

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和6年10月16日(2024.10.16)

【公開番号】特開2024-23232(P2024-23232A)

【公開日】令和6年2月21日(2024.2.21)

【年通号数】公開公報(特許)2024-033

【出願番号】特願2023-189072(P2023-189072)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/62(2006.01)

10

C 1 2 N 15/13(2006.01)

C 1 2 N 15/12(2006.01)

C 1 2 N 15/24(2006.01)

C 1 2 N 15/867(2006.01)

C 1 2 N 15/63(2006.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

A 6 1 P 37/04(2006.01)

A 6 1 P 35/00(2006.01)

A 6 1 K 35/12(2015.01)

A 6 1 K 35/17(2015.01)

20

A 6 1 P 15/00(2006.01)

C 1 2 N 5/0783(2010.01)

C 0 7 K 19/00(2006.01)

C 0 7 K 14/725(2006.01)

C 0 7 K 16/32(2006.01)

C 0 7 K 14/71(2006.01)

C 0 7 K 14/54(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/62 Z Z N A

C 1 2 N 15/13

30

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 15/24

C 1 2 N 15/867 Z

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 5/10

A 6 1 P 37/04

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 35/12

A 6 1 K 35/17

A 6 1 P 15/00

40

C 1 2 N 5/0783

C 0 7 K 19/00

C 0 7 K 14/725

C 0 7 K 16/32

C 0 7 K 14/71

C 0 7 K 14/54

【手続補正書】

【提出日】令和6年10月7日(2024.10.7)

【手続補正1】

50

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

キメラ抗原受容体 (CAR) をコードする核酸であって、CAR が：

(a) (i) 配列番号 5 と少なくとも 90% の同一性を有する第 1 のポリペプチド；および (ii) 配列番号 6 と少なくとも 90% の同一性を有する第 2 のポリペプチド；を含む MUC16 抗原結合性ドメイン；

10

(b) 膜貫通ドメイン；および

(c) 細胞内シグナル伝達ドメイン

を含む、核酸。

【請求項 2】

MUC16 抗原結合性ドメインが：(i) 配列番号 5 と少なくとも 95% の同一性を有する第 1 のポリペプチド；および (ii) 配列番号 6 と少なくとも 95% の同一性を有する第 2 のポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 3】

MUC16 抗原結合性ドメインが：(i) 配列番号 5 と少なくとも 98% の同一性を有する第 1 のポリペプチド；および (ii) 配列番号 6 と少なくとも 98% の同一性を有する第 2 のポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の核酸。

20

【請求項 4】

MUC16 抗原結合性ドメインが：(i) 配列番号 5 と少なくとも 99% の同一性を有する第 1 のポリペプチド；および (ii) 配列番号 6 と少なくとも 99% の同一性を有する第 2 のポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 5】

MUC16 抗原結合性ドメインが：(i) 配列番号 5 の配列を有する第 1 のポリペプチド；および (ii) 配列番号 6 の配列を有する第 2 のポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 6】

MUC16 抗原結合性ドメインが、配列番号 8 と少なくとも 90% の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の核酸。

30

【請求項 7】

MUC16 抗原結合性ドメインが、配列番号 8 と少なくとも 95% の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 8】

MUC16 抗原結合性ドメインが、配列番号 8 と少なくとも 98% の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 9】

MUC16 抗原結合性ドメインが、配列番号 8 と少なくとも 99% の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の核酸。

40

【請求項 10】

MUC16 抗原結合性ドメインが、配列番号 8 の配列を含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 11】

CAR が、ストロクドメインをさらに含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 12】

ストロクドメインが、配列番号 16 と少なくとも 90% の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 11 に記載の核酸。

【請求項 13】

細胞内シグナル伝達ドメインが、CD3 ゼータシグナル伝達ドメインを含む、請求項 1 に

50

記載の核酸。

【請求項 14】

C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインが、配列番号 26 と少なくとも 90% の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 13 に記載の核酸。

【請求項 15】

細胞内シグナル伝達ドメインが、4 - 1 B B 共刺激シグナル伝達ドメインまたは C D 2 8 共刺激シグナル伝達ドメインを含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 16】

細胞内シグナル伝達ドメインが、4 - 1 B B 共刺激シグナル伝達ドメインを含む、請求項 1 に記載の核酸。

10

【請求項 17】

4 - 1 B B 共刺激シグナル伝達ドメインが、配列番号 22 と少なくとも 90% の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 15 に記載の核酸。

【請求項 18】

膜貫通ドメインが、配列番号 20 と少なくとも 90% の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 19】

(a) M U C 1 6 抗原結合性ドメインが：(i) 配列番号 5 と少なくとも 95% の同一性を有する第 1 のポリペプチド；および (ii) 配列番号 6 と少なくとも 95% の同一性を有する第 2 のポリペプチドを含み；

20

(b) 膜貫通ドメインが、配列番号 20 と少なくとも 95% の同一性を有するポリペプチドを含み；および

(c) 細胞内シグナル伝達ドメインが、配列番号 22 と少なくとも 95% の同一性を有するポリペプチドおよび配列番号 26 と少なくとも 95% の同一性を有するポリペプチドを含み、

C A R が、配列番号 16 と少なくとも 95% の同一性を有するポリペプチドを含むストロークドメインをさらに含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 20】

