAVFIHNFKRKGIGGYSAGERIVDII ATDIQTKELQKQITKIQNFRVYYRDSRDPVWKGPAKLLW

10

20

30

40

50

		KGEGAVVIQDNSDIKVVP RRKAKIIRDY GKQ MAGDDCVA SRQDED
101	Gag-pol	atggggcggccgcgccagctgtcttctggcggcgagctggacaggtgggagaagatlcgc ctgcggcctggaggaaagaaaaagtacaaagctgaagcacatcgtgtgggtctctcgggaa ctggaaagatlcgccgtgaacccctggactgctagagaccctccgaaggctgcagacagatcc tgggacagctgcaacctagcctgcagaccggcagcgagggagctgagaagcctgttacaac accgtcgcaccctgtattgtgtgccacaaagaatcgagatcaaggacaccaaggaggctc tggataagatcgagggaagagcagaacaaggaagaaaaaagccagcagggccggccgc tgataccggccattctaatacaggtgtccagaactaccctatgtgcaaaatattcaggggcc gatgttcaccaggccatcagccctagaacctgaatgcctgggtgaaggtgtgtggaaga gaaggccctttctccagaggtgatccctatgttcagcgccctgagcgagggcgctaccctc aggacctgaacacaaatgctgaacaccgtggcgccgaccagccgccaatgcagatgtctg aaagaaacatcaacgaggaggccgccaalgggaccgggtgcacccgttctacgcccgg cccaatcgccctggccagatcggggaacctlagggcgagcgacatcgccggcacaacca gcacactgcaagagcgagatcggtggatgacacacaacccccctaccgtggcgga atctacaagcgggtggatcttctgggactgaacaaaatgttagaatgtacagccctaccagc atcctgatatcagacaggggcccaaaggagcctttccgggactacgtgtgacagatttaca gaccttgagagccgaacagggcctcccaaggaggtgaagaacttgatgacagagacctgc tgggtgcagaatgccaacctgattgtaagacaatcctgaaggccctcgacatcgcgctaca ctggagaagaatgatgaccgctgccaggggcggtggcgccccggccacaaggccagag gtgtggccgaggtatgagccaggtgacaacccccgcacaatcatgatccagaagggcaa cttcagaaccagcgggaagaccgtgaaatgttcaactcgggcgaagggaagccacatcgc aaagaactgcagagccctaggaagaaaggctgttggaaagtgcggaagggaaggacacc aaatgaaagattgtactgagagacaggctaaatttttaggggaagatctggccttccacaagg gaaggccagggaattttctcagagcagaccaggaaccaagccccaccagaagagagct tcagggttggggaagagacaacaactcccttcagaagcaggagccgalagacaagggaac tgtatcctttagcttccctcagatcactctttggcagcgacccctcgtcacataaagatcggc ggacagctgaaagaggccttctgtggacaccggagccgatgacaccgtgctggaagaat gaacctgcctggaaagtgaaaccttaagatgatcggtggcatcgccggatttatcaaatgtc gacagtatgaccagatcctgatcgagatttgcggccacaagctatcggaaacagtgtctgtc ggccccgaccccgatgaacatcattggccgcaacctgtgtgacacagatcggtgtacactga actttctatcagccctatcgaacaccgtgccgtgaagctgaagccggcatggatggccct aagggtgaagcagtgggccctgacagaggaaaagatcaaggcactgggtggaatctgcaca gaaatggaaaaagagggaagatttctaaaaatggccagagaacccctacaacacccct gttttcgccatcaagaagaaagattccaccaagtggagggaagctgtgtggacttctgggaact gaaacaaagcggaccagggttctgggaggtgcagctgggcatccccaccctcgccgctc gaaacaaaaaaaagcgtgaccgtgtgtggagctggcgacgtctatttaccgtgtgtctgt gataaggacttccgaaatcacccgctttaccatccctagcatcaacaacgagaccctgg catccggctaccagtacaacgtgtctccacagggtcggaaagggtcaccggccatctccag tgacagcatgaccaagatcctggagccttcaaaaagcagaatcctgacatcgtgatctacca gtacatggagcaccctgtacgtgggtctgtatctggagatcggaacagcacaagaacaaagatc gaagagctgagacagcatcgtgtgagatgggtttaccacccccgacaagaagcaccag aaggaaacctcctttctgtggatgggtctacgagctgcaccccgataagtggaacagtgcaagg catcgtgtgtgccgagaaggactcctggaccgtgaacgacattcagaagctgtgtcgaaa gtgtgaattgggtctcccaaatctacgccggcatcaaggctgcggcagctgtgcaagcttctgc gcggcacaaaaggccctgacggaaagctgtccactgaccgagggaagccgaattagagctg gccgaaaacagagaaattctgaaagaacctgtgcacggcgtttactacgaccttctaaggga cctgatcgcgaatccagaacaaggccaggggccagtggaacttaccaatcaccagga gcctttcaaaaactcaagaccggcagctccagaatgaagggaagccctacacaaagga cgtgaagcagctgacagaggctgttcagaagatcgccacagaagcatcgtgtatctggg

40

【表 7 - 2 5】

		caagaccccaaagtccaagctgcctatccaaaaggaaacctgggaggcctggtggaccga gtactggcaggccacctggatcctgaatgggagtcgtgaacacaccacctcttgaagct gtggtaccagctggaaaaggagccaatcctggcggcgagacattctacgtggacggcgc cgccaaccgggagaccaaactgggaaaggccggatatgtgaccgacagaggcagacaa aaggtggtgcctctgaccgatacaactaaccagaaaacagagctgcaggccattcactgg ccctgcaagacagcgccctggaaagtgaatcgtgacagacagtcaglacgccctgggcat catccaggctcagcctgacaagagcgagagcgagctggtgtccagatcctgagcagct gatcaaaaaggagaaggcttctgacctgggtgcccggccacaaggcatcgaggcaaa cgagcaggtggacaagctggtcagcgccggcatccggaagtgctgttctggacggcat cgacaaggcccaggaggaacacgagaagtaccacagcaactggcgggcatggccagc gacttcaacctgccacctgtggtgtctaaggagatgtcgctcttctgataagtccagctg aaggcgagggccatgcacggccaagtggatlgcagccctgggatctggcagctagactgt accacctggaggggcaaggtgatcctggtggcagtcacgtggccagcggctacatcgag gctgaggtgatcccgccgaaacgggcccaggagaccgctacttctgctgaagctagcc ggccggtggcctgtgaagacctgtcacaccgataacggcagcaattcaccagcacaacc gtgaaggctgcctgtgtgggtgggaalcaagcaggagtcggcatccatacaatcctca gtctcaggcgctgatcgagagcatgaacaaggaaactgaagaagatcattggicaggctcaga gatcaggccgagcacctgaaaaccgcttcaaatggctgtgtcatccataacttcaaaag aaaaggcggtcatcgccggctacagcgccggcgaaagaatcgtggatcaltcggcagccg acatcacaacaaaagagctgcaaaagcaaatcaccagatccagaacttcagagtgtacta cagagatagcagagatcctgtgtggaaggacctgccaagctgctgtggaaggcgagg gcgccgtggtgatccaggacaatagcgacatcaagtgctgtcccagaagaaggctaaaa tcattagagactacggcaaacagatggccggagatgattgcgtggcttctagacaggacga ggactga	10
102	Rev	MAGRSGDSEDELLKAVRLIKFLYQSNPPNPEGTRQARRN RRRRWRERQRQIHISERILSTYLGRSAEPVPLQLPLERLT LDCNEDCGTSGTQGVGSPQILVESPTILESMAKE*	20
103	Rev	ATGGCCGGCAGAAAGCGGCGACAGCGACGAGGATCTGCT GAAAGCCGTGCGGCTGATCAAGTTCCTGTACCAGAGCA ACCCTCCTCCTAACCCCGAGGGCACACAGAGGCTAGA CGGAACCGCAGAAAGAAGGTGGCGGGAACGGCAAAGAC AGATCCACTCTATCAGCGAGAGAATCCTGAGCACCTAC CTGGGAAGATCCGCCGAGCCTGTCCCCCTGCAGCTGCC TCCACTGGAAAGACTGACCCTGGATTGTAATGAGGACT GCGGCACAAGCGGAACCCAGGGCGTGGGCAGCCCCCA GATTCTGGTGGAAATCCCCTACAATCCTCGAGTCTGGCGC CAAGGAATGA	30
104	コカルエンペローブ ヌクレオチド配列	ATGAACTTTCTGCTGCTGACCTTCATCGTGCTGCCTCTG TGCAGCCACGCCAAGTTTTCCATCGTGTCCCACAGTCC CAGAAGGGCAACTGGAAGAATGTGCCCAGCTCCTACCA CTATTGTCCTTCTAGCTCCGACCAGAACTGGCACAATGA TCTGCTGGGCATCACCATGAAGGTGAAGATGCCTAAGA CACACAAGGCCATCCAGGCAGATGGATGGATGTGCCAC GCAGCCAAGTGGATCACCACATGTGACTTTCGGTGGTA CGGCCCCAAGTATATCACCCACAGCATCCACTCCATCC AGCCTACAAGCGAGCAGTGCAAGGAGTCCATCAAGCAG ACCAAGCAGGGCACATGGATGTCTCCCGGCTTCCCCC TCAGAACTGTGGCTACGCCACCGTGACAGATAGCGTGG CAGTGGTGGTGCAGGCAACCCACACCACGTGCTGGTG GATGAGTATACAGGCGAGTGGATCGACAGCCAGTTTCC	40

【表 7 - 2 6】

		CAACGGCAAGTGCAGACCGAGGAGTGTGAGACAGTG CACAATTCTACCGTGTGGTACAGCGATTATAAGGTGAC CGGCCTGTGCGACGCCACACTGGTGGATACCGAGATCA CATTCTTTTCCGAGGACGGCAAGAAGGAGTCTATCGGC AAGCCCAACACCGGCTACAGGTCTAATTACTTCGCCTAT GAGAAGGGCGATAAGGTGTGCAAGATGAATTATTGTAA GCACGCCGGGGTGC GGCTGCCAAGCGGCGTGTGGTTTG AGTTCGTGGACCAGGACGTGTACGCAGCAGCAAAGCTG CCAGAGTGCCAGTGGGAGCAACCATCAGCGCCCCCAC CCAGACATCTGTGGACGTGAGCCTGATCCTGGATGTGG AGAGAATCCTGGACTACTCCCTGTGCCAGGAGACATGG TCCAAGATCCGCTCTAAGCAGCCCGTGAGCCCAAGTGA CCTGTCTTACCTGGCACCAGAAAGAACCTGGAACAGGAC CTGCCTTTACCATCATCAATGGCACACTGAAGTACTTCG AGACCCGGTATATCAGAATCGACATCGATAACCCAATC ATCTCCAAGATGGTGGGCAAGATCTCCGGCTCTCAGAC CGAGAGAGAGCTGTGGACAGAGTGGTTCCCATACGAGG GCGTGGAGATCGGCCCCAATGGCATCCTGAAGACCCCT ACAGGCTATAAGTTTCCACTGTTTCATGATCGGCCACGGC ATGCTGGACTCTGATCTGCACAAGACCAGCCAGGCCGA GGTGTGTTGAGCACCCACACCTGGCAGAGGCACCAAAGC AGCTGCCCCGAGGAGGAGACCCTGTTCTTTGGCGATACA GGCATCTCCAAGAACCCTGTGGAGCTGATCGAGGGCTG GTTTTCTAGCTGGAAGTCTACCGTGGTGACATTCTTTTT CGCCATCGGCGTGTTCATCCTGCTGTACGTGGTGGCAAG GATCGTGATCGCCGTGCGGTACAGATATCAGGGCAGCA ACAATAAGAGAATCTATAATGACATCGAGATGTCCAGG TTCCGCAAGTGA	10
105	グリコホリンA TM アミノ酸配列	HFSEPEITLIHFGVMAGVIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVKPLP SPD TDVPLSSVEIENPETS DQ	
106	ヒトグリコホリンAヒンジ -TM-CT	CACTTCAGCGAGCCTGAGATCACCCCTGATCATCTTCGGC GTGATGGCCGGAGTGATCGGCACAATCCTGCTGATCAG CTACGGCATCAGAAGACTGATTAAGAAATCCCCATCTG ATGTGAAGCCTCTGCCTTCTCCTGACACCGACGTCCCCC TGAGCAGCGTGGAATCGAGAACCCCGAAACCAGCGA CCAG	20
107	α CD3scFv_ 短い ヒンジ-TM-CT	MGVKVLFALICIAVAEADIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCS ASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSG SGSGTDYFTISLQPEDATYYCQQWSSNPFTFGQGTKLQ ITRTSGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVPGRSLR LSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKLEWIGYINPSRGYT NYNQKVKDRFTISRDN SKNTAFLQMDSLRPEDTG VYFCA RYYDDHYCLDYWGQGPVTVSSASGVELIEGWFSWKST VVTFFFAIGVFILLYVVARIVIAVRYRYQGSNNKRIYNDIE MSRFRK	30
108	α CD3scFv_ 短い ヒンジ-TM-CT	ATGGGCGTGAAAGTGCTGTTCGCCCTGATCTGCATCGC AGTTGCTGAAGCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCTA GCAGCCTCAGCGCTAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATC	40

10

20

30

40

50

【表 7 - 2 7】

		ACATGTAGCGCCAGCAGCAGCGTGTCTACATGAACTG GTACCAGCAAACACCTGGAAAGGCCCTAAAAGGTGGA TCTATGACACATCTAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCATCTA GATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACTGATTATACATTCA CCATCAGCAGCCTGCAGCCCAGGATATCGCCACCTAC TACTGTCAGCAGTGGTCCTCTAATCCCTTCACCTTCGGC CAGGGCACCAAGCTGCAGATCACCAGAACCAGCGGCG GGGGAGGAAGCGGCGGGGGAGGATCTGGCGGCGGCGG CAGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGGCGGCGTGG TGCAACCTGGCAGAAGCCTGAGACTGAGCTGCAAGGCC TCTGGCTACACCTTCACCCGGTACACCATGCATTGGGTG CGGCAGGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATTGGATA CATCAACCCAGCAGAGGCTACACCAACTACAACCAGA AGGTGAAGGACAGATTACAATTTCTCGGGACAACAGC AAGAATACCGCCTTCCTGCAAATGGACTCCCTGCGCCC AGAAGATACCGGCGTGTACTTCTGCGCTAGATATTACG ACGACCACTACTGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACC CCTGTGACCGTGTCCAGCGCCTCCGGAGTGGAAGTATG CGAGGGCTGGTTCAGCAGCTGGAAGAACACCGTGGTTA CATTCTTTTTCGCCATCGGCGTGTTCATCCTGCTGTACGT GGTCGCCAGAATTGTGATCGCCGTGCGGTATAGATACC AGGGCAGCAACAACAAGCGGATCTACAACGACATCGA GATGAGCAGATTTCAGAAAG
109	αCD3scFv_長い ヒンジ_TM_CT	MGVKVLFALICIAVAEADIQMTQSPSSLSASVGDRTITCS ASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSG SGSGTDYFTISLQPEDATYYCQQWSSNPFTFGQGTKLQ ITRTSGGGSGGGSGGGSGGGGQVQLVQSGGGVVPGRSLR LSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYT NYNQKVKDRFTISRDNKNTAFLQMDSLRLPEDTGVIYFCA RYYDDHYCLDYWGQGPVTVSSASSGFEHPLAEAPKQL PEEETLFFGDTGISKNPVELIEGWFSWKSTVVTFFAIGVF ILLYVVARIVIAVRYRYQGSNNKRIYNDIEMSRFRK
110	αCD3scFv_長い ヒンジ_TM_CT	ATGGGCGTGAAAGTGCTGTTTCGCCCTGATCTGCATCGC AGTTGCTGAAGCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCTA GCAGCCTCAGCGCTAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATC ACATGTAGCGCCAGCAGCAGCGTGTCTACATGAACTG GTACCAGCAAACACCTGGAAAGGCCCTAAAAGGTGGA TCTATGACACATCTAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCATCTA GATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACTGATTATACATTCA CCATCAGCAGCCTGCAGCCCAGGATATCGCCACCTAC TACTGTCAGCAGTGGTCCTCTAATCCCTTCACCTTCGGC CAGGGCACCAAGCTGCAGATCACCAGAACCAGCGGCG GGGGAGGAAGCGGCGGGGGAGGATCTGGCGGCGGCGG CAGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGGCGGCGTGG TGCAACCTGGCAGAAGCCTGAGACTGAGCTGCAAGGCC TCTGGCTACACCTTCACCCGGTACACCATGCATTGGGTG CGGCAGGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATTGGATA CATCAACCCAGCAGAGGCTACACCAACTACAACCAGA AGGTGAAGGACAGATTACAATTTCTCGGGACAACAGC AAGAATACCGCCTTCCTGCAAATGGACTCCCTGCGCCC

10

20

30

40

50

【表 7 - 2 8】

		AGAAGATACCGGCGTGTACTTCTGCGCTAGATATTACG ACGACCACTACTGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACC CCTGTGACCGTGTCCAGCGCCTCCGGATTTCGAGCACCCC CACCTGGCCGAGGGCCCTAAGCAGCTGCCTGAAGAAGA GACACTGTTTTTCGGAGATACCGGCATCAGCAAAAACC CCGTGGAGCTGATCGAGGGCTGGTTCAGCTCTTGGAAG AGCACCGTGGTCACATTCTTTTTCGCCATCGGCGTCTTT ATCCTGCTGTACGTGGTAGCCAGAATCGTGATCGCCGT GCGGTACAGATACCAGGGCAGCAACAACAAGCGGATCT ACAACGACATCGAGATGAGCCGGTTCAGAAAG
111	α CD3scFv_ hグリコホリンA_ TM_HIV Env CT	MGVKVLFALICIAVAEADIQMTQSPSSLSASVGDRTITCS ASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSG SGSGTDYFTISLQPEDATYYCQQWSSNPFTFGQGTLKQ ITRTSGGGSGGGSGGGSGGGSSQVQLVQSGGTVVQPRSLR LSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYT NYNQKVKDRFTISRDNSENKTAFLQMSLRPEDTGVIYFCA RYYDDHYCLDYWGQGPVTVSSASGGSTSGSGKPGSGEG STKGPEITLIIFGVMAGVIGTILLISYGIRRLALKYWWNLLQ YWSQELKNSAVSLNATAIAVAEGTDRVIEVVQGACRAIR HIPRRIRQGLERILL
112	α CD3scFv_ hグリコホリンA_ TM_HIV Env CT	ATGGGCGTGAAAGTGCTGTTCGCCCTGATCTGCATCGC AGTTGCTGAAGCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCTA GCAGCCTCAGCGCTAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATC ACATGTAGCGCCAGCAGCAGCGTGTCTACATGAAGT GTACCAGCAAACACCTGGAAAGGCCCCCTAAAGGTGGA TCTATGACACATCTAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCATCTA GATTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACTGATTATACATTCA CCATCAGCAGCCTGCAGCCCCGAGGATATCGCCACCTAC TACTGTCAGCAGTGGTCTCTAATCCCTTCACCTTCGGC CAGGGCACCAAGCTGCAGATCACCAGAACCAGCGGCG GGGGAGGAAGCGGCGGGGGAGGATCTGGCGGCGGCGG CAGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGGCGGCGTGG TGCAACCTGGCAGAAAGCCTGAGACTGAGCTGCAAGGGC TCTGGCTACACCTTCACCCGGTACACCATGCATTGGGTG CGGCAGGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATTGGATA CATCAACCCAGCAGAGGCTACACCAACTACAACCAGA AGGTGAAGGACAGATTCACAATTTCTCGGGACAACAGC AAGAATACCGCCTTCCTGCAAATGGACTCCCTGCGCCC AGAAGATACCGGCGTGTACTTCTGCGCTAGATATTACG ACGACCACTACTGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACC CCTGTGACCGTGTCCAGCGCCTCCGGAGGATCTACAAG CGGCTCTGGCAAGCCTGGCAGCGGAGAAGGCAGCACCA AGGGCCCTGAGATCACACTGATCATCTTCGGCGTGATG GCCGGCGTCATCGGCACCATCTGCTGATCAGCTACGG CATCAGAAGACTGGCTCTGAAGTACTGGTGGAATCTGC TGCAATACTGGAGCCAGGAGCTGAAAAACAGCGCCGTG TCCCTGCTCAACGCCACCGCCATCGCCGTGGCCGAGGG CACCGACAGAGTGATCGAGGTGGTGCAGGGAGCCTGCA GAGCTATTGCGCACATCCCCAGACGGATCAGGCAGGGC CTGGAAAGAATCCTGCTG

