(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2018-515123
(P2018-515123A)
(43)公表日　平成30年6月14日(2018.6.14)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	4B065
C07K 19/00	(2006.01)	C07K	19/00		4C084
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46		4C086
C12N 5/10	(2006.01)	C12N	5/10		4C087
C12N 5/0783	(2010.01)	C12N	5/0783		4H045

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 171 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-560616 (P2017-560616)
(86)(22)出願日　平成28年5月18日 (2016.5.18)
(85)翻訳文提出日　平成29年12月6日 (2017.12.6)
(86)国際出願番号　PCT/US2016/033146
(87)国際公開番号　WO2016/187349
(87)国際公開日　平成28年11月24日 (2016.11.24)
(31)優先権主張番号　62/163,342
(32)優先日　平成27年5月18日 (2015.5.18)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　517401026
ティーシーアール２　セラピューティクス　インク.
アメリカ合衆国　０２１４２　マサチューセッツ州　ケンブリッジ　ウェスト・ケンドール・ストリート　６７５　スイート１
(74)代理人　100082072
弁理士　清原　義博
(72)発明者　ボーエルレ，パトリック
アメリカ合衆国　０２１４２　マサチューセッツ州　ケンブリッジ　ウェスト・ケンドール・ストリート　６７５　スイート１

最終頁に続く

(54)【発明の名称】融合タンパク質を用いたＴＣＲの再プログラミングのための組成物及び方法

(57)【要約】
Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）、１つ以上のＴＦＰを発現するように改変されたＴ細胞、及び、がんを含めた疾患の治療のためのそれらの使用方法を本明細書に提供する。
【選択図】図１

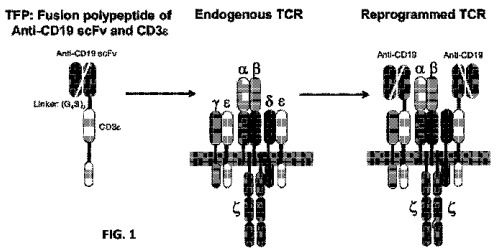


FIG. 1

【特許請求の範囲】
【請求項１】
Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、前記ＴＦＰが、
（ａ）　（ｉ）ＴＣＲの細胞外ドメインの少なくとも一部、及び
（ｉｉ）ＣＤ３イプシロンの細胞内シグナル伝達ドメイン由来の刺激ドメインを含むＴＣＲの細胞内ドメインを含むＴＣＲサブユニット；ならびに
（ｂ）抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含み；
前記ＴＣＲサブユニット及び前記抗体ドメインが作動可能に連結され、前記ＴＦＰがＴ細胞で発現される際にＴＣＲに合体する単離された組み換え核酸分子。
【請求項２】
Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、前記ＴＦＰが、
（ａ）　（ｉ）ＴＣＲの細胞外ドメインの少なくとも一部、及び
（ｉｉ）ＣＤ３ガンマの細胞内シグナル伝達ドメイン由来の刺激ドメインを含むＴＣＲの細胞内ドメインを含むＴＣＲサブユニット；ならびに
（ｂ）抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含み；
前記ＴＣＲサブユニット及び前記抗体ドメインが作動可能に連結され、前記ＴＦＰがＴ細胞で発現される際にＴＣＲに合体する単離された組み換え核酸分子。
【請求項３】
Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、前記ＴＦＰが、
（ａ）　（ｉ）ＴＣＲの細胞外ドメインの少なくとも一部、及び
（ｉｉ）ＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメイン由来の刺激ドメインを含むＴＣＲの細胞内ドメインを含むＴＣＲサブユニット；ならびに
（ｂ）抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含み；
前記ＴＣＲサブユニット及び前記抗体ドメインが作動可能に連結され、前記ＴＦＰがＴ細胞で発現される際にＴＣＲに合体する単離された組み換え核酸分子。
【請求項４】
Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、前記ＴＦＰが、
（ａ）　（ｉ）ＴＣＲの細胞外ドメインの少なくとも一部、及び
（ｉｉ）ＴＣＲアルファの細胞内シグナル伝達ドメイン由来の刺激ドメインを含むＴＣＲの細胞内ドメインを含むＴＣＲサブユニット；ならびに
（ｂ）抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含み；
前記ＴＣＲサブユニット及び前記抗体ドメインが作動可能に連結され、前記ＴＦＰがＴ細胞で発現される際にＴＣＲに合体する単離された組み換え核酸分子。
【請求項５】
Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、前記ＴＦＰが、
（ａ）　（ｉ）ＴＣＲの細胞外ドメインの少なくとも一部、及び
（ｉｉ）ＴＣＲベータの細胞内シグナル伝達ドメイン由来の刺激ドメインを含むＴＣＲの細胞内ドメインを含むＴＣＲサブユニット；ならびに
（ｂ）抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含み；
前記ＴＣＲサブユニット及び前記抗体ドメインが作動可能に連結され、前記ＴＦＰがＴ細胞で発現される際にＴＣＲに合体する単離された組み換え核酸分子。
【請求項６】
Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、前記ＴＦＰが、ＴＣＲサブユニット及び、抗ＣＤ１９結合ドメインである抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含む単離された組み換え核

酸分子。
【請求項７】
Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、前記ＴＦＰが、ＴＣＲサブユニット及び、抗Ｂ細胞成熟抗原（ＢＣＭＡ）結合ドメインである抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含む単離された組み換え核酸分子。
【請求項８】
前記ＴＣＲサブユニット及び前記抗体ドメインが作動可能に連結される、請求項６または７に記載の単離された組み換え核酸分子。
【請求項９】
前記ＴＦＰがＴ細胞で発現される際にＴＣＲに合体する、請求項６～８のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。
【請求項１０】
前記コードされた抗原結合ドメインが、リンカー配列によって前記ＴＣＲの細胞外ドメインにつながれる、請求項１～９のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。
【請求項１１】
前記コードされたリンカー配列が、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝１～４である、請求項１０に記載の単離された組み換え核酸分子。
【請求項１２】
前記ＴＣＲサブユニットが、ＴＣＲの細胞外ドメインを含む、請求項１～１１のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。
【請求項１３】
前記ＴＣＲサブユニットが、ＴＣＲの膜貫通ドメインを含む、請求項１～１２のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。
【請求項１４】
前記ＴＣＲサブユニットが、ＴＣＲの細胞内ドメインを含む、請求項１～１３のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。
【請求項１５】
前記ＴＣＲサブユニットが、（ｉ）ＴＣＲの細胞外ドメイン、（ｉｉ）ＴＣＲの膜貫通ドメイン、及び（ｉｉｉ）ＴＣＲの細胞内ドメインを含むとともに、（ｉ）、（ｉｉ）、及び（ｉｉｉ）のうちの少なくとも２つが同じＴＣＲサブユニット由来である、請求項１～１４のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。
【請求項１６】
前記ＴＣＲサブユニットが、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマ、もしくはＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメインから選択される刺激ドメイン、または少なくとも１つの修飾を有するアミノ酸配列を含むＴＣＲの細胞内ドメインを含む、請求項１～１５のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。
【請求項１７】
前記ＴＣＲサブユニットが、４－１ＢＢの機能的シグナル伝達ドメイン及び／またはＣＤ３ゼータの機能的シグナル伝達ドメインから選択される刺激ドメイン、または少なくとも１つの修飾を有するアミノ酸配列を含む細胞内ドメインを含む、請求項１～１６のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。
【請求項１８】
前記ヒトまたはヒト化抗体ドメインが、抗体フラグメントを含む、請求項１～１７のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。
【請求項１９】
前記ヒトまたはヒト化抗体ドメインが、ｓｃＦｖまたはV_Hドメインを含む、請求項１～１８のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。
【請求項２０】
（ｉ）それぞれ配列番号２５、配列番号２７、及び配列番号２９に７０～１００％の配

列同一性がある、抗ＣＤ１９軽鎖結合ドメインのアミノ酸配列の軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２、及びＬＣ　ＣＤＲ３、及び／または（ｉｉ）それぞれ配列番号３１、配列番号３３、及び配列番号３５に７０～１００％の配列同一性がある、抗ＣＤ１９重鎖結合ドメインのアミノ酸配列の重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、及びＨＣ　ＣＤＲ３をコードする、請求項１～１９のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項２１】

軽鎖可変領域をコードし、前記軽鎖可変領域が、配列番号４９の軽鎖可変領域アミノ酸配列の少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するアミノ酸配列、または、配列番号４９の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性がある配列を含む、請求項１～２０のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項２２】

重鎖可変領域をコードし、前記重鎖可変領域が、配列番号５１の重鎖可変領域アミノ酸配列の少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するアミノ酸配列、または、配列番号５１の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性がある配列を含む、請求項１～２１のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項２３】

（ｉ）それぞれ配列番号３７、配列番号３９、及び配列番号４１に７０～１００％の配列同一性がある、抗ＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインのアミノ酸配列の軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２、及びＬＣ　ＣＤＲ３、及び／または（ｉｉ）それぞれ配列番号４３、配列番号４５、及び配列番号４７に７０～１００％の配列同一性がある、抗ＢＣＭＡ重鎖結合ドメインのアミノ酸配列の重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、及びＨＣ　ＣＤＲ３をコードする、請求項１～１９のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項２４】

軽鎖可変領域をコードし、前記軽鎖可変領域が、配列番号５３の軽鎖可変領域アミノ酸配列の少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するアミノ酸配列、または、配列番号５３の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性がある配列を含む、請求項１～１９及び２３のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項２５】

重鎖可変領域をコードし、前記重鎖可変領域が、配列番号５５の重鎖可変領域アミノ酸配列の少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するアミノ酸配列、または、配列番号５５の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性がある配列を含む、請求項１～１９、２３、及び２４のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項２６】

前記ＴＦＰが、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニット、それらの機能的フラグメント、及び少なくとも１つから最大２０までの修飾を有するそれらのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその一部を含むＴＣＲサブユニットの細胞外ドメインを含む、請求項１～２５のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項２７】

コードされたＴＦＰが、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニット、それらの機能的フラグメント、及び少なくとも１つから最大２０までの修飾を有するそれらのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む膜貫通ドメインを含む、請求項１～２６のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項２８】

コードされたＴＦＰが、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＴＣＲゼータ鎖、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニット、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２

、ＣＤ３３、ＣＤ２８、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４、それらの機能的フラグメント、及び少なくとも１つから最大２０までの修飾を有するそれらのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む膜貫通ドメインを含む、請求項１～２７のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項２９】

さらに、共刺激ドメインをコードする配列を含む、請求項１～２８のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項３０】

前記共刺激ドメインが、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）、及び４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ならびに少なくとも１つから最大２０までの修飾を有するそれらのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質から得られる機能的シグナル伝達ドメインである、請求項２９に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項３１】

前記少なくとも１つから最大２０までの修飾が、細胞のシグナル伝達を媒介するアミノ酸の修飾、または前記ＴＦＰへのリガンド結合に反応してリン酸化されるアミノ酸の修飾を含む、請求項１～３０のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項３２】

ｍＲＮＡである、請求項１～３１のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項３３】

前記ＴＦＰが、ＴＣＲサブユニットの免疫受容活性化チロシンモチーフ（ＩＴＡＭ）を含み、前記サブユニットが、ＣＤ３ゼータのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニット、ＴＣＲゼータ鎖、Ｆｃイプシロン受容体１鎖、Ｆｃイプシロン受容体２鎖、Ｆｃガンマ受容体１鎖、Ｆｃガンマ受容体２ａ鎖、Ｆｃガンマ受容体２ｂ１鎖、Ｆｃガンマ受容体２ｂ２鎖、Ｆｃガンマ受容体３ａ鎖、Ｆｃガンマ受容体３ｂ鎖、Ｆｃベータ受容体１鎖、ＴＹＲＯＢＰ（ＤＡＰ１２）、ＣＤ５、ＣＤ１６ａ、ＣＤ１６ｂ、ＣＤ２２、ＣＤ２３、ＣＤ３２、ＣＤ６４、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ８９、ＣＤ２７８、ＣＤ６６ｄ、それらの機能的フラグメント、及び少なくとも１つから最大２０までの修飾を有するそれらのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質のＩＴＡＭまたはその一部を含む、請求項１～３２のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項３４】

前記ＩＴＡＭが、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、またはＣＤ３イプシロンのＩＴＡＭを置き換える、請求項３３に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項３５】

前記ＩＴＡＭが、ＣＤ３ゼータのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニットからなる群から選択されるとともに、ＣＤ３ゼータのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニットからなる群から選択される異なるＩＴＡＭを置き換える、請求項３３に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項３６】

前記核酸がヌクレオチド類似体を含む、請求項１～３５のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項３７】

前記ヌクレオチド類似体が、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（

２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾、ロックド核酸（ＬＮＡ）、エチレン核酸（ＥＮＡ）、ペプチド核酸（ＰＮＡ）、１’，５’－アンヒドロヘキシトール核酸（ＨＮＡ）、モルホリノ、メチルホスホン酸ヌクレオチド、チオールホスホン酸ヌクレオチド、及び２’－フルオロＮ３－Ｐ５’－ホスホルアミダイトからなる群から選択される、請求項３６に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項３８】

さらに、リーダー配列を含む、請求項１～３７のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子。

【請求項３９】

請求項１～３８のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子によってコードされる単離されたポリペプチド分子。

【請求項４０】

ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含む単離された組み換えＴＦＰ分子。

【請求項４１】

ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む単離された組み換えＴＦＰ分子であって、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することが可能な単離された組み換えＴＦＰ分子。

【請求項４２】

ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む単離された組み換えＴＦＰ分子であって、内因性ＴＣＲ複合体に機能的に統合することが可能な単離された組み換えＴＦＰ分子。

【請求項４３】

ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含む抗体または抗体フラグメントを含む、請求項４０に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。

【請求項４４】

前記抗ＣＤ１９結合ドメインが、ｓｃＦｖまたはV_Hドメインである、請求項４０～４３のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。

【請求項４５】

前記抗ＣＤ１９結合ドメインが、配列番号５１のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性がある重鎖、その機能的フラグメント、または少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するそのアミノ酸配列を含む、請求項４０～４４のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。

【請求項４６】

前記抗ＣＤ１９結合ドメインが、配列番号４９のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性がある軽鎖、その機能的フラグメント、または少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するそのアミノ酸配列を含む、請求項４０～４５のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。

【請求項４７】

ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニット、それらの機能的フラグメント、及び少なくとも１つから最大２０までの修飾を有するそれらのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその一部を含むＴＣＲの細胞外ドメインを含む、請求項４０～４６のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。

【請求項４８】

請求項４０～４７のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項４９】
前記抗ＣＤ１９結合ドメインが、リンカー配列によって前記ＴＣＲの細胞外ドメインにつながれる、請求項４０～４８のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項５０】
リンカー領域が、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝１～４である、請求項４９に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項５１】
ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含む、単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項５２】
ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む単離された組み換えＴＦＰ分子であって、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することが可能な単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項５３】
ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む単離された組み換えＴＦＰ分子であって、内因性ＴＣＲ複合体に機能的に統合することが可能な単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項５４】
ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含む抗体または抗体フラグメントを含む、請求項５３に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項５５】
前記抗ＢＣＭＡ結合ドメインがｓｃＦｖまたはV_Hドメインである、請求項５１～５４のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項５６】
前記抗ＢＣＭＡ結合ドメインが、配列番号５５のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性がある重鎖、その機能的フラグメント、または少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するそのアミノ酸配列を含む、請求項５１～５５のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項５７】
前記抗ＢＣＭＡ結合ドメインが、配列番号５３のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性がある軽鎖、その機能的フラグメント、または少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するそのアミノ酸配列を含む、請求項５１～５６のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項５８】
ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニット、それらの機能的フラグメント、及び少なくとも１つから最大２０までの修飾を有するそれらのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその一部を含むＴＣＲの細胞外ドメインを含む、請求項５１～５７のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子
【請求項５９】
前記抗ＢＣＭＡ結合ドメインが、リンカー配列によって前記ＴＣＲの細胞外ドメインにつながれる、請求項５１～５８のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項６０】
リンカー領域が、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝１～４である、請求項５９に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項６１】

さらに、共刺激ドメインをコードする配列を含む、請求項４０～６０のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項６２】
さらに、細胞内シグナル伝達ドメインをコードする配列を含む、請求項４０～６１のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項６３】
さらにリーダー配列を含む、請求項４０～６２のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子。
【請求項６４】
請求項４０～６３のいずれか一項に記載のＴＦＰをコードする配列を含む核酸。
【請求項６５】
ＤＮＡ及びＲＮＡからなる群から選択される、請求項６４に記載の核酸。
【請求項６６】
前記核酸がｍＲＮＡである、請求項６４または６５に記載の核酸。
【請求項６７】
ヌクレオチド類似体を含む、請求項６４～６６のいずれか一項に記載の核酸。
【請求項６８】
前記ヌクレオチド類似体が、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾、ロックド核酸（ＬＮＡ）、エチレン核酸（ＥＮＡ）、ペプチド核酸（ＰＮＡ）、１’，５’－アンヒドロヘキシトール核酸（ＨＮＡ）、モルホリノ、メチルホスホン酸ヌクレオチド、チオールホスホン酸ヌクレオチド、及び２’－フルオロＮ３－Ｐ５’－ホスホルアミダイトからなる群から選択される、請求項６７に記載の核酸。
【請求項６９】
さらに、プロモーターを含む、請求項６４～６８のいずれか一項に記載の核酸。
【請求項７０】
インビトロで転写された核酸である、請求項６４～６９のいずれか一項に記載の核酸。
【請求項７１】
さらに、ポリ（Ａ）尾部をコードする配列を含む、請求項６４～７０のいずれか一項に記載の核酸。
【請求項７２】
さらに、３’ＵＴＲ配列を含む、請求項６４～７１のいずれか一項に記載の核酸。
【請求項７３】
請求項４０～６３のいずれか一項に記載のＴＦＰをコードする核酸分子を含むベクター。
【請求項７４】
ＤＮＡ、ＲＮＡ、プラスミド、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクター、ラウス肉腫ウイルス（ＲＳＶ）ベクター、またはレトロウイルスベクターからなる群から選択される、請求項７３に記載のベクター。
【請求項７５】
さらに、プロモーターを含む、請求項７３または７４に記載のベクター。
【請求項７６】
インビトロで転写されたベクターである、請求項７３～７５のいずれか一項に記載のベクター。
【請求項７７】
前記ベクターの核酸配列がさらにポリ（Ａ）尾部を含む、請求項７３～７６のいずれか

一項に記載のベクター。
【請求項７８】
前記ベクターの核酸配列がさらに３’ＵＴＲを含む、請求項７３～７７のいずれか一項に記載のベクター。
【請求項７９】
請求項１～３８のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子、請求項３９に記載の単離されたポリペプチド分子、請求項４０～６３のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子、請求項６４～７２のいずれか一項に記載の核酸、請求項７３～７８のいずれか一項に記載のベクターを含む細胞。
【請求項８０】
ヒトＴ細胞である、請求項７９に記載の細胞。
【請求項８１】
前記Ｔ細胞が、ＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞である、請求項８０に記載の細胞。
【請求項８２】
さらに、細胞内シグナル伝達ドメインからの陽性シグナルを含む第二のポリペプチドに会合した、抑制分子の少なくとも一部を含む第一のポリペプチドを含む抑制分子をコードする核酸を含む、請求項７９～８１のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項８３】
前記抑制分子が、ＰＤ１の少なくとも一部を含む第一のポリペプチドならびに共刺激ドメイン及び一次シグナル伝達ドメインを含む第二のポリペプチドを含む、請求項８２に記載の細胞。
【請求項８４】
ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞であって、少なくとも２つのＴＦＰ分子を含み、前記ＴＦＰ分子がヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９もしくは抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含み、前記ＴＦＰ分子が前記ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の中で、前記ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞において、及び／または前記ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の表面で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することが可能である、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞。
【請求項８５】
ｉ）ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含むＴＦＰ分子；ならびに
ｉｉ）少なくとも１つの内因性ＴＣＲサブユニットまたは内因性ＴＣＲ複合体を含むタンパク質複合体。
【請求項８６】
前記ＴＣＲが、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニットからなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその一部を含む、請求項８５に記載のタンパク質複合体。
【請求項８７】
前記抗ＣＤ１９結合ドメインが、リンカー配列によって前記ＴＣＲの細胞外ドメインにつながれる、請求項８５または８６に記載のタンパク質複合体。
【請求項８８】
リンカー領域が、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝１～４である、請求項８７に記載のタンパク質複合体
【請求項８９】
（ａ）請求項１～３８のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子によってコードされるＴＦＰ、及び
（ｂ）少なくとも１つの内因性ＴＣＲサブユニットまたは内因性ＴＣＲ複合体を含むタンパク質複合体。