(a) M U C 1 6 抗原結合性ドメインが：(i) 配列番号 5 と少なくとも 98% の同一性を有する第 1 のポリペプチド；および (ii) 配列番号 6 と少なくとも 98% の同一性を有する第 2 のポリペプチドを含み；

30

(b) 膜貫通ドメインが、配列番号 20 と少なくとも 98% の同一性を有するポリペプチドを含み；および

(c) 細胞内シグナル伝達ドメインが、配列番号 22 と少なくとも 98% の同一性を有するポリペプチドおよび配列番号 26 と少なくとも 98% の同一性を有するポリペプチドを含み、

C A R が、配列番号 16 と少なくとも 98% の同一性を有するポリペプチドを含むストロークドメインをさらに含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 21】

(a) M U C 1 6 抗原結合性ドメインが：(i) 配列番号 5 の配列を有する第 1 のポリペプチド；および (ii) 配列番号 6 の配列を有する第 2 のポリペプチドを含み；

40

(b) 膜貫通ドメインが、配列番号 20 の配列を有するポリペプチドを含み；および

(c) 細胞内シグナル伝達ドメインが、配列番号 22 の配列を有するポリペプチドおよび配列番号 26 の配列を有するポリペプチドを含み、

C A R が、配列番号 16 の配列を有するポリペプチドを含むストロークドメインをさらに含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 22】

C A R が、配列番号 31 と少なくとも 90% の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 23】

50

C A R が、配列番号 3 1 と少なくとも 9 5 % の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 2 4】

C A R が、配列番号 3 1 と少なくとも 9 8 % の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 2 5】

C A R が、配列番号 3 1 の配列を有するポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 2 6】

細胞タグをさらにコードする、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 2 7】

細胞タグが、トランケート型上皮増殖因子受容体を含む、請求項 2 6 に記載の核酸。

【請求項 2 8】

トランケート型上皮増殖因子受容体が、配列番号 6 6 と少なくとも 9 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2 7 に記載の核酸。

【請求項 2 9】

サイトカインをさらにコードする、請求項 1 に記載の核酸。

【請求項 3 0】

サイトカインが、膜結合型インターロイキン 1 5 ( I L - 1 5 ) である、請求項 2 9 に記載の核酸。

【請求項 3 1】

膜結合型 I L - 1 5 が、配列番号 6 9 と少なくとも 9 0 % の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 3 0 に記載の核酸。

【請求項 3 2】

請求項 1 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の核酸を含む、ベクター。

【請求項 3 3】

ベクターが、レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、または非ウイルスベクターである、請求項 3 2 に記載のベクター。

【請求項 3 4】

ベクターが、S l e e p i n g B e a u t y トランスポゾン DNA プラスミドである骨格を含む、請求項 3 2 に記載のベクター。

【請求項 3 5】

プロモーターをさらに含む、請求項 3 2 に記載のベクター。

【請求項 3 6】

プロモーターが h E F 1 a 1 プロモーターである、請求項 3 5 に記載のベクター。

【請求項 3 7】

請求項 1 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の核酸を含む、免疫エフェクター細胞。

【請求項 3 8】

細胞が、T 細胞、ナチュラルキラー ( N K ) 細胞、細胞傷害性 T リンパ球 ( C T L )、または調節性 T 細胞である、請求項 3 7 に記載の免疫エフェクター細胞。

【請求項 3 9】

C A R を含む免疫エフェクター細胞であって、C A R が、  
( a ) ( i ) 配列番号 5 と少なくとも 9 0 % の同一性を有する第 1 のポリペプチド；および ( ii ) 配列番号 6 と少なくとも 9 0 % の同一性を有する第 2 のポリペプチド；を含む M U C 1 6 抗原結合性ドメイン；  
( b ) 膜貫通ドメイン；および  
( c ) 細胞内シグナル伝達ドメイン  
を含む、免疫エフェクター細胞。

【請求項 4 0】

膜結合型 I L - 1 5 をさらに含む、請求項 3 9 に記載の免疫エフェクター細胞。

【請求項 4 1】

10

20

30

40

50

細胞タグをさらに含む、請求項 3 9 に記載の免疫エフェクター細胞。

【請求項 4 2】

免疫エフェクター細胞において C A R を発現する方法であって、免疫エフェクター細胞を請求項 3 2 に記載のベクターと接触させるステップを含む方法。

【請求項 4 3】

免疫エフェクター細胞を S l e e p i n g B e a u t y トランスポザーゼと接触させるステップをさらに含む、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 4】

S l e e p i n g B e a u t y トランスポザーゼが、S B 1 1、S B 1 0 0 X、または S B 1 1 0 である、請求項 4 3 に記載の方法。

10

【請求項 4 5】

請求項 3 7 に記載の免疫エフェクター細胞を含む、患者における卵巣がんまたは乳がんを処置するための医薬組成物であって、1 以上の用量が患者に投与される、医薬組成物。

【請求項 4 6】

卵巣がんを処置するための、請求項 4 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 7】

乳がんを処置するための、請求項 4 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 8】

請求項 3 7 に記載の免疫エフェクター細胞を含む、組成物。

【手続補正 2】

20

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 0 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 0 8】