10

20

30

40

【表 7 - 2 9】

113	α CD3scFv_ 218 リンカー_HIV Env エクト-TM-CT	MGVKVLFALICIAVAEADIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCS ASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSG SGSGTDYFTFTISLQPEDATYYCQQWSSNPFTFGQGTKLQ ITRTSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVPGRSLR LSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYT NYNQKVKDRFTISRDN SKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCA RYYDDHYCLDYWGQGTPTVTVSSASGGSTSGSGKPGSGEG STKGNWLWYIRIFIIIVGSLIGLRIVFAVLSLVNRGWEALKY WWNLLQYWSQELKNSAVSLLNATAIAVAEGTDREVIEVVQ GACRAIRHIPRRIRQGLERILL
114	α CD3scFv_ 218 リンカー_HIV Env エクト-TM-CT	ATGGGCGTGAAAGTGCTGTTCCGCCCTGATCTGCATCGC AGTTGCTGAAGCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCTA GCAGCCTCAGCGCTAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATC ACATGTAGCGCCAGCAGCAGCGTGTCTACATGAAGTGT GTACCAGCAAACACCTGGAAAGGCCCTAAAAGGTGGA TCTATGACACATCTAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCATCTA GATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACTGATTATACATTCA CCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGATATCGCCACCTAC TACTGTCAGCAGTGGTCTCTAATCCCTTCACCTTCGGC CAGGGCACCAAGCTGCAGATCACCAGAACCAGCGGCG GGGGAGGAAGCGGCGGGGGAGGATCTGGCGGCGGCGG CAGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGGCGGCGTGG TGCAACCTGGCAGAAGCCTGAGACTGAGCTGCAAGGCC TCTGGCTACACCTTCACCCGGTACACCATGCATTGGGTG CGGCAGGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATTGGATA CATCAACCCAGCAGAGGCTACACCAACTACAACCAGA AGGTGAAGGACAGATTCAAAATTTCTCGGGACAACAGC AAGAATACCGCCTTCCTGCAAATGGACTCCCTGCGCCC AGAAGATACCGGCGTGTACTTCTGCGCTAGATATTACG ACGACCACTACTGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACC CCTGTGACCGTGTCCAGCGCCTCCGGAGGAAGCACCAG CGGCTCTGGCAAGCCTGGCAGCGGCGAGGGCTCTACCA AGGGCAATTGGCTGTGGTACATCAGAATCTTCATCATC ATCGTGGGCAGCCTGATCGGCCTGAGAATCGTGTTCTGC CGTGCTGAGCCTGGTGAACCGGGGCTGGGAAGCTCTGA AGTACTGGTGGAACTGCTGCAATACTGGTCCCAGGAG CTGAAAAACAGCGCTGTGTCCCTGCTCAACGCCACCGC CATCGCCGTCGCCGAGGGAACAGACAGAGTGATCGAGG TGGTGCAGGGAGCCTGCAGAGCCATTCCGGCACATCCCC AGACGCATCAGACAGGGCCTGGAAAGAATCCTGCTG
115	α CD3scFv_ G4S リンカー_HIV Env エクト-TM-CT	MGVKVLFALICIAVAEADIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCS ASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSG SGSGTDYFTFTISLQPEDATYYCQQWSSNPFTFGQGTKLQ ITRTSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVPGRSLR LSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYT NYNQKVKDRFTISRDN SKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCA RYYDDHYCLDYWGQGTPTVTVSSASGGGGSGGGGSGGG GSYIRIFIIIVGSLIGLRIVFAVLSLVNRGWEALKYWWNLLQ YWSQELKNSAVSLLNATAIAVAEGTDREVIEVVQGACRAIR HIPRRIRQGLERILL

10

20

30

40

50

116	αCD3scFv_ G4S リンカー_HIV Env エクト-TM-CT	ATGGGCGTGAAAGTGCTGTTTCGCCCTGATCTGCATCGC AGTTGCTGAAGCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCTA GCAGCCTCAGCGCTAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATC ACATGTAGCGCCAGCAGCAGCGTGTCTTACATGAACTG GTACCAGCAAACACCTGGAAAGGCCCTAAAAGGTGGA TCTATGACACATCTAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCATCTA GATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACTGATTATACATTCA CCATCAGCAGCCTGCAGCCCCGAGGATATCGCCACCTAC TACTGTCAGCAGTGGTCTCTAATCCCTTCACCTTCGGC CAGGGACACCAAGCTGCAGATCACCAGAACCCAGCGGC GGGGAGGAAGCGCGGGGGAGGATCTGGCGGCGGCGG CAGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGGCGGCGTGG TGCAACCTGGCAGAAGCCTGAGACTGAGCTGCAAGGCC TCTGGCTACACCTTCACCCGGTACACCATGCATTGGGTG CGGCAGGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATTGGATA CATCAACCCAGCAGAGGCTACACCAACTACAACCAGA AGGTGAAGGACAGATTCACAATTTCTCGGGACAACAGC AAGAATACCGCCTTCTCTGCAAATGGACTCCCTGCGCCC AGAAGATACCGGCGTGTACTTCTGCGCTAGATATTACG ACGACCACTACTGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACC CCTGTGACCGTGTCCAGCGCCTCCGGAGGCGGTGGAGG CTCTGGTGGCGGAGGGAGCGGTGGCGGAGGCAGCTACA TCAGAATCTTCATCATCATCGTGGGCAGCTGATCGGCC TGAGAATCGTGTTTCGCCGTTCTGAGCCTGGTGAACCGG GGCTGGGAAGCCCTGAAGTACTGGTGGAACTGCTCCA GTACTGGTCTCAGGAGCTGAAGAACAGCGCCGTGTCCC TGCTGAACGCTACAGCTATCGCCGTCGCCGAGGGCACC GACAGAGTGATCGAGGTGGTGCAGGGCGCCTGCAGAGC CATCCGGCACATCCCTAGAAGGATTCGGCAAGGCCTGG AAAGAATCCTGCTG
117	抗 CD3scFv_短い ヒンジ_TM_CT _T2A_ コカルエンペ ローブ	MGVKVLFALICIAVAEADIQMTQSPSSLSASVGDRTITCS ASSVSYSMNWYQQTPGKAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSG SGSGTDYFTISSLQPEDIAITYYCQQWSSNPFTFGQGTKLQ ITRTSGGGSGGGSGGGSGQVQLVQSGGGVVPGRSLR LSCASKGYTFTRYTMHWVRQAPGKLEWIGYINPSRGYTN NYNQKVKDRFTISRDNKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCA RYYDDHYCLDYWGQGTPTVTVSSASGVELIEGWFSWKST VVTFFFAIGVFILLYVVARIVIAVRYRYQGSNNKRIYNDIE MSRFRKSGSEGRGSLTTCGDVEENPGPNFLLTFFVLPLCS HAKFSIVFPQSQKGNWKNVPSSYHYCPSSSDQNWHNDLL GITMKVKMPKTHKAIQADGWMCHAAKWITTCDFRWYGP KYITHSIHSIQPTSEQCKESIKQTKQGTWMSPGFPQNCGY ATVTDSDVAVVVQATPHHVLVDEYTG EWIDSQFPNGKCET EECETVHNSTVWYSDYKVTGLCDATLVDEITFFSEDGKK ESIGKPNTGYRSNYFAYEKGDVKCMNYCKHAGVRLPSG VWFEFVDQDVYAAAKLPECPVGATISAPTQTSVDVSLILD VERILDYSLCQETWSKIRSKQPVSPVDLSYLAPKNPGTGA FTIINGTLKYFETRYIRIDIDNPIISKVMVGKISGQTERELWT EWFPEYEGVEIGPNGILKTPTGYKFPLFMIGHGMLDSDLHK TSQAEVFEHPLHAEAPKQLPEEETLFFGDTGISKNPVELIEG

40

【表 7 - 3 1】

		WFSSWKSTVVTFFFAIGVFILLYVVARIVIAVRYRYQGSNN KRIYNDIEMSRFRK
118	抗 CD3scFv_短い ヒンジ_TM_CT _T2A_コカルエンペ ローブ	ATGGGCGTGAAAGTGCTGTTTCGCCCTGATCTGCATCGC AGTTGCTGAAGCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCTA GCAGCCTCAGCGCTAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATC ACATGTAGCGCCAGCAGCAGCGTGTCTACATGAACTG GTACCAGCAAACACCTGGAAAAGGCCCTAAAAGGTGGA TCTATGACACATCTAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCATCTA GATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACTGATTATACATTCA CCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGATATCGCCACCTAC TACTGTCAGCAGTGGTCCTCTAATCCCTTCACCTTCGGC CAGGGCACCAAGCTGCAGATCACCAGAACCAGCGGCG GGGGAGGAAGCGGCGGGGGAGGATCTGGCGGCGGCGG CAGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGGCGGCGTG TGCAACCTGGCAGAAGCCTGAGACTGAGCTGCAAGGCC TCTGGCTACACCTTCACCCGGTACACCATGCATTGGGTG CGGCAGGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATTGGATA CATCAACCCAGCAGAGGCTACACCAACTACAACCAGA AGGTGAAGGACAGATTACAAATTTCTCGGGACAACAGC AAGAATACCGCCTTCCTGCAAATGGACTCCCTGCGCCC AGAAGATACCGCGTGTACTTCTGCGCTAGATATTACG ACGACCACTACTGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACC CCTGTGACCGTGTCCAGCGCCTCCGGAGTGGAAGTAT CGAGGGCTGGTTCAGCAGCTGGAAAAGCACCGTGGTTA CATTCTTTTTCGCCATCGGCGTGTTCATCCTGCTGTACGT GGTCGCCAGAATTGTGATCGCCGTGCGGTATAGATACC AGGGCAGCAACAACAAGCGGATCTACAACGACATCGA GATGAGCAGATTGAGAAAGGGATCTGGAGAGGGAAGG GGAAGCCTGCTGACATGCGGCGACGTGGAGGAGAACCC AGGACCAAATTTTCTGCTGCTGACCTTCATCGTGCTGCC TCTGTGCAGCCACGCCAAGTTTTCCATCGTGTTCACACA GTCCCAGAAGGGCAACTGGAAGAATGTGCCCTCTAGCT ACCACTATTGCCCTTCCTCTAGCGACCAGAACTGGCACA ATGATCTGCTGGGCATCACAATGAAGGTGAAGATGCCC AAGACCCACAAGGCCATCCAGGCAGATGGATGGATGTG CCACGCAGCCAAGTGGATCACAACCTGTGACTTTCGGT GGTACGGCCCCAAGTATATCACACACTCCATCCACTCTA TCCAGCCTACCTCCGAGCAGTGCAAGGAGTCTATCAAG CAGACAAAGCAGGGCACCTGGATGAGCCCTGGCTTCCC ACCCAGAACTGTGGCTACGCCACAGTGACCGACTCCG TGGCAGTGGTGGTGCAGGCAACACCTCACCACGTGCTG GTGGATGAGTATACCGGCGAGTGGATCGACAGCCAGTT TCCAAACGGCAAGTGCGAGACAGAGGAGTGTGAGACC GTGCACAATTCTACAGTGTGGTACAGCGATTATAAGGT GACAGGCCTGTGCGACGCCACCCTGGTGGATACAGAGA TCACCTTCTTTTCTGAGGACGGCAAGAAGGAGAGCATC GGCAAGCCCCAACACCGGCTACAGATCCAATTACTTCGC CTATGAGAAGGGCGATAAGGTGTGCAAGATGAATTATT GTAAGCACGCCGGGGTGC GGCTGCCTAGCGGCGTGTGG TTTGAGTTCGTGGACCAGGACGTGTACGCAGCAGCAAA

10

20

30

40

50

【表 7 - 3 2】

		GCTGCCTGAGTGCCAGTGGGAGCAACCATCTCCGCC CAACACAGACCTCCGTGGACGTGTCTCTGATCCTGGAT GTGGAGCGCATCTGGACTACAGCCTGTGCCAGGAGAC CTGGAGCAAGATCCGGTCCAAGCAGCCCGTGTCCCCTG TGGACCTGTCTTACCTGGCACCAAGAACCCAGGAACC GGACCAGCCTTTACAATCATCAATGGCACCCCTGAAGTA CTTCGAGACCCGCTATATCCGGATCGACATCGATAACC CTATCATCAGCAAGATGGTGGGCAAGATCTCTGGCAGC CAGACAGAGAGAGAGCTGTGGACCGAGTGGTTCCTTA CGAGGGCGTGGAGATCGGCCCAAATGGCATCCTGAAGA CACCAACCGGCTATAAGTTTCCCCTGTTTCATGATCGGCC ACGGCATGCTGGACAGCGATCTGCACAAGACCTCCCAG GCCGAGGTGTTTGAGCACCCACACCTGGCAGAGGCACC AAAGCAGCTGCCTGAGGAGGAGACACTGTTCTTTGGCG ATACCGGCATCTCTAAGAACCCCGTGGAGCTGATCGAG GGCTGGTTTTCTCTTGAAGAGCACAGTGGTGACCTTC TTTTTCGCCATCGGCGTGTTCATCCTGCTGTACGTGGTG GCCAGAATCGTGATCGCCGTGAGATACAGGTATCAGGG CTCCAACAATAAGAGGATCTATAATGACATCGAGATGT CTCGCTTCCGGAAG	10
119	αCD3scFv_ヒト グリコホリン A ヒンジ-TM-CT	MGVKVLFALICIAVAEADIQMTQSPSSLSASVGDRVITICS ASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSG SGSGTDYFTISLQPEDATYYCQQWSSNPFTFGQGTKLQ ITRTSGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVPGRSLR LSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYT NYNQKVKDRFTISRDNKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCA RYYDDHYCLDYWGQGPVTVSSASHFSEPEITLIIFGVMA GVIGTILLISYGIRRLIKKSPSDVKPLSPDTPVPLSSVEIENP ETSDQ	20
120	αCD3scFv_ヒト グリコホリン A ヒンジ-TM-CT	ATGGGCGTGAAAGTGCTGTTCGCCCTGATCTGCATCGC AGTTGCTGAAGCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCTA GCAGCCTCAGCGCTAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATC ACATGTAGCGCCAGCAGCAGCGTGTCTACATGAACATG GTACCAGCAAACACCTGGAAAGGCCCTAAAAGGTGGA TCTATGACACATCTAAGCTGGCTTCTGGAGTGCCATCTA GATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACTGATTATACATTCA CCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGATATCGCCACCTAC TACTGTCAGCAGTGGTCCTCTAATCCCTTCACCTTCGGC CAGGGCACCAAGCTGCAGATCACCAGAACCAGCGGCG GGGGAGGAAGCGGCGGGGAGGATCTGGCGGCGGCGG CAGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGGCGGCGTGG TGCAACCTGGCAGAAGCCTGAGACTGAGCTGCAAGGCC TCTGGCTACACCTTACCCGGTACACCATGCATTGGGTG CGGCAGGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATTGGATA CATCAACCCAGCAGAGGCTACACCAACTACAACCAGA AGGTGAAGGACAGATTACAAATTTCTCGGGACAACAGC AAGAATACCGCCTTCCTGCAAATGGACTCCCTGCGCCC AGAAGATACCGGCGTGTACTTCTGCGCTAGATATTACG ACGACCACTACTGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACC CCTGTGACCGTGTCCAGCGCCTCCCACTCAGCGAGCCT	30 40

10

20

30

40

50

【表 7 - 3 3】

		GAGATCACCTGATCATCTTCGGCGTGATGGCCGGAGT GATCGGCACAATCCTGCTGATCAGCTACGGCATCAGAA GACTGATTAAGAAATCCCCATCTGATGTGAAGCCTCTG CCTTCTCCTGACACCGACGTCCCCCTGAGCAGCGTGGA AATCGAGAACCCCGAAACCAGCGACCAG
121	抗 CD19を含む CAR, サイトソル FRB, RACR	tgtagtcttatgcaatactctgtagtcttgcaacatggtaacgatgagttagcaacatgccttac aaggagagaaaaagcaccgtgcatgccgattggaggaaaggtggtagcgtgcctt attagggaaggcaacagacgggtctgacatggattggacgaaccactgaattgccgattgc agagatattgtattaaagtcctagctcgatacataaacgggtctctctggttagaccagatctg agcctgggagctctctggctaactagggaaccactgcttaagctcaataaagcttgcccttg agtgtctcaagtagtgtgtgcccgtctgtgtgtgactctggtaactagagatccctcagacc tttagtcagtggtgaaaatctctagcagtggtgcccgaacagggaacttgaaagcgaaggg gaaaccagaggagctctctgacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggcaagag gcgagggggcggcactggtgtgagtagccaaaatfctgactagcggaggctagaagggag agagatgggtgcgagagcgtcagtaataagcgggggagaattagatgcgagtgggaaaaa atctgggtlaaggccagggggaaagaaaaatataaataaaacatatagtatggcgaagcag ggagctagaacgattcgagtaatactctggcctgttagaaacatcagaaggctgtgacaaa tactgggacagctacaaccatcccttcagacagggaicagaagaacttagatcattatataata cagtagcaacctctattgtgtcatcaaggatagagataaaagacaccaagggaagcttta gacaagatagaggagagcaaaacaaaaglaagaccaccgcacagcaagcggcgcgtg atcttcagacctggagggagagatatgagggacaattggagaagtgaattatataaataaaa gtagtaaaaatgaaccattaggagtagcaccaccaaggcaagagaagagtggtgcag agagaaaaagagcagtgagggaataggagctttgtcttgggtcttgggagcagcaggaa gcactatgggcgcagcgtcaatgacgtgacgggtacaggccagacaattattctgtgtata gtgcagcagcagaacaattgtgagggctattgagcgcgaacagcatctgttgcaactcac agcttggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtggaagataccaaaggat caacagctcctggggtattgggtgtctctggaaaactcatttgaccactgctgtgcttggga atgctagtgtgagtaataaactctctggaacagatttgggaatcacacgacctggatggagtggtg acagagaaattaacaattacacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagc aagaaaaagaatgaacaagaattattggaattagataaattggcaagttgtggaattgtttaa catacaaaattgctgtgtatataaaattattcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaa gaatagtgttctgtacttctatagtgaaatagagtaggcaaggatattcaccattatcgtttca gaccacclcccaaccggaggggaccgacaggcccgaaggaaatagaagaaggaaggt ggagagagagacagagacagatccattcgattagtgaaaggatctcgacggatcgtgttaa cttttaaaagaaaagggggtattgggggtacagtgaggggaaagaatagtagacataat agcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaaacaaattacaaaaattcaaaatttattcgg ccgagggtacctaggaacagagaaacaggagaatatggccaaacaggatattctgtgt aagcagttctgccccggctcagggccaaagaacagttggaacagcagaatatggccaaa caggatattctgtgtaagcagttcctgccccggctcagggccaaagaacagatggccccag atcggtgccccccctcagcagttctagagaaccatcagatgtttccagggtgccccaaagg cctgaaalgacctgtgcttatttgaactaaccaatcagttcgtctctcgtctgtctgtcgcgcg cttctgctccccgagctctatataagcagagctctttagtgaaccgtcagatcgcctggaga cgccatccagctgttttgacttccatagaagcctgcaggggccgcccatgctgtctgtgt gacctcctgctgtgtgtgcgagctgctcaccagccttctgtgtatccccgacatccagat gacacagaccacaagctccctgtctgcccagcctgggcgacagagtaccatctctgtagg gctctcagagatcagcaagtacctgaactggtatcagcagaagccagatggcacagtga agctgtgtatcaccacacctcaggctgcactctggagtggcaagccgttctccggatct ggaaagcggcaccgactatccctgacaatcttaacctggagcaggagatcgcacat acttttccagcaggggcaatccctgccatatacttggcggagggaaccaagctggagatc accggatccacatctggaaagcggcaagccagggaagcggagaggatccacaaaggag