【請求項９０】
ｉ）ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含むＴＦＰ分子；ならびに
ｉｉ）少なくとも１つの内因性ＴＣＲサブユニットまたは内因性ＴＣＲ複合体を含むタンパク質複合体。
【請求項９１】
前記ＴＣＲが、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニットからなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその一部を含む、請求項９０に記載のタンパク質複合体。
【請求項９２】
前記抗ＢＣＭＡ結合ドメインが、リンカー配列によって前記ＴＣＲの細胞外ドメインにつながれる、請求項９０または９１に記載のタンパク質複合体。
【請求項９３】
リンカー領域が、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝１～４である、請求項９２に記載のタンパク質複合体。
【請求項９４】
請求項８５～９３のいずれか一項に記載のタンパク質複合体あたり、少なくとも２つの異なるＴＦＰタンパク質を含むヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞。
【請求項９５】
請求項１～３８のいずれか一項に記載の単離された核酸分子によってコードされる少なくとも２つの異なるＴＦＰ分子を含むヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞。
【請求項９６】
ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団であって、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団のＴ細胞が個々にまたは集合的に少なくとも２つのＴＦＰ分子を含み、前記ＴＦＰ分子がヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９もしくは抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含み、前記ＴＦＰ分子が前記ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の中で、前記ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞において、及び／または前記ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の表面で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することが可能である、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団。
【請求項９７】
ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団であって、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団のＴ細胞が個々にまたは集合的に、請求項１～３８のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子によってコードされる少なくとも２つのＴＦＰ分子を含む、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団。
【請求項９８】
Ｔ細胞に請求項１～３８のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子、請求項６４～７２のいずれか一項に記載の核酸、または請求項７３～７８のいずれか一項に記載のベクターで形質導入することを含む細胞の作製方法。
【請求項９９】
インビトロで転写されたＲＮＡまたは合成ＲＮＡを細胞に導入することを含む、ＲＮＡ改変細胞集団の生成方法であって、前記ＲＮＡが請求項４０～６３のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子をコードする核酸を含む、方法。
【請求項１００】
哺乳類に抗腫瘍免疫を与える方法であって、前記哺乳類に対して、有効量の請求項１～３８のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子、請求項３９に記載の単離されたポリペプチド分子、請求項３９に記載の単離されたポリペプチド分子を発現する細胞、請求項４０～６３のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子、請求項６４～７２のいずれか一項に記載の核酸、請求項７３～７８のいずれか一項に記載のベクター、

または請求項７９～８４及び９４～９８のいずれか一項に記載の細胞を投与することを含む、方法。
【請求項１０１】
細胞が自己Ｔ細胞である、請求項１００に記載の方法。
【請求項１０２】
細胞が同種異系Ｔ細胞である、請求項１００に記載の方法。
【請求項１０３】
前記哺乳類がヒトである、請求項１００～１０２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０４】
ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う疾患を有する哺乳類の治療方法であって、前記哺乳類に対して、有効量の請求項１～３８のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子、請求項３９に記載の単離されたポリペプチド分子、請求項３９に記載の単離されたポリペプチド分子を発現する細胞、請求項４０～６３のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子、請求項６４～７２のいずれか一項に記載の核酸、請求項７３～７８のいずれか一項に記載のベクター、または請求項７９～８４及び９４～９８のいずれか一項に記載の細胞を投与することを含む、方法。
【請求項１０５】
ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う前記疾患が、増殖性疾患、がん、悪性腫瘍、骨髄異形成、骨髄異形成症候群、前白血病、ＣＤ１９の発現を伴う非がん関連の適応症からなる群から選択される、請求項１０４に記載の方法。
【請求項１０６】
前記疾患が、Ｂ細胞急性リンパ性白血病（Ｂ－ＡＬＬ）、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（Ｔ－ＡＬＬ）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）；慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、Ｂ細胞前リンパ球性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、ヘアリー細胞白血病、小細胞濾胞性リンパ腫、大細胞濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性疾患、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成、骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、前白血病、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う疾患、及びこれらの組合せからなる群から選択される血液がんである、請求項１０４に記載の方法。
【請求項１０７】
ＴＦＰ分子を発現する前記細胞が、ＴＦＰ分子を発現する細胞の効果を高める薬剤と組み合わせて投与される、請求項１０４に記載の方法。
【請求項１０８】
前記哺乳類では、抗ＣＤ１９キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）または抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲを発現するＴ細胞の有効量を投与された哺乳類と比較して、サイトカインの放出が少ない、請求項１０４～１０７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０９】
ＴＦＰ分子を発現する前記細胞が、ＴＦＰ分子を発現する細胞の投与に伴う１つ以上の副作用を改善する薬剤と組み合わせて投与される、請求項１０４～１０８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１０】
ＴＦＰ分子を発現する前記細胞が、ＣＤ１９またはＢＣＭＡに関連する疾患を治療する薬剤と組み合わせて投与される、請求項１０４～１０９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１１】
薬剤用としての、請求項１～３８のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子、請求項３９に記載の単離されたポリペプチド分子、請求項３９に記載の単離されたポリペプチド分子を発現する細胞、請求項４０～６３のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子、請求項６４～７２のいずれか一項に記載の核酸、請求項７３～７８のい

ずれか一項に記載のベクター、請求項８５～９３のいずれか一項に記載のタンパク質複合体、または請求項７９～８４及び９４～９８のいずれか一項に記載の細胞。
【請求項１１２】
ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う疾患を有する哺乳類の治療方法であって、前記哺乳類に対して、有効量の請求項１～３８のいずれか一項に記載の単離された組み換え核酸分子、請求項３９に記載の単離されたポリペプチド分子、請求項３９に記載の単離されたポリペプチド分子を発現する細胞、請求項４０～６３のいずれか一項に記載の単離された組み換えＴＦＰ分子、請求項６４～７２のいずれか一項に記載の核酸、請求項７３～７８のいずれか一項に記載のベクター、または請求項７９～８４及び９４～９８のいずれか一項に記載の細胞を投与することを含み、前記哺乳類では、抗ＣＤ１９キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）または抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲを発現するＴ細胞の有効量を投与された哺乳類と比較して、サイトカインの放出が少ない、方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
相互参照
本出願は、２０１５年5月１８日に出願された米国仮出願第６２／１６３，３４２号の利益を主張する。該仮出願は、参照することによってその全体が本明細書に組み込まれる。
【背景技術】
【０００２】
血液学的悪性腫瘍または末期の固形腫瘍を有するほとんどの患者は、標準的治療では治癒不可能である。さらに、従来の治療法の選択肢は、多くの場合重篤な副作用がある。がん性細胞を拒絶するために患者の免疫系を関わらせる多くの試み、すなわち、集合的にがん免疫療法と呼ばれる方法がなされている。しかしながら、いくつかの障害が、その臨床効果の達成をやや困難にしている。何百ものいわゆる腫瘍抗原が特定されているが、これらは多くの場合、自己由来であるため、がん免疫療法を健康な組織に向かわせる可能性があるか、または免疫原性に乏しい。さらに、がん細胞は多重機構を用いてそれら自身を見えなくしたり、がん免疫療法による免疫攻撃の開始及び伝播に敵対したりする。
【０００３】
がん細胞の適切な細胞表面分子に、遺伝子操作されたＴ細胞を向け直すことに頼るキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）変性自己Ｔ細胞治療を用いた最近の発展は、免疫系の力のＢ細胞悪性腫瘍の治療における利用に期待できる結果を示している（例えば、Ｓａｄｅｌａｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　３：３８８－３９８　（２０１３）参照）。ＣＤ１９特異的ＣＡＲ　Ｔ細胞（ＣＴＬ０１９と呼ばれる）での臨床結果は、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）ならびに小児急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）の患者に完全寛解を示した（例えば、Ｋａｌｏｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉ　Ｔｒａｎｓｌ　Ｍｅｄ　３：９５ｒａ７３　（２０１１），Ｐｏｒｔｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，ＮＥＪＭ　３６５：７２５－７３３　（２０１１），Ｇｒｕｐｐ　ｅｔ　ａｌ．，ＮＥＪＭ　３６８：１５０９－１５１８　（２０１３）参照）。代替的な方法は、自己Ｔ細胞の遺伝子操作のために、腫瘍関連ペプチド抗原に選ばれたＴ細胞受容体（ＴＣＲ）アルファ及びベータ鎖の使用である。これらのＴＣＲ鎖は、完全なＴＣＲ複合体を形成し、該Ｔ細胞に第二の定義された特異性に対するＴＣＲを与える。ＮＹ－ＥＳＯ－１特異的ＴＣＲアルファ及びベータ鎖を発現する改変自己Ｔ細胞によって、滑膜がんの患者で有望な結果が得られた。
【０００４】
ＣＡＲまたは第二のＴＣＲを発現する遺伝子組み換えＴ細胞に関するインビトロ／エキソビボでそれぞれの標的細胞を認識及び破壊する能力に加えて、改変Ｔ細胞での成功した患者の治療は、該Ｔ細胞に強力な活性化、増殖、経時的な持続性の能力があること、及び、再発性疾患の場合、「記憶」反応を有効にすることを要求する。ＣＡＲ　Ｔ細胞の高く扱いやすい臨床効果は、現在のところＣＤ１９陽性Ｂ細胞悪性腫瘍及び、ＨＬＡ－Ａ２を

発現するＮＹ－ＥＳＯ－１ペプチド発現滑膜肉腫患者に限られる。遺伝子操作されたＴ細胞を様々なヒトの悪性腫瘍に対してより広く作用するように改良する明確な必要性がある。本明細書では、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマ、及びＣＤ３デルタを含めたＴＣＲサブユニット、ならびに、既存の方法の限界を克服する可能性を有する細胞表面抗原に特異的な結合ドメインを備えたＴＣＲアルファ及びＴＣＲベータ鎖の新規な融合タンパク質を記載する。本明細書では、ＣＡＲより標的細胞を効率的に死滅させるが、炎症性サイトカインを同等またはより少ないレベルで放出する新規な融合タンパク質を記載する。これらサイトカイン値の上昇は、養子ＣＡＲ－Ｔ療法に対する用量制限毒性と関連しているため、これらの融合タンパク質及びそれらの使用方法は、ＣＡＲと比較してＴＦＰの有効性を表す。

【発明の概要】

【０００５】

Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）、１つ以上のＴＦＰを発現するように改変されたＴ細胞、及び疾患の治療のためのそれらの使用方法を本明細書に提供する。

【０００６】

１つの態様において、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、該ＴＦＰがＴＣＲの細胞外ドメインの少なくとも一部、及び、ＣＤ３イプシロンの細胞内シグナル伝達ドメイン由来の刺激ドメインを含むＴＣＲの細胞内ドメインを含むＴＣＲサブユニット、ならびに抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含み、該ＴＣＲサブユニット及び該抗体ドメインが作動可能に連結され、該ＴＦＰがＴ細胞で発現される際にＴＣＲに合体する分子を本明細書に提供する。

【０００７】

１つの態様において、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、該ＴＦＰがＴＣＲの細胞外ドメインの少なくとも一部、及び、ＣＤ３ガンマの細胞内シグナル伝達ドメイン由来の刺激ドメインを含むＴＣＲの細胞内ドメインを含むＴＣＲサブユニット、ならびに抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含み、該ＴＣＲサブユニット及び該抗体ドメインが作動可能に連結され、該ＴＦＰがＴ細胞で発現される際にＴＣＲに合体する分子を本明細書に提供する。

【０００８】

１つの態様において、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、該ＴＦＰがＴＣＲの細胞外ドメインの少なくとも一部、及び、ＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメイン由来の刺激ドメインを含むＴＣＲの細胞内ドメインを含むＴＣＲサブユニット、ならびに抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含み、該ＴＣＲサブユニット及び該抗体ドメインが作動可能に連結され、該ＴＦＰがＴ細胞で発現される際にＴＣＲに合体する分子を本明細書に提供する。

【０００９】

１つの態様において、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、該ＴＦＰがＴＣＲの細胞外ドメインの少なくとも一部、及び、ＴＣＲアルファの細胞内シグナル伝達ドメイン由来の刺激ドメインを含むＴＣＲの細胞内ドメインを含むＴＣＲサブユニット、ならびに抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含み、該ＴＣＲサブユニット及び該抗体ドメインが作動可能に連結され、該ＴＦＰがＴ細胞で発現される際にＴＣＲに合体する分子を本明細書に提供する。

【００１０】

１つの態様において、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、該ＴＦＰがＴＣＲの細胞外ドメインの少なくとも一部、及び、ＴＣＲベータの細胞内シグナル伝達ドメイン由来の刺激ドメインを含むＴ

ＣＲの細胞内ドメインを含むＴＣＲサブユニット、ならびに抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含み、該ＴＣＲサブユニット及び該抗体ドメインが作動可能に連結され、該ＴＦＰがＴ細胞で発現される際にＴＣＲに合体する分子を本明細書に提供する。

【００１１】

１つの態様において、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、該ＴＦＰがＴＣＲサブユニット及び、抗ＣＤ１９結合ドメインである抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含む分子を本明細書に提供する。

【００１２】

１つの態様において、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、該ＴＦＰがＴＣＲサブユニット及び、抗Ｂ細胞成熟抗原（ＢＣＭＡ）結合ドメインである抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含む分子を本明細書に提供する。

【００１３】

いくつかの例では、該ＴＣＲサブユニット及び該抗体ドメインは、作動可能に連結される。いくつかの例では、該ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに合体する。いくつかの例では、該コードされた抗原結合ドメインは、リンカー配列によって該ＴＣＲの細胞外ドメインにつながれる。いくつかの例では、該コードされたリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝１～４である。いくつかの例では、該ＴＣＲサブユニットは、ＴＣＲの細胞外ドメインを含む。いくつかの例では、該ＴＣＲサブユニットは、ＴＣＲの膜貫通ドメインを含む。いくつかの例では、該ＴＣＲサブユニットは、ＴＣＲの細胞内ドメインを含む。いくつかの例では、該ＴＣＲサブユニットは、（ｉ）ＴＣＲの細胞外ドメイン、（ｉｉ）ＴＣＲの膜貫通ドメイン、及び（ｉｉｉ）ＴＣＲの細胞内ドメインを含むとともに、（ｉ）、（ｉｉ）、及び（ｉｉｉ）のうちの少なくとも２つは同じＴＣＲサブユニット由来である。いくつかの例では、該ＴＣＲサブユニットは、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマ、もしくはＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメインから選択される刺激ドメイン、または少なくとも１つ、２つ、もしくは３つのそれに対する修飾を有するアミノ酸配列を含むＴＣＲの細胞内ドメインを含む。いくつかの例では、該ＴＣＲサブユニットは、４－１ＢＢの機能的シグナル伝達ドメイン及び／またはＣＤ３ゼータの機能的シグナル伝達ドメインから選択される刺激ドメイン、または少なくとも１つのそれに対する修飾を有するアミノ酸配列を含む細胞内ドメインを含む。いくつかの例では、該ヒトまたはヒト化抗体ドメインは、抗体フラグメントを含む。いくつかの例では、該ヒトまたはヒト化抗体ドメインは、ｓｃＦｖまたはV_Hドメインを含む。いくつかの例では、該単離された核酸分子は、（ｉ）それぞれ配列番号２５、配列番号２７、及び配列番号２９に７０～１００％の配列同一性がある、抗ＣＤ１９軽鎖結合ドメインのアミノ酸配列の軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２、及びＬＣ　ＣＤＲ３、及び／または（ｉｉ）それぞれ配列番号３１、配列番号３３、及び配列番号３５に７０～１００％の配列同一性がある、抗ＣＤ１９重鎖結合ドメインのアミノ酸配列の重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、及びＨＣ　ＣＤＲ３をコードする。いくつかの例では、該単離された核酸分子は、軽鎖可変領域をコードするとともに、該軽鎖可変領域は、配列番号４９の軽鎖可変領域アミノ酸配列の少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するアミノ酸配列、または、配列番号４９の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性がある配列を含む。いくつかの例では、該単離された核酸分子は、重鎖可変領域をコードするとともに、該重鎖可変領域は、配列番号５１の重鎖可変領域アミノ酸配列の少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するアミノ酸配列、または、配列番号５１の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性がある配列を含む。いくつかの例では、該単離された核酸分子は、（ｉ）それぞれ配列番号３７、配列番号３９、及び配列番号４１に７０～１００％の配列同一性がある、抗ＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインのアミノ酸配列の軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２、及びＬＣ　ＣＤＲ３、及び／または（ｉｉ）それぞれ配列番号４３、配列番

号４５、及び配列番号４７に７０～１００％の配列同一性がある、抗ＢＣＭＡ重鎖結合ドメインのアミノ酸配列の重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、及びＨＣ　ＣＤＲ３をコードする。いくつかの例では、該単離された核酸分子は、軽鎖可変領域をコードするとともに、該軽鎖可変領域は、配列番号５３の軽鎖可変領域アミノ酸配列の少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するアミノ酸配列、または、配列番号５３の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性がある配列を含む。いくつかの例では、該単離された核酸分子は、重鎖可変領域をコードするとともに、該重鎖可変領域は、配列番号５５の重鎖可変領域アミノ酸配列の少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するアミノ酸配列、または、配列番号５５の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性がある配列を含む。いくつかの例では、該ＴＦＰは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニット、それらの機能的フラグメント、及び少なくとも１つから最大２０までの修飾を有するそれらのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその一部を含むＴＣＲサブユニットの細胞外ドメインを含む。いくつかの例では、該コードされたＴＦＰは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニット、それらの機能的フラグメント、及び少なくとも１つから最大２０までの修飾を有するそれらのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む膜貫通ドメインを含む。いくつかの例では、該コードされたＴＦＰは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＴＣＲゼータ鎖、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニット、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ２８、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４、それらの機能的フラグメント、及び少なくとも１つから最大２０までの修飾を有するそれらのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む膜貫通ドメインを含む。いくつかの例では、該単離された核酸分子は、さらに、共刺激ドメインをコードする配列を含む。いくつかの例では、該共刺激ドメインは、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）、及び４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ならびに少なくとも１つから最大２０までのそれに対する修飾を有するそれらのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質から得られる機能的シグナル伝達ドメインである。いくつかの例では、該単離された核酸分子は、さらにリーダー配列を含む。いくつかの例では、該単離された核酸分子は、ｍＲＮＡである。

【００１４】

いくつかの例では、該ＴＦＰは、ＴＣＲサブユニットの免疫受容活性化チロシンモチーフ（ＩＴＡＭ）を含み、該サブユニットは、ＣＤ３ゼータのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニット、ＴＣＲゼータ鎖、Ｆｃイプシロン受容体１鎖、Ｆｃイプシロン受容体２鎖、Ｆｃガンマ受容体１鎖、Ｆｃガンマ受容体２ａ鎖、Ｆｃガンマ受容体２ｂ１鎖、Ｆｃガンマ受容体２ｂ２鎖、Ｆｃガンマ受容体３ａ鎖、Ｆｃガンマ受容体３ｂ鎖、Ｆｃベータ受容体１鎖、ＴＹＲＯＢＰ（ＤＡＰ１２）、ＣＤ５、ＣＤ１６ａ、ＣＤ１６ｂ、ＣＤ２２、ＣＤ２３、ＣＤ３２、ＣＤ６４、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ８９、ＣＤ２７８、ＣＤ６６ｄ、それらの機能的フラグメント、及び少なくとも１つから最大２０までのそれに対する修飾を有するそれらのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質のＩＴＡＭまたはその一部を含む。いくつかの例では、該ＩＴＡＭは、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、またはＣＤ３イプシロンのＩＴＡＭを置き換える。いくつかの例では、該ＩＴＡＭは、ＣＤ３ゼータのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニットからなる群から選択されるとともに、ＣＤ３ゼータのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニ

ットからなる群から選択される異なるＩＴＡＭを置き換える。
【００１５】
いくつかの例では、該核酸は、ヌクレオチド類似体を含む。いくつかの例では、該ヌクレオチド類似体は、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾、ロックド核酸（ＬＮＡ）、エチレン核酸（ＥＮＡ）、ペプチド核酸（ＰＮＡ）、１’，５’－アンヒドロヘキシトール核酸（ＨＮＡ）、モルホリノ、メチルホスホン酸ヌクレオチド、チオールホスホン酸ヌクレオチド、及び２’－フルオロＮ３－Ｐ５’－ホスホルアミダイトからなる群から選択される。
【００１６】
１つの態様において、本明細書で提供される核酸分子によってコードされる単離されたポリペプチド分子を本明細書に提供する。
【００１７】
１つの態様において、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含む単離されたＴＦＰ分子を本明細書に提供する。
【００１８】
１つの態様において、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む単離されたＴＦＰ分子であって、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することが可能な該ＴＦＰ分子を本明細書に提供する。
【００１９】
１つの態様において、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む単離されたＴＦＰ分子であって、内因性ＴＣＲ複合体に機能的に統合することが可能な該ＴＦＰ分子を本明細書に提供する。
【００２０】
いくつかの例では、該単離されたＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含む抗体または抗体フラグメントを含む。いくつかの例では、該抗ＣＤ１９結合ドメインは、ｓｃＦｖまたはV_Hドメインである。いくつかの例では、該抗ＣＤ１９結合ドメインは、配列番号５１のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性がある重鎖、その機能的フラグメント、または少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するそのアミノ酸配列を含む。いくつかの例では、該抗ＣＤ１９結合ドメインは、配列番号４９のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性がある軽鎖、その機能的フラグメント、または少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するそのアミノ酸配列を含む。いくつかの例では、該単離されたＴＦＰ分子は、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニット、それらの機能的フラグメント、及び少なくとも１つから最大２０までの修飾を有するそれらのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその一部を含むＴＣＲの細胞外ドメインを含む。いくつかの例では、該抗ＣＤ１９結合ドメインは、リンカー配列によって該ＴＣＲの細胞外ドメインにつながれる。いくつかの例では、該リンカー領域は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝１～４である。
【００２１】
１つの態様において、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含む単離されたＴＦＰ分子を本明細書に提供する。

【００２２】
１つの態様において、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む単離されたＴＦＰ分子であって、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することが可能な該ＴＦＰ分子を本明細書に提供する。
【００２３】
１つの態様において、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む単離されたＴＦＰ分子であって、内因性ＴＣＲ複合体に機能的に統合することが可能な該ＴＦＰ分子を本明細書に提供する。
【００２４】
いくつかの例では、該単離されたＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含む抗体または抗体フラグメントを含む。いくつかの例では、該抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、ｓｃＦｖまたはV_Hドメインである。いくつかの例では、該抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５５のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性がある重鎖、その機能的フラグメント、または少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するそのアミノ酸配列を含む。いくつかの例では、該抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５３のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性がある軽鎖、その機能的フラグメント、または少なくとも１つから最大３０までの修飾を有するそのアミノ酸配列を含む。いくつかの例では、該単離されたＴＦＰ分子は、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニット、それらの機能的フラグメント、及び少なくとも１つから最大２０までの修飾を有するそれらのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその一部を含むＴＣＲの細胞外ドメインを含む。いくつかの例では、該抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、リンカー配列によって該ＴＣＲの細胞外ドメインにつながれる。いくつかの例では、該リンカー領域は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝１～４である。いくつかの例では、該単離されたＴＦＰ分子は、さらに、共刺激ドメインをコードする配列を含む。いくつかの例では、該単離されたＴＦＰ分子は、さらに、細胞内シグナル伝達ドメインをコードする配列を含む。いくつかの例では、該単離されたＴＦＰ分子は、さらにリーダー配列を含む。
【００２５】
１つの態様において、本明細書で提供されるＴＦＰをコードする核酸分子を含むベクターを本明細書に提供する。いくつかの例では、該ベクターは、ＤＮＡ、ＲＮＡ、プラスミド、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクター、ラウス肉腫ウイルス（ＲＳＶ）ベクター、またはレトロウイルスベクターからなる群から選択される。いくつかの例では、該ベクターは、さらにプロモーターを含む。いくつかの例では、該ベクターは、インビトロで転写されたベクターである。いくつかの例では、該ベクターの核酸配列は、さらにポリ（Ａ）尾部を含む。いくつかの例では、該ベクターの核酸配列は、さらに３’ＵＴＲを含む。
【００２６】
１つの態様において、本明細書で提供されるベクターを含む細胞を本明細書に提供する。いくつかの例では、該細胞はヒトＴ細胞である。いくつかの例では、該Ｔ細胞は、ＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞である。いくつかの例では、該細胞は、さらに、細胞内シグナル伝達ドメインからの陽性シグナルを含む第二のポリペプチドに会合した、抑制分子の少なくとも一部を含む第一のポリペプチドを含む抑制分子をコードする核酸を含む。いくつかの例では、該抑制分子は、ＰＤ１の少なくとも一部を含む第一のポリペプチドならびに共刺激ドメイン及び一次シグナル伝達ドメインを含む第二のポリペプチドを含む。
【００２７】
１つの態様において、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞であって、少なくとも２つのＴＦＰ分子を含み、該ＴＦＰ分子がヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの

細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含み、該ＴＦＰ分子が該ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の中で、該細胞において、及び／または該細胞の表面で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することが可能な該Ｔ細胞を本明細書に提供する。

【００２８】

１つの態様において、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含むＴＦＰ分子、ならびに少なくとも１つの内因性ＴＣＲ複合体を含むタンパク質複合体を本明細書に提供する。

【００２９】

いくつかの例では、該ＴＣＲは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニットからなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその一部を含む。いくつかの例では、該抗ＣＤ１９結合ドメインは、リンカー配列によって該ＴＣＲの細胞外ドメインにつながれる。いくつかの例では、該リンカー領域は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝１～４である。

【００３０】

１つの態様において、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含むＴＦＰ分子、ならびに少なくとも１つの内因性ＴＣＲ複合体を含むタンパク質複合体を本明細書に提供する。

【００３１】

いくつかの例では、該ＴＣＲは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンのＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマのＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタのＴＣＲサブユニットからなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその一部を含む。いくつかの例では、該抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、リンカー配列によって該ＴＣＲの細胞外ドメインにつながれる。いくつかの例では、該リンカー領域は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝１～４である。

【００３２】

１つの態様において、本明細書で提供されるタンパク質複合体あたり、少なくとも２つの異なるＴＦＰタンパク質を含むヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞を本明細書に提供する。

【００３３】

１つの態様において、本明細書で提供されるベクターでＴ細胞に形質導入することを含む細胞の作製方法を本明細書に提供する。

【００３４】

１つの態様において、インビトロで転写されたＲＮＡまたは合成ＲＮＡを細胞に導入することを含む、ＲＮＡ改変細胞集団の生成方法であって、該ＲＮＡが本明細書で提供されるＴＦＰ分子をコードする核酸を含むものである方法を本明細書に提供する。

【００３５】

１つの態様において、哺乳類に抗腫瘍免疫を与える方法であって、該哺乳類に対して、有効量の本明細書で提供されるＴＦＰ分子を発現する、または本明細書で提供されるポリペプチド分子を発現する細胞を投与することを含む方法を本明細書に提供する。

【００３６】

いくつかの例では、該細胞は自己Ｔ細胞である。いくつかの例では、該細胞は同種異系Ｔ細胞である。いくつかの例では、該哺乳類はヒトである。

【００３７】

１つの態様において、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う疾患を有する哺乳類の治療方法であって、該哺乳類に対して、有効量の本明細書で提供されるＴＦＰ分子、本明細書で提供される細胞、または本明細書で提供されるポリペプチド分子を投与することを含む方法を本明細書に提供する。

【００３８】

いくつかの例では、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う該疾患は、増殖性疾患、がん、悪性腫瘍、骨髄異形成、骨髄異形成症候群、前白血病、ＣＤ１９の発現を伴う非がん関連の適応症からなる群から選択される。いくつかの例では、該疾患は、Ｂ細胞急性リンパ性白血病（Ｂ－ＡＬＬ）、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（Ｔ－ＡＬＬ）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）；慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、Ｂ細胞前リンパ球性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、ヘアリー細胞白血病、小細胞濾胞性リンパ腫、大細胞濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性疾患、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成、骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、前白血病、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う疾患、及びこれらの組合せからなる群から選択される血液がんである。いくつかの例では、ＴＦＰ分子を発現する該細胞は、ＴＦＰ分子を発現する細胞の効果を高める薬剤と組み合わせて投与される。いくつかの例では、該哺乳類では、有効量の抗ＣＤ１９キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）または抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲを発現するＴ細胞を投与した哺乳類と比較して、サイトカインの放出が少ない。いくつかの例では、ＴＦＰ分子を発現する該細胞は、ＴＦＰ分子を発現する細胞の投与に伴う１つ以上の副作用を改善する薬剤と組み合わせて投与される。いくつかの例では、ＴＦＰ分子を発現する該細胞は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡに関連する疾患を治療する薬剤と組み合わせて投与される。

【００３９】

１つの態様において、本明細書で提供される単離された核酸分子、本明細書で提供される単離されたポリペプチド分子、本明細書で提供される単離されたＴＦＰ、本明細書で提供される複合体、本明細書で提供されるベクター、または本明細書で提供される細胞は、薬剤用である。

【００４０】

１つの態様において、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う疾患を有する哺乳類の治療方法であって、該哺乳類に対して、有効量の本明細書で提供されるＴＦＰ分子、本明細書で提供される細胞、または本明細書で提供されるポリペプチド分子を投与することを含み、該哺乳類では、抗ＣＤ１９キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）または抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲを発現するＴ細胞の有効量を投与された哺乳類と比較して、サイトカインの放出が少ないものである方法を本明細書に提供する。

【００４１】

参照による引用

本明細書で言及するすべての出版物、特許、及び特許出願は、個々の出版物、特許、または特許出願が具体的かつ個別に、参照することによって組み込まれることが示された場合と同じ程度まで、参照することによって本明細書に組み込まれる。

【００４２】

本発明の新規な特徴は、添付の特許請求の範囲に詳細に明記する。本発明の特徴及び利点のさらなる理解は、本発明の原理が利用される具体的な実施形態を明記する以下の詳細な説明、ならびに添付の図面を参照することによって得られるであろう。

【図面の簡単な説明】

【００４３】

【図１】本発明のＴ細胞受容体融合ポリペプチド（ＴＦＰ）の使用を示す概略図である。例示的なＴＦＰは、$(G_4S)_3$リンカー配列を介して融合された抗ＣＤ１９ｓｃＦｖ及び完全長ＣＤ３イプシロンポリペプチドを含む。Ｔ細胞によって産生またはＴ細胞に導入された場合、該ＴＦＰは、内因性Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）の他のポリペプチド（２つのＣＤ３イプシロンポリペプチド、１つのＣＤ３ガンマポリペプチド、１つのＣＤ３デルタポリペプチド、２つのＣＤ３ゼータポリペプチド、１つのＴＣＲアルファサブユニット、及び１つのＴＣＲベータサブユニットを含むことが示され、ここで横のグレーの部分は、原形質膜を表している）と会合し、内因性ＣＤ３イプシロンポリペプチドの一方または両方

がＴＦＰで置換された再プログラム化されたＴＣＲを形成する。
【図２】図２のＡは、本発明の再プログラム化されたＴ細胞受容体融合ポリペプチド（ＴＦＰ）の例示的な変形例を示す概略図を表す。図２のＡは、$(G_4S)_3$リンカー配列を介して融合された抗ＣＤ１９ｓｃＦｖ及び完全長ＴＣＲ　Ｖαポリペプチドを含むＴＦＰを含む例示的な再プログラム化されたＴＣＲを示す。図２のＢは、ｉ）$(G_4S)_3$リンカー配列を介して融合された抗ＣＤ１９ｓｃＦｖ及び完全長ＴＣＲ　Ｖαポリペプチドならびにｉｉ）$(G_4S)_3$リンカー配列を介して融合された抗ＣＤ１９ｓｃＦｖ及び完全長ＴＣＲ　Ｖβポリペプチドを含む複数のＴＦＰを含む一連の例示的な再プログラム化されたＴＣＲを示す。図２のＣは、ｉ）$(G_4S)_3$リンカー配列を介して融合された抗ＣＤ１９ｓｃＦｖ及び欠失（Δ）ＴＣＲポリペプチドならびにｉｉ）$(G_4S)_3$リンカー配列を介して融合された抗ＣＤ１９ｓｃＦｖ及び完全長ＣＤ３イプシロンポリペプチドを含む複数のＴＦＰを含む例示的な再プログラム化されたＴＣＲを示す。該欠失（Δ）ＴＣＲポリペプチドは、Ｖαの削除によって欠失している。図２のＤは、ｉ）$(G_4S)_3$リンカー配列を介して融合された抗ＣＤ１９ｓｃＦｖ及び欠失（Δ）ＴＣＲ　Ｖαポリペプチドならびにｉｉ）$(G_4S)_3$リンカー配列を介して融合された抗ＣＤ１９ｓｃＦｖ及び欠失（Δ）ＴＣＲ　Ｖβポリペプチドを含む複数のＴＦＰを含む例示的な再プログラム化されたＴＣＲを示す。該欠失（Δ）ＴＣＲポリペプチドは、Ｖβの削除によって欠失している。
【図３】本発明のＴ細胞受容体融合ポリペプチド（ＴＦＰ）の使用を示す概略図である。例示的なＴＦＰは、$(G_4S)_3$リンカー配列を介して融合された抗ＣＤ１９V_Hドメイン及び完全長ＣＤ３イプシロンポリペプチドを含む。Ｔ細胞によって産生またはＴ細胞に導入された場合、該ＴＦＰは、内因性Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）の他のポリペプチド（２つのＣＤ３イプシロンポリペプチド、１つのＣＤ３ガンマポリペプチド、１つのＣＤ３デルタポリペプチド、２つのＣＤ３ゼータポリペプチド、１つのＴＣＲアルファサブユニット、及び１つのＴＣＲベータサブユニットを含むことが示され、ここで横のグレーの部分は、原形質膜を表している）と会合し、内因性ＣＤ３イプシロンポリペプチドの一方または両方がＴＦＰで置換された再プログラム化されたＴＣＲを形成する。
【図４】様々なＴＦＰをコードするＤＮＡ構築物を示す一連の概略図である。
【図５】レンチウイルスの形質導入後のＴ細胞上での抗ＣＤ１９　ＬＬ（長いリンカー）ＴＦＰの表面発現を示す例示的な棒グラフである。エフェクターＴ細胞は、未形質導入であったか、または、抗ＣＤ１９－２８ζ　ＣＡＲもしくは示されている抗ＣＤ１９　ＬＬ　ＴＦＰ構築物のいずれかで形質導入された。ＩＬ－２中で１０日間増殖させた後、それらの適切なＣＡＲまたはＴＦＰ構築物の表面発現をフローサイトメトリーで測定した。
【図６】レンチウイルスの形質導入後のＴ細胞上での抗ＣＤ１９　ＳＬ（短いリンカー）ＴＦＰの表面発現を示す例示的な棒グラフである。エフェクターＴ細胞は、未形質導入であったか、または、抗ＣＤ１９－２８ζ　ＣＡＲもしくは示されている抗ＣＤ１９　ＳＬ　ＴＦＰ構築物のいずれかで形質導入された。ＩＬ－２中で７日間増殖させた後、それらの適切なＣＡＲまたはＴＦＰ構築物の表面発現をフローサイトメトリーで測定した。
【図７】レンチウイルスの形質導入後のＴ細胞上での抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰの表面発現を示す例示的な棒グラフである。エフェクターＴ細胞は、未形質導入であったか、または、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３εもしくは抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γＴＦＰ構築物のいずれかで形質導入された。ＩＬ－２中で１０日間増殖させた後、それらの表面ＴＦＰ発現をフローサイトメトリーで測定した。
【図８】抗ＣＤ１９　ＬＬ　ＴＦＰによるＣＤ１９発現Ｒａｊｉ標的細胞の死滅を示す例示的な棒グラフである。形質導入されたエフェクターＴ細胞を１４日間増殖させ、その後１８時間、1×10^4個のＲａｊｉ標的細胞とともに、Ｅ：Ｔ比２０：１、１０：１、または５：１でインキュベートした。細胞傷害性率は、フローサイトメトリー細胞傷害性アッセイにて測定した。
【図９】抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰによるＢＣＭＡ発現ＲＰＭＩ８２２６標的細胞の死滅を示す例示的な棒グラフである。形質導入されたエフェクターＴ細胞を１２日間増殖させ、その

後４時間、１×１０^{4}個のＲＰＭＩ８２２６標的細胞とともに、Ｅ：Ｔ比１０：１、または５：１でインキュベートした。細胞傷害性率は、フローサイトメトリー細胞傷害性アッセイにて測定した。

【図１０Ａ】抗ＣＤ１９－２８ζ　ＣＡＲ構築物による経時的なＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞の死滅を示す例示的なグラフである。形質導入されたエフェクターＴ細胞を１４日間増殖させ、その後、１×１０^{4}個のＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞とともにインキュベートした。細胞傷害性を示す細胞指数は、ＲＴＣＡアッセイにて測定した。

【図１０Ｂ】抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＬＬ　ＴＦＰ構築物による経時的なＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞の死滅を示す例示的なグラフである。形質導入されたエフェクターＴ細胞を１４日間増殖させ、その後、１×１０^{4}個のＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞とともにインキュベートした。細胞傷害性を示す細胞指数は、ＲＴＣＡアッセイにて測定した。

【図１０Ｃ】抗ＣＤ１９－ＣＤ３γ　ＬＬ　ＴＦＰ構築物による経時的なＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞の死滅を示す例示的なグラフである。形質導入されたエフェクターＴ細胞を１４日間増殖させ、その後、１×１０^{4}個のＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞とともにインキュベートした。細胞傷害性を示す細胞指数は、ＲＴＣＡアッセイにて測定した。

【図１０Ｄ】抗ＣＤ１９－ＴＣＲαｃ　ＬＬ　ＴＦＰ構築物による経時的なＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞の死滅を示す例示的なグラフである。形質導入されたエフェクターＴ細胞を１４日間増殖させ、その後、１×１０^{4}個のＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞とともにインキュベートした。細胞傷害性を示す細胞指数は、ＲＴＣＡアッセイにて測定した。

【図１０Ｅ】抗ＣＤ１９－ＴＣＲβｃ　ＬＬ　ＴＦＰ構築物による経時的なＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞の死滅を示す例示的なグラフである。形質導入されたエフェクターＴ細胞を１４日間増殖させ、その後、１×１０^{4}個のＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞とともにインキュベートした。細胞傷害性を示す細胞指数は、ＲＴＣＡアッセイにて測定した。

【図１０Ｆ】抗ＣＤ１９－ＴＣＲα　ＬＬ　ＴＦＰ構築物による経時的なＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞の死滅を示す例示的なグラフである。形質導入されたエフェクターＴ細胞を１４日間増殖させ、その後、１×１０^{4}個のＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞とともにインキュベートした。細胞傷害性を示す細胞指数は、ＲＴＣＡアッセイにて測定した。