一部の実施形態では、C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインは、配列番号 2 6 のアミノ酸配列との、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチドを含む。一部の実施形態では、本明細書で提示される単離核酸は、トランケート型上皮増殖因子受容体をさらに含む。一部の実施形態では、トランケート型上皮増殖因子受容体は、H E R 1 t であり、配列番号 6 5 のアミノ酸配列との、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチドを含む。一部の実施形態では、トランケート型上皮増殖因子受容体は、H E R 1 t - 1 であり、配列番号 6 6 のアミノ酸配列との、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチドを含む。

30

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 0】

本明細書では、骨格ならびに ( 1 ) H E R 1 t、H E R 1 t - 1、またはこれらの機能的な変異体のうちの少なくとも 1 つを含むトランケート型上皮増殖因子受容体；( 2 ) サイトカイン；および ( 3 ) キメラ抗原受容体 ( C A R ) をコードする核酸配列を含むベクターであって、C A R が ( a ) M U C 1 6 抗原結合性ドメイン；( b ) ストックドメイン；( c ) 膜貫通ドメイン；( d ) 4 - 1 B B もしくは C D 2 8、または両方を含む共刺激シグナル伝達ドメイン；および ( e ) C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインを含む、ベクターが提示される。

40

【手続補正 4】

50

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0011

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0011】

一部の実施形態では、サイトカインは、IL-15またはIL-12である。一部の実施形態では、ベクターは、レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、または非ウイルスベクターである。一部の実施形態では、トランケート型上皮増殖因子受容体は、配列番号65または配列番号66のアミノ酸配列との、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するポリペプチドを含む。一部の実施形態では、IL-15は、膜結合IL-15である。一部の実施形態では、膜結合IL-15は、配列番号161をコードするヌクレオチド配列を含む。

10

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0018

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0018】

本明細書では、それを必要とするヒト対象において標的細胞集団または組織にT細胞媒介性免疫応答を刺激するための方法であって、CARを発現するように遺伝子改変された有効量の細胞をヒト対象に投与するステップを含み、CARが(a)MUC16抗原結合性ドメイン；(b)ストロクドメイン；(c)膜貫通ドメイン；(d)4-1BBもしくはCD28、または両方を含む共刺激シグナル伝達ドメイン；(e)CD3ゼータシグナル伝達ドメイン；および(f)トランケート型上皮増殖因子受容体(HER1t)を含む、方法が提示される。一部の実施形態では、ヒトは、卵巣がんおよび乳がんのうちの少なくとも1つを伴うと診断されている。一部の実施形態では、卵巣がんまたは乳がんは、再発性または不応性の卵巣がんまたは乳がんである。

20

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0077

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0077】

複数の実施形態では、本明細書では、キメラ抗原受容体(CAR)をコードする単離核酸であって、CARが、(a)MUC16抗原結合性ドメイン；(b)ストロクドメイン；(c)膜貫通ドメイン；(d)4-1BBもしくはCD28、または両方を含む共刺激シグナル伝達ドメイン；(e)CD3ゼータシグナル伝達ドメイン；および任意選択で、(f)トランケート型ヒト上皮増殖因子受容体(HER1tまたはHER1t1)を含む、単離核酸が提示される。

40

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0137

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0137】

ある特定の実施形態では、第2の遺伝子は、上皮増殖因子受容体(HER1)またはこの断片もしくは変異体である、HER1タグである。複数の実施形態では、第2の遺伝子は、トランケート型ヒト上皮増殖因子受容体1(例えば、HER1tまたはHER1t1)である、HER1タグである。場合によって、第2の遺伝子は、ヒトトランケート型ヒ

50

ト上皮増殖因子受容体 1 の変異体である。複数の実施形態では、HER1、HER1t、およびHER1t1のうち少なくとも1つは、FDAにより承認されているセツキシマブ、またはHER1、HER1t、および/もしくはHER1t1を認識する任意の抗体の投与を介して、輸注されたCAR-T細胞の枯渇を可能にすることにより、安全性機構をもたらす。複数の実施形態では、HER1t遺伝子は、配列番号65の核酸配列との、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する、ヌクレオチド配列を含む。複数の実施形態では、HER1t1遺伝子は、配列番号66の核酸配列との、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有する、ヌクレオチド配列を含む。トランケート型HER1配列、例えば、HER1tおよびHER1t1は、セツキシマブの、受容体への結合を無傷に保ちながら、EGFリガンドへの結合、EGFRのホモ二量体化およびヘテロ二量体化、ならびにEGFR媒介性シグナル伝達の潜在的可能性を消失させる (Ferguson, K., 2008. A structure-based view of Epidermal Growth Factor Receptor regulation. Annu Rev Biophys, Volume 37, pp. 353-373)。

10

## 【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0216

【補正方法】変更

【補正の内容】

20

【0216】

複数の実施形態では、骨格ならびにキメラ抗原受容体 (CAR) をコードする核酸配列を含むレンチウイルスベクターであって、CARが、(a) MUC16抗原結合性ドメイン; (b) ストックドメイン; (c) 膜貫通ドメイン; (d) 4-1BBもしくはCD28、または両方を含む共刺激シグナル伝達ドメイン; (e) CD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む、レンチウイルスベクターが提示される。任意選択で、ベクターは、トランケート型上皮増殖因子受容体 (HER1tまたはHER1t)、CD20t-1または全長CD20をコードする核酸をさらに含む。