10

20

30

40

50

【表 7 - 3 4】

	aggtgaagctgcaggagagcggaccaggactggggccaccatcccagctctctgagcgtga ccgtacagtgctcggcggtgtctctgctgactacggcggtgtcctggatcaggcagccacct aggaaaggactggagtggtcggcggtgatctggggctctgagaccacatactataattctgc cctgaagagccgctgaccatcatcaaggacaactccaagtctcaggtgttctgaagatga atagcctgcagaccgacgatacagccatctactattgcgcaagcactactattacggcggc tcctacgccatggattattggggccagggcacctccgtgacagtgcttagcgagctaaagtat ggccaccctgccctccatgtccaatgttctgggtgctgtgtgtgtgtgggagcggtgtgtgc ctgttactccctgctgggtgaccgtggcctttatcatcttctgggtgaagagaggcaggaa gctgctgtatatctttaagcagcccttcagcggcctgtgcagaccacacaggaggagagc gctgcagctgtcgtttccagaggaggaggaggaggatgcgagctgcgcgtgaagtica gccggtgcccgatgcccctgcttaccagcaggggccagaaccagctgtataacgagctga atctgggcccggagagaggagtgacgctgtggaagaaggaggagggaaggaccagga gatgggaggcaagcctgggagaaagaaccacaggaggcgctgtacaatgagctgcaga aggacaagatggccgagggcctattctgagatcggtatgaaggagagagggcgccggggc aagggacacgatggcctgtaccaggcgctgagcaccgccacaaaaggacacataatgatgcc ctgcacatgcaggccctgccacctaggggatctggagccaccaactttagcctgtgaagc aggcaggcgatgtggaggagaatccaggacctgagatgtggcacgagggactggaggga ggcaagcaggctgtactttggcgagcgggaatgtgaaggcatgttcgagggtgtcggagcc actgcacgcaatgatggagggggaccacagacctgaaggagacatccttcaaccaggc atacggaaaggacctgtatggaggcacaggagtgtgtccggaaagtatatgaagtctggcaa tgtgaaggacctgtcagggcctgggaltgtattaccacgtgtttagaaggatcagcaagg gctccggcgccaccaacttctccctgtgaagcaggccggcgatgttggaagaaatccag gaccaatgctctgggactgtgtgtgtgggactggccctgtcggcgccctgcacgcccc ggccggcggtgcaggtggagacaatcagccctggcgacggcgagaacctttccaaaggagg gccagacatgctgtgtgactacaccggcatgctggaggatggcaagaagtctgactctc tcgcatcggaacaagcccttaagtcatgctgggcaagcaggaaagtgtatcagaggctgg gaggaggcggtggcccagatgtctgtggccagagggccaagctgacaatcagcccaga ctatgcatacggagcaaccggacaccctggaatcatccaccacacgccacactgtgtgtc gatgtggagctgtgaagctgggaggggcttaacaccagcaaggagaatccatttctgt cgactggaggcagtggtcatctccgtgggctctatgggctgatcatctccctgtgtgtgt gtacttttggctggagagaacaatgccaaggatccccaccctgaagaacctggaggacctg gtgaccgagtaccagggcaatttcagcgccctgggtccggcggtgttaagggaactggcagagt ccctgcagccagattattctgagcggcgtgtcctgggtgagcgagatccctccaaaggagg cgccctgggagaggggaccaggagccagccctgcaaccagcactcccttactggggccc ccccgtttataccctgaagccagagacaggctctggcgccaccaacttcagcctgtgaag caagccggcgactgtgaagaaaaccaggaccaatggcactgccagtgcacggccctgtgt gtgtccctgtggccctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt gaaggcctggaggaggcaagcagactgtactttggcgagagaaatgtgaaaggaaatgtttg aggtgtgtggagcctgtgcacggcatgatggaggggccctcagacctgaaggagacat cctttaaccaggcctacggcagagacctgatggaggccaggagtgtgtcagggaagtatat gaagagcggaaatgtgaaagacctgtgtcagggcctgggatctgtactaccagtgttccgc cggatcttaagggaaggatataatcccttggctgggacacctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt gagcctttggcttcatcactgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt gaagaagggtgtgaagtgtlaacacccctgacccatccaagtctttctcagctgagctccga gcacggcgggcgatgtcagaagtggctgtctagccctttcttctctagcttcagccctgg aggactggcacctgagatctccccactggagggtgtgtgagaggggacaagggtgacctgac cctgtgtgtcagcaggataaggtgccagagccgcctcctgtccttaaccacagccctgacc tcctgtttacaaatcagggtacttcttttccacctgccagacgcactggagatcaggacat gtcagggtgtatttcacatagatccctatagcaggaggacctgatgaggagtggtggcg cgccccaaaccggaagctccctcagccactgcagccactgagcgaggaggacgatgat	10
		20
		30
		40

【表 7 - 3 5】

		attgtacatttcttcccgacgatctgctgctgttcttccaagcctgctgggaggaccatct ccccagcaccgcactgggagatccggggcagggaggagcggatgcctccatctt gcaggagagagtgccaaaggactgggatccacagccttgggaccacacccctggagt gccagacctgggtggatccagcacccttggatggctgctgggagggcaggagaggga ggtgccagacgcaggacctaagaggcggtgagcttccctgggtccaggccaccaggac agggagagtccgcgccctgaacgccggctgccccgaatacagacgcctacctgtctt gcaggagctgcaggccagatcctaccacctggtgtgacgccggcgctagtgtgcaca atcaaccttggatfacaaaattgtgaagattgactggatatttlaactatgtgtcttctt gctatgtggatagcgtgctttaatgccttggatcatgctattgcttccgtatggcttcttct ctcttgtataaaacctgggtgtcttctttagaggagtgtggccgtgtcaggcaacgtg gcgtggtgtgactgtgtgtgtgacgcaacccctgggtggggcatggccaccacctgtc agctcttccgggacttcttcttccctcccttattgccaggcggaactatcgcgcctg ccttggccgtgctggacaggggctcggtgttgggcactgacaattccgtgtgtgtgtg ggaagctgacgtcttccatggctgtcgcctgtgttggcactggatctgcgcgggacgt ccttctgtacgtcccttgcgccctcaatccagcggaccttcttccggggcctgtgccc ctctgccccttcttccgcgtcttgccttgcctcagacgagctgcatctcccttggggcc cctccccgcctgttgaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttggccattttaa gaaaagggggactggaagggttaattcactcccaacgaagacaagatctgttttgtgtg tactgggtctcttctgttagaccagatctgagcctgggagctcttctggaactagggaacc actcttaagcctcaataaagcttgccttggagtgttcaagtgtgtgtgtgtgtgtgtg actctggaactagagatccctcagaccctttagtcagtgtggaaaatcttagca	10
122	抗 CD19 CAR, サイトソル FRB, および RACR	gacattgatttgaactagttatataagtaataacaaatcggggctcattgttcatagcccatat ggagttcccggttacataactacggttaattggcccgctggctgaccgccaacgacccc cgcccatgacgtcaataatgacgtatgttccatagtaacgccaatagggacttccatgac gtcaatgggtggagtatttaccggttaactgccacttggcagtagatcaatgtatcatatgcc aagtagcccccattgacgtcaatgacggttaattggccgcctggcattatgccagtagat gacctatgggacttcttacttggcagtagatctacgtattagtcatcgtattaccatgtgtg gcggttttggcagtagatcaatggcggtggatagcgtgtgactacggggatttccaagtct ccaccccatgacgtcaatgggaggtgtgttggcaccaaaatcaacgggacttccaaaatgt cgtaaacacccgcccattgacgcaaatggcggttagggctgtacgggtgggaggtctala taagcagagctcgttttagtaaccgggtctcttctgttagaccagatctgagcctgggagctc tctggctaaactagggaaccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgaagtgttcaagtag tgtgtgcccgtctgtgtgtgtgacttggtaactagagatccctcagaccctttagtcagtgtg aaaatctctagcagtggtgcccgaacagggacttgaagcgaaagggaaccagaggag ctctctcagcagggacttggctgtctgaagcgcgcacggcaaggcgaaggcgggcg actggtgagtagccaaaattttagtagcggaggctagaaggagagagatgggtgcga gagcgtcagtagtaagcgggggagaattagatcgcgatgggaaaaattcggttaaggcca gggggaaagaaaaatataaataaataatagtagtgggcaagcaggagctagaacgat tcgtagttaatcttggctgttagaaacatcagaaggctgtagacaatactgggacagcta caacccatccctcagacaggtatcagaagaacttagatcattatataatagtagcaacctct attgtgtgcatcaaggatagagataaaagacaccaagggaagctttagacaagatagagga agagcaaaacaaaagtaagaccaccgcacagcaagcgccgctgacttccagacctgga ggaggagatagagggaacttggagaagtgaattatataaataaagtagtaaaaattgaa ccattaggagtagcaccaccaaggcagaagagagtggtgcagagagaaaaagagc agtgggaalaggagcttgttcttgggtcttgggagcagcaggaagcactatggcgcgag cgtcaatgacgtgacgggtacaggccagacaattattgttggtagtagtcagcagcagaac aattgtgtgaggctattgaggcgcaacagcatctgttgaactcagcttgggcatcaa gcagctccaggcaagaatcctggctgtggaagatacctaaggatcaacagctcctgggg atttgggtgtcttggaaaactcatttgcaccactgtgtgcttggaaatgtatgttgagtaa taaatctctggaacagatttgaatcacacgacctggatggagtgggacagagaaattaaca	20 30 40

10

20

30

40

50

【表 7 - 3 6】

	attacacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaac aagaattattggaattagataaattgggcaagtttggtgaattggttaacataacaaattggctg tggtatataaaattatcataatgatagtaggagcttggttaggttaagaatagttttgctgtac tttctatagtagaattaggttaggcagggtatcaccaltatcgttcagaccaccctccaacc ccgaggggaccgacagggcccgaaggaaatagaagaagggtggagagagagacaga gacagatccattcgaattagtgacggatcgcagggatcgggttaactttlaaaagaaaagg gggattgggggtacagtgacgggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaa actaaagaattacaaaaacaattacaaaaattcaaaattttatcgattgcctgacgcgtaatga aagacccacctgtaggtttggcaagctaggatcaaggatcaggaaacagagagacagcaga ataaggccaaacaggaatcgttggaagcagttctgccccggctcaggggcaagaaca gttggaaacagcagaatattgggccaacaggatattgttggaagcagttctgccccggctc agggccaagaacagatgggtcccagatgcgggtcccgcctcagcagttctagagaacctat cagatgtttcagggtgcccgaaggacatgaatgacctgtgccttattgaactaaccat cagttcgtctcgtctgtctgtcgcgcgtctcgtccccgagctctatataagagcccacaac ccctcactcggcgctgaacacaattctgcagtcgaaggcgtaccgtcacttacgagtcggt agcctgcaggggccgccacatgctgctgctggtgacctccccgctgctgctgctgagctgctc accagcccttctgctgacccccgacatccagatgacacagaccacaagctccccgtctgccc agcctgggcgacagagtgacctatcctgtaggggcctctcaggatatacgaagtacclga actggtatcagcagaagccagatggcagagtgaggctgctgactaccacacctccaggct gcactctggagtgccaagccgggtctcggatctggaagcggcaccgactattccctgaca atcttaacctggagcaggaggaatcgcacatactttggcagcagggaataacctgccc atatacttcggcggaaggaaccaagctggagatcaccggatccacatctggaagcggcaa ggcagggaagcggagagggatccaaaaggagaggtgaagctgcaggagagcggacc aggactggtggcaccatccagttctgagcgtgacctgtacagtgctcggcgtgtctctgc ctgactacggcgtgtcctggatcaggcagccacctagggaaggagctggagtggtgggcg tgatctggggctctgagaccatactataattctgccctgaagagcggcctgacctatca aggacaactccaagtctcaggtgttctgaagatgaatagcctgcagaccgacgatacagcc atctactattgcgccaagcactactattacggcggtcctacgccattggattattggggccag ggcaccctccgtgacagtgctagcggatcgaatagggccacctgcccctccatgtccaat gttctgggtgctggtggtggtgggagcggtgctggcctgttactccctgctggtgacctgg cctttatcatcttctgggtgaagagagggcaggaagaagctgctgtatatacttaagcagccct catgcgccctgtgcagaccacacaggagggagggacggctgcagctgtcgggttccagagga ggagggagggagatgcgagctgcgcgtgaagtgcagccgggtccggcgaagccctgcct accagcagggccagaaccagctgtataacgagctgaatctgggcccggagagagggagtag gacgtgctggataagaggaggggaagggaaccagagatgggagggcaagcctcgagaa agaaccacaggagggcctgtacaatgagctgcagaaggacaagatggccgaggcctatt ctgagatcggaatgaaggagagagggcgccggggcaaggacacgatggcctgtacca gggcctgagcaccggccaaaaggacacatatgatccctgcacatgcaggccctgccacc taggggatctggagccaccaactttagcctgctgaagcaggcagggcgaatgtggaggagaa tccaggacctgagatgtggcacgaggactggaggaggaagcaggctgtactttggcga gcggaatgtgaaggcatgttcgaggtgctggagccactgcacgcaatgatggagagggg accacagacctgaaggagacatcttcaaccaggcctacggaaggacctgatggaggc acaggagtgggtccggaagtatatgaagtctggcaatgtgaaggacctgtgcaggcctgg gatctgtattaccacgtgtttagaaggatcagcaaggctccggcgccaccaacttctccctg ctgaagcagggccggcgatgtggaagaaaatcaggaccaatgcctctgggactgctgtgg ctgggactggccctgctggggccctgcacggccaggccggcgtgcagggtggagacaat cagccctggcgacggcagaacctttcaaggaggccagacatgcgtgtgtgcatacac cggcatgctggaggaagcaagaagtgcacacctctcgcgatcggaacaagcccttaagt tcatgctggcgaagcagggaagtgcagaggctgggagggcgctggccagatgtctg tgggccagaggccaagctgacaatcagccagactatgcatacggagcaaccggacac	10
		20
		30
		40

		cttggaatcatccaccacacgccacactgggtgtcgtatgtggagctgtgaagctgggcg agggtcctaaccaccagcaaggagaalccaattctgttcgcactggaggcagtggtcaltcc gtgggctctatgggacctgatcatctccctgctgtgcgtgtacttttggctggagagaacaatgc caaggatccccaccctgaagaacctggaggacctgggtgaccgagtaccacggcaattca ggcgcctgggtccggcgtgtctaagggactggcagagtccctgcagccagattattctgagcg gctgtgccgtgtgagcgagatccctccaaaggaggcgccctggggagaggggaccaggag ccagcccttgaaccagcacctcccttactgggcccccttgttataccctgaagccagag acaggctctggcgccaccaacttcagcctgctgaagcaagccggcgacgtggaagaaaac ccaggacaatggcactgccagtaccgcccctgctgtgcctctggccctgctgctgcac cagccagaccatctgtggcacgaaatgtggcatgaaggcctggaggaggccaagcaga ctgtacttggcgagagaatgtgaaaggaaatgttgagggtgttggaagccctgcacgccat gatggagaggggccclcagaccctgaaggagacalctttaaccaggccctacggcagaga cctgatggaggccaggagtgggtgcagggaagtatatgaagagcgggaaatgtgaaagacct gctgcaggccctgggatctgtactaccacgtgttccgccggaletctaagggcaaggatacaa tcccttggctgggacacctgtgtgtgggactgagcggagcccttggcttcalcatcttgggt atctgctgatcaactgcagaaatcacaggccatggctgaagaagggtgctgaagtgtaacacc cctgacccatccaagtcttctcagctlgagctccgagcacggcgccgatgtgcagaagtg gctgtctagcccttctctctagcttcagccctggaggacttgcacctgagatctcccca ctggagggtgctggagagggacaagggtgaccagcgtgctgctgcagcaggataagggtcc agagcccgccctccctgtcccttaaccacagcctgacctctgctttaacaatcagggtactt ctttttccacctgccagacgcactggagatcaggcaltgctaggtgtatfttcatatcagccc tatacgcaggaggaccctgatgagggagtggccggcgccccaaccgcgaagctccctca ggcaactgcagccactgagcggagaggcagatgcatatttcttcccgagacgtac tgcgtgtgtctctcaagcctgctgtggaggaccttccaccagcaccgaccttggaggga tccggggcaggggaggagcgggatccctccalcctgcaggagagagtgccaagggactg ggatccacagcccttgggaccacctaccctggagtgcagacctgtgtgatttccagcca ccccctgagctgggtgtcgtgggaggcaggagaggaggtgccagacgcaggacctagag aggcgctgagctttccctgggtccaggccaccaggacaggggagagtccgcgccctgaacg cccggctgcccctgaalacagacgcctacctgtctctgcaggagctgcaggggcaggatcc taccacctgtgtgtgacgccggcgctagtgtgacgtagtgtgtacctttaagaccaatgactt acaaggcagctgtagatcttagccaccttttaaaagaaaaggggggacttgaagggttaatt cactcccaacgaagacaagatctgttttgcgtgtactgggtctctgtgttagaccagatctg agccctgggagctctctggctaactagggaacccactgctlaagcctcaataaagcttgccttg agtgtctcaatgtgtgtgttgggtttttgtgtgt
123	コカルエンベロープラ スミド	ctagttatlaataglaatcaattacggggctcattagtctatagcccatataltggagtccgcgtta cataacttacggtlaaattggcccgctggctgaccgcccacgacccccgccatlgactc aataatgacgtatgtlcccatgtaaccgaataggagacttccattgacgtcaatgggtgga gtatttacggtlaaactgccacttggcagtaacalcaagtgtatcatatgccaagctacgccccct attgacgtcaatgacggtaaatggcccgctggcattatgcccagtaacatgaccttaaggac tttctacttggcagtaacatctgactattagtcacgtattaccatgggtgagcgggtttggcag acatcaatggcggtggatagcgggttgactacggggaattccaagctccaccccaatgacg tcaatgggagttgttttggcaccaaaatcaacgggacttccaaaatgtcgtataaactccgc cccattgacgcaaatggcggtlagcgtgtacgggtgggaggtctatataagcagagctggt tagtgaaccgtcagatcgccctggagacgccatccacgctgtttgacctcatagaagacac cgggcgagctcggaacctgagaactcaggggtgagctctatgggaccttgatgtttcttccc cttcttttctatggttaagtctatgtcataggaaaggggagaagtaacagggtacacatattgacc aaatcagggttaatttgcatttgaatttlaaaaaatgcttcttcttlaatatatcttttgttaltct attcttaatacttccctaactcttcttctcaggggcaataatgatacaatgtatcatgcctcttga ccattctaaagaaataacagtgataaattctgggtttaaaggcaatgaatatttctgcatataaata ttctgcatataaattgtaaactgatgtaagagggttcatatttgcataatgacgctacaatccagct