【図１０Ｇ】抗ＣＤ１９－ＴＣＲβ　ＬＬ　ＴＦＰ構築物による経時的なＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞の死滅を示す例示的なグラフである。形質導入されたエフェクターＴ細胞を１４日間増殖させ、その後、１×１０^{4}個のＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞とともにインキュベートした。細胞傷害性を示す細胞指数は、ＲＴＣＡアッセイにて測定した。

【図１１】抗ＣＤ１９　ＴＦＰによるＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞の死滅を示す例示的なグラフである。形質導入されたエフェクターＴ細胞を７日間増殖させ、その後、１×１０^{4}個のＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞とともにインキュベートした。細胞傷害性を示す細胞指数は、ＲＴＣＡアッセイにて測定した。

【図１２】抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰによる経時的なＢＣＭＡ形質導入ＨｅＬａ標的細胞の死滅を示す例示的なグラフである。未形質導入または抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３εもしくは抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ　ＴＦＰで形質導入されたエフェクターＴ細胞を７日間増殖させ、その後、１×１０^{4}個のＨｅＬａまたはＨｅＬａ－ＢＣＭＡ標的細胞とともにインキュベートした。細胞傷害性を示す細胞指数は、ＲＴＣＡアッセイにて測定した。

【図１３】抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＬＬ　ＴＦＰをコードする様々な量のレンチウイルスで形質導入されたＴ細胞の経時的な殺活性を示す例示的なグラフである。抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＬＬ　ＴＦＰをコードするレンチウイルスの示されたＭＯＩで形質導入されたＴ細胞を１４日間増殖させ、その後、１×１０^{4}個のＣＤ１９形質導入ＨｅＬａ標的細胞と

ともにインキュベートした。細胞傷害性を示す細胞指数を測定した。
【図１４】抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＳＬまたは抗ＣＤ１９－ＣＤ３γ　ＳＬ　ＴＲｕＣをコードするインビトロで転写された（ＩＶＴ）ｍＲＮＡのエレクトロポレーションによってトランスフェクトされたＴ細胞の殺活性を示す例示的なグラフである。エフェクターＴ細胞を、ＧＦＰ対照、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＳＬ、または抗ＣＤ１９－ＣＤ３γ　ＳＬ　ＴＲｕＣのいずれかをコードするインビトロで転写された（ＩＶＴ）ｍＲＮＡで活性化されたＰＢＭＣのエレクトロポレーションによってトランスフェクトした。３日間増殖させた後、該エフェクターを４時間、１×１０^{4}個のＲａｊｉ細胞またはＫ５６２細胞とともに、Ｅ：Ｔ比１０：１でインキュベートした。細胞傷害率は、フローサイトメトリー細胞傷害性アッセイにて測定した。
【図１５Ａ】ＣＤ１９担持標的細胞に応答した、抗ＣＤ１９　ＬＬ　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞によるＩＬ－２の放出を示す例示的なグラフである。未形質導入であるか、対照のＣＡＲ、抗ＣＤ１９－２８ζＣＡＴ、または示された抗ＣＤ１９　ＬＬ　ＴＦＰで形質導入されたエフェクターＴ細胞を１４日間増殖させた後、１×１０^{4}個のＲａｊｉまたはＫ５６２のいずれかの標的細胞とインキュベートした。ＩＬ－２レベルをＥＬＩＳＡによって測定した。
【図１５Ｂ】ＣＤ１９担持標的細胞に応答した、抗ＣＤ１９　ＬＬ　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞によるＩＦＮ－γの放出を示す例示的なグラフである。未形質導入であるか、対照のＣＡＲ、抗ＣＤ１９－２８ζＣＡＴ、または示された抗ＣＤ１９　ＬＬ　ＴＦＰで形質導入されたエフェクターＴ細胞を１４日間増殖させた後、１×１０^{4}個のＲａｊｉまたはＫ５６２のいずれかの標的細胞とインキュベートした。ＩＦＮ－γレベルをＥＬＩＳＡによって測定した。
【図１５Ｃ】ＣＤ１９担持標的細胞に応答した、抗ＣＤ１９　ＬＬ　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞によるＩＬ－２の放出を示す例示的なグラフである。未形質導入であるか、対照のＣＡＲ、抗ＣＤ１９－２８ζＣＡＴ、または示された抗ＣＤ１９　ＬＬ　ＴＦＰで形質導入されたエフェクターＴ細胞を１４日間増殖させた後、１×１０^{4}個のＨｅＬａまたはＣＤ１９－ＨｅＬａのいずれかの標的細胞とインキュベートした。ＩＬ－２レベルをＥＬＩＳＡによって測定した。
【図１５Ｄ】ＣＤ１９担持標的細胞に応答した、抗ＣＤ１９　ＬＬ　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞によるＩＦＮ－γの放出を示す例示的なグラフである。未形質導入であるか、対照のＣＡＲ、抗ＣＤ１９－２８ζＣＡＴ、または示された抗ＣＤ１９　ＬＬ　ＴＦＰで形質導入されたエフェクターＴ細胞を１４日間増殖させた後、１×１０^{4}個のＨｅＬａまたはＣＤ１９－ＨｅＬａのいずれかの標的細胞とインキュベートした。ＩＦＮ－γレベルをＥＬＩＳＡによって測定した。
【図１６】ＣＤ１９担持標的細胞に応答した、抗ＣＤ１９　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞によるＩＦＮ－γの放出を示す例示的なグラフである。未形質導入であるか、示された抗ＣＤ１９　ＴＦＰで形質導入されたエフェクターＴ細胞を７日間増殖させた後、１×１０^{4}個のＨｅＬａまたはＣＤ１９－ＨｅＬａのいずれかの標的細胞とインキュベートした。ＩＦＮ－γレベルをＥＬＩＳＡによって測定した。
【図１７Ａ】ＢＣＭＡ担持標的細胞に応答した、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞によるＩＬ－２の放出を示す例示的なグラフである。未形質導入であるか、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３εまたは抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γのいずれかのＴＦＰで形質導入されたエフェクターＴ細胞を７日間増殖させた後、１×１０^{4}個のＨｅＬａまたはＨｅＬａ－ＢＣＭＡのいずれかの標的細胞とインキュベートした。ＩＬ－２の産生を２プレックスＬｕｍｉｎｅｘによって測定した。
【図１７Ｂ】ＢＣＭＡ担持標的細胞に応答した、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞によるＩＦＮ－γの放出を示す例示的なグラフである。未形質導入であるか、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３εまたは抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γのいずれかのＴＦＰで形質導入されたエフェクターＴ細胞を７日間増殖させた後、１×１０^{4}個のＨｅＬａまたはＨｅＬａ－ＢＣＭＡのいずれかの標的細胞とインキュベートした。ＩＦＮ－γの産生を２プレックスＬｕｍｉ

ｎｅｘによって測定した。
【図１８】ＣＤ１９担持標的細胞に応答した、抗ＣＤ１９　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞の脱顆粒を示す例示的なグラフである。未形質導入であるか、抗ＣＤ１９－２８ζ　ＣＡＲ、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε　ＬＬ　ＴＦＰ、または抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ　ＬＬ　ＴＦＰのいずれかで形質導入されたエフェクターＴ細胞を１４日間増殖させた後、1×10^4個の示されたＣＤ１９＋ｖｅまたはＣＤ１９－ｖｅ標的細胞とインキュベートした。ＣＤ３＋ＣＤ８＋ゲート内のＣＤ１０７＋細胞の割合を測定した。標的及びエフェクター細胞を、蛍光標識した抗ＣＤ１０７ａ抗体の存在下、共培養した。細胞表面のＣＤ１０７ａに対してポジティブ染色したＣＤ３及びＣＤ４／ＣＤ８ゲート内のＴ細胞の割合をその後フローサイトメトリーによって測定した。
【図１９】ＢＣＭＡ担持標的細胞に応答した、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞の脱顆粒を示す例示的なグラフである。未形質導入であるか、５０ＭＯＩの抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３εまたは抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ　ＴＦＰのいずれかで形質導入されたエフェクターＴ細胞を１３日間増殖させた後、1×10^4個の示されたＢＣＭＡ＋ｖｅ　ＲＰＭＩ８２２６標的細胞とインキュベートした。ＣＤ３＋ＣＤ８＋ゲート内のＣＤ１０７＋細胞の割合を測定した。
【図２０Ａ】播種性ヒト白血病異種移植モデルにおける、抗ＣＤ１９　ＬＬ　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞のインビボ効力の例示的なグラフを示す。ＮＳＧマウスに、養子移入の３日前に5×10^5個のＲａｊｉ細胞を静脈内投与し、未形質導入であるか、または抗ＣＤ１９－２８ζ　ＣＡＲ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＬＬ　ＴＦＰ、もしくは抗ＣＤ１９－ＣＤ３γ　ＬＬ　ＴＦＰのいずれかで形質導入された5×10^6個のＴ細胞を養子移入した。
【図２０Ｂ】播種性ヒト白血病異種移植モデルにおける、抗ＣＤ１９　ＬＬ　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞のインビボ効力の例示的なグラフを示す。ＮＳＧマウスに、養子移入の３日前に1×10^6個のＮａｌｍ－６細胞（右）を静脈内投与し、未形質導入であるか、または抗ＣＤ１９－２８ζ　ＣＡＲ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＬＬ　ＴＦＰ、もしくは抗ＣＤ１９－ＣＤ３γ　ＬＬ　ＴＦＰのいずれかで形質導入された5×10^6個のＴ細胞を養子移入した。ログランク（マンテル・コックス）検定による生存曲線の比較で、ｐ＝０．０００１（第４群対第１、２、３群）、ｐ＝０．０００１（第１群対第２、３群）、及びｐ＝０．０００４（第２群対第３群）が示された。ゲーハン・ブレスロー・ウィルコクソン検定による生存曲線の比較では、ｐ＝０．０００１（第４群対第１、２、３群）、ｐ＝０．０００１（第１群対第２、３群），及びｐ＝０．０００５（第２群対第３群）が示された。
【発明を実施するための形態】
【００４４】
発明の詳細な説明
１つの態様において、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された核酸分子であって、該ＴＦＰが、ＴＣＲサブユニット、及び抗ＣＤ１９結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインを含む分子を本明細書に提供する。いくつかの実施形態では、該ＴＣＲサブユニットは、ＴＣＲの細胞外ドメインを含む。他の実施形態では、該ＴＣＲサブユニットは、ＴＣＲの膜貫通ドメインを含む。さらに他の実施形態では、該ＴＣＲサブユニットは、ＴＣＲの細胞内ドメインを含む。さらなる実施形態では、該ＴＣＲサブユニットは、（ｉ）ＴＣＲの細胞外ドメイン、（ｉｉ）ＴＣＲの膜貫通ドメイン、及び（ｉｉｉ）ＴＣＲの細胞内ドメインを含むとともに、（ｉ）、（ｉｉ）、及び（ｉｉｉ）のうちの少なくとも２つは同じＴＣＲサブユニット由来である。さらに別の実施形態では、該ＴＣＲサブユニットは、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマ、もしくはＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメインから選択される刺激ドメイン、または少なくとも１つ、２つ、もしくは３つのそれに対する修飾を有するアミノ酸配列を含むＴＣＲの細胞内ドメインを含む。さらに別の実施形態では、該ＴＣＲサブユニットは、４－１ＢＢの機能的シグナル伝達ドメイン及び／またはＣＤ３ゼータの機能的シグナル伝達ドメイン

から選択される刺激ドメイン、またはそれに対する少なくとも１つ、２つ、もしくは３つの修飾を有するアミノ酸配列を含む細胞内ドメインを含む。

【００４５】

いくつかの実施形態では、該ヒトまたはヒト化抗体ドメインは、抗体フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、該ヒトまたはヒト化抗体ドメインは、ｓｃＦｖまたはV_Hドメインを含む。

【００４６】

いくつかの実施形態では、該単離された核酸分子は、（ｉ）本明細書で提供されるいずれかの抗ＣＤ１９軽鎖結合ドメインのアミノ酸配列の軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２、及びＬＣ　ＣＤＲ３、及び／または（ｉｉ）本明細書で提供されるいずれかの抗ＣＤ１９重鎖結合ドメインのアミノ酸配列の重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、及びＨＣ　ＣＤＲ３を含む。

【００４７】

いくつかの実施形態では、該軽鎖可変領域は、本明細書で提供される軽鎖可変領域のアミノ酸配列の少なくとも１つ、２つ、もしくは３つの修飾から最大３０、２０、もしくは１０までの修飾を有するアミノ酸配列、または、本明細書で提供されるアミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性がある配列を含む。他の実施形態では、該重鎖可変領域は、本明細書で提供される重鎖可変領域のアミノ酸配列の少なくとも１つ、２つ、もしくは３つの修飾から最大３０、２０、もしくは１０までの修飾を有するアミノ酸配列、または、本明細書で提供されるアミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性がある配列を含む。

【００４８】

いくつかの実施形態では、該ＴＦＰは、Ｔ細胞受容体のアルファもしくはベータ鎖、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、またはＣＤ３ガンマからなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインもしくはその一部、もしくはその機能的フラグメント、またはそれに対する少なくとも１つ、２つ、もしくは３つの修飾から最大２０、１０、もしくは５つまでの修飾を有するアミノ酸配列を含むＴＣＲサブユニットの細胞外ドメインを含む。他の実施形態では、該コードされたＴＦＰは、ＴＣＲのアルファ鎖、ベータ鎖、もしくはＴＣＲサブユニットのＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマ、及びＣＤ３デルタからなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメイン、またはそれらの機能的フラグメント、もしくはそれに対する少なくとも１つ、２つ、もしくは３つから最大２０、１０、もしくは５までの修飾を有するアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインを含む。

【００４９】

いくつかの実施形態では、該コードされたＴＦＰは、ＴＣＲのアルファ、ベータ、もしくはゼータ鎖、またはＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマ、及びＣＤ３デルタ　ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ２８、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ならびにＣＤ１５４からなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメイン、もしくはその機能的フラグメント、またはそれに対する少なくとも１つ、２つ、もしくは３つの修飾から最大２０、１０、もしくは５までの修飾を有するアミノ酸配列を含む膜貫通ドメインを含む。

【００５０】

いくつかの実施形態では、該コードされた抗ＣＤ１９結合ドメインは、リンカー配列によって該ＴＣＲの細胞外ドメインにつながれる。いくつかの例では、該コードされたリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝１～４である。いくつかの例では、該コードされたリンカー配列は、長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの例では、該コードされた長いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝２～４である。いくつかの例では、該コードされたリンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの例では、該コードされた短いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝１～３である。

【００５１】

いくつかの実施形態では、該単離された核酸分子は、さらに、共刺激ドメインをコード

する配列を含む。いくつかの例では、該共刺激ドメインは、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）、及び４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）からなる群から選択されるタンパク質、またはそれに対する少なくとも１つ、２つ、もしくは３つの修飾から最大２０、１０、もしくは５つまでの修飾を有するアミノ酸配列から得られる機能的シグナル伝達ドメインである。

【００５２】

いくつかの実施形態では、該単離された核酸分子は、さらにリーダー配列を含む。

【００５３】

また、前述の核酸分子のいずれかによってコードされる単離されたポリペプチド分子を本明細書に提供する。

【００５４】

また、別の態様において、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含む単離されたＴ細胞受容体融合タンパク質（ＴＦＰ）分子を本明細書に提供する。いくつかの実施形態では、該単離されたＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含む抗体または抗体フラグメントを含む。

【００５５】

いくつかの実施形態では、該抗ＣＤ１９結合ドメインは、ｓｃＦｖまたはV_Hドメインである。他の実施形態では、該抗ＣＤ１９結合ドメインは、本明細書で提供されるアミノ酸配列の軽鎖及び重鎖、もしくはそれらの機能的フラグメント、もしくは本明細書で提供される軽鎖可変領域のアミノ酸配列の少なくとも１つ、２つ、もしくは３つの修飾から最大３０、２０、もしくは１０までの修飾を有するアミノ酸配列、または、本明細書で提供されるアミノ酸配列に９５～９９％の同一性がある配列を含む。

【００５６】

いくつかの実施形態では、該単離されたＴＦＰ分子は、Ｔ細胞受容体のアルファもしくはベータ鎖、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、またはＣＤ３ガンマからなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインもしくはその一部、またはそれに対する少なくとも１つ、２つ、もしくは３つの修飾から最大２０、１０、もしくは５つまでの修飾を有するアミノ酸配列を含むＴＣＲの細胞外ドメインを含む。

【００５７】

いくつかの実施形態では、該ＣＤ１９結合ドメインは、リンカー配列によって該ＴＣＲの細胞外ドメインにつながれる。いくつかの例では、該リンカー領域は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝１～４である。いくつかの例では、該リンカー配列は、長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの例では、該長いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝２～４である。いくつかの例では、該リンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの例では、該短いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝１～３である。

【００５８】

いくつかの実施形態では、該単離されたＴＦＰ分子は、さらに、共刺激ドメインをコードする配列を含む。他の実施形態では、該単離されたＴＦＰ分子は、さらに、細胞内シグナル伝達ドメインをコードする配列を含む。さらに他の実施形態では、該単離されたＴＦＰ分子は、さらにリーダー配列を含む。

【００５９】

また、前述のＴＦＰ分子のいずれかをコードする核酸分子を含むベクターを本明細書に提供する。いくつかの実施形態では、該ベクターは、ＤＮＡ、ＲＮＡ、プラスミド、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクター、またはレトロウイルスベクターからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、該ベクターは、さらにプロモーターを含む。いくつかの実施形態では、該ベクターは、インビトロで転写されたベクターである。いくつかの実施形態では、該ベクターの核酸配列は、さらにポリ（Ａ）尾部を含む。いくつ

かの実施形態では、該ベクターの核酸配列は、さらに３’ＵＴＲを含む。

【００６０】

また、記載のベクターのいずれかを含む細胞を本明細書に提供する。いくつかの実施形態では、該細胞はヒトＴ細胞である。いくつかの実施形態では、該細胞は、ＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞である。他の実施形態では、該細胞は、さらに、細胞内シグナル伝達ドメインからの陽性シグナルを含む第二のポリペプチドに会合した、抑制分子の少なくとも一部を含む第一のポリペプチドを含む抑制分子をコードする核酸を含む。いくつかの実施形態では、該抑制分子は、ＰＤ１の少なくとも一部を含む第一のポリペプチドならびに共刺激ドメイン及び一次シグナル伝達ドメインを含む第二のポリペプチドを含む。

【００６１】

別の態様において、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む単離されたＴＦＰ分子であって、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することが可能な該ＴＦＰ分子を本明細書に提供する。

【００６２】

別の態様において、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む単離されたＴＦＰ分子であって、内因性ＴＣＲ複合体に機能的に統合することが可能な該ＴＦＰ分子を本明細書に提供する。

【００６３】

別の態様において、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞であって、少なくとも２つのＴＦＰ分子を含み、該ＴＦＰ分子がヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含み、該ＴＦＰ分子が該ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の中で、該細胞において、及び／または該細胞の表面で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することが可能な該Ｔ細胞を本明細書に提供する。

【００６４】

別の態様において、ｉ）ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含むＴＦＰ分子、ならびにｉｉ）少なくとも１つの内因性ＴＣＲ複合体を含むタンパク質複合体を本明細書に提供する。

【００６５】

いくつかの実施形態では、該ＴＣＲは、Ｔ細胞受容体のアルファもしくはベータ鎖、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、またはＣＤ３ガンマからなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインもしくはその一部を含む。いくつかの実施形態では、該抗ＣＤ１９結合ドメインは、リンカー配列によって該ＴＣＲの細胞外ドメインにつながれる。いくつかの例では、該リンカー領域は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝１～４である。いくつかの例では、該リンカー配列は、長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの例では、該長いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝２～４である。いくつかの例では、該リンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの例では、該短いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝１～３である。

【００６６】

また、記載のいずれかのタンパク質複合体あたり、少なくとも２つの異なるＴＦＰタンパク質を含むヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞を本明細書に提供する。