## 【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0217

【補正方法】変更

【補正の内容】

30

【0217】

場合によって、骨格ならびに(1)トランケート型上皮増殖因子受容体、例えば、HER1tまたはHER1t-1またはこれらの機能的な変異体; および(2)キメラ抗原受容体 (CAR) をコードする核酸配列を含むベクターであって、CARが、(a) MUC16抗原結合性ドメイン; (b) ストックドメイン; (c) 膜貫通ドメイン; (d) 4-1BBもしくはCD28、または両方を含む共刺激シグナル伝達ドメイン; および(e) CD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む、ベクターが提示される。

40

## 【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0219

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0219】

複数の実施形態では、MUC16特異的CARをコードする核酸が、レンチウイルスの骨格構成成分を含むベクターへとクローニングされる。例示的な骨格構成成分は、pFUGW、およびpSMPUWを含むがこれらに限定されない。pFUGWレンチウイルスベクター骨格は自己不活性化 (SIN) レンチウイルスベクター骨格であり、不必要なHIV

50

- 1 ウイルス配列が除去され、腫瘍の発生、有害な変異、および感染性粒子の再生のための潜在的可能性の低下を結果としてもたらず。複数の実施形態では、MUC16 CAR をコードするベクターはまた、単一の構築物内のmbIL-15もコードする。複数の実施形態では、MUC16 CARおよびmbIL-15は、2つの別個のレンチウイルスベクター上にコードされる。一部の実施形態では、mbIL-15は、トランケート型上皮増殖因子受容体タグと共に発現される。複数の実施形態では、MUC16 CARは、単一のレンチウイルスベクター由来のmbIL-15および細胞タグと共に共発現される。さらなる実施形態では、MUC16 CARは、誘導性プロモーターの制御下にある。別の実施形態では、mbIL-15は、誘導性プロモーターの制御下にある。一態様では、誘導性プロモーターは、遺伝子スイッチリガンド誘導性プロモーターでありうる。場合によって、誘導性プロモーターは、RHEOSWITCH（登録商標）遺伝子スイッチなど、低分子リガンド誘導性の、2つのポリペプチドによる、エクジソン受容体ベースの遺伝子スイッチでありうる。

10

【手続補正11】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0220

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0220】

一実施形態では、本明細書に記載される、MUC16 CARは、抗MUC16 scFv、ヒトCD8ヒンジおよび膜貫通ドメイン、ならびにヒト4-1BBおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む。別の実施形態では、本発明のMUC16 CARは、抗MUC16 scFv、ヒトCD8ヒンジおよび膜貫通ドメイン、ヒト4-1BBおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメインおよび、任意選択で、トランケート型上皮増殖因子受容体（HER1tまたはHER1t-1）タグを含む。他の適切なベクターは、組み込み用発現ベクターを含み、これは宿主細胞のDNAへと、ランダムに組み込まれる場合もあり、発現ベクターと、宿主細胞の染色体との特異的組換えを可能とする組換え部位を含む場合もある。このような組み込み用発現ベクターは、宿主細胞の染色体の内因性発現制御配列を用いて、所望のタンパク質の発現をもたらす。部位特異的に組み込むベクターの例は、例えば、Invitrogen（Carlsbad, Calif.）（例えば、pcDNA（商標）5/FRT）製のflp-in系、またはStratagene（La Jolla, Calif.）製のpExchange-6 Core Vectorsにおいて見出されるcre-lox系などのcre-lox系の構成要素を含む。宿主細胞染色体へとランダムに組み込まれるベクターの例は、例えば、Invitrogen（Carlsbad, Calif.）製のpcDNA3.1（T抗原の非存在下で導入される場合）、およびPromega（Madison, Wis.）製のpCIまたはpFN10A（ACT）FLEXI（商標）を含む。さらなるプロモーターエレメント、例えば、エンハンサーは、転写開始の頻度を調節する。典型的に、プロモーターエレメントは、開始部位の30~110bp上流の領域内に位置するが、多数のプロモーターは、開始部位の下流にも、機能的なエレメントを含有することが近年示されている。エレメントが、互いに対して逆位であるか、または移動している場合にも、プロモーター機能が保存されるように、プロモーターエレメントの間のスペーシングは、柔軟であることが多い。チミンキナーゼ（tk）プロモーターでは、活性が減衰し始める前に、プロモーターエレメントの間のスペーシングが、50bpの距離まで増大する場合がある。個別のエレメントは、転写を活性化させるように、プロモーターに応じて、共作動的に機能する場合もあり、独立に機能する場合もあると考えられる。

20

30

40

【手続補正12】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0224

【補正方法】変更

50

## 【補正の内容】

## 【0224】

本明細書に記載されるCARまたはこの部分の発現を評価するために、細胞へと導入される発現ベクターはまた、ウイルスベクターまたは非ウイルスベクターを介してトランスフェクトまたは感染させることが求められる細胞集団からの、発現細胞の同定および選択を容易とする、選択用マーカー遺伝子もしくはレポーター遺伝子またはこれらの両方も含有しうる。他の態様では、選択用マーカーは、別個のDNA片上に保有され、共トランスフェクション手順で使用される場合もある。選択用マーカーおよびレポーター遺伝子のいずれも、宿主細胞内の発現を可能とするように、適切な調節配列で挟むことができる。有用な選択用マーカーは、例えば、ネオマイシン耐性遺伝子（neo）およびアンピシリン耐性遺伝子などの抗生剤耐性遺伝子を含む。一部の実施形態では、トランケート型上皮増殖因子受容体（HER1tまたはHER1t-1）タグを、選択用マーカー遺伝子として使用することができる。