40

【表 7 - 3 8】

		accattctgctttattttatgggtgggataaggctggattattctgagtcgaagctaggccctttt gctaatacatgttcaaccttattcttcccccacagctcctgggcaacgtgctggctgtgtgtgt ggcccatcactttggcaagcacgtgagatctgtctgacatcctgcaggggccgccaccatga actttctgtgtgtgaccttcatctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt cacagtcccagaaggggcaactggagaatgtgccagctcctaccactattgtccttctagct ccgaccagaactggcacaatgatctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt acacaaggccatccaggcagatggatggatgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt tgactttcgggtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt cgagcagtgcaaggagtgatcaagcagaccaagcaggggcacatggatgtgtgtgtgtgtgtgt ccccctcagaactgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt aaccacacacacagctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt aacggcaagtgcgagaccgagggagtgtagacagtgacaaatttaccgtgtgtgtgtgtgtgt gattataaggtgaccggcctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt gaggacggcgaaggagtgatctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt cctatgagaaggcgataaggtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt ggcaaggcgctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt agagtgccagtgaggagcaaccatcagcgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt gtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt gtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt aggacctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt cgacatcgataaaccatcattcgaagtggtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt agagagctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt ctgaagaccctacaggctataagtttccactgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt gatctgcacaagaccagccaggccgaggtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt aagcagctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt tgagagctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt ggcgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt gggcagcaacaataagagaatcataatgacatcgagatgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt cggcgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt ccccgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt aattgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt caagggggaggtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt 	10
124	ヘルパープラスミド- gag/pol	gacattgatttactagtttattatagtaataaattacgggggtcattagtctatagcccatatatt ggagttccgcgttacataactacggtaaatggccggcctggcgtgaccgcccacgacccc cgcccatgtacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaataggacgttccattgac gtcaatgggtggagtatttaccggtaaacgtccacgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt aagfacgcccctattgacgtcaatgacgttaaatggccggcctggcatttaccagttacat gaccttattgggactttcctacttggcagttacatctacgtatttagtcacgtattaccatgtgtgt gctgttttggcagttacatcaatgggcgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt ccaccccatgtacgtcaatgggagttgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt cgtlaacaactccgcccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt taagcagagctcgtttatgtgaaccgtcagatcactagaagcgttagctgcgaagtgtgtgtgtga ggcactgggcaggttaagttacaggttacagaggtttlaaggagaccaatagaacatgg gctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt ctttgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt cggccacctgggcggccgcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc agattgcctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt tcgggaactggaaagattcggcgtgaacctggactgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt acagatcctgggacagctgtcaacctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt tgtacaacaccgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt 	30
			40

	gaggctctggataaagatcgagggaagagcagaacaagagcaagaaaaagccagcagg ccgccgctgataccggccatttcaatcagggtgtcccagaactaccctatgtgcaaaatatcc agggccagatgggtccaccaggccatcagccctagaacctgaatgctctgggtgaaggtgg tggaagagaaggcccttttccagagggtgatccctatgttcagcgccctgagcgaggcgct acccctcaggacctgaacacaatgctgaacaccgtggcgccaccaggccgccatgca gatgtcgaagaaacalcaacgaggaggccgccgaalgggaccgggtgaccccggtc acggcgcccaatcgccctggccagatcggggaacctagaggcagcgacatcgccggc acaaccagcacatgcaagagcagatcggaatggatgacacacaaccccccatcccggtg ggcgaaatctacaagcggtggatcattctgggactgaacaaaatcgtaaatgtacagcc taccagatccttgatatacagacaggggcccaaggagcctttccgggactactgtggacaga ttttacaagaccttgagagccgaacaggccctcccaagggtgaaagaaactggatgacag acctgtcgtgggtgcagaalgccaacctgatttgaagacaalctgaaggccctcggacctgg cgctacactggaagaaatgatgaccgctgccaggcggtggcgccggcccgccacaagg ccagatgtcgtgccgaggctatgagccagggtgacaaacccgccacaatcatgatccaga agggcaacttcagaaacaccgcggaagaccgtgaaatgcttcaactcggcgaaagggaaggc cacatcgcaaaagaactcgagagcccttaggaagaaaggctgttggaaatgctggaaaggga aggacaccaaaatgaaagattgtactgagagacaggctaaatttttagggaaagatctggccctc ccacaagggaaggccagggaattttctcagagcagaccagagcgcaacagccccaccag aagagagcttcagggtttgggggaagagacaacaactccctctcagaagcaggagccgatag acaaggaaactgtatccttttagcttccctcagatcactctttggcagcgacctctgtacaata aagatcggcgacagctgaaaaggcccttgcgtgacaccggagccgatgacaccgtgtc ggaagaaatgaacctgccttgaagatggaaccttaagatgacgggtggcatcgccggaatt atcaaatgtcgacagatgaccagatcctgatcagagatttgcggccacaagctatcggaaac agtgtgtgtcggcccgacccccgtgaacatcattggccgcaacctgtctgacacagatcgg tgtacactgaactttcctatcagccctatcgaaacgtgccgggtcaagctgaaagccggcatg gatggccctaaagggaagcagtgcccttgacagaggaaaagatcaaggcactggtgga aatctgcacagaaatggaaaaagagggcaagatttcaaaatcggccagagaaccttac aacacctgttttcgcatcaagaagaagaattccaccaagtggaggaagctgtgtggaatt tcgggaactgaacaagcggaccaggatcttgggaggtgcagcttgggcatccccacc tgccggcctgaaacaaaaaaaagcgtgaccgtgtgtgacgttggcgacgcctatttcagc gtgcccttgataaggacttccggaataacccgctttaccatccctagcatcaaacgga gacccctggcatccgggtaccagtacaacgtgtctcccacagggctggaagggtcaccgc catcttccagtgcagcatgaccaagatcctggagccttcagaaagcagaatcctgacatcgt gatctaccagttacatggacgacctgtacgtgggctctgatctggagatcggacagcacaga acaaagatcgaagagctgagacagcatctgtcagatgggggtttcaccacccccgaaag aagcacagaaagggaacctcctttctgtggtgggtctacgagctgacccccgataagtgga cagtgacagcccatgtgtgtcccagaaaggactcctggaccgtgacgacatcagaagct ggtcgaaaagctgaattgggcttcccaaatctacgccggcatcaagggtgcggcagctgtgc aagcttctgcggcgcaaaaggccctgacgggaagtgtgccactgaccgagggaagccga attagagctggccgaaaacagagaattctgaaagaacctgtgcacggcgctttactacgacc cttctaaggacctgatcgccgaatccagaaacaaggccaggggcagtggaacttaccat ctaccaggagcctttcaaaaacctcaagaccggcaagctacgccagaatgaaggggagccca tacaacgacgtgaagcagctgacagaggctgttcagaagatgccacagaaagcatcgt gatctggggcaagaccccaagttcaagctgcctatccaaaaggaaacctgggaggccctg gtggaccgagtactggcaggccacctggattcctgaatgggagttctgtgaacacaccacct ctgtgaagctgtgtaccagctggaaaaggagccaatcatcgccgcccagacatctacgt ggacggcgccccaaccgggagaccaacttggaaaaggccggatattgtaccgacaga ggcagacaaaaagggtgtgtccttgaccgatacaactaaccagaaaacagagctgacggcc attacctgtccctgcaagacagcggcctggagtgaaatctgtgacagacagctgacatc ccctgggcacatccagggctcagcctgacaagagcgaagagcagctgtgttcccatatc
--	---

40

		cgagcagctgatcaaaaaggagaagggttattctggcttgggtgccgcccaagaaggcat cggagggaacgagcaggtggacaagctggcagcggccgacccggaagggtgctgttct ggacggcatc gacaaggccaggaggaacacgagaagttaccacgcaactggcgggcc atggccagcgacttcaacctgccacctgtgtgtcgaaggagatcgtcgcctctgtgataag tgccagctgaaggggcggagccatgcacggccaagtggattgcagccctgggatctggcag ctagactgtaccacactggagggaaggtgatccgtgggtggcagtgacgtggccagcggc tacatcgagggtgaggtgatccccgccgaacaggccagggagaccgctacttctgtctga agctagccggccgtgtggcctgtgaagaccgtgcacaccgataacggcagcaattcacca gcacaaccgtgaagggtgacctgtgtgtggctgggaatcaagcaggagttcggcatccat caatctcagctcagggcgtgatcgaagcatgaacaaggaaactgaagaagatcattggt caggctcagagatcaggccgagcactgaaacccggcttcaaalggctgtgttcatcatala cttcaaaaagaaaaggcggtcggcgtctacagcgccggcgaaggaaatcgtggatcat cggcgaccgacatccaaacaaaaggagctgcaaaagcaaatcccaagatccagaactcag agtgtactacagagatagcagagatcctgtgtggaaggacactgccaaactgtgtgtggaag ggcgagggcgccgtgtgtgatccaggacaatagcgacatcaaggctgtgccagaagaaa ggctaaaaatcattagagactacggcaacagatggccggagatgattgtgtgtgtctagac aggacgaggactgataagaattccatgtcgacgtcaacagccctgactgtgtgtctttagt ccagccatctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt gtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt gtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt gtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt
125	ヘルパープラスミド Rev	gacatgtatttactagttaataatagtaaatcaattacgggggtcattagtcatagcccatat ggaggttccgcgttacataacttacggttaaatggccgcctggctgaccgcccacgacccc cgcccatgacgtcgaataatgacgtatgttcccatagtaacccaatagggaactttcatgtac gtcaatgggtggagtatttacggtaaaactgcccaacttggcagttacatcaagtgtatcata aagtacgccccctattgacgtcaatgacggttaaatggccgcctggcattatgccagttacat gaccttatgggactttctacttggcagttacatctacgtattagtcacgtattaccatgtgtat gcgggtttggcagttacatcaatggcggtgtgtatagcggtttgactcacggggatttcaagt ccaccccatgacgtcaatgggaggtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt cgtlaacaactccgcccatgacgcaaatggcggttagggcgtgtacgtgtgtgtgtgtgtat taagcagagctcgttttagtgaaacgtcagatcgctggagacgccatccacgctgttttagc tccatagaagacacggggccacatggccggcagaaggcgccgacagcgacgagggatct gctgaaggcgtgtggcgtgatcaagtctctgtaccagagcaacccctccctcaaccccgag ggcaccagacagggctagacggaaccgcagaagaagggtggcggaacggcgaagacag atccactctacagcgagagaatcttgagcacctacctgggaagactcggcgagccgtctcc ccctgcagctgacctccactggaaagactgacctggatgtgtatgaggtactcggcacaag cggaaaccgggagcgtggcgagcccccagattgggtgaatcccttacaatcctcaggtcgt ggcgcccaagggaatgataactagcacctgtcttattgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt aaccattataagctgcaataaacaagttaacaacaacaattgcatcattttatgtttcaggttca ggggggagggtgtgggaggttttttaa
126	抗CD3プラスミド	ctagtattataatgtaaatcaattacgggggtcattagtcatagcccatatattggagttccgcgtta cataacttacggtaaatggccgcctggctgaccgccaacgacccccgcccatgtacgtc aataatgacgtatgttccatagtaaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtgga gtatttacggtaaacgtccacttggcagttacatcaagtgtatcatatgccaaagtacgccccct attgacgtcaatgacggttaaatggccgcctggcattatgccagttacatgaccttatgggac tttccacttggcagttacatcactgtattagtcacgtattaccatgggtgtgtgtgtgtgtgtgt acatcaatggcggtgtgtatagcggttgactcacggggaatttcaagttccaccccatgacg tcaattgggagttgtttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtgaacaactccgc cccatgacgcaaaatggcggtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt tagtgaaccgtcagatcgcctggagacgccatccacgtgtttttagctccatagaagaagacac

40

【表 7 - 4 1】

		cgggcgagctcggatcctgagaacttcagggtgagtcctatgggacccttgatgtttcttccc cttctttctatggttaagtcatgcataggaaggaggagaagtaacagggtacacatattgacc aaatcagggtaatgttgcatttgaatttfaaaatgctttcttcttataatactttttgttatctt atttctaatacttcccaatcttcttccagggaataatgatacaatgatcatgaccttttgca ccattctaagaataacagtgataatttctgggttaaggcaatagcaatatttctgcatataaata tttctgcatataaattglaactgatgfaagggttcatatlgctaatagcagctacaatccagct accattctgcttttatttgggtgggataaggctggattattctgagtcgaagctaggccctttt gctaatactgttcataccttcttcttcttccacagctcctgggcaacgtgctggtctgtgtgt ggcccatcatttggcaaagcacgtgagatctgccaccatggcggtgaaagtgtgtgtgtgt ctgatctgcatcgagtgctgaagccgacatccagatgaccagctctctagcagccctag cgctagcgtgggcgatagagtaccatcacatgtagcggcagcagcagcgtgtctacatg aactggtagcgaacacctggaaaggccctaaaagggtggatctatgacacatctaagct ggcttctggagtgccatctagatttctggcagcggctccggcactgattatacattcaccatc agcagcctgcagcccaggatalcgccacctactactgtcagcagtggtctctaatcccttc accttggccagggcaccaagctgcagatcaccagaaccagcgccggggagggaagcg ggggggaggatcggcgccggcgccagcagctgcagctgggtgcagagcgccggcg gctgtgtgcaacctggcagaagcctgagactgagctgcaaggcctctggtctacaccttcac ccgtacacatgcatlgggtgcccaggccctggcaaggccctggaatggatlggata tcaaacccagcagaggtacaccaactacaaccagaagggtgaaggacagatlcacaatl tctcgggacaacagcaagaataccgcttctcgaatggactcctgcgccagaagata ccggcgtgtacttctgctgcatatctacgacgaccactactgctggactactggggccag ggcaccctgtgaccgtgtccagcgcctccggagtgaactgatcagggtgtgttcagca gctggaaaagcaccgtgtgtacatcttttccatcggcgtgttcactctgtgtacgtgtgt ggcagaattgtatcgccgtggtatagataccaggcagcaacaacaagcggtatcaca acgacatcgagatgagcagatlcagaagtaatactcagggtaattcgcgcgcgcgtc acgtcaacagcctgactgtgcttctagtggcagccatctgtgtgtgtccctcccccgtg cttctctgaccttggaaagtgcactcctactgtcttctctataaaaatagggaattgcat cgcatgtctgagtaggtgtctattcttctgggggtgggggtggggcagcagcagggg ggaggatgggaagacaatagcaggcatgctggggatgggggtgggctctatgg	10
127	抗 CD3 プラスミド	ctagttatfaatagtaataacacgggtcattagttcatagcccatataggagtccgcgtta cataacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgccaacgacccccgccattgacgtc aataatgacgtatgttccatagtaacccaatagggaacttccattgacgtcaatgggtggga gtatttaccgtgaactgccacttggcagttacatcaagtgatcatatgccaagtacgccccct attgactcaatgacggtaaatggccgcctggcattatgccagttacatgacctatgggac tttctacttggcagttacatcagttattagttatcgtattaccatgggtatgctgttttggcagt acatcaatggcggtggatagcgggttggactacggggatttccaagtctccacccattgacg tcaatgggagttgttttggcaccaaaatcaacgggacttccaaaatgtcgtacaactccgc cccattgacgcaaatggcggttaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagagctcgtt tagtgaaccgtcagatcgccggagacgccatccacgctgttttgacctcatagaagacac cgggcgagctcggatcctgagaacttcagggtgagtcctatgggacccttgatgtttcttccc cttctttctatggttaagtcatgcataggaaggaggagaagtaacagggtacacatattgacc aaatcagggtaatgttgcatttgaatttfaaaatgctttcttcttataatactttttgttatctt atttctaatacttcccaatcttcttccagggaataatgatacaatgatcatgaccttttgca ccattctaagaataacagtgataatttctgggttaaggcaatagcaatatttctgcatataaata tttctgcatataaattglaactgatgfaagggttcatatlgctaatagcagctacaatccagct accattctgcttttatttgggtgggataaggctggattattctgagtcgaagctaggccctttt gctaatactgttcataccttcttcttcttccacagctcctgggcaacgtgctggtctgtgtgt ggcccatcatttggcaaagcacgtgagatctgccaccatggcggtgaaagtgtgtgtgtgt ctgatctgcatcgagtgctgaagccgacatccagatgaccagctctctagcagccctag cgctagcgtgggcgatagagtaccatcacatgtagcggcagcagcagcgtgtctacatg	30
		cgggcgagctcggatcctgagaacttcagggtgagtcctatgggacccttgatgtttcttccc cttctttctatggttaagtcatgcataggaaggaggagaagtaacagggtacacatattgacc aaatcagggtaatgttgcatttgaatttfaaaatgctttcttcttataatactttttgttatctt atttctaatacttcccaatcttcttccagggaataatgatacaatgatcatgaccttttgca ccattctaagaataacagtgataatttctgggttaaggcaatagcaatatttctgcatataaata tttctgcatataaattglaactgatgfaagggttcatatlgctaatagcagctacaatccagct accattctgcttttatttgggtgggataaggctggattattctgagtcgaagctaggccctttt gctaatactgttcataccttcttcttcttccacagctcctgggcaacgtgctggtctgtgtgt ggcccatcatttggcaaagcacgtgagatctgccaccatggcggtgaaagtgtgtgtgtgt ctgatctgcatcgagtgctgaagccgacatccagatgaccagctctctagcagccctag cgctagcgtgggcgatagagtaccatcacatgtagcggcagcagcagcgtgtctacatg	40