【００６７】

別の態様において、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団であって、該集団の該Ｔ細胞が個々にまたは集合的に少なくとも２つのＴＦＰ分子を含み、該ＴＦＰ分子がヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメインもしくは抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含み、該ＴＦＰ分子が該ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の中で、該細胞において、及び／または該細胞の表面で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用す

ることが可能な該Ｔ細胞集団を本明細書に提供する。
【００６８】
別の態様において、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団であって、該集団の該Ｔ細胞が個々にまたは集合的に、本明細書で提供される単離された核酸分子によってコードされる少なくとも２つのＴＦＰ分子を含む該Ｔ細胞集団を本明細書に提供する。
【００６９】
別の態様において、Ｔ細胞に記載のベクターのいずれかで形質導入することを含む細胞の作製方法を本明細書に提供する。
【００７０】
別の態様において、インビトロで転写されたＲＮＡまたは合成ＲＮＡを細胞に導入することを含む、ＲＮＡ改変細胞集団の生成方法であって、該ＲＮＡが記載のＴＦＰ分子のいずれかをコードする核酸を含むものである方法を本明細書に提供する。
【００７１】
別の態様において、哺乳類に抗腫瘍免疫を与える方法であって、該哺乳類に対して、記載のＴＦＰ分子のいずれかを発現する細胞の有効量を投与することを含む方法を本明細書に提供する。いくつかの実施形態では、該細胞は自己Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、該細胞は、同種異系Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、該哺乳類はヒトである。
【００７２】
別の態様において、ＣＤ１９の発現を伴う疾患を有する哺乳類の治療方法であって、該哺乳類に対して、記載のＴＦＰ分子のいずれかを含む細胞の有効量を投与することを含む方法を本明細書に提供する。いくつかの実施形態では、ＣＤ１９の発現を伴う該疾患は、増殖性疾患、例えば、がんもしくは悪性腫瘍、または前がん状態、例えば、骨髄異形成、骨髄異形成症候群、もしくは前白血病、またはＣＤ１９の発現を伴う非がん関連の適応症から選択される。いくつかの実施形態では、該疾患は、Ｂ細胞急性リンパ性白血病（「Ｂ－ＡＬＬ」）、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（「Ｔ－ＡＬＬ」）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）が挙げられるがこれらに限定されない１つ以上の急性白血病；慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）が挙げられるがこれらに限定されない１つ以上の慢性白血病；Ｂ細胞前リンパ球性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、ヘアリー細胞白血病、小細胞もしくは大細胞濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性疾患、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成及び骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、及び骨髄の血液細胞の無効な産生（または異形成）によってまとめられる様々な血液疾患の集まりである「前白血病」が挙げられるがこれらに限定されないさらなる血液がんまたは血液疾患、及び非定型及び／または非古典的がん、悪性腫瘍、ＣＤ１９を発現する前がん状態もしくは増殖性疾患が挙げられるがこれらに限定されないＣＤ１９の発現を伴う疾患；及びそれらの組合せがからなる群から選択される血液がんである。
【００７３】
いくつかの実施形態では、記載のＴＦＰ分子のいずれかを発現する細胞は、ＴＦＰ分子を発現する細胞の投与に伴う１つ以上の副作用を改善する薬剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、記載のＴＦＰ分子のいずれかを発現する該細胞は、ＣＤ１９に関連する疾患を治療する薬剤と組み合わせて投与される。
【００７４】
また、記載の単離された核酸分子のいずれか、記載の単離されたポリペプチド分子のいずれか、記載の単離されたＴＦＰ分子のいずれか、記載のタンパク質複合体のいずれか、記載のベクターのいずれか、または記載の細胞のいずれかは、薬剤用である。
【００７５】
定義

別段の定義のない限り、本明細書で用いるすべての技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。

【００７６】

用語「ａ」及び「ａｎ」は、該冠詞の文法上の目的語の１つまたは１つより多く（すなわち、少なくとも１つ）を指す。例として、「ａｎ　ｅｌｅｍｅｎｔ（要素）」は、１つの要素または１つより多い要素を意味する。

【００７７】

本明細書で用いられる、「約」は、状況及び当業者が知るまたは知り得ることに応じて、プラスマイナス１パーセント未満もしくは１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０、または３０パーセント超を意味することができる。

【００７８】

本明細書で用いられる、「ｓｕｂｊｅｃｔ（対象）」もしくは「ｓｕｂｊｅｃｔｓ（対象）」または「ｉｎｄｉｖｉｄｕａｌｓ（個体）」には、哺乳類、例えば、ヒトまたは非ヒト哺乳類、例えば、家畜、農業用、または野生の動物、ならびに鳥類及び水生動物が含まれ得るがこれらに限定されない。「ｐａｔｉｅｎｔ（患者）」は、疾患、障害、もしくは状態に罹患している、もしくはその発病の危険性がある対象、または他の面では、本明細書で提供される組成物及び方法を必要とする対象である。

【００７９】

本明細書で用いられる、「ｔｒｅａｔｉｎｇ（治療すること）」または「ｔｒｅａｔｍｅｎｔ（治療）」は、該疾患もしくは状態の治療または改善における成功の任意の兆候を指す。治療することには、例えば、該疾患もしくは状態の１つ以上の症状の重症度を縮小すること、遅らせること、または軽減することが含まれる場合も、患者が経験する疾患、不具合、障害、または悪条件等の症状の頻度を減少させることが含まれる場合もある。本明細書で用いられる、「ｔｒｅａｔ　ｏｒ　ｐｒｅｖｅｎｔ（治療または予防）」は、該疾患もしくは状態のある程度の治療または改善をもたらす方法を指すために本明細書で用いられることがあり、また、該状態の完全な予防が挙げられるがこれに限定されないその目的に向けられた様々な結果を企図する。

【００８０】

本明細書で用いられる、「ｐｒｅｖｅｎｔｉｎｇ（予防すること）」は、患者における疾患または状態、例えば、腫瘍形成の予防を指す。例えば、腫瘍または他のがんの形態の発症の危険性がある個体が本発明の方法で治療され、後に該腫瘍または他のがんの形態を発症しない場合、該疾患は少なくともある期間にわたってその個体において予防されている。

【００８１】

本明細書で用いられる、「治療有効量」は、組成物またはその活性成分の、該組成物が投与される個体に対して有益な効果を与えるのに、またはそうでなければ有害な有益でない事象を減少させるのに十分な量である。「治療有効用量」は、本明細書では、１つ以上の所望のまたは望ましい（例えば、有益な）効果を生み出すために投与される用量を意味し、かかる投与は特定期間に１回以上存在する。正確な用量は、当該治療の目的に依存し、既知の技術を用いて当業者によって解明可能である（例えば、Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｄｏｓａｇｅ　Ｆｏｒｍｓ　（ｖｏｌｓ．　１－３，１９９２）；Ｌｌｏｙｄ，Ｔｈｅ　Ａｒｔ，Ｓｃｉｅｎｃｅ　ａｎｄ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　ｏｆ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｃｏｍｐｏｕｎｄｉｎｇ　（１９９９）；及びＰｉｃｋａｒ，Ｄｏｓａｇｅ　Ｃａｌｃｕｌａｔｉｏｎｓ　（１９９９）参照）。

【００８２】

本明細書で用いられる、「Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質」または「ＴＦＰ」は、該ＴＣＲを含む様々なポリペプチド由来の組み換えポリペプチドを含み、該ＴＣＲは、概してｉ）標的細胞上の表面抗原に結合すること、及びｉｉ）通常はＴ細胞内またはそ

の表面上で同一の場所に配置された場合に、無傷のＴＣＲ複合体の他のポリペプチド成分と相互作用することが可能である。

【００８３】

本明細書で用いられる、用語「ＣＤ１９」は、表面抗原分類１９のタンパク質を指し、これは、Ｂ細胞白血病前駆細胞、他の悪性Ｂ細胞、及び正常Ｂ細胞系列のほとんどの細胞上で検出可能な抗原決定基である。ヒト及びマウスのアミノ酸ならびに核酸配列は、公共のデータベース、例えば、ＧｅｎＢａｎｋ、ＵｎｉＰｒｏｔ、及びＳｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔに見出すことができる。例えば、ヒトＣＤ１９のアミノ酸配列は、ＵｎｉＰｒｏｔ／Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔアクセッション番号Ｐ１５３９１として見出すことができる。ヒトＣＤ１９ポリペプチドの標準的な配列は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ１５３９１（またはＰ１５３９１－１）：

【００８４】

【表１】

MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRES
PLKPFLKLSLGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWT
VNVEGSGELFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIW
EGEPPCLPPRDSLNQSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPK
SLLSLELKDDRPARDMWVMETGLLLPRATAQDAGKYYCHRGNLTMSFHLEITARPV
LWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRRKRKRMTDPTRRFFK
VTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGAL
GSRSPPGVGPEEEEGEGYEEPDSEEDSEFYENDSNLGQDQLSQDGSGYENPEDEPL
GPEDEDSFSNAESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGSAWDPSREATSLGSQSYEDM
RGILYAAPQLRSIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMGTWSTR

（配列番号１）である。

【００８５】

ヒトＣＤ１９をコードするヌクレオチド配列は、アクセッション番号ＮＭ００１１７８０９８で見出すことができる。ＣＤ１９は、例えば、ＡＬＬ、ＣＬＬ、及び非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）を含めたほとんどのＢ細胞系列のがんで発現される。ＣＤ１９を発現する他の細胞は、「ＣＤ１９の発現を伴う疾患」の定義内で以下に示す。それはまた、正常Ｂ細胞の前駆細胞の初期マーカーである。例えば、Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｍｏｌ．　Ｉｍｍｕｎ．　３４　（１６－１７）：　１１５７－１１６５　（１９９７）参照。一例では、ＴＦＰの抗原結合部位は、悪性及び正常Ｂ細胞で発現されるＣＤ１９タンパク質の細胞外ドメイン内のエピトープを認識し、これに結合する。

【００８６】

本明細書で用いられる、用語「ＢＣＭＡ」は、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー１７（ＴＮＦＲＳＦ１７）としても知られるＢ細胞成熟抗原を指し、表面抗原分類２６９のタンパク質（ＣＤ２６９）は、ＴＮＦＲＳＦ１７遺伝子によってヒトにおいてコードされるタンパク質である。ＴＮＦＲＳＦ１７は、Ｂ細胞活性化因子（ＢＡＦＦ）を認識するＴＮＦ受容体スーパーファミリーの細胞表面受容体である（例えば、Ｌａａｂｉ　ｅｔ　ａｌ．，　ＥＭＢＯ　１１　（１１）：　３８９７－９０４　（１９９２）参照。この受容体は、成熟Ｂリンパ球で発現し、Ｂ細胞発生及び自己免疫反応にとって重要であり得る。ヒト及びマウスのアミノ酸ならびに核酸配列は、公共のデータベース、例えば、ＧｅｎＢａｎｋ、ＵｎｉＰｒｏｔ、及びＳｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔに見出すことができる。例えば、ヒトＢＣＭＡのアミノ酸配列は、ＵｎｉＰｒｏｔ／Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔアクセッション番号Ｑ０２２２３で見出すことができる。ヒトＢＣＭＡポリペプチドの標準的な配列は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｑ０２２２３（またはＱ０２２２３－１）：

【００８７】

【表２】
MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGTNAIL
WTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFKNTGSGLLGMANIDLEKSRTGDEII
LPRGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVDSDHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAA
LSATEIEKSISAR
（配列番号２）である。
【００８８】
ヒトＢＣＭＡをコードするヌクレオチド配列は、アクセッション番号ＮＭ００１１９２で見出すことができる。ＢＣＭＡは、例えば、白血病、リンパ腫、及び多発性骨髄腫を含めたほとんどのＢ系列のがんで発現される。ＢＣＭＡを発現する他の細胞は、「ＢＣＭＡの発現を伴う疾患」の定義内で以下に示す。この受容体は、腫瘍壊死因子（リガンド）スーパーファミリー、メンバー１３ｂ（ＴＮＦＳＦ１３Ｂ／ＴＡＬＬ－１／ＢＡＦＦ）に特異的に結合すること、ならびにＮＦ－カッパＢ及びＭＡＰＫ８／ＪＮＫ活性化につながることが示されている。この受容体は、様々なＴＲＡＦファミリーメンバーにも結合し、ひいては細胞の生存及び増殖のためのシグナルを伝達することができる（例えば、Ｌａａｂｉ ｅｔ ａｌ．, Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２２ （７）：１１４７－５４ （１９９４）参照。一例では、ＴＦＰの抗原結合部位は、悪性及び正常Ｂ細胞で発現されるＢＣＭＡタンパク質の細胞外ドメイン内のエピトープを認識し、これに結合する。
【００８９】
本明細書で用いられる、用語「抗体」は、抗原に特異的に結合する免疫グロブリン分子由来のタンパク質またはポリペプチド配列を指す。抗体は、ポリクローナルもしくはモノクローナル起源の無傷の免疫グロブリンであってもそれらのフラグメントであってもよく、天然源由来でも組み換え源由来でもよい。
【００９０】
用語「抗体フラグメント」または「抗体結合ドメイン」は、抗体の少なくとも一部、またはその組み換え変異体を指し、これは抗原結合ドメイン、すなわち、無傷の抗体の抗原決定可変領域を含み、これは該抗体フラグメントの標的、例えば、抗原及びその明らかなエピトープに対する認識ならびに特異的結合を付与するのに十分である。抗体フラグメントの例としては、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、及びＦｖフラグメント、一本鎖（ｓｃ）Ｆｖ（「ｓｃＦｖ」）抗体フラグメント、線形抗体、単一ドメイン抗体、例えば、ｓｄＡｂ（V_LまたはV_Hのいずれか）、ラクダ科V_{HH}ドメイン、ならびに抗体フラグメントから形成される多重特異性抗体が挙げられるがこれらに限定されない。
【００９１】
用語「ｓｃＦｖ」は、軽鎖可変領域を含む少なくとも１つの抗体フラグメント及び重鎖可変領域を含む少なくとも１つの抗体フラグメントを含む融合タンパク質を指すとともに、該軽鎖及び重鎖可変領域は、短い可動性ポリペプチドリンカーを介して隣接して連結され、単一のポリペプチド鎖として発現され得、該ｓｃＦｖはそれが由来する無傷の抗体の特異性を保持している。
【００９２】
抗体に関する「重鎖可変領域」または「V_H」は、フレームワーク領域として知られるフランキングストレッチ間に介在する３つのＣＤＲを含む重鎖のフラグメントを指し、これらのフレームワーク領域は、一般に該ＣＤＲよりも高度に保存され、該ＣＤＲを支持する骨格を形成する。
【００９３】
指定されない限り、本明細書で用いられるｓｃＦｖは、V_L及びV_Hの可変領域を、例えば、当該ポリペプチドのＮ末端及びＣ末端に関していずれの順序で有してもよく、すなわち、ｓｃＦｖは、V_L－リンカー－V_Hを含んでも、V_H－リンカー－V_Lを含んでもよい。

【００９４】
抗体またはその抗体フラグメントを含む本発明のＴＦＰ組成物の部分は、例えば、単一ドメイン抗体フラグメント（ｓｄＡｂ）、マウス、ヒト化またはヒト抗体由来の一本鎖抗体（ｓｃＦｖ）等の該抗原結合ドメインが連続ポリペプチド鎖の一部として発現される様々な形態で存在し得る（Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｉｎ：Ｕｓｉｎｇ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｎ．Ｙ．；Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｉｎ：Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．；Ｈｏｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９８８，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３；Ｂｉｒｄ ｅｔ ａｌ．，１９８８，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６）。１つの態様において、本発明のＴＦＰ組成物の該抗原結合ドメインは、抗体フラグメントを含む。さらなる態様において、該ＴＦＰは、ｓｃＦｖまたはｓｄＡｂを含む抗体フラグメントを含む。
【００９５】
用語「抗体重鎖」は、抗体分子に天然起源のコンホメーションで含まれる２つのタイプのポリペプチド鎖のうちの大きい方を指し、これは通常、当該抗体が属するクラスを決定する。
【００９６】
用語「抗体軽鎖」は、抗体分子に天然起源のコンホメーションで含まれる２つのタイプのポリペプチド鎖のうちの小さい方を指す。カッパ（「κ」）及びラムダ（「λ」）軽鎖は、２つの主要な抗体軽鎖のアイソタイプを指す。
【００９７】
用語「組み換え抗体」は、組み換えＤＮＡ技術を用いて生成された抗体、例えば、バクテリオファージまたは酵母の発現系によって発現される抗体を指す。該用語はまた、当該抗体をコードし、抗体タンパク質を発現するＤＮＡ分子、または該抗体を特定するアミノ酸配列の合成によって生成された抗体を意味すると解釈されるものとし、この場合、該ＤＮＡまたはアミノ酸配列は、当技術分野で利用可能かつ周知の組み換えＤＮＡまたはアミノ酸配列技術を用いて得られたものである。
【００９８】
用語「抗原」または「Ａｇ」は、抗体によって特異的に結合され得る、または他の場合には免疫反応を誘発する分子を指す。この免疫反応は、抗体産生もしくは特異的な免疫適格細胞の活性化のいずれか、またはその両方を含み得る。
【００９９】
当業者には、実質的にすべてのタンパク質またはペプチドを含めた任意の高分子が抗原の役割を果たすことができることが理解されよう。さらに、抗原は組み換えまたはゲノムＤＮＡから誘導することができる。当業者には、免疫反応を誘発するタンパク質をコードするヌクレオチド配列または部分的なヌクレオチド配列を含む任意のＤＮＡが、ひいては本明細書で用いられる用語「抗原」をコードすることが理解されよう。さらに、当業者には、抗原が遺伝子の完全長ヌクレオチド配列によって完全にコードされる必要はないことが理解されよう。本発明が、限定されないが、複数の遺伝子の部分的なヌクレオチド配列の使用を含み、これらのヌクレオチド配列が、所望の免疫反応を誘発するポリペプチドをコードする様々な組合せで配置されることは容易にわかる。さらに、当業者には、抗原は「遺伝子」によってコードされる必要は全くないことが理解されよう。抗原は生成されても合成されてもよいし、生体試料由来であってもよいし、ポリペプチド以外の高分子の場合もあることは容易にわかる。かかる生体試料としては、組織試料、腫瘍試料、細胞、または他の生物学的要素の液体を挙げることができるがこれらに限定されない。
【０１００】
用語「抗腫瘍効果」は、様々な手段で明らかにすることができる生物学的効果を指し、例えば、腫瘍体積の減少、腫瘍細胞数の減少、転移数の減少、平均余命の延長、腫瘍細胞

増殖の減少、腫瘍細胞生存率の低下、またはがん性状態に関連する様々な生理学的症状の改善が挙げられるがこれらに限定されない。「抗腫瘍効果」は、本発明のペプチド、ポリヌクレオチド、細胞、及び抗体の最初の段階での腫瘍の発生の予防能力によっても明らかにすることができる。

【０１０１】

用語「自己」は、任意の材料であって、後にそれが再導入される個体と同じ個体由来のものを指す。

【０１０２】

用語「同種異系」は、任意の材料であって、同じ種の異なる動物、または該材料が導入される個体と異なる患者由来のものを指す。遺伝子が１つ以上の遺伝子座で同一ではない場合、２つ以上の個体は互いに同種異系であると言われる。いくつかの態様において、同じ種の個体由来の同種異系材料は、抗原的に相互作用するのに十分に遺伝学的に異なり得る。

【０１０３】

用語「異種」は、異なる種の動物由来の移植片を指す。

【０１０４】

用語「がん」は、異常細胞の急速かつ制御されない増殖を特徴とする疾患を指す。がん細胞は、局所的にも、血流及びリンパ系を介して体の他の部分に広がることもできる。様々ながんの例は本明細書で記載されており、乳がん、前立腺がん、卵巣がん、子宮頚がん、皮膚がん、膵臓がん、結腸直腸がん、腎臓がん、肝臓がん、脳がん、リンパ腫、白血病、肺がん等が挙げられるがこれらに限定されない。