10

## 【手続補正13】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0233

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0233】

MUC16 CARおよびベクターを含む細胞

20

本明細書では、本明細書に記載されるCARを発現する操作細胞が提示される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載される操作細胞は、免疫エフェクター細胞である。複数の実施形態では、本明細書では、骨格ならびに（1）トランケート型上皮増殖因子受容体（HER1tまたはHER1t1）および（2）キメラ抗原受容体（CAR）をコードする核酸配列を含むベクターを含む免疫エフェクター細胞であって、CARが（a）MUC16抗原結合性ドメイン；（b）ストークドメイン；（c）膜貫通ドメイン；（d）4-1BBもしくはCD28、または両方を含む共刺激シグナル伝達ドメイン；および（e）CD3ゼータシグナル伝達ドメインを含む、免疫エフェクター細胞が提示される。

## 【手続補正14】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0234

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0234】

ある特定の実施形態では、キメラ抗原受容体（CAR）を含む免疫エフェクター細胞であって、CARが（a）MUC16抗原結合性ドメイン；（b）ストークドメイン；（c）膜貫通ドメイン；（d）4-1BBもしくはCD28、または両方を含む共刺激シグナル伝達ドメイン；（e）CD3ゼータシグナル伝達ドメイン；および（f）トランケート型上皮増殖因子受容体（HER1tまたはHER1t1）を含む、免疫エフェクター細胞が提示される。

40

## 【手続補正15】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0282

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0282】

対象に対する副作用が観察されるか、または処置が必要とされない、ある特定の場合には、例えば、セツキシマブを介して、in vivoにおける、改変免疫エフェクター細胞の、条件付けアブレーションのために、本明細書に記載されるトランケート型上皮増殖因子受容体タグなどの細胞タグを含む細胞タグを活性化させることができる。

50

【手続補正 16】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0385

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0385】

本明細書では、本開示の好ましい実施形態を示し、それらについて記載してきたが、当業者には、このような実施形態が、例だけを目的として提示されていることが明らかであろう。今や、本開示から逸脱しない限りにおいて、当業者は、多数の変更、変化、および代用に想到するであろう。本明細書で記載される実施形態、またはこれらの実施形態、もしくはその中で記載される態様のうちの1または複数の組合せに対する、多様な代替物を、本開示の実施において利用しうることを理解されたい。以下の特許請求の範囲は、本開示の範囲を規定するものであり、これらの特許請求の範囲の範囲内にある方法および構造、ならびにそれらの均等物は、その対象となることが意図される。

10

本発明は、以下の態様を含み得る。

[ 1 ]

キメラ抗原受容体 (CAR) をコードする単離核酸であって、前記 CAR が、

( a ) MUC16 抗原結合性ドメイン；

( b ) ストードメイン；

( c ) 膜貫通ドメイン；

( d ) 4 - 1BB もしくは CD28、または両方を含む共刺激シグナル伝達ドメイン；

および、

( e ) CD3ゼータシグナル伝達ドメイン

を含む、単離核酸。

20

[ 2 ]

前記 MUC16 抗原結合性ドメインが、

( a ) 配列番号 1、3、5、7、9、12、および 14 に示されるアミノ酸配列のうち  
の少なくとも1つとの、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、  
96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するポリペプチド；

( b ) 配列番号 2、4、6、8、10、11、13、および 15 に示されるアミノ酸配  
列のうち  
の少なくとも1つとの、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、  
95%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するポリペプチ  
ド；および

30

( c ) 配列番号 27 ~ 57 に示されるアミノ酸配列のうち  
の少なくとも1つとの、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、9  
9%、または100%の同一性を有するポリペプチド

のうち  
の少なくとも1つを含む、請求項 1 に記載の単離核酸。

[ 3 ]

前記 MUC16 抗原結合性ドメインが、配列番号 27 ~ 57 に示されるアミノ酸配列の  
うち  
の少なくとも1つとの、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95  
%、96%、97%、98%、99%、または100%の同一性を有するポリペプチドで  
ある、請求項 1 または 2 に記載の単離核酸。

40

[ 4 ]

前記 ストードメインが、配列番号 16 のアミノ酸配列との、少なくとも90%、91  
%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100  
%の同一性を有するポリペプチドである、請求項 1 または 2 に記載の単離核酸。

[ 5 ]

前記 共刺激シグナル伝達ドメインが 4 - 1BB を含む、請求項 1 から 4 のいずれか一項  
に記載の単離核酸。

[ 6 ]

50

前記 4 - 1 B B の共刺激シグナル伝達ドメインが、配列番号 2 2 のアミノ酸配列との、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 5 に記載の単離核酸。

[ 7 ]

前記共刺激シグナル伝達ドメインが C D 2 8 を含む、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の単離核酸。

[ 8 ]

前記 C D 2 8 の共刺激シグナル伝達ドメインが、配列番号 2 3 のアミノ酸配列との、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 7 に記載の単離核酸。