10

20

30

40

		aactggtaccagcaaacacctggaaaggccctaaaggctggtatctatgacacatctaagct ggcttctggagtgccatctagatcttctggcagcggctccggcactgattalacattccacatc agcagcctgcagcccaggataatccacctactactgtcagcagtggtctcttaatcccttc accttcggccaggccaccaagctgcagatcaccagaaccagcggcgggggagggaagcg gcgggggagagatctggcgggcgggcgagccaggtgcagctgtgtgcagagcgcgcgcg gctgtgtgcacacctggcagaagcctgagactgagctgcaaggcccttggtctacaccttcac ccggtacaccatgcatgtgggtgcggcagggccctggcaaggcgctggaatggattggata catcaaccccgagcagggctacaccaactacaaccagaagggtgaaggacagattcacaatt tctcgggacaacagcaagaataccgcttctgcaaatggactccctgcgccagaagata ccggcgtgtacttctgctctagatattacgacgaccactactgcttgcagactactggggccag ggcaccctctgtcagctgtccagcgccctccggacactcagcgagccttgagatcaccctga lcatcttcggcgtgtgagggcgagtgatcggcacaaatcctgctgatacgttaccggcatcaga agactgattaagaaatccccatctgtagtggaagcctctgcttctctgacaccgagctccc ctgagcagcgtggaaatcgagaacccggaaccagcgaccagtgataagaattctagtgc acgtcaacagccctgactgtgcttctagtgtccagccatctgtgttggccctccccgtg ccttcttgaccctggaaagggtgccactcccactgtccttcttaataaaatgaggaaattgcat cgcatgtgtgagtaggtgtcatcttattctgggggggtgggggtggggcgaggacagcaagggg ggaggattgggaagacaatagcaggcatgctgggggagcggtgggctctatgg
128	KanR_p57M-MND-(抗)medCD3-コカル-wPREw-BGHPa-001	gaacagagaaacaggagaatatggggccaaacaggataatctgtgtaagcagttctgcgcc ggctcaggggccaagaacagtgggaacagcagaatatggggccaacaggatattctgtgta agcagttcttccccggctcaggggccaagaacagatggtccccagatgcgggtccggccct cagcagtttctagagaaccatcagatgtttccagggtgtccccaaggacctgaaatgacctgt gtccttatttgaactaaccaatcagttcgttctcgttctgttcgcgcgtctctgtcccccgagc tctatataagcagagctcgtttagtgaaacctcagatcgcttggagcgcacatccacgtgtgtt tgacttccatagaagcctgcaggggccgccacatggcactgacctgtgacagccctctgtgt ggcactggccctgtcgtgcacgcagcacgccagataccagatgacctagctcccaag ctccctgagcgcctccgtggggcgaccgggtgacaatcacctgcagcgcctctagctccgtg tctacatgaactggtaicagcagacacctggcaaggccccaagagatggatctacgata ccagcaagctggcctccggcggtgcttctaggtttcttggcagcgggtccggcacagattat acattcaccatctctagcctgcagccagaggacatcgccacctactattgccagcagtggtc ctctaatccctttacatctggccaggggaccaagctgcagatcacaaagacctctggaaggag gagggaagcggaggaggaggatcggcgggcgggcgtctcagggtgcagctggtgtcagag cggaggaggagtggtgcagccaggcagaagcctgaggctgtcttctaaggcctctggcta cacatcaccagatatacaatgcactgggtgaggcaggcaccaggcagggaaggtggagtgtg gatcggctacatcaacccctcaggggctacaccaactataaactcagaaggtgaaggatcgg ttcaccatcagcagggaacaactccaagaalaccgcttctgcagatggacagccttgaggc cagaggataccggcgtgtacttttgcgcccgttactatgacgatcactactgtgtgtatttg ggggcaggggaaacaccagtgcacctgtgagctccggcgagcaaaagcctaccacaacccctg ccccaaggccacctacacccgccccctaccatcgctcagccactgagcctgaggccag aggcatccaggcctgcccgaggggggggcggtgcacaccggggcgctggactttgctctg atatggcactgaltcgtctgggaggagtggcaggactgtgtgtgtcaltcggactgggcaltc ttttttgctgtcgtgttaggcaccgggagaaggcagggtgtgagagggaaggagggaagc ctgtgtgacatgcggcgacgtggaggagaaaccaggacaaatcttctgtgtgtgaccttcat cgtgtgtcctctgtgtgcagccacgcaagttttccatcgtgttccacagtcccagaaggggca actggagaatgtgacctctagctaccactatlgcccttctcttagcgaccagaactggcaca atgatctgtgtggcatcacaaatgaaggatgaagatgcccaagaccacaaaggccatccagg cagatggatgatatgtccacgcagccaagtggaatcacaaactgtgactttcgtgtgtlacgg cccaagatatacacacactccatccactctacagcctacccagcagcagtgcaaggaggt ctatcaagcagacaagcagggcaccctggatggagccttggcttccaccccaagactgtg gtctacgccacagtgaccgactccgtggcagtggtgtgtgcaggcaaacacctaccacgtgc

40

[illegible]

40

【表 7 - 4 4】

	ttggcaagcacgtgagatctgaattctgacactctgcaggccgccacatggcactgcc tlgacagccctgctgctgccactggccctgctgctgcacgcagcacgcccagatccag atgaccagtcctcccaagctccctgagcgcctccgtgggcgaccgggtgacaatcacctgc agcgcctctagctccgtgtcctacatgaactggatcagcagacacctggcaaggcccaa agagatggatctacgataccagcaagctggcctccggcgtgcttctaggtttctggcagc ggctccggcacagattatcattcaccatctctagcctgcagccagaggacatcgccacta ctattgccagcagtggctccttaatccctttacattcgccaggggaccacagctgcagatcac aagaacctctggaggaggaggaaagcggaggaggaggatccggcggcggcggctcag gtgcagctgggtgcagagcggaggaggagtgggtgcagccaggcagaagcctgaggctgtc ctgtaaggccctctggctacacattcaccagatatacaatgcactgggtgaggcaggcaccag gcaagggactggagtggatcggctacatcaacccctccaggggctacaccaactataatca gaaggtgaaggatcgggtcaccatcagcagggacaactccaagaataccgcttctgcag atggacagcctgaggccagaggataccggcgtgtactttgcgccggctactatgacgata ctactgtctggattattggggccagggaacaccagtaccgtgagctccgccgcagcaaa cctaccacaacccctggcccaaggccaccacacccgccctaccatcgctctcagccac tgagcctgaggccagaggcatccaggccctgcgcaggggggggccgtgcacacccgggg ccctggactttgcctctgatalggcactgatcgtgctggggaggagtggcaggactgctgctgt catcggactgggcatcttctttgctgctgctgtaggcaccggagaaggcaggatctgga gagggaagggggaagcctgctgacatgcggcgacgtggaggagaaccaggaccaaattt tctgctgctgaccttcatctgtgctgctctgtgcagccacgccaagtttccatctgttccac agtccagaagggaactggagaatgtgcccctctagctaccactatgtcccttctctagcg accagaactggcacaatgatctgtgggcatcacaatgaagggtgaagatgccaagacca caaggccatccaggcagatggatggatgtccacgcagccaagtggatcacaacctgtga ctttcgggtgtacggcccaagtatatcacacactccatccactctaccagctacctccga gcagtccaaggagtctatcaagcagacaaagcagggcacctggatgagccctggcttccc accccagaactgtggctacgccacagtaccgactccgtggcagtgggtggcagggcaac acctaccacgtgctgggtggatgagtalaccggcgagtggatcgacagccagtttccaaac ggcaagtgcgagacagaggagtgtgagaccgtgcacaattctacagtgtgtacagcgatt ataaggtagacagccctgtgcgacgccacccctgggtgatalacagatcaccttctttctgag gacggcaagaaggagagcatcgccaagcccaacaccggctacagatccaattacttccgc talgagaaggcgataaggtgtgcaagatgaattattgtaagcacgccggggtgcggctgc ctaggcggcgtgtggtttgagttcgtggaccaggacgtgtacgcagcagcaagctgcctga gtggccagtgaggagcaaccatctccgcccaacacagacctccgtggacgtgtctctgalt ctggatgtggagcgcacctctggactacagcctgtgccaggagacgtggagcaagatccggt ccaagcagccctgttccctgtggaccctgtcttacctggcaccaaagaaccagggaaccgg accagcctttacaatcatcaatggcaccctgaagtacttcgagaccgctatatccggatcga catcgataaccctatcatcagcaagatgggtgggcaagatctctggcagccagacagagaga gagctgtggaccgagtgggtcccttacgaggcgtggagatcggcccaaatggcatctga agaccaaacccggctataagtttccctgttcatgacggccacggcatgctggacagcgat ctgcacaagacctccaggccgagggtgtttgagcaccacacctggcagaggcaccacaa cagctgccttgaggaggagacactgttcttggcgataccggcatcttaagaaccctgtgga gctgacgagggtgtgttctcttggaaagagcacagtgggtgaccttcttttgcctatcgge gtgttcatctctgtgtacgtgtggccagaatcgtgtatcgccgtgagatacagggtatcagg ctccaacaataagaggatctataatgacatcagatgtctcgttccggaagtgcgcccggc gctcaaatcctgcacaacagattcttcatgtttggaccaaatcaactgtgataccatgtcaca gaggcctcaattatatttgagtttttaattttatgaaaaaaaaaaaaaaaaacggaattcacccc accagtgcaggctgcctatcagaagtggtggctgggtgtggctaatgccctggccacacag tatcactaagctcgttctgtgtgtcctaaattctataaagggttcttcttccctaaagtccaacta ctaaacctgggggataattatgaaggccttgagcatctggattctgcctaataaaaaacatttatt ttcatgtcaatgatgtatttaattatttctgaatttttactaaaaagggaatgtgggaggtcagt
--	---

10

20

30

40

50

【表 7 - 4 5】

		gcattttaaataaagaatgaagagctagttcaaaccttgggaaaatacactatactttaa ctccatgaagaaggtaggcgcgaacagctaatgcacattggcaacagccctgatgcc tatgcttattcatccctcagaaaaagattcaagtagaggcttgattggaggttaagtgttgc aatgctgtatttta
130	コカルエンペローブラ スミド	gaacagagaaacaggagaatatgggccaaacaggatattgttgtaagcagttcccgccc ggctcaggggccaagaacagttgggaacagcagaatatgggccaaacaggatattgttgta agcagttcccgcccggctcaggggccaagaacagatggccccagatgcgggcccccct cagcagtttctagagaaccatcagatgtttccagggtggccccaggacctgaaatgacctg tgcttatttgaactaaccaatcagttcgtctcgttctgttcgcgcgttctgtccccgagc tctatataagcagagctcgtttagtgaaccgtcagatgcctggagacgcatccacgctgtt tgacttccalagaagcctgcaggggccgccaccatgaactttctgtctgaccttcaactgtgt gacctgtgcagccacgccaagtttccatcgtgttcccacagtcccagaaggccaactgga agaaatgtgccagctcctaccactattgtccttctagctccgaccagaactggcacaatgatct gtgggcatcaccatgaagggtgaagatgcctaagacacacaaggccatccaggcagatgg atggatgtgccagcagccaagtggatcaccacatgtgactttcgggtggtagggccccagt atatcaccacagcatccactcctccagcctacaagcgagcagtgcaaggagtcctcaa gcagaccaagcagggcacatggatgtctccggcttccccctcagaactgtggctacgcc accgtgacagatagcgtggcagtggtgggtgcaggcaaccacaccacgtgtgtggat gagtatacaggcgagtgatcgacagccagtttcccaacggcaagtgcgagaccgagga gtgtgagacagtgacaaattctaccgtgtgttacagcgattalaaggtagccggcctgtgcg acgccacactgggtgataccgagatcacattctttccgaggacggcaagaaggagtcctac ggcaagcccaacaccggctacaggtctaattacttgcctatgagaaggcgataagggtgt gcaagatgaattattgtaagcacgccgggggtgcggctgccaagcgcgctgtgtgttgagttc gtggaccaggacgtgtacgcagcagcaagctgccagatggccagtgaggagcaacct cagcgccccaccagacatctgtggacgtgagcctgatcttggatgtggagagaatcctg gactactccctgtgccaggagacatggccaagaiccgctcctaagcagcccgtgagcccag tggaactgtcttaccgtggcaccaaagaacctggaaacaggacctgectttaccatcatcaatg gcacactgaagtacttcgagaccggatatacagaatcgacatcgataaccacatcatcaca agatgggtgggcaagatctccggctctcagaccgagagagagctgtggcagagtggttcc calacgaggggctggagatcgggcccaatggcatcctgaagaccttacaggctataagti tccactgttcatgatcgccacggcatgctggactctgatctgcacaagaccagccaggccg agggtgttgagcaccacacctggcagagggcaccaaagcagctgcccaggagggagacc ctgttcttggcgatacaggcatctccaagaacctgtggagctgatcaggggctgggttcta gctggaaagtctaccgtgtgtgacattcttttgcctacggcgtgttcatcctgtgtacgtgtg gcaaggatcgtgtatcgccgtgctggatagatatacaggcagcaacaataagagaatcata atgacatcgagatgtccaggttccgaagtgcgcccggcgtcgacaatcaacctctggatta caaaatttggaaagattgactgggtattcttaactatgtgtccttttacgctatgtggatacgt gctttaatgctttgtatcatgctattgtctccgtatggctttcattttctcctctgtataaatcct gggtgtgtctctttatgaggagtgtggcccgtgttcaggcaacgtggcgtgtgtgtacgtgt gtttgtgtgacgaacccccactgggtggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggac tttgccttccccctccctattgccacggcggaaactatcgccgctgcttgcctgtgtgtg acaggggctcggctgttgggcactgacaattccgtgtgtgtgtcggggaagctgacgtccttt ccatggctgtcgcctgtgttggccacctggattctgcgaggacgtccttctgtacgtcctt cgggccctcaatccagcggaccttcttcccgcgcctgtgtcggcgtctgtgcgcctcttccg cgtcttgccttgcctcagacgagtcggatctcccttggggccgctccccgcctgtgtgtgc cttctagtgtccagccatctgtttgttgccttccccgtgtccttctgaccttggaaagtgtcc actccactgtcttcttaataaaaatgaggaaatgcacgcattgtctgagtaggtgtcattct attctgggggggtgggtggggcaggacagcaagggggaggattgggaagacaatagca ggcatgctggggatgcgggtgggtctatgg

10

20

30

40

50

【表 7 - 4 6】

131	ヘルパープラスミド gag/pol	ttgacattgattattgactagtattaaatagtaataaattacggggcattagttcatagcccatat atggagttccgcgttacataaacttacggglaaatggcccgcttggctgaccgcccacgaccc ccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaataggagctttccattga cgtcaatgggtggagttttacggtaaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgc caagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcttggcattatgccagtac atgaccttatgggactttccctacttggcaglacatctacgtattagtcacgtattaccatgggtg atgcgggtttggcagtacatcaatgggcgtggatagcgggttggactcacggggatttccaaat ctccacccattgacgtcaatgggagttgtttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaat gtcgtacaactccgcccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacgggtgggagggtcta talaagcagagctcgtttagtgaaccgtcagatcgctggagacgccaaccacgctgtttga ccctcatagaagacaccgggaccgatccagctccctcgaagcttacatgttggtaccgag ctcggatcctgagaacttcagggtgagtcattgggaccttggatgtttcttcccttctttctta tggttaagtcatgtcatagggaaggaggagaagtaaacagggtacacatattgacaaaacagg gtaattttgacatttgaattttaaaaaatgctttcttctttaataatattttttgttatcttatttcta ctttccctaaactcttcttcttccagggcaataatgatacaatgtatcatgcccttttgcacattctaa agaataacagtgataatttctgggttaaggcaatagcaataatttctgcatataaatttctgcat ataaattgtaactgtatgaagggtttcatattgctaatagcagctacaatccagctaccattctg cttttattttatgggtgggalaaggctggatttctgagtcgaagctaggcccttttgcataatc gttcatacccttattcttccctccacagctccctgggcaacgtgtctgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt actttggcaaaagcagctgagatctgaattcgaagatctccgcccgcattgggtgtgtgtgtgtgtgt tcagtattaaagcgggggagaatttagatcgaatgggaaaaaattcgggttaaggccaagggggaa agaaaaataataaataaataatagtagtgggcaagcaggagctagaacgattcgcagtt aatcctggcctgttgaacatcagaaggctgtgacaaatactgggacagctacaaccatc cctcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtagcaacctctattgtgtg catcaaaggatagagataaaagacaccaagggaagctttagacaagatagagggaagagcaa aacaaggtaagaaaaagcacagcaagcagcagctgacacaggacacagcaatcagggt cagccaaaattacccctatagtgagaaatccaggggcaaatgttcatcaggccatattcac ctagaactttaaatgcatgggtaaaagtagtagaagagaaaggctttcagcccagaagtata cccatgtttcagcatattcagaaggagccaccaccacaagatttaaacaccatgctaaacaca gtggggggacatcaagcagccatgcaaatgttaaaagagaccatcaatgaggaaagctgca gaatgggatalagatgcattccatgcatgcagggcctattgcaccaggccagatgagagaa ccaagggggaagtgcacatagcaggaaactactgtacccttcagggaacaaataggatggatga cacataatccaccttaccagtaggagaaatctataaaagatggataatcctgggtattaaata aaatagtaagaatgtatagccctaccagcattctggacataagacaaggaccaaaagggaacc cttttagagactatgtagaccgattctataaaactctaaagaccgagcaagcttcacaagggt aaaaaattggatgacagaaccttgttgggtccaaaatgcgaaccagattgtaaactatttta aaagcattgggaccaggagcgacactagaagaaatgatgacagcatgtcaggagtggtgg gggacctggccataaagcaagagttttggctgaagcaatgagccaagtaacaaatccagct accataatgatacagaaggcaatttttaggaaccaagaaagactgttaagtgttcaattgtg gcaaaagagggcacatagccaaaaatgcaggggcccttaggaaaaagggtgtttggaaat gtggaaagggaagacaccaaataaagattgtactgagagacaggctaatttttagggaag atctggccttcccaagggaaggccagggaattttcttcagagcagaccagagccaacag cccaccagaagagagcttcagggttggggaagagacaacaactccctctcagaagcagg agccgatatagacaaggaaactgtatcctttagcttccctcagatcactcttggcagcgaccctc gtcacaataaagataggggggcaattaaagggaagctctattagatacaggagcagatgata cagtattagaagaaatgaatttggcagggaagatggaaccaaaaatgalagggggaatttgg agggtttatcaagtaagacagatgatcagatactcatagaatctgcggacataaagctata ggtacagtattagtaggacctacacctgtcaacataatgggaagaaatctgtgactcagattg gctgcactttaattttccattatgtctattgagactgtaccagtaaaatgaagccaggaaatg gatggcccaaaagttaacaatggccattgacagaagaaaaataaaagcattatagtaaaat
-----	----------------------	--