【０１０５】

成句「ＣＤ１９の発現を伴う疾患」及び「ＢＣＭＡの発現を伴う疾患」としては、がんや悪性腫瘍等の増殖性疾患、もしくは骨髄異形成、骨髄異形成症候群、もしくは前白血病等の前がん状態；またはＣＤ１９もしくはＢＣＭＡを発現する細胞に関連する非がん関連の適応症を含めたＣＤ１９もしくはＢＣＭＡの発現を伴う疾患またはＣＤ１９もしくはＢＣＭＡを発現する細胞に関連する状態が挙げられるがこれらに限定されない。１つの態様において、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴うがんは、血液がんである。１つの態様において、該血液がんは、白血病またはリンパ腫である。１つの態様において、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴うがんとしては、例えば、Ｂ細胞ＡＬＬ、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（ＴＡＬＬ）が挙げられるがこれらに限定されない１つ以上の急性白血病、例えば、ＣＬＬまたは慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）が挙げられるがこれらに限定されない例えば１つ以上の慢性白血病が挙げられるがこれらに限定されないがん及び悪性腫瘍が挙げられる。ＣＤ１９の発現を伴うさらなるがんまたは血液疾患は、例えば、Ｂ細胞前リンパ球性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、ヘアリー細胞白血病、小細胞もしくは大細胞濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性疾患、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成及び骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、ならびに骨髄の血液細胞の無効な産生（または異形成）によってまとめられる様々な血液疾患の集まりである「前白血病」等を含むがこれらに限定されない。ＣＤ１９またはＢＣＭＡ発現の発現を伴うさらなる疾患としては、例えば、非定型及び／または非古典的がん、悪性腫瘍、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う前がん状態もしくは増殖性疾患が挙げられるがこれらに限定されない。ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う非がん関連の適応症としては、例えば、自己免疫疾患（例えば、狼瘡、リウマチ性関節炎、大腸炎）、炎症性疾患（アレルギー及び喘息）、ならびに移植が挙げられるがこれらに限定されない。

【０１０６】

用語「保存的配列修飾」は、当該アミノ酸配列を含む抗体または抗体フラグメントの結合特性に大きく作用しないか、これを大きく変えないアミノ酸修飾を指す。かかる保存的修飾としては、アミノ酸の置換、付加、及び欠失が挙げられる。修飾は、当技術分野で既

知の標準的技術、例えば、部位特異的突然変異誘発法及びＰＣＲ媒介突然変異誘発法等によって、本発明の抗体または抗体フラグメントに導入することができる。保存的アミノ酸置換は、該アミノ酸残基が同様の側鎖を有するアミノ酸残基で置き換えられるものである。同様の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当技術分野で定義されている。これらのファミリーとしては、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、ベータ分岐側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、及び芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）のアミノ酸が挙げられる。従って、本発明のＴＦＰ内の１つ以上のアミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーからの他のアミノ酸残基で置き換えることができるとともに、変更されたＴＦＰは、本明細書に記載の機能アッセイを用いて検査することができる。

【０１０７】

用語「刺激」は、刺激ドメインまたは刺激分子（例えば、ＴＣＲ／ＣＤ３複合体）がその同族リガンドと結合し、それによって、限定されないが、該ＴＣＲ／ＣＤ３複合体を介したシグナル伝達等のシグナル伝達事象を媒介することによって誘導される一次応答を指す。刺激は、特定の分子の変化した発現、及び／または細胞骨格構造の再構成等を媒介することができる。

【０１０８】

用語「刺激分子」または「刺激ドメイン」は、Ｔ細胞によって発現される分子またはその一部を指し、該Ｔ細胞は一次細胞質シグナル伝達配列（複数可）を提供し、該シグナル伝達配列（複数可）は、該Ｔ細胞のシグナル伝達経路の少なくともある局面に対して当該ＴＣＲ複合体の一次活性化を促進的に調節する。１つの態様において、該一次シグナルは、例えば、ＴＣＲ／ＣＤ３複合体が、ペプチドをロードされたＭＨＣ分子と結合することによって開始され、これが、増殖、活性化、分化等を含むがこれらに限定されないＴ細胞応答の媒介につながる。促進的に作用する一次細胞質シグナル伝達配列（「一次シグナル伝達ドメイン」とも呼ばれる）は、免疫受容活性化チロシンモチーフまたは「ＩＴＡＭ」として知られるシグナル伝達モチーフを含み得る。本発明において特に用いられる一次細胞質シグナル伝達配列を含むＩＴＡＭの例としては、ＴＣＲゼータ、ＦｃＲガンマ、ＦｃＲベータ、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ５、ＣＤ２２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ２７８（「ＩＣＯＳ」としても知られる）、及びＣＤ６６ｄ由来のものが挙げられるがこれらに限定されない。

【０１０９】

用語「抗原提示細胞」または「ＡＰＣ」は、その表面の主要組織適合複合体（ＭＨＣ）で複合化された外来抗原を提示するアクセサリー細胞（例えば、Ｂ細胞、樹状細胞等）等の免疫系細胞を指す。Ｔ細胞は、それらのＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を用いてこれらの複合体を認識する。ＡＰＣは、抗原を加工し、それらをＴ細胞に提示する。

【０１１０】

本明細書で用いられる用語、「細胞内シグナル伝達ドメイン」は、分子の細胞内部分を指す。該細胞内シグナル伝達ドメインは、ＴＦＰ含有細胞、例えば、ＴＦＰ発現Ｔ細胞の免疫エフェクター機能を促進するシグナルを生成する。例えば、ＴＦＰ発現Ｔ細胞における免疫エフェクター機能の例としては、細胞溶解反応及びサイトカインの分泌を含めたＴヘルパー細胞活性が挙げられる。実施形態では、該細胞内シグナル伝達ドメインは、一次細胞内シグナル伝達ドメインを含むことができる。例示的な一次細胞内シグナル伝達ドメインとしては、一次刺激、または抗原依存性刺激に関与する分子由来のものが挙げられる。実施形態では、該細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激細胞内ドメインを含むことができる。例示的な共刺激細胞内シグナル伝達ドメインとしては、共刺激シグナル、または抗原非依存性刺激に関与する分子由来のものが挙げられる。

【０１１１】

一次細胞内シグナル伝達ドメインは、ＩＴＡＭ（「免疫受容活性化チロシンモチーフ」）を含むことができる。ＩＴＡＭを含む一次細胞質シグナル伝達配列の例としては、ＣＤ３ゼータ、ＦｃＲガンマ、ＦｃＲベータ、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ５、ＣＤ２２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ならびにＣＤ６６ｄ　ＤＡＰ１０及びＤＡＰ１２由来のものが挙げられるがこれらに限定されない。

【０１１２】

用語「共刺激分子」は、共刺激リガンドと特異的に結合し、それによって、例えば、限定されないが、増殖等のＴ細胞による共刺激反応を媒介する、Ｔ細胞上の同族結合パートナーを指す。共刺激分子は、効率的な免疫反応に必要とされる、抗原受容体またはそれらのリガンド以外の細胞表面分子である。共刺激分子としては、ＭＨＣクラス１分子、ＢＴＬＡ及びＴｏｌｌリガンド受容体、ならびにＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）、及び４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）が挙げられるがこれらに限定されない。共刺激細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激分子の細胞内部分である場合がある。共刺激分子は、以下のタンパク質ファミリーで表すことができる：ＴＮＦ受容体タンパク質、免疫グロブリン様タンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、シグナル伝達リンパ球活性化分子（ＳＬＡＭタンパク質）、及び活性化ＮＫ細胞受容体。かかる分子の例としては、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＩＣＯＳ、ＢＡＦＦＲ、ＨＶＥＭ、リンパ球機能関連抗原１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０、ＣＤ１６０、Ｂ７－Ｈ３、及びＣＤ８３に特異的に結合するリガンド等が挙げられる。該細胞内シグナル伝達ドメインは、それが由来する分子の全細胞内部分もしくは全天然細胞内シグナル伝達ドメイン、またはその機能的フラグメントを含むことができる。用語「４－１ＢＢ」は、ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＡＡＡ６２４７８．２として与えられたアミノ酸配列、または、非ヒト種、例えば、マウス、げっ歯類、サル、類人猿等由来の同等の残基のＴＮＦＲスーパーファミリーのメンバーを指し、「４－１ＢＢ共刺激ドメイン」は、ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＡＡＡ６２４７８．２のアミノ酸残基２１４～２５５、または非ヒト種、例えば、マウス、げっ歯類、サル、類人猿等由来の同等の残基として定義される。

【０１１３】

用語「ｅｎｃｏｄｉｎｇ（コードすること）」は、定義されたヌクレオチド配列（例えば、ｒＲＮＡ、ｔＲＮＡ、及びｍＲＮＡ）または定義されたアミノ酸配列及びそれに起因する生物学的特性を有する生物学的過程における他のポリマーならびに高分子の合成用の鋳型の役割を果たすための遺伝子、ｃＤＮＡ、またはｍＲＮＡ等のポリヌクレオチド内のヌクレオチドの特定の配列の固有の特性を指す。従って、遺伝子、ｃＤＮＡ、またはＲＮＡは、その遺伝子に対応するｍＲＮＡの転写及び翻訳が細胞または他の生体系内の当該タンパク質を産生する場合、タンパク質をコードする。そのヌクレオチド配列がｍＲＮＡ配列と同一であり、通常配列表に示されるコード鎖、及び遺伝子またはｃＤＮＡの転写の鋳型として用いられる非コード鎖の両方が、該タンパク質またはその遺伝子もしくはｃＤＮＡの他の産物をコードすると見なすことができる。

【０１１４】

別段の指定のない限り、「アミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列」には、互いに縮重した型であり、同じアミノ酸配列をコードするすべてのヌクレオチド配列が含まれる。タンパク質またはＲＮＡをコードするヌクレオチド配列という成句は、該タンパク質をコードする該ヌクレオチド配列が型によっては１つ以上のイントロンを含む場合があるという程度まで、イントロン含む場合もある。

【０１１５】

用語「有効量」または「治療有効量」は、本明細書では交換可能に用いられ、本明細書に記載される化合物、処方、材料、または組成物の特定の生物学的または治療上の効果を達成するのに有効な量を指す。

【０１１６】

用語「内因性」は、有機体、細胞、組織、もしくは系由来の、またはその内部で産生される任意の材料を指す。

【０１１７】

用語「外因性」は、有機体、細胞、組織、もしくは系から導入される、またはその外部で産生される任意の材料を指す。

【０１１８】

用語「発現」は、プロモーターによって動作される特定のヌクレオチド配列の転写及び／または翻訳を指す。

【０１１９】

用語「転移ベクター」は、単離された核酸を含み、該単離された核酸を細胞の内部に送達するために用いることができる組成物を指す。線状ポリヌクレオチド、イオン性もしくは両親媒性化合物に会合したポリヌクレオチド、プラスミド、及びウイルスが挙げられるがこれらに限定されない多くのベクターが当技術分野で知られている。従って、用語「転移ベクター」には、自己複製プラスミドまたはウイルスが含まれる。該用語は、さらに、細胞内への核酸の転移を促進する非プラスミド及び非ウイルス性化合物、例えば、ポリリジン化合物、リポソーム等を含むとも解釈されるものとする。ウイルス性転移ベクターの例としては、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レトロウイルスベクター、レンチウイルスベクター等が挙げられるがこれらに限定されない。

【０１２０】

用語「発現ベクター」は、発現されるヌクレオチド配列に作動可能に連結した発現制御配列を含む組み換えポリヌクレオチドを含むベクターを指す。発現ベクターは、発現のために十分なシスエレメントを含み、発現用の他のエレメントは、宿主細胞によって、またはインビトロ発現系で供給され得る。発現ベクターには、組み換えポリヌクレオチドを組み込むコスミド、プラスミド（例えば、裸の、またはリポソームに含まれる）、ならびにウイルス（例えば、レンチウイルス、レトロウイルス、アデノウイルス、及びアデノ随伴ウイルス）を含めた、当技術分野で知られるすべてのものが挙げられる。

【０１２１】

用語「レンチウイルス」は、レトロウイルス科の属を指す。レンチウイルスは、レトロウイルスの中でも非分裂細胞に感染することができることで独特である。レンチウイルスは、宿主細胞のＤＮＡに大量の遺伝情報を送達することができるため、遺伝子送達ベクターの最も効率的な方法の１つである。ＨＩＶ、ＳＩＶ、及びＦＩＶは、すべてレンチウイルスの例である。

【０１２２】

用語「レンチウイルスベクター」は、特に、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｍｏｌ．　Ｔｈｅｒ．　１７（８）：　１４５３－１４６４　（２００９）に示される自己不活性化レンチウイルスベクターを含めたレンチウイルスゲノムの少なくとも一部由来のベクターを指す。臨床で使用され得るレンチウイルスベクターの他の例としては、例えば、Ｏｘｆｏｒｄ　ＢｉｏＭｅｄｉｃａのＬＥＮＴＩＶＥＣＴＯＲ（商標）遺伝子送達技術、ＬｅｎｔｉｇｅｎのＬＥＮＴＩＭＡＸ（商標）ベクターシステム等が挙げられるがこれらに限定されない。非臨床型のレンチウイルスベクターもまた利用可能であり、当業者には既知である。

【０１２３】

用語「相同」または「同一性」は、２つのポリマー分子間、例えば、２つのＤＮＡ分子もしくは２つのＲＮＡ分子等の２つの核酸分子間、または２つのポリペプチド分子間のサブユニット配列の同一性を指す。該２つの分子の両方のサブユニット部分が同じモノマーサブユニットで占められている場合、例えば、２つのＤＮＡ分子のそれぞれの位置がアデニンで占められている場合、それらはその位置で相同または同一である。２配列間の相同性は、一致または相同位置の数の一次関数であり、例えば、２つの配列の位置の半分（例えば、長さ１０サブユニットのポリマー中５つの位置）が相同である場合、該２配列は５０％相同であり、位置の９０％（例えば、１０のうちの９）が一致または相同の場合、該

２配列は９０％相同である。

【０１２４】

非ヒト（例えば、マウス）抗体の「ヒト化」形態は、最小限の非ヒト免疫グロブリン由来の配列を含むキメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、またはそのフラグメント（例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、もしくは抗体の他の抗原結合サブ配列）である。ほとんどの部分について、ヒト化抗体及びその抗体フラグメントは、ヒト免疫グロブリン（レシピエントの抗体または抗体フラグメント）であって、該レシピエントの相補性決定領域（ＣＤＲ）由来の残基は、所望の特異性、親和性、及び能力を有するマウス、ラット、またはウサギ等の非ヒト種（ドナー抗体）のＣＤＲ由来の残基で置き換えられる。いくつかの例では、ヒト免疫グロブリンのＦｖフレームワーク領域（ＦＲ）残基は、対応する非ヒト残基で置き換えられる。さらに、ヒト化抗体／抗体フラグメントは、レシピエントの抗体にも、取り込まれたＣＤＲやフレームワーク配列にも見られない残基を含むことができる。これらの修飾は、抗体または抗体フラグメントの性能をさらに洗練及び最適化することができる。一般に、該ヒト化抗体またはその抗体フラグメントは、少なくとも１つ及び通常は２つの可変ドメインを実質的にすべて含み、非ヒト免疫グロブリンのものに対応するすべてのまたは実質的にすべてのＣＤＲ領域ならびにＦＲ領域のすべてまたはかなりの部分が、ヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体または抗体フラグメントは、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）、通常はヒト免疫グロブリンのものの少なくとも一部も含み得る。さらなる詳細については、Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．, Ｎａｔｕｒｅ, ３２１： ５２２－５２５, １９８６；Ｒｅｉｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．, Ｎａｔｕｒｅ, ３３２： ３２３－３２９, １９８８；Ｐｒｅｓｔａ, Ｃｕｒｒ. Ｏｐ. Ｓｔｒｕｃｔ. Ｂｉｏｌ., ２： ５９３－５９６, １９９２を参照されたい。

【０１２５】

「ヒト」または「完全ヒト」は、抗体または抗体フラグメント等の免疫グロブリンであって、分子全体がヒト由来のものであるか、または該抗体もしくは免疫グロブリンのヒト型に対して同一のアミノ酸配列からなるものを指す。

【０１２６】

用語「単離された」は、自然状態から変更されたまたは除去されたことを意味する。例えば、生きている動物に天然に存在する核酸またはペプチドは、「単離された」ものではないが、その自然状態の共存物質から部分的に、もしくは完全に分離された同じ核酸またはペプチドは「単離された」ものである。単離された核酸またはタンパク質は、実質的に精製された形で存在することも、例えば、宿主細胞等の非天然環境に存在することもできる。

【０１２７】

本発明の中で、一般に存在する核酸塩基について以下の略語が使用される。「Ａ」はアデノシンを指し、「Ｃ」はシトシンを指し、「Ｇ」はグアノシンを指し、「Ｔ」はチミジンを指し、「Ｕ」はウリジンを指す。

【０１２８】

用語「作動可能に連結された」または「転写制御」は、調節配列と異種核酸配列の間の機能的連結を指し、後者の発現をもたらす。例えば、第一の核酸配列が第二の核酸配列と機能的な関係に置かれる場合、第一の核酸配列は、第二の核酸配列と作動可能に連結されている。例えば、プロモーターがコード配列の転写または発現に影響を及ぼす場合、プロモーターはコード配列に作動可能に連結されている。作動可能に連結されたＤＮＡ配列は、互いに隣接することができ、例えば、２つのタンパク質のコード領域を結合するために必要な場合、同じリーディングフレーム内にある。

【０１２９】

免疫原性組成物の「非経口」投与という用語には、例えば、皮下（ｓ．ｃ．）、静脈内（ｉ．ｖ．）、筋肉内（ｉ．ｍ．）、もしくは胸骨内、腫瘍内、または注入技術が含まれる。

【０１３０】
用語「核酸」または「ポリヌクレオチド」は、一本鎖または二本鎖形態のいずれかのデオキシリボ核酸（ＤＮＡ）またはリボ核酸（ＲＮＡ）及びそのポリマーを指す。特に限定されない限り、該用語は、参照の核酸と同様の結合特性を有し、天然に存在するヌクレオチドと同様の様式で代謝される天然のヌクレオチドの既知の類似体を含む核酸を包含する。別段の指示がない限り、特定の核酸配列は、明確に示された配列だけでなく、暗黙的に、保存的に修飾されたその変異体（例えば、縮重コドン置換）、対立遺伝子、オルソログ、ＳＮＰ、及び相補的配列も包含する。特に、縮重コドン置換は、１つ以上の選択された（またはすべての）コドンの３番目の位置が混合塩基及び／またはデオキシイノシン残基で置換された配列を生成することによって達成され得る（Ｂａｔｚｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｒｅｓ．１９：５０８１（１９９１）；Ｏｈｔｓｕｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６０：２６０５－２６０８（１９８５）；及びＲｏｓｓｏｌｉｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｐｒｏｂｅｓ ８：９１－９８（１９９４））。

【０１３１】
用語「ペプチド」、「ポリペプチド」、及び「タンパク質」は、交換可能に用いられ、ペプチド結合で共有結合されたアミノ酸配列からなる化合物を指す。タンパク質またはペプチドは、少なくとも２つのアミノ酸を含まなくてはならず、タンパク質またはペプチドの配列を構成することができるアミノ酸の最大数に制限は設けられていない。ポリペプチドには、ペプチド結合で互いに結合された２つ以上のアミノ酸を含む任意のペプチドまたはタンパク質が含まれる。本明細書で用いられる該用語は、当技術分野で一般に例えば、ペプチド、オリゴペプチド、及びオリゴマーとも呼ばれる短鎖、ならびに、当技術分野で一般にタンパク質と呼ばれ、多くのタイプがある長鎖の両方を指す。「ポリペプチド」には、例えば、生物学的に活性なフラグメント、実質的に相同なポリペプチド、オリゴペプチド、ホモダイマー、ヘテロダイマー、ポリペプチドの変異体、変性ポリペプチド、誘導体、類似体、融合タンパク質等が含まれる。ポリペプチドには、天然ペプチド、組み換えペプチド、またはそれらの組合せが含まれる。