10

[ 9 ]

前記 C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインが、配列番号 2 6 のアミノ酸配列との、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の単離核酸。

[ 1 0 ]

トランケート型上皮増殖因子受容体をさらに含む、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の単離核酸。

20

[ 1 1 ]

前記トランケート型上皮増殖因子受容体が、H E R 1 t であり、配列番号 6 5 のアミノ酸配列との、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 1 0 に記載の単離核酸。

[ 1 2 ]

前記トランケート型上皮増殖因子受容体が、H E R 1 t - 1 であり、配列番号 6 6 のアミノ酸配列との、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 1 0 に記載の単離核酸。

30

[ 1 3 ]

前記 C A R が、配列番号 2 7 ~ 5 7 に示されるアミノ酸配列との、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 1 に記載の単離核酸。

[ 1 4 ]

骨格ならびに

( 1 ) H E R 1 t、H E R 1 t - 1、またはこれらの機能的な変異体のうちの少なくとも 1 つを含むトランケート型上皮増殖因子受容体；

( 2 ) サイトカイン；および

( 3 ) キメラ抗原受容体 ( C A R )

40

をコードする核酸配列を含むベクターであって、前記 C A R が、

( a ) M U C 1 6 抗原結合性ドメイン；

( b ) ストックドメイン；

( c ) 膜貫通ドメイン；

( d ) 4 - 1 B B もしくは C D 2 8、または両方を含む共刺激シグナル伝達ドメイン；および

( e ) C D 3 ゼータシグナル伝達ドメイン

を含む、ベクター。

[ 1 5 ]

前記サイトカインが、I L - 1 5 または I L - 1 2 である、請求項 1 4 に記載のベクター

50

ニ。

[ 1 6 ]

レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、または非ウイルスベクターである、請求項 1 4 または 1 5 に記載のベクター。

[ 1 7 ]

前記トランケート型上皮増殖因子受容体が、配列番号 6 5 または配列番号 6 6 のアミノ酸配列との、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 1 4 に記載のベクター。

[ 1 8 ]

前記 I L - 1 5 が、膜結合 I L - 1 5 である、請求項 1 5 に記載のベクター。

[ 1 9 ]

膜結合 I L - 1 5 が、配列番号 1 6 1 をコードするヌクレオチド配列を含む、請求項 1 8 に記載のベクター。

[ 2 0 ]

自己切断型トセア・アシグナ (*Thosea asigna*) ウイルス ( T 2 A ) ペプチドをコードするヌクレオチド配列をさらに含む、請求項 1 4 から 1 9 のいずれか一項に記載のベクター。

[ 2 1 ]

前記骨格が、Sleeping Beauty トランスポゾン DNA プラスミドまたは p F U G W である、請求項 1 4 から 2 0 のいずれか一項に記載のベクター。

[ 2 2 ]

プロモーターをさらに含む、請求項 1 4 から 2 1 のいずれか一項に記載のベクター。

[ 2 3 ]

前記プロモーターが、h E F 1 a 1 である、請求項 2 2 に記載のベクター。

[ 2 4 ]

前記 M U C 1 6 抗原結合性ドメインが、  
 ( a ) 配列番号 1、3、5、7、9、1 2、および 1 4 に示されるアミノ酸配列のうち少なくとも 1 つとの、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチド；  
 ( b ) 配列番号 2、4、6、8、1 0、1 1、1 3、および 1 5 に示されるアミノ酸配列のうち少なくとも 1 つとの、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチド；および  
 ( c ) 配列番号 2 7 ~ 5 7 に示されるアミノ酸配列のうち少なくとも 1 つとの、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチド  
 のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 1 4 から 2 3 のいずれか一項に記載のベクター。

[ 2 5 ]

前記 M U C 1 6 抗原結合性ドメインが、配列番号 2 7 ~ 5 7 に示されるアミノ酸配列のうち少なくとも 1 つとの、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチドである、請求項 1 4 から 2 4 のいずれか一項に記載のベクター。

[ 2 6 ]

前記ストークドメインが、配列番号 1 6 のアミノ酸配列との、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有するポリペプチドを含む、請求項 1 4 から 2 5 のいずれか一項に記載のベクター。

[ 2 7 ]

前記共刺激シグナル伝達ドメインが、4 - 1 B B を含む、請求項 1 4 から 2 6 のいずれ

10

20

30

40

50

か一項に記載のベクター。

[ 2 8 ]

前記 4 - 1 B B の共刺激シグナル伝達ドメインが、配列番号 2 2 のアミノ酸配列との、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有する核酸配列を含む、請求項 2 7 に記載のベクター。

[ 2 9 ]

前記共刺激シグナル伝達ドメインが、C D 2 8 を含む、請求項 1 4 から 2 6 のいずれか一項に記載のベクター。

[ 3 0 ]

前記 C D 2 8 の共刺激シグナル伝達ドメインが、配列番号 2 3 のアミノ酸配列との、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有する核酸配列を含む、請求項 2 9 に記載のベクター。

[ 3 1 ]

前記 C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインが、配列番号 2 6 のアミノ酸配列との、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、または 1 0 0 % の同一性を有する核酸配列を含む、請求項 1 4 から 3 0 のいずれか一項に記載のベクター。

[ 3 2 ]