10

20

30

40

50

【表 7 - 4 7】

	ttgtacagaaatggaaaaggagaaaaattcaaaaattgggctgaaaatccatacaata ctccagtatttgccataaagaaaaagacagtactaaatggagaaaattagtagatttcagag aacttaataagagaactcaagatttctgggaagtcaattaggaataccacatcctgcagggt aaaacagaaaaatcagtaacagtactggatgtggcgatgcatattttcagttcccttagat aaagacttcaggaagtatactgcattaccatacctagtataaacaatgagacaccagggt agatatacagtaaatgtctccacagggtggaaaggatcaccagcaatattccagtgtag catgacaaaaatcttagagccttttagaaaacaaaatccagacatagtcattatcaatacatg gatgattgtatgtaggatctgacttagaaatagggcagcatagaacaaaaatagaggaaatg agacaacatctgttgagggtggggaattaccacaccagacaaaaacatcagaaagaacct cattccttggatgggtatgaactccatcctgataaaaggacaglacagccatagtgctgcc agaaaaggacagctggactgtcaatgacatacagaaattagtgggaaaattgaattgggca agtcagatttatcagggattaaagtaaggcaattatgtaacttcttaggggaaccaaagca ctacagaaagttagtaccactaacagaagaagcagagctagaactggcagaaaacaggga gattctaaaaagaaccggtacatggagtgtattatgacccatcaaaagacttaatagcagaat acagaagcaggggcaaggccaatggacatatacaaatatcaagagccattaaaaatctga aaacaggaagtatgcaagaatgaagggtgccacactaatgatgtgaaacaattaacaga ggacaglacaaaaatagccacagaaagcatagtaataaggggaaaagactcctaaattaaat taccatacaaaaaggaaacatgggaagcatggtagacagatttggcaagccacctggat tccctgagtgagggtttgtcaatccccctcccttagtgaagttaggtaccagttagagaagaa ccataataggagcagaactttctatgtatgtgggcagccaatagggaactaaattagg aaaagcaggatagtaactgacagagggaagacaaaaagtgccccctaacggacacaac aaatcagaagactgagtacaagcaattcatctagctttgcaggattcgggattagaagtaa catagtgacagactcacaatagcattgggaatcattcaagcacaaccagalaagagtgat cagagttagtcagtcaataatagagcagtaataaaaaaggaaaagctacctggcatgg gtaccagcacacaaaggaaatggaggaaatgaacaagtagataaattggtcagtgctggaa tcaggaaagtactatttttagatggaaatagataaggcccaagaagaacatgagaaatcac gtaattggagagcaatggctagtgatttaacctaccacctgtatgtagcaaaagaaatagtag ccagctgtgataaatgtcagctaaaaagggaagccatgcatggacaagttagcttagccc aggaatatggcagctagattgtacacattagaaggaaaagtattcttggtagcagttcatgta gccagtggatatatagaagcagaagtaattccagcagagacagggaagaacacagcatac ttctcttaaaatagcaggaagatggccagtaaaaaacaglacacagacaatggcagcaa ttccaccagtactacagttaaaggccgctgttgggtggcggggatcaagcaggaatttggcat tccctacaatccccaaagtcaaggagtaataagatctatgaataaagaatlaagaaaattata ggacaggtaaagatcaggctgaacatcttaagacagcagtaacaatggcagttatcatcca caatttlaaaagaaaagggggtattgggggtlacagtgcaggggaaaagaatagtagacat aatagcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaacaaattacaaaattcaaaattttc gggttattacaggggacagcagagatccagtttggaaaggaccagcaaaagctccttggaaa gggtgaaggggcagtagtaatacaagataatagtagataaaagttagtgccaagaagaaaag caaagatcatcagggtattggaacagatggcaggtgatgattgtgtggcaagtagaca ggatgaggattaacacatggaaatccggagcggccgaggagcttgttcccttgggttcttgg gagcagcagggaagcactatgggcgcagcgtcaatgacgtgacggtacaggccagacaa ttattgtctgtatagtgagcagcagaacaatttgcaggggtatgaggcgcaacagcat ctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagctccaggcaagaatccctgtgtggaaa gatactaaaggatcaacagctcctggggatttgggggtgctctggaaaactcatttgacca ctgctgtgcttggaaatgctagtggagtaataaatctctggaacagatttggaaatcacagac ctggatggagtgggacagagaaatlaacaattacacaagcttccgggaattcacccacc agtgaggctgctatcagaaagtgggtggctgtgtggctaatgcccctggccacaagtatc actaagctcgtcttctgtgtccaaattctatlaaagggttcttgttccctaaagtcactaa actggggatattatgaaggccttgagcatctggattctgcctaataaaaaacatttatttcat tgcattgatgtatttaaatatttctgaatatatttactaaaaagggaatgtgggaggtcagtgcat
--	--

10

20

30

40

50

【表 7 - 4 8】

		taaacataaagaaatgaagagctagttcaaaccctgggaaaatacactatatcttaactcca tgaagaaaggtgaggctgcaaacagctaatagcacattggcaacagcccctgatgcciatgc cttattcatccctcagaaaaggattcaagtagaggcttgattggaggttaaagtittgctatgct gtatttta
132	ヘルパープラスミド - Rev	aatgtagtcttatgcaactctttagtcttgaacatggtaacgatgagttagcaacatgcctt acaaggagagaaaaagcaccgtgcatgccgattggtggaagtaagggtgtacgatcgtgc cttattaggaaggcaacagacgggtctgacatggatggacgaaccactgaattccgcatlg cagagatattgtatttaagtgcctagctcgatacaataaacgccatttgaccattcaccacattg gtgtgcacctccaagctcgagctcgtttagtgaaccgtcagatcgctggagacgccatcca cgctgttttgacctccatagaagacaccgggaccgatccagcctcccctcgaagctagtcga ttaggcctctctatggcaggaagaagcggagacagcgacgaagacctcccaaggcagt cagactcatcaagtttctctatcaaaagcaaccacccccaatcccagggggacccgacag gcccgaaggaaatagaagaagaagggtggagagagagacagacagatccattcgaattagt gaacggatccttagcacttatctgggacgatctgcggagcctgtgcctctcagctaccaccg cttgagagacttactcttgattgtaacgaggattgtggaactctgggacgcaggggggtggga agccctcaaatattggaggatctcctacaatattggagtcaggagctaaagaatagtgctgtt agcttgctcaatgccacagctatagcagtagctgaggggacagatagggttatagaagtagt acaagaagcttggcacitggccgtctttacaacgtcgtgatctgagcctgggagatctctgg ctaactagggaaccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgttcaagtagtgtgt gcccgtctgtgtgtgactctggttaactagagatc
133	抗CD3 CDRL1	SASSSVSYMN
134	抗CD3 CDRL2	DTSKLASG
135	抗CD3 CDRL3	QQWSSNPFT
136	OKT3 CDRH1	GYTFTRY
137	OKT3 CDRH2	NPSRGY
138	OKT3 CDRH3	YYDDHYCLDY
139	OKT3 CDRL1	SASSSVSYMN
140	OKT3 CDRL2	DTSKLAS
141	OKT3 CDRL3	QQWSSNPFT
142	15E8 CDRH1	GFSLTSY
143	15E8 CDRH2	WAGGS
144	15E8 CDRH3	DKRAPGKLYY GYPD Y
145	15E8 CDRL1	RASESVEYYVTSLMQ
146	15E8 CDRL2	AASNYES
147	15E8 CDRL3	QQTRKVPST
148	TGN1412 CDRH1	GYTFSY
149	TGN1412 CDRH2	YPGNVN
150	TGN1412 CDRH3	SHYGLDWNFDV
151	TGN1412 CDRL1	HASQNIYVLN
152	TGN1412 CDRL2	KASNLHT

10

20

30

40

50

【表 7 - 4 9】

153	TGN1412 CDRL3	QQGQTYPYT
154	T2A	GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP
155	E2 scFv ヌクレオチド	TCCGTGCTGACCCAGCCTAGCTCCGTGTCTGCCGCACCA GGACAGAAGGTGACAATCAGCTGTTCCGGCTCTACCAG CAACATCGGCAACAATTACGTGAGCTGGTACCAGCAGC ACCCTGGCAAGGCCCCAAAGCTGATGATCTACGACGTG TCCAAGAGGCCATCTGGAGTGCCTGATCGGTTCTCCGG CTCTAAGAGCGGCAATTCCGCCTCTCTGGACATCAGCG GACTGCAGTCCGAGGACGAGGCAGATTACTATTGCGCC GCCTGGGACGATAGCCTGTCCGAGTTTCTGTTCCGGCACC GGCACAAAGCTGACCGTGCTGGGCTCTACAAGCGGATC CGGCAAGCCAGGATCTGGAGAGGGCAGCACAAAGGGA CAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAAACCTGGTGC AGCCAGGAGGCTCCCTGCGCCTGTCTTGTCGCCGCCAGC GGCTTTACCTTCGGCTCTTTTAGCATGTCCTGGGTGCGC CAGGCACCTGGAGGAGGACTGGAGTGGGTGGCCGGCCT GAGCGCCCGGTCTAGCCTGACACACTATGCCGACTCCG TGAAGGGCCGCTTCACCATCTCCCGGGATAACGCCAAG AATAGCGTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGCGGGTGGA GGACACAGCCGTGTACTATTGCGCCAGGCGCTCCTATG ATCCTCTGGCTACTGGGGCCACTTTTACTCTTATATGG ACGTGTGGGGACAGGGCACCCCTGGTGACAGTGAGCTCC
156	E2 scFv ポリペプチド	SVLTQPSSVSAAPGQKVTISCSGSTSNIGNNYVSWYQQHP GKAPKLMYDVS KRPSGVPDRFSGSKSGNSASLDISGLQSE DEADYYCAAWDDSLSEFLFGTGTKLTVLGSTSGSGKPGSG EGSTKGQVQLVESGGNLVQPGGSLRLSCAASGFTFGFSM SWVRQAPGGGLEWVAGLSARSSLTHYADSVKGRFTISR NAKNSVY LQMNSLRVEDTAVYYCARRSYDSSGYWGHFY SYMDVWGQGTLVTVSS
157	E2 scFv VL ヌクレオチド	TCCGTGCTGACCCAGCCTAGCTCCGTGTCTGCCGCACCA GGACAGAAGGTGACAATCAGCTGTTCCGGCTCTACCAG CAACATCGGCAACAATTACGTGAGCTGGTACCAGCAGC ACCCTGGCAAGGCCCCAAAGCTGATGATCTACGACGTG TCCAAGAGGCCATCTGGAGTGCCTGATCGGTTCTCCGG CTCTAAGAGCGGCAATTCCGCCTCTCTGGACATCAGCG GACTGCAGTCCGAGGACGAGGCAGATTACTATTGCGCC GCCTGGGACGATAGCCTGTCCGAGTTTCTGTTCCGGCACC GGCACAAAGCTGACCGTGCTG
158	E2 scFv VL ポリペプチド	SVLTQPSSVSAAPGQKVTISCSGSTSNIGNNYVSWYQQHP GKAPKLMYDVS KRPSGVPDRFSGSKSGNSASLDISGLQSE DEADYYCAAWDDSLSEFLFGTGTKLTVL
159	E2 scFv リンカー ヌクレオチド	GGCTCTACAAGCGGATCCGGCAAGCCAGGATCTGGAGA GGGCAGCACAAAGGGA
160	E2 scFv リンカー ポリペプチド	GSTSGSGKPGSGEGSTKG

10

20

30

40

50

【表 7 - 5 0】

161	E2 scFv VH ヌクレオチド	CAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAAACCTGGTGC AGCCAGGAGGCTCCCTGCGCCTGTCTTGTGCCGCCAGC GGCTTTACCTTCGGCTCTTTTAGCATGTCCTGGGTGCGC CAGGCACCTGGAGGAGGACTGGAGTGGGTGGCCGGCCT GAGCGCCCGGTCTAGCCTGACACACTATGCCGACTCCG TGAAGGGCCGCTTCACCATCTCCCGGGATAACGCCAAG AATAGCGTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGCGGGTGGA GGACACAGCCGTGTACTATTGCGCCAGGCGCTCCTATG ATTCTCTGGCTACTGGGGCCACTTTTACTCTTATATGG ACGTGTGGGGACAGGGCACCCCTGGTGACAGTGAGCTCC
162	E2 scFv VH ポリペプチド	QVQLVESGGNLVQPGGSLRLSCAASGFTFGSFSMSWVRQ APGGGLEWVAGLSARSSLTHYADSVKGRFTISRDNKNS VYLQMNSLRVEDTAVYYCARRSYDSSGYWGHFYSYMDV WGQGTLVTVSS
163	E2 scFv ヌクレオチド	TCCGTGCTGACCCAGCCTAGCTCCGTGTCTGCCGCACCA GGACAGAAGGTGACAATCAGCTGTTCCGGCTCTACCA CAACATCGGCAACAATTACGTGAGCTGGTACCAGCAGC ACCTTGGCAAGGCCCAAAGCTGATGATCTACGACGTG TCCAAGAGGCCATCTGGAGTGCCTGATCGGTTCTCCGG CTCTAAGAGCGGCAATTCCGCCTCTCTGGACATCAGCG GACTGCAGTCCGAGGACGAGGCAGATTACTATTGCGCC GCCTGGGACGATAGCCTGTCCGAGTTTCTGTTCGGCACC GGCACAAGCTGACCGTGCTGGGCTCTACAAGCGGATC CGGCAAGCCAGGATCTGGAGAGGGCAGCACAAAGGGA CAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAAACCTGGTGC AGCCAGGAGGCTCCCTGCGCCTGTCTTGTGCCGCCAGC GGCTTTACCTTCGGCTCTTTTAGCATGTCCTGGGTGCGC CAGGCACCTGGAGGAGGACTGGAGTGGGTGGCCGGCCT GAGCGCCCGGTCTAGCCTGACACACTATGCCGACTCCG TGAAGGGCCGCTTCACCATCTCCCGGGATAACGCCAAG AATAGCGTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGCGGGTGGA GGACACAGCCGTGTACTATTGCGCCAGGCGCTCCTATG ATTCTCTGGCTACTGGGGCCACTTTTACTCTTATATGG ACGTGTGGGGACAGGGCACCCCTGGTGACAGTGAGCTCC
164	E2 scFv VL ヌクレオチド	TCCGTGCTGACCCAGCCTAGCTCCGTGTCTGCCGCACCA GGACAGAAGGTGACAATCAGCTGTTCCGGCTCTACCA CAACATCGGCAACAATTACGTGAGCTGGTACCAGCAGC ACCTTGGCAAGGCCCAAAGCTGATGATCTACGACGTG TCCAAGAGGCCATCTGGAGTGCCTGATCGGTTCTCCGG CTCTAAGAGCGGCAATTCCGCCTCTCTGGACATCAGCG GACTGCAGTCCGAGGACGAGGCAGATTACTATTGCGCC GCCTGGGACGATAGCCTGTCCGAGTTTCTGTTCGGCACC GGCACAAGCTGACCGTGCTG
165	E2 scFv リンカー ヌクレオチド	GGCTCTACAAGCGGATCCGGCAAGCCAGGATCTGGAGA GGGCAGCACAAAGGGA
166	E2 scFv VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAAACCTGGTGC AGCCAGGAGGCTCCCTGCGCCTGTCTTGTGCCGCCAGC

10

20

30

40

50

【表 7 - 5 1】

	ヌクレオチド	GGCTTTACCTTCGGCTCTTTTAGCATGTCCTGGGTGCGC CAGGCACCTGGAGGAGGACTGGAGTGGGTGGCCGGCCT GAGCGCCCGGTCTAGCCTGACACACTATGCCGACTCCG TGAAGGGCCGCTTCACCATCTCCCGGGATAACGCCAAG AATAGCGTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGCGGGTGGA GGACACAGCCGTGTACTATTGCGCCAGGCGCTCCTATG ATTCCTCTGGCTACTGGGGCCACTTTTACTCTTATATGG ACGTGTGGGGACAGGGCACCCCTGGTGACAGTGAGCTCC
167	E2 CDR-L1	TSNIGNNYVS
168	E2 CDR-L2	LMIYDVSKRPS
169	E2 CDR-L3	AAWDDSLSEF
170	E2 CDR-H1	FTFGSFSMS
171	E2 CDR-H2	WVAGLSARSSLTHY
172	E2 CDR-H3	RRSYDSSGYWGHFYSYMDV