【０１３２】
用語「プロモーター」は、ポリヌクレオチド配列の特異的転写を開始するのに必要な、細胞の転写機構もしくは導入された合成機構によって認識されるＤＮＡ配列を指す。

【０１３３】
用語「プロモーター／調節配列」は、該プロモーター／調節配列に作動可能に連結された遺伝子産物の発現に必要とされる核酸配列を指す。いくつかの例では、この配列は、コアプロモーター配列の場合があり、他の例では、この配列は、遺伝子産物の発現に必要とされるエンハンサー配列及び他の調節エレメントも含む場合がある。該プロモーター／調節配列は、例えば、組織特異的な様式で遺伝子産物を発現するものの場合がある。

【０１３４】
用語「構成的」プロモーターは、遺伝子産物をコードまたは特定するポリヌクレオチドと作動可能に連結された場合に、当該細胞のほとんどまたはすべての生理条件下で、細胞内に該遺伝子産物を産生させるヌクレオチド配列を指す。

【０１３５】
用語「誘導性」プロモーターは、遺伝子産物をコードまたは特定するポリヌクレオチドと作動可能に連結された場合に、該プロモーターに対応する誘導因子が当該細胞に存在する場合に実質的に唯一、細胞内に遺伝子産物を産生させるヌクレオチド配列を指す。

【０１３６】
用語「組織特異的」プロモーターは、遺伝子によってコードまたは特定されるポリヌクレオチドと作動可能に連結された場合に、当該細胞が該プロモーターに対応する組織型の細胞の場合に実質的に唯一、細胞内に遺伝子産物を産生させるヌクレオチド配列を指す。

【０１３７】
ｓｃＦｖとの関連で用いられる用語「リンカー」及び「可動性ポリペプチドリンカー」

は、単独でまたは組み合わせて用いて可変重鎖及び可変軽鎖領域を連結するグリシン及び／またはセリン残基等のアミノ酸からなるペプチドリンカーを指す。１つの実施形態では、該可動性ポリペプチドリンカーは、Ｇｌｙ／Ｓｅｒリンカーであり、アミノ酸配列（Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ）$_{n}$を含み、この場合ｎは１以上の正の整数である。例えば、ｎ＝１、ｎ＝２、ｎ＝３、ｎ＝４、ｎ＝５、ｎ＝６、ｎ＝７、ｎ＝８、ｎ＝９、及びｎ＝１０。１つの実施形態では、該可動性ポリペプチドリンカーには、（Ｇｌｙ$_{4}$Ｓｅｒ）$_{4}$または（Ｇｌｙ$_{4}$Ｓｅｒ）$_{3}$が含まれるがこれに限定されない。別の実施形態では、該リンカーには、（Ｇｌｙ$_{2}$Ｓｅｒ）、（ＧｌｙＳｅｒ）、または（Ｇｌｙ$_{3}$Ｓｅｒ）の多重反復が含まれる。同様に本発明の範囲内に含まれるのは、ＷＯ２０１２／１３８４７５（参照することによって本明細書に組み込まれる）に記載のリンカーである。いくつかの例では、該リンカー配列は、長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの例では、該長いリンカー配列は、（Ｇ$_{4}$Ｓ）$_{n}$を含み、この場合、ｎ＝２～４である。いくつかの例では、該リンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの例では、該短いリンカー配列は、（Ｇ$_{4}$Ｓ）$_{n}$を含み、この場合、ｎ＝１～３である。

【０１３８】

本明細書で用いられる、５’キャップ（ＲＮＡキャップ、ＲＮＡ７－メチルグアノシンキャップ、またはＲＮＡ　ｍ７Ｇキャップとも呼ばれる）は、転写開始の直後に真核生物のメッセンジャーＲＮＡの「フロント」または５’末端に付加された修飾グアニンヌクレオチドである。該５’キャップは、最初に転写されたヌクレオチドに連結される末端基からなる。その存在は、リボソームによる認識及びＲＮアーゼからの保護に不可欠である。キャップの付加は転写と対になっており、各々が他方に影響を与えるように同時転写的に起こる。転写開始の直後、合成されるｍＲＮＡの５’末端は、ＲＮＡポリメラーゼと会合したキャップ合成複合体によって結合される。この酵素複合体は、ｍＲＮＡのキャッピングに必要とされる化学反応を触媒する。合成は、多段階の生化学反応として進行する。該キャッピング部分は、ｍＲＮＡの機能、例えば、その安定性や翻訳効率を調節するために修飾され得る。

【０１３９】

本明細書で用いられる、「インビトロで転写されたＲＮＡ」は、インビトロで合成されたＲＮＡ、好ましくはｍＲＮＡを指す。一般に、該インビトロで転写されたＲＮＡは、インビトロ転写ベクターから生成される。該インビトロ転写ベクターは、該インビトロで転写されたＲＮＡを生成するために用いられる鋳型を含む。

【０１４０】

本明細書で用いられる、「ポリ（Ａ）」は、ポリアデニル化によってｍＲＮＡに加えられる一連のアデノシンである。一過性発現用の構築物の好ましい実施形態では、該ポリＡは、５０～５０００であり、好ましくは６４より多く、より好ましくは１００より多く、最も好ましくは３００または４００より多い。ポリ（Ａ）配列は、局在化、安定性、または翻訳効率等のｍＲＮＡの機能を調節するために化学的または酵素的に修飾され得る。

【０１４１】

本明細書で用いられる、「ポリアデニル化」は、メッセンジャーＲＮＡ分子に対するポリアデニリル部分またはその修飾変異体の共有結合を指す。真核生物では、ほとんどのメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）分子は３’末端でポリアデニル化される。該３’ポリ（Ａ）尾部は、酵素ポリアデニル酸ポリメラーゼの作用を介して、プレｍＲＮＡに付加された長い配列のアデニンヌクレオチド（多くの場合数百）である。高等真核生物では、該ポリ（Ａ）尾部は、特定の配列、すなわち、ポリアデニル化シグナルを含む転写産物に付加される。該ポリ（Ａ）尾部及びそれに結合したタンパク質は、エキソヌクレアーゼによる分解からのｍＲＮＡの保護に役立つ。ポリアデニル化はまた、転写の終結、核からのｍＲＮＡの取り出し、及び転写にとっても重要である。ポリアデニル化は、ＤＮＡのＲＮＡへの転写の直後、核内で起こるが、後に細胞質内でもさらに起こる場合もある。転写が終結した後、該ｍＲＮＡ鎖は、ＲＮＡポリメラーゼと会合したエンドヌクレアーゼ複合体の作用を介して切断される。該切断部位は、通常、該切断部位近傍の塩基配列ＡＡＵＡＡＡの

存在を特徴とする。該ｍＲＮＡが切断された後、アデノシン残基が該切断部位の遊離の３’末端に付加される。

【０１４２】

本明細書で用いられる、「一過性」は、融合していない導入遺伝子の数時間、数日、または数週間の発現を指し、この場合、発現の期間は、該遺伝子がゲノムに融合された場合、または宿主細胞の安定なプラスミドレプリコン内に含まれた場合の発現に対する期間より短い。

【０１４３】

用語「シグナル伝達経路」は、細胞の１つの部分から細胞の別の部分へのシグナルの伝達に関与する様々なシグナル伝達分子間の生化学的関係を指す。成句「細胞表面受容体」には、シグナルを受け取り、細胞膜を越えてシグナルを伝達することが可能な分子及び分子の複合体が含まれる。

【０１４４】

用語「対象」は、免疫反応が誘発され得る生体（例えば、哺乳類、ヒト）を含むことが意図される。

【０１４５】

用語「実質的に精製された」細胞は、他の細胞型を本質的に含まない細胞を指す。実質的に精製された細胞はまた、その天然に存在する状態では通常会合している他の細胞型から分離された細胞も指す。いくつかの例では、実質的に精製された細胞の集団は、均質な細胞の集団を指す。他の例では、この用語は単に、それらがその天然の状態では自然に会合している細胞から分離された細胞を指す。いくつかの態様において、該細胞は、インビトロで培養される。他の態様において、該細胞はインビトロでは培養されない。

【０１４６】

本明細書で用いられる、用語「ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ（治療的）」は、ｔｒｅａｔｍｅｎｔ（治療）を意味する。治療効果は、病態の減少、抑制、寛解、または根絶によって得られる。

【０１４７】

本明細書で用いられる、用語「ｐｒｏｐｈｙｌａｘｉｓ（予防）」は、疾患もしくは病態に対する予防または保護治療を意味する。

【０１４８】

本発明の中で、「腫瘍抗原」、もしくは「過剰増殖性疾患抗原」、または「過剰増殖性疾患に関連する抗原」は、特定の過剰増殖性疾患に共通の抗原を指す。特定の態様において、本発明の該過剰増殖性疾患抗原は、原発性または転移性黒色腫、胸腺腫、リンパ腫、肉腫、肺がん、肝臓がん、ＮＨＬ、白血病、子宮がん、子宮頸がん、膀胱がん、腎臓がん、及び腺がん、例えば、乳がん、前立腺がん、卵巣がん、膵臓がん等が挙げられるがこれらに限定されないがん由来である。

【０１４９】

用語「トランスフェクトされた」、もしくは「変換された」、または「形質導入された」は、外因性核酸が宿主細胞に移入または導入される過程を指す。「トランスフェクトされた」、もしくは「変換された」、または「形質導入された」細胞は、外因性の核酸でトランスフェクトされた、変換された、または形質導入されたものである。該細胞は初代対象細胞及びその後代を含む。

【０１５０】

用語「特異的に結合する」は、試料中に含まれる同族結合パートナー（例えば、ＣＤ１９）を認識及びこれに結合するが、必ずしも実質的に該試料中の他の分子を認識することもこれに結合することも必要ではない抗体、抗体フラグメント、または特定のリガンドを指す。

【０１５１】

範囲：本開示を通して、本発明の様々な態様は、範囲の形式で示され得る。範囲の形式での記述は、単に便宜のため及び簡略して表現するためであると理解されるものとし、本

発明の範囲に対する柔軟性のない制限と解釈されるものとはしない。従って、範囲の記述は、その範囲内の個々の数値だけでなく、具体的に開示されるすべての可能な部分的な範囲を有すると見なされるものとする。例えば、１～６等の範囲の記述は、１～３、１～４、１～５、２～４、２～６、３～６等のように具体的に開示される部分的な範囲、ならびに、その範囲内の個々の数、例えば、１、２、２．７、３、４、５、５．３、及び６を有すると見なされるものとする。別の例として、９５～９９％同一等の範囲は、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一のものを含み、かつ、９６～９９％、９６～９８％、９６～９７％、９７～９９％、９７～９８％、及び９８～９９％同一等の部分的な範囲を含む。これは、当該範囲の幅にかかわらず適用される。

【０１５２】

説明

Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質を用いたがん等の疾患の治療用の組成物及び使用方法を本明細書に提供する。本明細書で用いられる、「Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質」または「ＴＦＰ」は、該ＴＣＲを含む様々なポリペプチド由来の組み換えポリペプチドを含み、該ＴＣＲは、概してｉ）標的細胞上の表面抗原に結合すること、及びｉｉ）通常はＴ細胞内またはその表面上で同一の場所に配置された場合に、無傷のＴＣＲ複合体の他のポリペプチド成分と相互作用することが可能である。本明細書で提供されるＴＦＰは、キメラ抗原受容体と比較して、かなりの利点を提供する。用語「キメラ抗原受容体」または代替的に「ＣＡＲ」は、ｓｃＦｖの形で細胞外抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、及び以下に定義される刺激分子由来の機能的シグナル伝達ドメインを含む細胞質シグナル伝達ドメイン（本明細書では「細胞内シグナル伝達ドメイン」とも呼ばれる）を含む組み換えポリペプチドを指す。一般に、ＣＡＲの中心細胞内シグナル伝達ドメインは、通常ＴＣＲ複合体と会合して見出されるＣＤ３ゼータ鎖由来である。該ＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメインは、４－１ＢＢ（すなわち、ＣＤ１３７）、ＣＤ２７、及び／またはＣＤ２８等の少なくとも１つの共刺激分子由来の１つ以上の機能的シグナル伝達ドメインと融合することができる。

【０１５３】

Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）

本発明は、ＴＦＰをコードする組み換えＤＮＡ構築物であって、該ＴＦＰがＣＤ１９、例えばヒトＣＤ１９に特異的に結合する抗体フラグメントを含み、該抗体フラグメントの配列が、ＴＣＲサブユニットまたはその一部をコードする核酸配列と隣接し、かつそれと同じリーディングフレーム内にある構築物を包含する。本発明は、ＴＦＰをコードする組み換えＤＮＡ構築物であって、該ＴＦＰがＢＣＭＡ、例えばヒトＢＣＭＡに特異的に結合する抗体フラグメントを含み、該抗体フラグメントの配列が、ＴＣＲサブユニットまたはその一部をコードする核酸配列と隣接し、かつそれと同じリーディングフレーム内にある構築物を包含する。本明細書で提供されるＴＦＰは、１つ以上の内因性（または代替的に、１つ以上の外因性、もしくは内因性及び外因性の組合せ）ＴＣＲサブユニットと会合し、機能的ＴＣＲ複合体を形成することが可能である。

【０１５４】

１つの態様において、本発明のＴＦＰは、標的特異的結合因子、別名抗原結合ドメインを含む。部分の選択は、標的細胞の表面を決定する標的抗原の型と数に依存する。例えば、該抗原結合ドメインは、特定の病態と関連する標的細胞の細胞表面マーカーとして作用する標的抗原を認識するために選択され得る。従って、本発明のＴＦＰにおける抗原結合ドメインに対して標的抗原の役割をし得る細胞表面マーカーの例としては、ウイルス、細菌、及び寄生虫感染症；自己免疫疾患；ならびにがん性疾患（例えば、悪性疾患）に関連するものが挙げられる。

【０１５５】

１つの態様において、該ＴＦＰ媒介Ｔ細胞応答は、所望の抗原に特異的に結合するＴＦＰ内に抗原結合ドメインを組み込む方法によって、目的の抗原に向かわせることができる。

【０１５６】
１つの態様において、該抗原結合ドメインを含むＴＦＰの部分は、ＣＤ１９を標的とする抗原結合ドメインを含む。１つの態様において、該抗原結合ドメインはヒトＣＤ１９を標的とする。１つの態様において、該抗原結合ドメインを含むＴＦＰの部分は、ＢＣＭＡを標的とする抗原結合ドメインを含む。１つの態様において、該抗原結合ドメインは、ヒトＢＣＭＡを標的とする。
【０１５７】
該抗原結合ドメインは、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組み換え抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、及びその機能的フラグメントを含むがこれらに限定されない抗原に結合する任意のドメインであることができ、単一ドメイン抗体、例えば、重鎖可変ドメイン（V_H）、軽鎖可変ドメイン（V_L）、及びラクダ科由来ナノボディの可変ドメイン（V_{HH}）、ならびに当技術分野で抗原結合ドメインとして機能することが知られる代替骨格、例えば、組み換えフィブロネクチンドメイン、アンチカリン（ａｎｔｉｃａｌｉｎ）、ＤＡＲＰＩＮ等が挙げられるがこれらに限定されない。同様に、当該標的抗原を特異的に認識し、これに結合する天然または合成リガンドが、該ＴＦＰに対する抗原結合ドメインとして使用され得る。いくつかの例では、該抗原結合ドメインが、該ＴＦＰが最終的に用いられるのと同じ種由来であることが有益である。例えば、ヒトでの使用については、該ＴＦＰの抗原結合ドメインが、抗体または抗体フラグメントの抗原結合ドメインに対してヒトまたはヒト化残基を含むことが有益であり得る。
【０１５８】
従って、１つの態様において、該抗原結合ドメインは、ヒト化またはヒト抗体もしくはヒト化またはヒト抗体フラグメント、またはマウス抗体もしくはマウス抗体フラグメントを含む。１つの実施形態では、該ヒト化もしくはヒト抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書に記載のヒト化もしくはヒト抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインの軽鎖相補性決定領域１（ＬＣ　ＣＤＲ１）、軽鎖相補性決定領域２（ＬＣ　ＣＤＲ２）、及び軽鎖相補性決定領域３（ＬＣ　ＣＤＲ３）の１つ以上（例えば、３つすべて）、及び／または、本明細書に記載のヒト化もしくはヒト抗ＣＤ１９結合ドメインの重鎖相補性決定領域１（ＨＣ　ＣＤＲ１）、重鎖相補性決定領域２（ＨＣ　ＣＤＲ２）、及び重鎖相補性決定領域３（ＨＣ　ＣＤＲ３）の１つ以上（例えば、３つすべて）を含み、例えば、ヒト化もしくはヒト抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインは１つ以上、例えば、３つすべてのＬＣ　ＣＤＲ及び１つ以上、例えば、３つすべてのＨＣ　ＣＤＲを含む。１つの実施形態では、該ヒト化またはヒト抗ＣＤ１９結合ドメインは、本明細書に記載のヒト化もしくはヒト抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインの重鎖相補性決定領域１（ＨＣ　ＣＤＲ１）、重鎖相補性決定領域２（ＨＣ　ＣＤＲ２）、及び重鎖相補性決定領域３（ＨＣ　ＣＤＲ３）の１つ以上（例えば、３つすべて）を含み、例えば、該ヒト化もしくはヒト抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、それぞれが本明細書に記載のＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、及びＨＣ　ＣＤＲ３を含む２つの可変重鎖領域を有する。１つの実施形態では、該ヒト化もしくはヒト抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書に記載のヒト化もしくはヒト軽鎖可変領域及び／または本明細書に記載のヒト化もしくはヒト重鎖可変領域を含む。１つの実施形態では、該ヒト化もしくはヒト抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書に記載のヒト化重鎖可変領域、例えば、少なくとも２つの本明細書に記載のヒト化またはヒト重鎖可変領域を含む。１つの実施形態では、該抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書で提供されるアミノ酸配列の軽鎖及び重鎖を含むｓｃＦｖである。実施形態では、該抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）は、本明細書で提供される軽鎖可変領域のアミノ酸配列の少なくとも１つ、２つ、もしくは３つの修飾（例えば、置換）から最大３０、２０、もしくは１０までの修飾（例えば、置換）を有するアミノ酸配列、または、本明細書で提供されるアミノ酸配列と９５～９９％の同一性がある配列を含む軽鎖可変領域、及び／または、本明細書で提供される重鎖可変領域のアミノ酸配列の少なくとも１つ、２つ、もしくは３つの修飾（例えば、置換）から最大３０、２０、もしくは１０までの修飾（例えば、

置換）を有するアミノ酸配列、または、本明細書で提供されるアミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性がある配列を含む重鎖可変領域を含む。１つの実施形態では、該ヒト化もしくはヒト抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、ｓｃＦｖであり、本明細書に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域は、本明細書に記載のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域に、リンカー、例えば、本明細書に記載のリンカーを介して取り付けられる。１つの実施形態では、該ヒト化抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、（Gly_4-Ser）$_n$リンカーを含み、この場合、ｎは１、２、３、４、５、もしくは６であり、好ましくは３または４である。ｓｃＦｖの軽鎖可変領域及び重鎖可変領域は、例えば、以下の配向のいずれかの場合がある：軽鎖可変領域－リンカー－重鎖可変領域または重鎖可変領域－リンカー－軽鎖可変領域。いくつかの例では、該リンカー配列は長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの例では、該長いリンカー配列は、（G_4S）$_n$を含み、この場合ｎ＝２～４である。いくつかの例では、該リンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの例では、該短いリンカー配列は、（G_4S）$_n$を含み、この場合ｎ＝１～３である。

【０１５９】

いくつかの態様において、非ヒト抗体はヒト化され、そこで該抗体の特定の配列または領域は、ヒトにおいて自然に産生される抗体またはそのフラグメントとの類似性を増すように修飾される。１つの態様において、該抗原結合ドメインはヒト化される。