プラスミドを含む、請求項 1 4 から 3 1 のいずれか一項に記載のベクター。

[ 3 3 ]

各前記ベクターが発現プラスミドを含む、請求項 1 4 から 3 1 に記載のベクター。

[ 3 4 ]

前記非ウイルスベクターが、S l e e p i n g B e a u t y トランスポゾンである、請求項 1 6 に記載のベクター。

[ 3 5 ]

請求項 1 から 1 3 のいずれか一項に記載のヌクレオチドを含む、免疫エフェクター細胞。

[ 3 6 ]

( 1 ) 細胞タグ ( 2 ) I L - 1 5 および ( 3 ) キメラ抗原受容体 ( C A R ) を含む免疫エフェクター細胞であって、前記 C A R が、( a ) M U C 1 6 抗原結合性ドメイン；( b ) ストックドメイン；( c ) 膜貫通ドメイン；( d ) 4 - 1 B B もしくは C D 2 8、または両方を含む共刺激シグナル伝達ドメイン；および ( e ) C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインを含む、免疫エフェクター細胞。

[ 3 7 ]

前記 I L - 1 5 が、膜結合 I L - 1 5 である、請求項 3 6 に記載の免疫エフェクター細胞。

[ 3 8 ]

前記膜結合 I L - 1 5 が、配列番号 1 6 1 のポリペプチド配列を含む、請求項 3 6 に記載の免疫エフェクター細胞。

[ 3 9 ]

前記細胞タグが、H E R 1 t を含み、前記 H E R 1 t が、配列番号 6 5 のポリペプチド配列を含む、請求項 3 6 に記載の免疫エフェクター細胞。

[ 4 0 ]

前記細胞タグが、H E R 1 t - 1 を含み、前記 H E R 1 t - 1 が、配列番号 6 6 のポリペプチド配列を含む、請求項 3 6 に記載の免疫エフェクター細胞。

[ 4 1 ]

請求項 1 4 から 3 4 のいずれか一項に記載のベクターを含む免疫エフェクター細胞。

[ 4 2 ]

T 細胞、ナチュラルキラー ( N K ) 細胞、細胞傷害性 T リンパ球 ( C T L )、または調

10

20

30

40

50

節性T細胞である、請求項35から41のいずれか一項に記載の免疫エフェクター細胞。  
[43]

前記CARが、配列番号27～57のアミノ酸配列のうちの少なくとも1つを含む、請求項36に記載の免疫エフェクター細胞。

[44]

それを必要とするヒト対象において標的細胞集団または組織に対するT細胞媒介性免疫応答を刺激するための方法であって、CARを発現するように遺伝子改変された有効量の細胞をヒト対象に投与するステップを含み、前記CARが、

(a) MUC16抗原結合性ドメイン；

(b) ストードメイン；

(c) 膜貫通ドメイン；

(d) 4-1BBもしくはCD28、または両方を含む共刺激シグナル伝達ドメイン；

(e) CD3ゼータシグナル伝達ドメイン；および

(f) トランケート型上皮増殖因子受容体(HER1t)

を含む、方法。

[45]

前記ヒトが、卵巣がんおよび乳がんのうちの少なくとも1つを伴うと診断されている、請求項44に記載の方法。

[46]

前記卵巣がんまたは乳がんが、再発性または不応性の卵巣がんまたは乳がんである、請求項45に記載の方法。

[47]

キメラ抗原受容体(CAR)をコードする単離核酸であって、前記CARが、

(a) 配列番号1～15または27～57に示されるアミノ酸配列のうちの少なくとも1つを伴うMUC16抗原結合性ドメイン；

(b) 配列番号16のアミノ酸配列を伴うストードメイン；

(c) 配列番号23のアミノ酸配列を伴うCD28を含む共刺激シグナル伝達ドメイン；

(d) 配列番号65のアミノ酸配列を伴うHER1tおよび配列番号66のアミノ酸配列を伴うHER1t-1のうちの少なくとも1つを含むHER1タグ；および

(e) 配列番号26のアミノ酸配列を伴うCD3ゼータシグナル伝達ドメイン

を含む、単離核酸。

[48]

キメラ抗原受容体(CAR)をコードする単離核酸であって、前記CARが、

(a) 配列番号1～15または27～57に示されるアミノ酸配列のうちの少なくとも1つを伴うMUC16抗原結合性ドメイン；

(b) 配列番号16のアミノ酸配列を伴うストードメイン；

(c) 配列番号23のアミノ酸配列を伴う4-1BBを含む共刺激シグナル伝達ドメイン；

(d) 配列番号65のアミノ酸配列を伴うHER1tおよび配列番号66のアミノ酸配列を伴うHER1t-1のうちの少なくとも1つを含むHER1タグ；および

(e) 配列番号26のアミノ酸配列を伴うCD3ゼータシグナル伝達ドメイン

を含む、単離核酸。

[49]

請求項47または48に記載の1または複数のポリヌクレオチドのいずれかを含む、ベクター。

[50]

レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、または非ウイルスベクターである、請求項49に記載のベクター。

[51]

前記非ウイルスベクターが、Sleeping Beautyトランスポゾンである、

10

20

30

40

50

請求項 5 0 に記載のベクター。

[ 5 2 ]

複数のベクターである、請求項 5 1 に記載のベクター。

[ 5 3 ]