10

20

【図面】

【図 1】

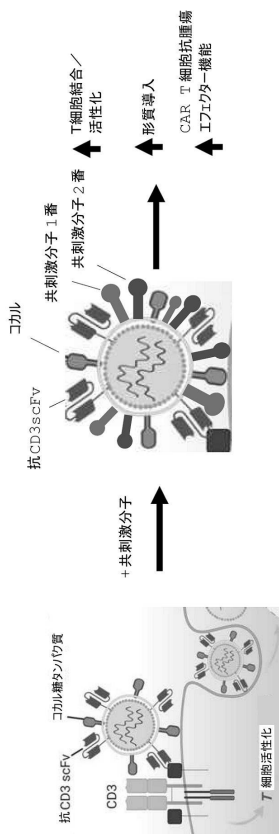


Fig. 1

【図 2 A】

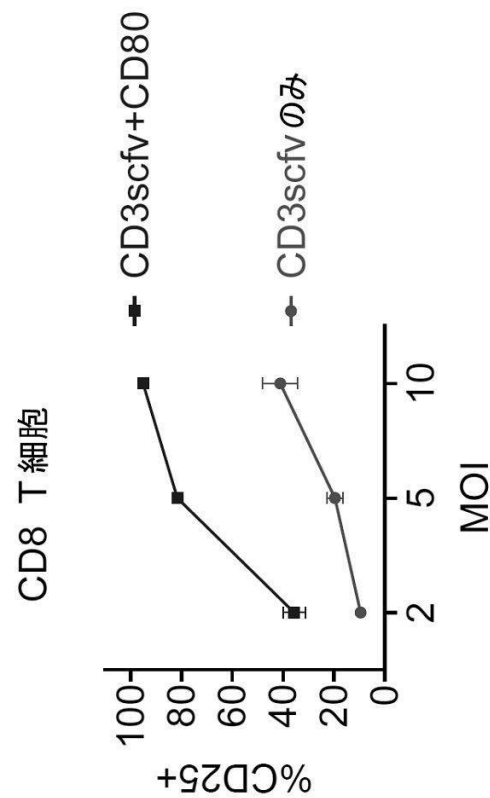


Fig. 2A

30

40

50

【図 2 B】

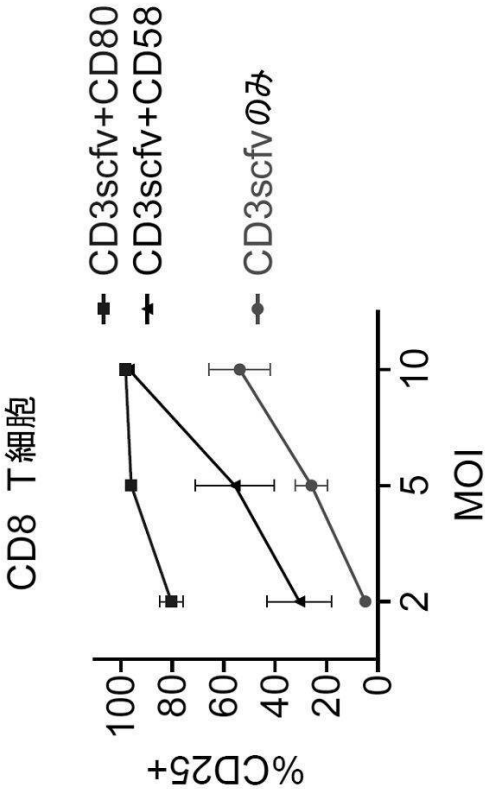


Fig. 2B

【図 2 C - 2 D】

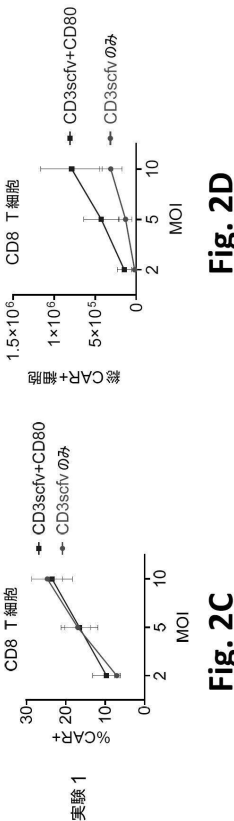


Fig. 2D

Fig. 2C

【図 2 E - 2 F】

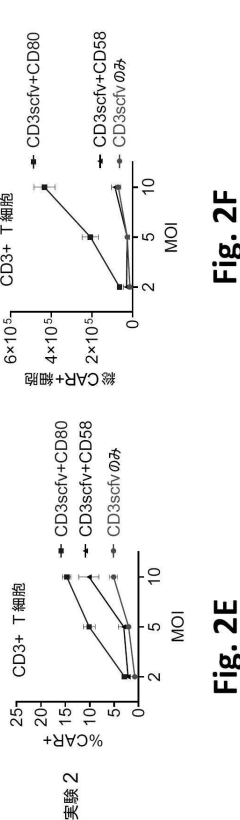


Fig. 2F

Fig. 2E

【図 2 G - 2 H】

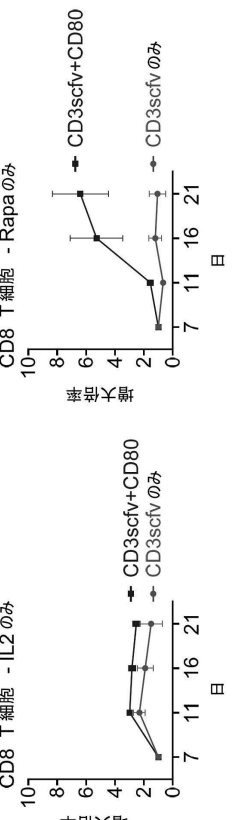


Fig. 2G

Fig. 2H

【図 3 A】

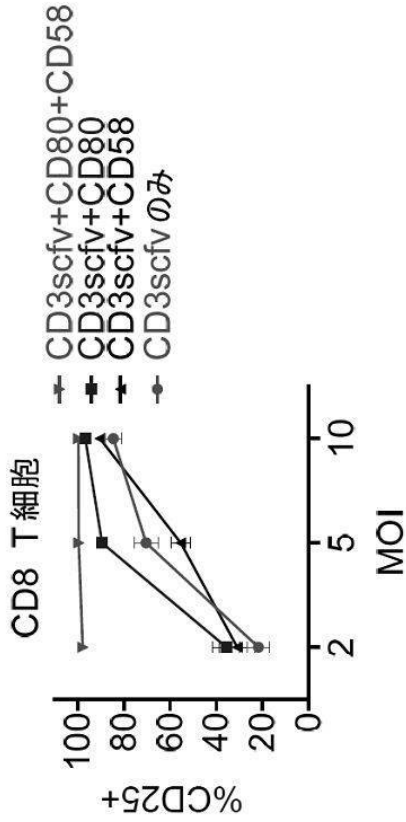


Fig. 3A

【図 3 B】

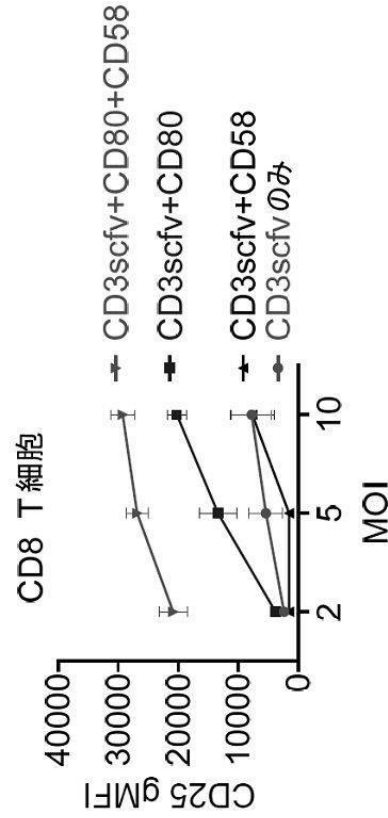


Fig. 3B

【図 3 C - 3 E】

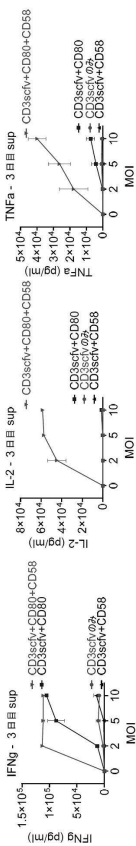


Fig. 3C

Fig. 3D

Fig. 3E

【図 3 F - 3 G】

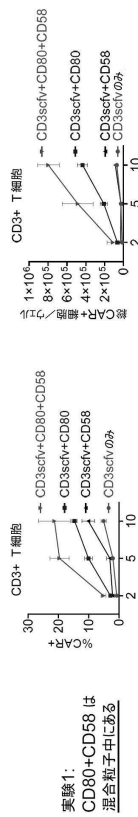


Fig. 3F

Fig. 3G

実験 1:
CD80+CD58 は
混合粒子中にある

【図 3 O】

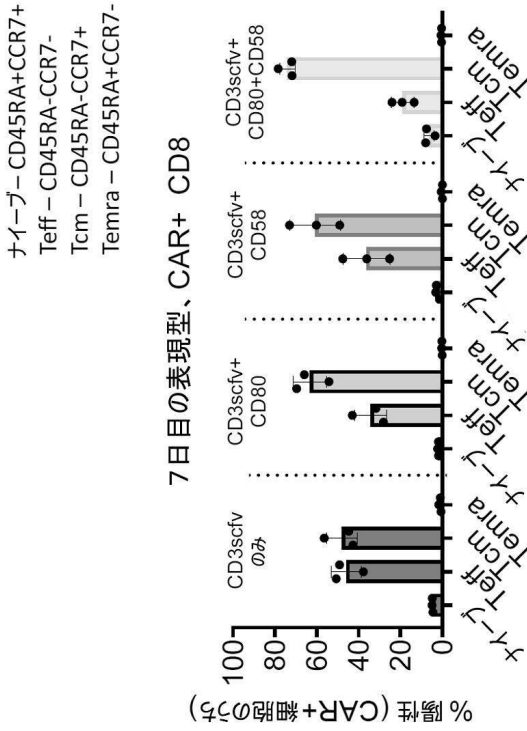


Fig. 3O

【図 4 A】

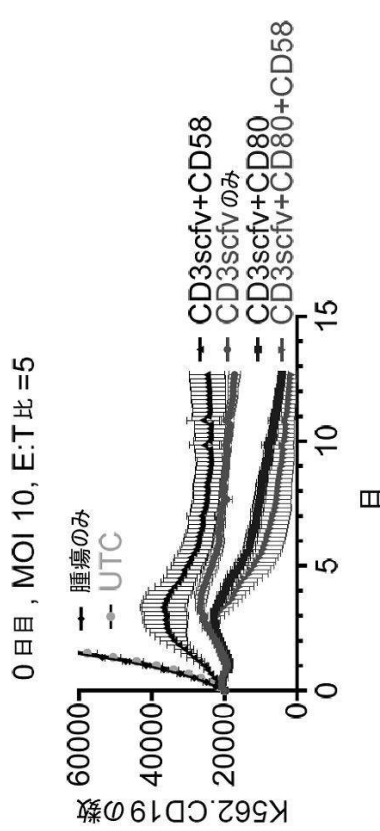


Fig. 4A

【図 4 B】

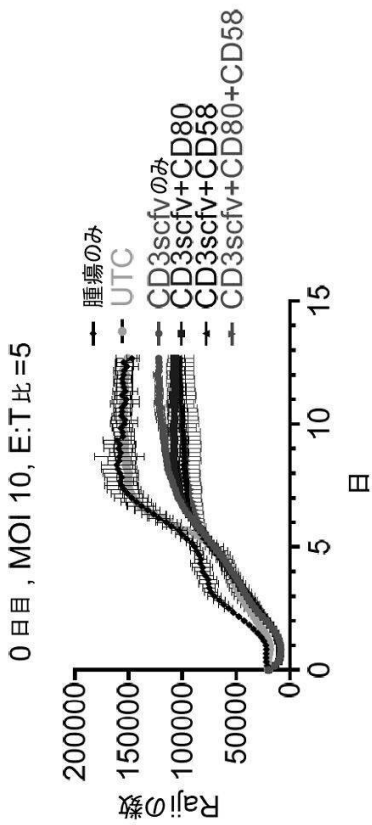


Fig. 4B

【図 4 C】

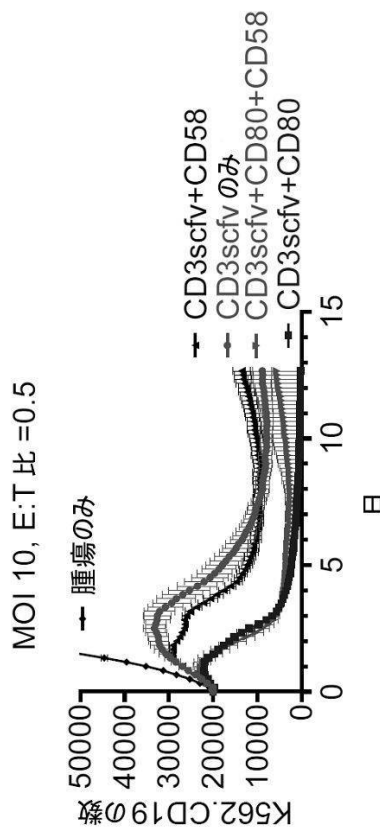


Fig. 4C

10

20

30

40

50

【図 4 D】

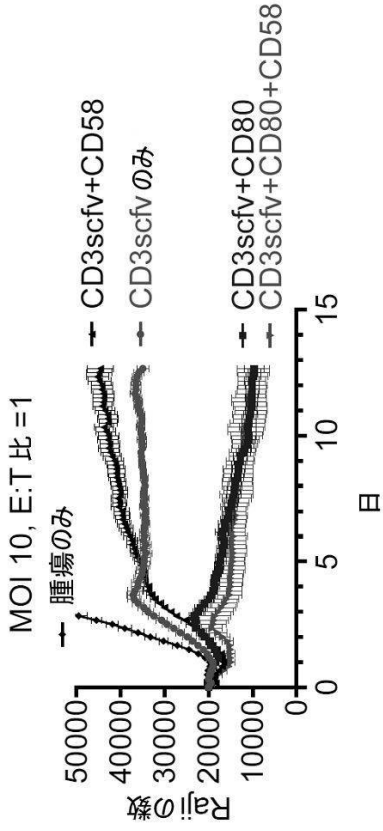


Fig. 4D

【図 4 E】

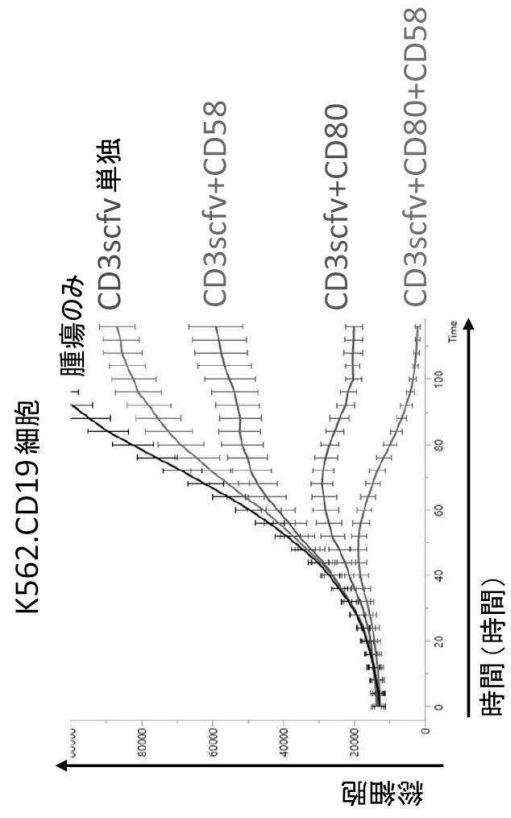


Fig. 4E

【図 4 F】

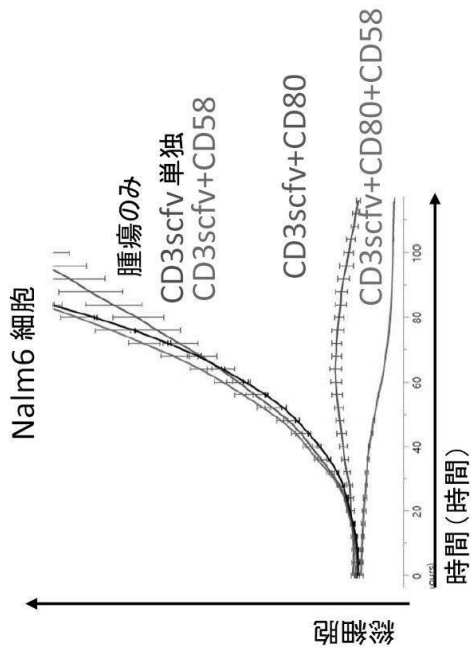


Fig. 4F

【図 5 A】

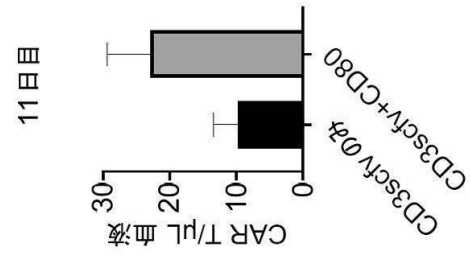


Fig. 5A

10

20

30

40

50

【図 5 B - 5 C】

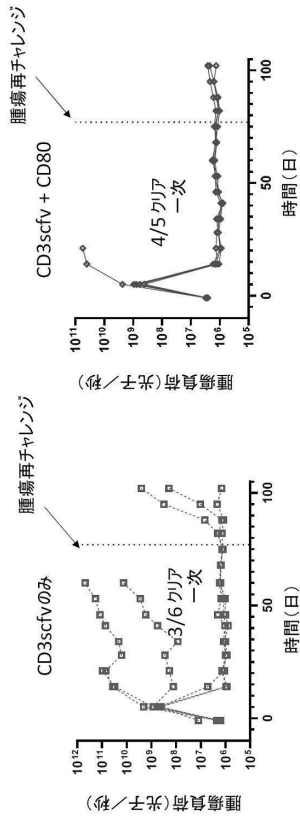


Fig. 5B

Fig. 5C

【図 7 A】

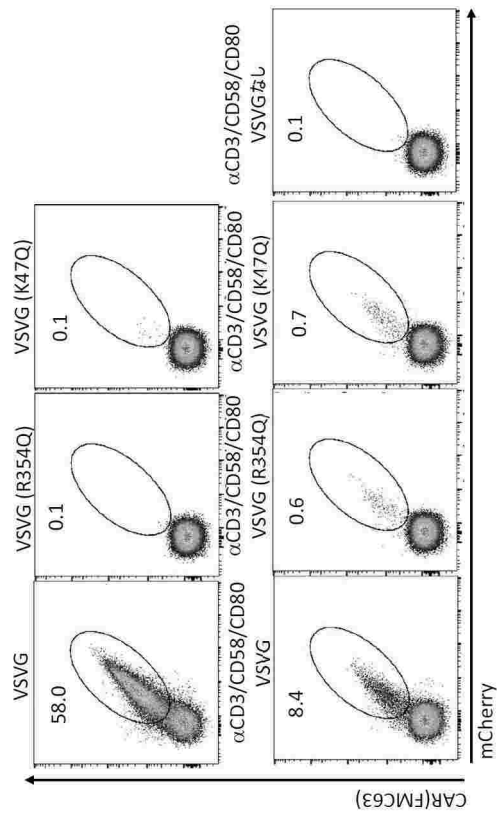


Fig. 7A

【図 6 A - 6 B】

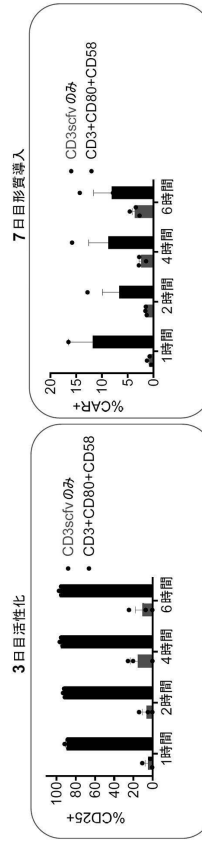


Fig. 6B

Fig. 6A

【図 7 B】

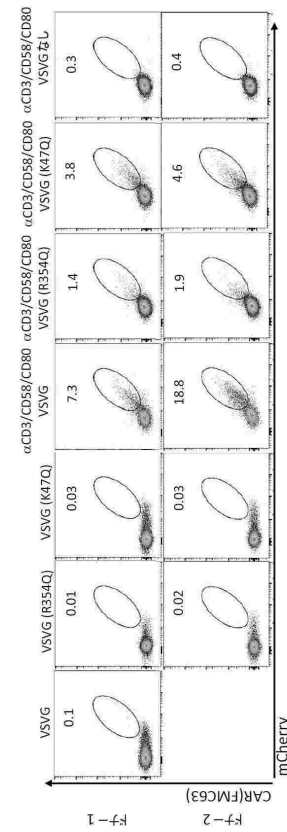


Fig. 7B

10

20

30

40

50

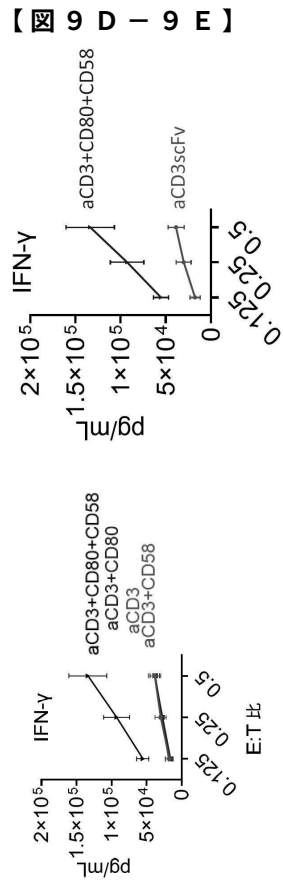


Fig. 9D

Fig. 9E

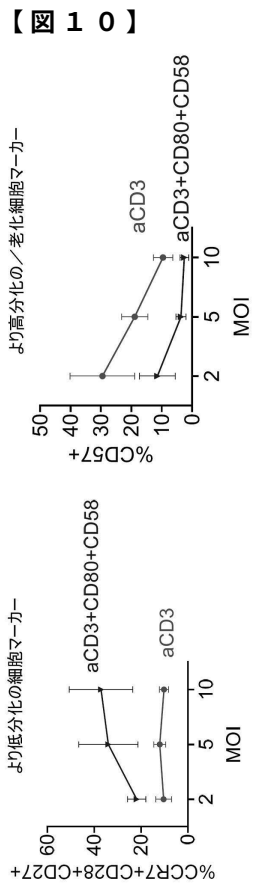
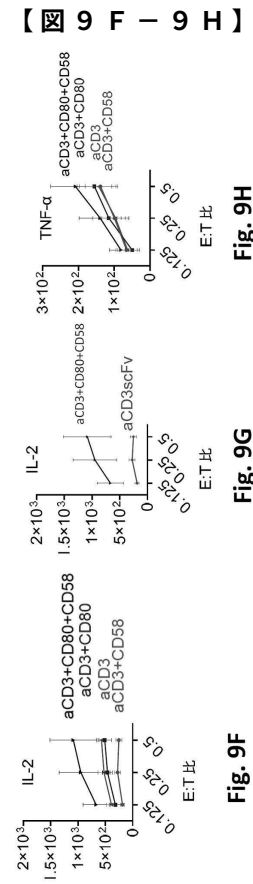


Fig. 10

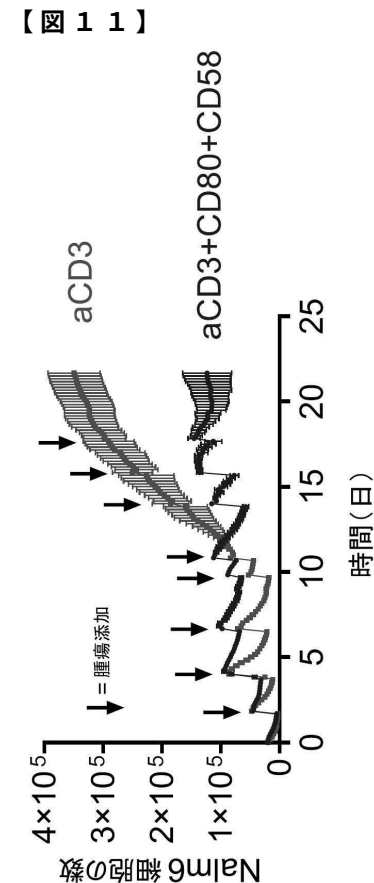
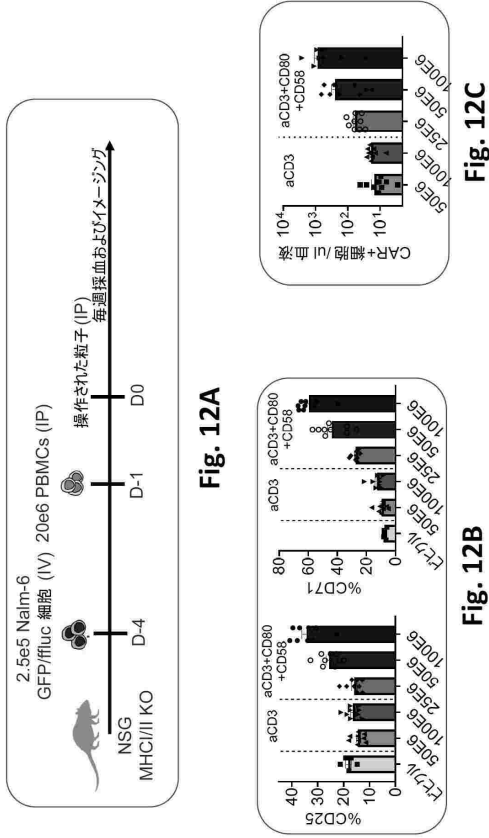
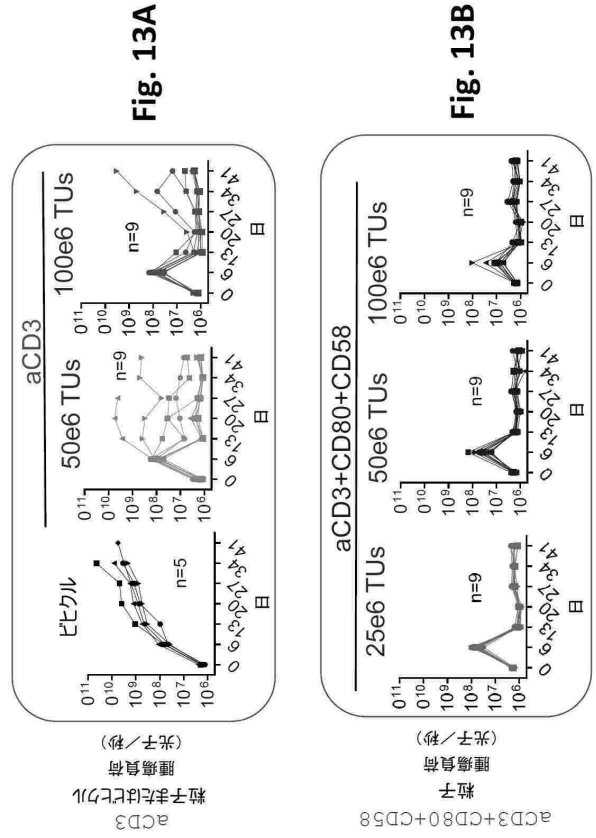


Fig. 11

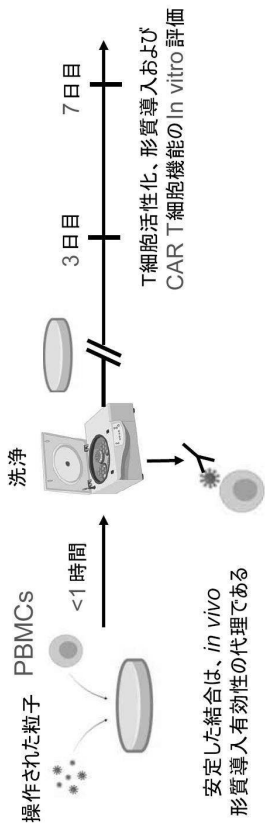
【図 1 2 A - 1 2 C】



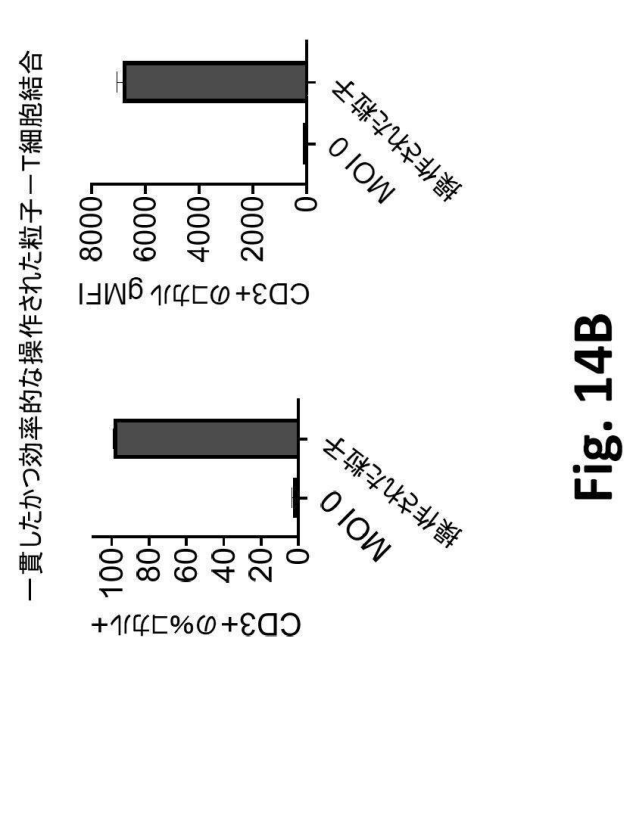
【図 1 3 A - 1 3 B】



【図 1 4 A】



【図 1 4 B】



10

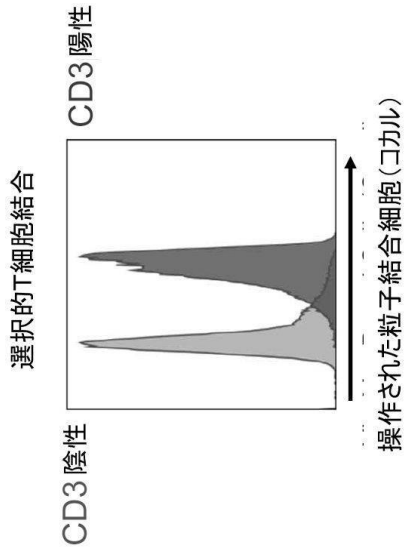
20

30

40

50

【図 1 4 C】



【図 1 4 D】

Fig. 14C

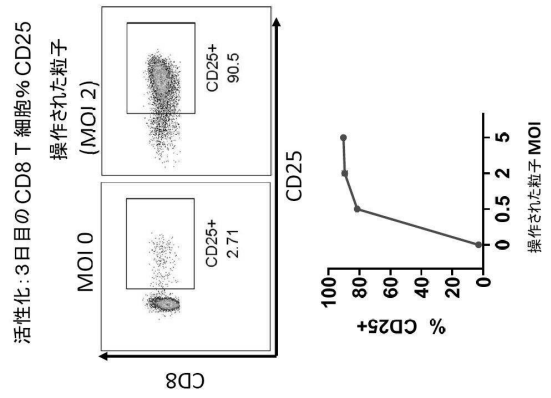


Fig. 14D

【図 1 4 E】

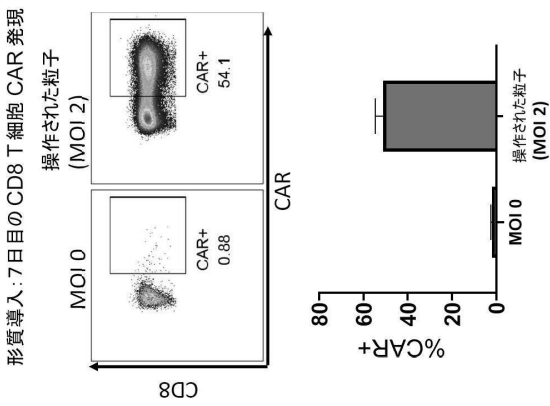


Fig. 14E

【図 1 5】

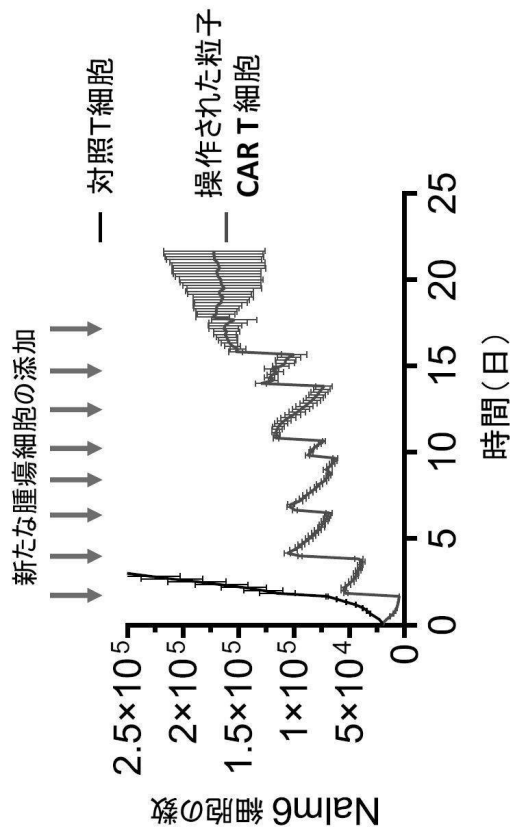


Fig. 15

10

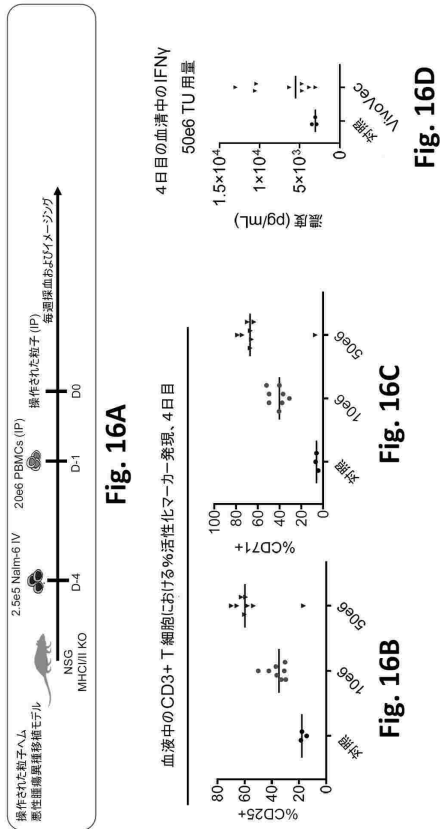
20

30

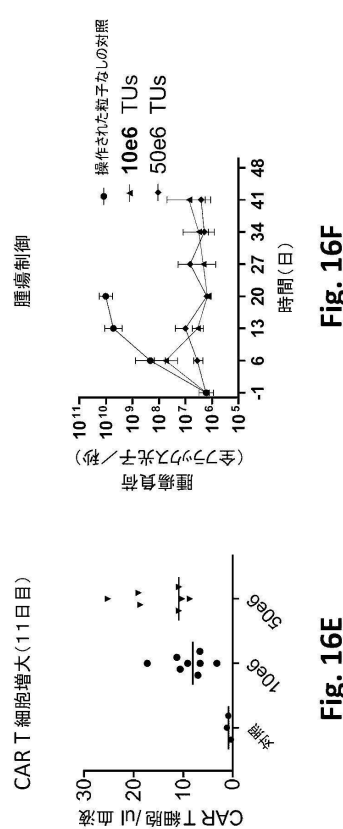
40

50

【図 16 A - 16 D】



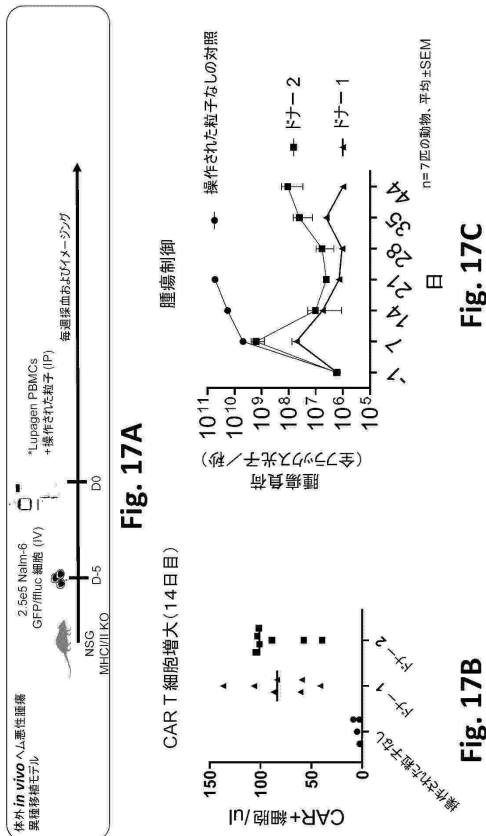
【図 16 E - 16 F】



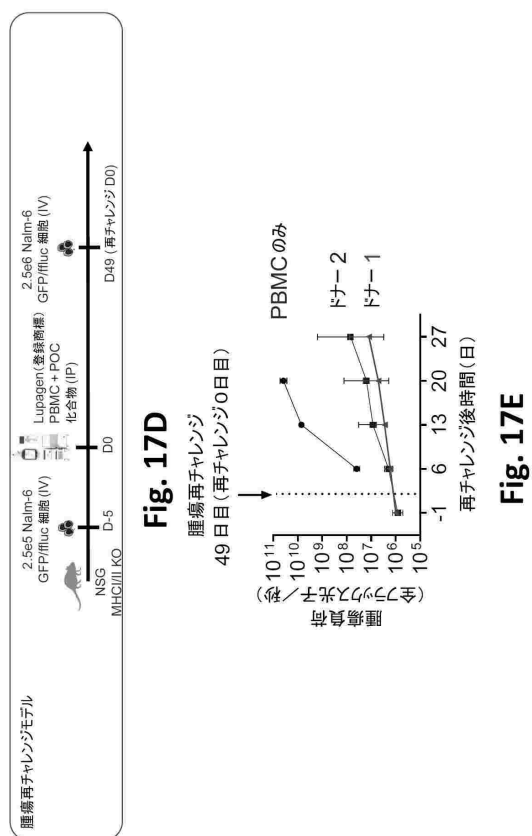
10

20

【図 17 A - 17 C】



【図 17 D - 17 E】



30

40

50

【 図 1 7 F 】



Fig. 17F

498

【 配 列 表 】

2025517138000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 23/68636
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - INV. C12N 7/00, C12N 15/86, A61K 38/17, A61K 48/00 (2023.01) ADD. C07K 14/705, A61P 35/00 (2023.01) CPC - INV. C12N 7/00, C12N 15/86, A61K 38/1774 ADD. C12N 2740/16043, A61K 2039/53, A61P 35/00 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2021/0147871 A1 (UMOJA BIOPHARMA, INC.) 20 May 2021 (20.05.2021) para [0017]; [0046]; [0064]; [0092]; [0093]; [0095]; [0098]; [0139]	1-3, 20-22, 46
Y	US 2018/0221503 A1 (TARVEDA THERAPEUTICS, INC.) 09 August 2018 (09.08.2018) abstract; para [0130]	1-3, 20-22, 46
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 21 July 2023 (21.07.2023)		Date of mailing of the international search report AUG 23 2023
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1460, Alexandria, Virginia 22313-1460 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Kari Rodriguez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/66636

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/AUS 23/66636

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 4-19, 23-45, 47-83
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	C 1 2 N 15/113	Z
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N 15/12	
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	
C 1 2 N 15/33 (2006.01)	C 1 2 N 15/33	
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 15/62	Z
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z
C 1 2 N 15/867 (2006.01)	C 1 2 N 15/867	Z
C 0 7 K 14/155 (2006.01)	C 0 7 K 14/155	
A 6 1 K 35/76 (2015.01)	A 6 1 K 35/76	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5

(32)優先日 令和4年6月10日(2022.6.10)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 63/487,734

(32)優先日 令和5年3月1日(2023.3.1)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(81)指定国・地域 AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,R
U,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,ME,
MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,J
M,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY
,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,S
Y,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ニコライ, クリストファー

アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 0 9, シアトル, イーストレイク アベニュー イー. 1 1
5 0, スイート 4 0 0, ウモジャ バイオフィーマ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 チン, ジム

アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 0 9, シアトル, イーストレイク アベニュー イー. 1 1
5 0, スイート 4 0 0, ウモジャ バイオフィーマ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 レオン, ワーハン

アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 0 9, シアトル, イーストレイク アベニュー イー. 1 1
5 0, スイート 4 0 0, ウモジャ バイオフィーマ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 ラーソン, ライアン

アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 0 9, シアトル, イーストレイク アベニュー イー. 1 1
5 0, スイート 4 0 0, ウモジャ バイオフィーマ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 シェイ, アリッサ

アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 0 9, シアトル, イーストレイク アベニュー イー. 1 1
5 0, スイート 4 0 0, ウモジャ バイオフィーマ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 リュウ, ビョン

アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 0 9, シアトル, イーストレイク アベニュー イー. 1 1
5 0, スイート 4 0 0, ウモジャ バイオフィーマ, インコーポレイテッド 気付

F ターム (参考) 4B065 AA94X AA97X AB01 AC14 BA01 BA02 BC01 CA24 CA44

4C084 AA13 MA66 NA14 ZB211 ZB212 ZB261 ZB262 ZB271 ZB272

4C087 AA01 AA02 BC83 CA12 MA66 NA14 ZB21 ZB26 ZB27

F ターム (参考) 4H045 AA10 AA30 BA09 BA41 CA01 CA40 CA41 DA50 DA76 EA20
FA74