免疫エフェクター細胞において C A R を発現するための系であって、請求項 1 から 1 3 および 4 7 から 4 8 のいずれか一項で提示される単離核酸をコードする 1 または複数のベクターを含む系。

[ 5 4 ]

前記免疫エフェクター細胞が、T 細胞または N K 細胞である、請求項 5 3 に記載の系。

[ 5 5 ]

少なくとも 1 つのさらなる遺伝子をコードする核酸をさらに含む、請求項 5 3 または 5 4 に記載の系。

[ 5 6 ]

前記さらなる遺伝子が、サイトカインを含む、請求項 5 5 に記載の系。

[ 5 7 ]

前記サイトカインが、I L - 2、I L - 1 5、I L - 1 2、I L - 2 1、ならびに I L - 1 5 および I L - 1 5 R の融合体のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 5 6 に記載の系。

[ 5 8 ]

前記サイトカインが、分泌形態にある、請求項 5 6 に記載の系。

[ 5 9 ]

前記サイトカインが、膜結合形態にある、請求項 5 6 に記載の系。

[ 6 0 ]

1 つのベクターを含む、請求項 5 3 から 5 9 のいずれか一項に記載の系。

[ 6 1 ]

前記 1 または複数のベクターが、レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、または非ウイルスベクターである、請求項 5 3 から 6 0 のいずれか一項に記載の系。

[ 6 2 ]

前記非ウイルスベクターが、S l e e p i n g B e a u t y トランスポゾンである、請求項 6 1 に記載の系。

[ 6 3 ]

S l e e p i n g B e a u t y トランスポザーゼをさらに含む、請求項 6 2 に記載の系。

[ 6 4 ]

前記 S l e e p i n g B e a u t y トランスポザーゼが、S B 1 1、S B 1 0 0 X、または S B 1 1 0 である、請求項 6 3 に記載の系。

[ 6 5 ]

前記免疫エフェクター細胞が、哺乳動物細胞である、請求項 5 3 から 6 4 のいずれか一項に記載の系。

[ 6 6 ]

免疫エフェクター細胞において C A R を発現する方法であって、前記免疫エフェクター細胞を請求項 5 3 から 6 5 のいずれか一項に記載の系と接触させるステップを含む方法。

[ 6 7 ]

操作 T 細胞の増殖および / または生存を刺激する方法であって、

( a ) 細胞の試料を、対象から得るステップであって、前記試料が T 細胞または T 細胞前駆細胞を含む、ステップ；

( b ) 細胞に、請求項 1 から 1 3 および 4 4 から 4 5 のいずれか一項で提示される単離核酸をコードする 1 または複数のベクター、ならびにトランスポザーゼをコードするベクターをトランスフェクトし、操作 M U C 1 6 C A R 発現 T 細胞の集団をもたらすステップ；

10

20

30

40

50

(c) および、任意選択で、MUC16 CAR T細胞の集団を2日間またはそれ以下の間、ex vivoにおいて培養するステップを含む方法。

[ 6 8 ]

細胞に、サイトカインをコードするベクターをトランスフェクトするステップをさらに含む、請求項67に記載の方法。

[ 6 9 ]

前記サイトカインが、IL-15およびIL-15Rを含む融合タンパク質である、請求項68に記載の方法。

[ 7 0 ]

前記1または複数のベクターが、レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、または非ウイルスベクターである、請求項67から69のいずれか一項に記載の方法。

[ 7 1 ]

前記非ウイルスベクターが、Sleeping Beautyトランスポゾンである、請求項70に記載の方法。

[ 7 2 ]

Sleeping Beautyトランスポザーゼをさらに含む、請求項71に記載の方法。

[ 7 3 ]

前記Sleeping Beautyトランスポザーゼが、SB11、SB100XまたはSB110である、請求項72に記載の方法。

[ 7 4 ]

それを必要とする対象においてがんを処置する方法であって、有効量の操作T細胞の1または複数の用量を前記対象に投与するステップを含み、前記操作T細胞がMUC16 CARおよび膜結合IL-15を含む、方法。

[ 7 5 ]

有効量の操作T細胞の第1の用量が、腹腔内に投与される、請求項74に記載の方法。

[ 7 6 ]

有効量の操作T細胞の第2の用量が、静脈内に投与される、請求項75に記載の方法。

[ 7 7 ]

前記がんが、卵巣がんである、請求項74に記載の方法。

[ 7 8 ]

前記がんが、乳がんである、請求項74に記載の方法。

[ 7 9 ]

前記MUC16 CARが、配列番号95~107、119~149、または194~195に示される配列のうちのいずれか1つによってコードされる、請求項74に記載の方法。

[ 8 0 ]

前記膜結合IL-15が、配列番号161によってコードされる、請求項74に記載の方法。

[ 8 1 ]

操作T細胞の有効量が、少なくとも $1.0 \cdot 10^2$ 個の細胞/kgである、請求項74に記載の方法。

[ 8 2 ]

操作T細胞の有効量が、少なくとも $1.0 \cdot 10^4$ 個の細胞/kgである、請求項74に記載の方法。

[ 8 3 ]

操作T細胞の有効量が、少なくとも $1.0 \cdot 10^5$ 個の細胞/kgである、請求項74に記載の方法。

10

20

30

40

50