【０１６０】

ヒト化抗体は、ＣＤＲ移植（例えば、欧州特許第ＥＰ２３９，４００号；国際公開第ＷＯ９１／０９９６７号；ならびに米国特許第５，２２５，５３９号、第５，５３０，１０１号、及び第５，５８５，０８９号参照。これらの各々は、参照することによってそれらの全体が本明細書に組み込まれる）、ベニアリングまたはリサーフェーシング（例えば、欧州特許第ＥＰ５９２，１０６号及び第ＥＰ５１９，５９６号；Ｐａｄｌａｎ，１９９１，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，２８（４／５）：４８９－４９８；Ｓｔｕｄｎｉｃｋａ ｅｔ ａｌ．，１９９４，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，７（６）：８０５－８１４；及びＲｏｇｕｓｋａ ｅｔ ａｌ．，１９９４，ＰＮＡＳ，９１：９６９－９７３参照。これらの各々は、参照することによってそれらの全体が本明細書に組み込まれる）、鎖シャフリング（例えば、米国特許第５，５６５，３３２号参照。参照することによってその全体が本明細書に組み込まれる）、ならびに例えば、各々が参照することによって全体として本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第ＵＳ２００５／００４２６６４号、米国特許出願公開第ＵＳ２００５／００４８６１７号、米国特許第６，４０７，２１３号、米国特許第５，７６６，８８６号、国際公開第ＷＯ９３１７１０５号，Ｔａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１６９：１１１９－２５（２００２），Ｃａｌｄａｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．，１３（５）：３５３－６０（２０００），Ｍｏｒｅａ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ，２０（３）：２６７－７９（２０００），Ｂａｃａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２７２（１６）：１０６７８－８４（１９９７），Ｒｏｇｕｓｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．，９（１０）：８９５－９０４（１９９６），Ｃｏｕｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．，５５（２３ Ｓｕｐｐ）：５９７３ｓ－５９７７ｓ（１９９５），Ｃｏｕｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．，５５（８）：１７１７－２２（１９９５），Ｓａｎｄｈｕ Ｊ Ｓ，Ｇｅｎｅ，１５０（２）：４０９－１０（１９９４），及びＰｅｄｅｒｓｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２３５（３）：９５９－７３（１９９４）に開示される技術が挙げられるがこれらに限定されない当技術分野で既知の様々な技術を用いて産生することができる。多くの場合、フレームワーク領域内のフレームワーク残基は、ＣＤＲドナー抗体からの対応する残基で置換され、抗原結合を変更、例えば、改善する。これらのフレームワーク置換は、当技術分野で周知の方法によって特定され、例えば、該ＣＤＲとフレームワーク残基の相互作用のモデリングによって抗原結合及び配列比較に重要なフレームワーク残基を特定し、特

定の位置で他とは異なるフレームワーク残基を特定する（例えば、Ｑｕｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，米国特許第５，５８５，０８９号；及びＲｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，１９８８，Ｎａｔｕｒｅ，３３２：３２３参照。これらは参照することによってそれらの全体が本明細書に組み込まれる）。

【０１６１】

ヒト化抗体または抗体フラグメントは、非ヒト起源由来のそれに残る１つ以上のアミノ酸残基を有する。これらの非ヒトアミノ酸残基は、多くの場合、「ｉｍｐｏｒｔ（取り込み）」残基と呼ばれ、これらは通常、「取り込み」可変ドメインから取り出される。本明細書で提供される、ヒト化抗体または抗体フラグメントは、非ヒト免疫グロブリン分子由来の１つ以上のＣＤＲ及びフレームワーク領域を含むとともに、該フレームワークを構成するアミノ酸残基は、完全にまたは大部分ヒト生殖細胞系由来である。抗体または抗体フラグメントのヒト化に対する多数の技術は、当技術分野で周知であり、Ｗｉｎｔｅｒ及び共同研究者らの方法（Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３２１：５２２－５２５（１９８６）；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３３２：３２３－３２７（１９８８）；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２３９：１５３４－１５３６（１９８８））に従い、げっ歯類のＣＤＲまたはＣＤＲ配列を対応する配列のヒト抗体の代わりに用いることによって、すなわちＣＤＲ移植で基本的に行うことができる（ＥＰ２３９，４００号；ＰＣＴ公開第ＷＯ９１／０９９６７号；及び米国特許第４，８１６，５６７号；第６，３３１，４１５号；第５，２２５，５３９号；第５，５３０，１０１号；第５，５８５，０８９号；第６，５４８，６４０号。これらの内容は、参照することによってそれらの全体が本明細書に組み込まれる）。かかるヒト化抗体及び抗体フラグメントにおいて、非ヒト種由来の対応する配列による置換は、無傷のヒト可変ドメインよりかなり少ない。ヒト化抗体は、多くの場合、いくつかのＣＤＲ残基及び場合によりいくつかのフレームワーク（ＦＲ）残基がげっ歯類抗体における類似部位由来の残基によって置換されるヒト抗体である。抗体及び抗体フラグメントのヒト化は、ベニアリングもしくはリサーフェーシング（ＥＰ５９２，１０６；ＥＰ５１９，５９６；Ｐａｄｌａｎ，１９９１，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，２８（４／５）：４８９－４９８；Ｓｔｕｄｎｉｃｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，７（６）：８０５－８１４（１９９４）；及びＲｏｇｕｓｋａ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ，９１：９６９－９７３（１９９４））、または鎖シャフリング（米国特許第５，５６５，３３２号）によっても達成され得る。これらの内容は、参照することによってそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【０１６２】

該ヒト化抗体の作製に用いられる軽及び重の両方のヒト可変ドメインを選ぶことは、抗原性を減らすことである。いわゆる「最良適合」法によれば、げっ歯類抗体の該可変ドメインの配列は、既知のヒト可変ドメイン配列の全ライブラリに対してスクリーニングされる。げっ歯類のものに最も近い該ヒト配列は、次に該ヒト化抗体用のヒトフレームワーク（ＦＲ）として認められる（Ｓｉｍｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５１：２２９６（１９９３）；Ｃｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，１９６：９０１（１９８７）。これらの内容は、参照することによってそれらの全体が本明細書に組み込まれる）。別の方法は、軽鎖または重鎖の特定の亜群のすべてのヒト抗体のコンセンサス配列由来の特定のフレームワークを用いる。同じフレームワークをいくつかの異なるヒト化抗体に用いる場合がある（例えば、Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎ．３４（１６－１７）：１１５７－１１６５（１９９７）；Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８９：４２８５（１９９２）；Ｐｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５１：２６２３（１９９３）参照。これらの内容は、参照することによってそれらの全体が本明細書に組み込まれる）。いくつかの実施形態では、該フレームワーク領域、例えば、重鎖可変領域の４つのすべてのフレームワーク領域は、V_H４－４－５９生殖細胞系列配列由来である。１つの実施形態では、該フレーム

ワーク領域は、例えば、対応するマウス配列でのアミノ酸から、１つ、２つ、３つ、４つ、または５つの修飾、例えば、置換を含み得る。１つの実施形態では、該フレームワーク領域、例えば、該軽鎖可変領域の４つのすべてのフレームワーク領域は、ＶＫ３－１．２５生殖細胞系列配列由来である。１つの実施形態では、該フレームワーク領域は、例えば、対応するマウス配列でのアミノ酸から、１つ、２つ、３つ、４つ、または５つの修飾、例えば、置換を含み得る。

【０１６３】

いくつかの態様において、抗体フラグメントを含む本発明のＴＦＰ組成物の部分は、標的抗原に対する高い親和性及び他の有益な生物学的特性を保持しながらヒト化される。本発明の１つの態様によれば、ヒト化抗体及び抗体フラグメントは、当該親配列及びヒト化配列の３次元モデルを用いて、該親配列及び様々な概念的ヒト化産物の分析過程によって調製される。３次元免疫グロブリンモデルは、一般に入手可能であり、当業者にはよく知られている。コンピュータプログラムが利用可能であり、これは、選択された候補の免疫グロブリン配列の推定される３次元立体配座構造を説明及び表示する。これらの表示の検査は、候補の免疫グロブリン配列の機能性における当該残基の可能性のある役割の分析、例えば、該候補の免疫グロブリンの標的抗原を結合する能力に影響を与える残基の分析を可能にする。このように、ＦＲ残基は、所望の抗体または抗体フラグメントの特性、例えば、標的抗原に対する親和性の増加が達成されるように、当該レシピエント及び取り込み配列から選択ならびに組み合わせることができる。一般に、該ＣＤＲ残基は、抗原結合への影響に直接及び最も実質的に関与している。

【０１６４】

ヒト化抗体または抗体フラグメントは、元の抗体と同様の抗原特異性、例えば、本発明では、ヒトＣＤ１９に対する結合能を保持し得る。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体または抗体フラグメントでは、ヒトＣＤ１９またはヒトＢＣＭＡに対する結合の親和性及び／または特異性が向上する場合がある。

【０１６５】

１つの態様において、該抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、抗体または抗体フラグメントの特定の機能的特色または特性によって特徴づけられる。例えば、１つの態様において、抗原結合ドメインを含む本発明のＴＦＰ組成物の部分は、ヒトＣＤ１９またはヒトＢＣＭＡに特異的に結合する。１つの態様において、該抗原結合ドメインは、Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎ．３４（１６－１７）：１１５７－１１６５（１９９７）に記載のＦＭＣ６３ ｓｃＦｖと同じまたは同様のヒトＣＤ１９に対する結合特異性を有する。１つの態様において、本発明は、抗体または抗体フラグメントを含むとともにＣＤ１９もしくはＢＣＭＡタンパク質またはそのフラグメントに特異的に結合する抗原結合ドメインに関し、該抗体または抗体フラグメントは、本明細書で提供されるアミノ酸配列を含む可変軽鎖及び／または可変重鎖を含むものである。特定の態様において、該ｓｃＦｖは、リーダー配列に隣接し及びこれと同じリーディングフレーム内にある。

【０１６６】

１つの態様において、該抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、フラグメント、例えば、一本鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）である。１つの態様において、該抗ＣＤ１９結合ドメインは、Ｆｖ、Ｆａｂ、$(Ｆａｂ')_2$、または二官能性（例えば、二重特異性）ハイブリッド抗体（例えば、Ｌａｎｚａｖｅｃｃｈｉａ ｅｔ ａｌ．，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１７，１０５（１９８７））である。１つの態様において、本発明の抗体及びそれらのフラグメントは、野生型または親和性が向上されたＣＤ１９タンパク質に結合する。

【０１６７】

また、標的抗原（例えば、ＣＤ１９、ＢＣＭＡ、または融合部分結合ドメインの標的について本明細書の他の箇所に記載される任意の標的抗原）に特異的な抗体抗原結合ドメインを得るための方法であって、本明細書に示される$Ｖ_Ｈ$ドメインのアミノ酸配列内の１つ

以上のアミノ酸の付加、削除、置換、または挿入を経由して、該V_Hドメインのアミノ酸配列変異体であるV_Hドメインを準備し、任意に、このようにして準備されたV_Hドメインを１つ以上のV_Lドメインと組み合せ、該V_HドメインまたはV_H／V_Lの組合せもしくは複数の組合せを試験し、特定の結合メンバー、または、任意に１つ以上の所望の特性を有する目的の標的抗原（例えば、ＣＤ１９またはＢＣＭＡ）に特異的な抗体抗原結合ドメインを特定することを含む方法を本明細書に提供する。

【０１６８】

いくつかの例では、V_Hドメイン及びｓｃＦｖは当技術分野で既知の方法に従って調製することができる（例えば、Ｂｉｒｄ ｅｔ ａｌ．，（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６ ａｎｄ Ｈｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３参照）。ｓｃＦｖ分子は、V_H及びV_L領域を、可動性ポリペプチドリンカーを用いて連結させることによって産生することができる。該ｓｃＦｖ分子は、最適化された長さ及び／またはアミノ酸組成のリンカー（例えば、Ｓｅｒ－Ｇｌｙリンカー）を含む。該リンカーの長さは、ｓｃＦｖの可変領域の折りたたみ方及び相互作用のし方に大きく影響し得る。実際、短いポリペプチドリンカーが用いられる場合（例えば、５～１０アミノ酸）、鎖内の折りたたみは防止される。鎖間の折りたたみもまた、該２つの可変領域を一緒にして機能的エピトープ結合部位を形成するために必要である。いくつかの例では、該リンカー配列は、長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの例では、該長いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝２～４である。いくつかの例では、該リンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの例では、該短いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝１～３である。リンカーの配向及びサイズの例については、例えば、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．１９９３ Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９０：６４４４－６４４８，米国特許出願公開第２００５／０１００５４３号、第２００５／０１７５６０６号、第２００７／００１４７９４号、ならびにＰＣＴ公開第ＷＯ２００６／０２０２５８号、及び第ＷＯ２００７／０２４７１５号を参照されたい。これらは参照することによって本明細書に組み込まれる。

【０１６９】

ｓｃＦｖは、そのV_L及びV_H領域間に約１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１５を超える残基のリンカーを含むことができる。該リンカー配列は、任意の天然に存在するアミノ酸を含み得る。いくつかの実施形態では、該リンカー配列は、アミノ酸のグリシン及びセリンを含む。別の実施形態では、該リンカー配列は、$(Gly_4Ser)_n$等のグリシンとセリンの繰り返しの組を含み、この場合、ｎは１以上の正の整数である。１つの実施形態では、該リンカーは、$(Gly_4Ser)_4$または$(Gly_4Ser)_3$であり得る。該リンカーの長さの変動は、活性を保持または向上させる場合があり、活性研究における優れた有効性を生じさせる。いくつかの例では、該リンカー配列は、長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの例では、該長いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝２～４である。いくつかの例では、該リンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの例では、該短いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、この場合ｎ＝１～３である。

【０１７０】

安定性及び変異

抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖ分子（例えば、可溶性ｓｃＦｖ）の安定性は、従来の対照ｓｃＦｖ分子または完全長抗体の生物物理学的特性（例えば、熱安定性）に関して評価することができる。１つの実施形態では、該ヒト化またはヒトｓｃＦｖは、記載のアッセイにおいて、親のｓｃＦｖより、約０．１、約０．２５、約０．５、約０．７５、約１、約１．２５、約１．５、約１．７５、約２、約２．５、約３、約３．５、約４、約４．５、約５、約５．５、約６、約６．５、約７、約７．５、約８、約８．５、約９、約９．５、約１０℃、約１１℃、約１２℃、約１３℃、約１４℃、または約１５℃高い熱安定性を有する。

【０１７１】
該抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖの熱安定性の改良は、続いてＣＤ１９－ＴＦＰ構築物全体にもたらされ、該抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ構築物の治療特性の改良につながる。該抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖの熱安定性は、従来の抗体と比較して少なくとも約２℃または３℃改良され得る。１つの実施形態では、該抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖは、従来の抗体と比較して１℃改良された熱安定性を有する。別の実施形態では、該抗ＣＤ１９結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖは、従来の抗体と比較して２℃改良された熱安定性を有する。別の実施形態では、該ｓｃＦｖは、従来の抗体と比較して、４℃、５℃、６℃、７℃、８℃、９℃、１０℃、１１℃、１２℃、１３℃、１４℃、または１５℃改良された熱安定性を有する。比較は、例えば、本明細書に開示のｓｃＦｖ分子と、該ｓｃＦｖ　V_H及びV_Lが由来する抗体のｓｃＦｖ分子またはＦａｂフラグメント間でなされ得る。熱安定性は、当技術分野で既知の方法を用いて測定することができる。例えば、１つの実施形態では、T_Mが測定され得る。T_Mの測定方法及びタンパク質の安定性の他の決定方法は、以下により詳しく記載される。

【０１７２】
ｓｃＦｖの変異（可溶性ｓｃＦｖのヒト化または直接突然変異誘発を介して生じる）は、該ｓｃＦｖの安定性を変化させ、該ｓｃＦｖ及び該抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ構築物の全体的な安定性を改良する。ヒト化ｓｃＦｖの安定性は、T_M、温度変性、及び温度凝集等の測定結果を用いて、マウスのｓｃＦｖに対して比較される。１つの実施形態では、該抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖは、変異したｓｃＦｖが該抗ＣＤ１９　ＴＦＰ構築物に改良された安定性を付与するように、該ヒト化過程から生じる少なくとも１つの変異を含む。別の実施形態では、該抗ＣＤ１９結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖは、変異したｓｃＦｖが該ＣＤ１９－ＴＦＰまたはＢＣＭＡ－ＴＦＰ構築物に改良された安定性を付与するように、該ヒト化過程から生じる少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０の変異を含む。

【０１７３】
１つの態様において、該ＴＦＰの抗原結合ドメインは、本明細書に記載の抗原結合ドメインのアミノ酸配列と相同であるアミノ酸配列を含み、該抗原結合ドメインは、本明細書に記載の抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ抗体フラグメントの所望の機能特性を保持する。１つの特定の態様において、本発明のＴＦＰ組成物は、抗体フラグメントを含む。さらなる態様において、その抗体フラグメントはｓｃＦｖを含む。

【０１７４】
様々な態様において、該ＴＦＰの抗原結合ドメインは、一方または両方の可変領域（例えば、V_H及び／またはV_L）内、例えば、１つ以上のＣＤＲ領域内、及び／または１つ以上のフレームワーク領域内の１つ以上のアミノ酸を修飾することによって改変される。１つの特定の態様において、本発明のＴＦＰ組成物は、抗体フラグメントを含む。さらなる態様において、その抗体フラグメントはｓｃＦｖを含む。

【０１７５】
当業者には、本発明の抗体または抗体フラグメントがさらに、それらがアミノ酸配列の点で異なる（例えば、野生型から）が、所望の活性の点では変化しないように修飾されてもよいことが理解されよう。例えば、「非必須」アミノ酸残基でアミノ酸置換をもたらすさらなるヌクレオチド置換を該タンパク質に施してもよい。例えば、分子内の非必須アミノ酸残基を、同じ側鎖ファミリーからの別のアミノ酸残基で置き換えてもよい。別の実施形態では、一連のアミノ酸を、側鎖ファミリーのメンバーの順序及び／または組成が異なる構造的に同様の一連のもので置き換えることができ、例えば、アミノ酸残基が同様の側鎖を有するアミノ酸残基で置き換えられる保存的置換が行われ得る。

【０１７６】
同様の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当技術分野で定義されており、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン

酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、ベータ分岐側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、及び芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が含まれる。

【０１７７】

２つ以上の核酸またはポリペプチド配列における同一性率は、同じである２つ以上の配列を指す。２つの配列が、最大一致のために比較ウィンドウ上、または以下の配列比較アルゴリズムの１つを用いて、もしくはマニュアルアラインメント及び目視による調査で測定される指定された領域で比較ならびに整列された場合、同一であるアミノ酸残基またはヌクレオチドを特定の割合有するとき、２つの配列は「実質的に同一」である（例えば、特定の領域にわたって、または特定されていない場合、全配列にわたって６０％同一、任意に７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一）。任意に、該同一性は、少なくとも長さ約５０ヌクレオチド（または１０アミノ酸）の領域にわたって、またはより好ましくは、長さ１００～５００もしくは１０００以上のヌクレオチド（または２０、５０、２００、もしくはそれ以上のアミノ酸）の領域にわたって存在する。

【０１７８】

配列比較については、通常、１つの配列が参照配列の役割を果たし、これに対して試験配列が比較される。配列比較アルゴリズムを用いる場合、試験配列及び参照配列をコンピュータに入力し、必要に応じてサブ配列座標を指定し、配列アルゴリズムプログラムのパラメータを指定する。デフォルトのプログラムパラメータを用いてもよいし、別のパラメータを指定してもよい。該配列比較アルゴリズムは、その後、該プログラムパラメータに基づいて、該参照配列に対する該試験配列の配列同一性率を計算する。比較のための配列のアラインメント方法は、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、局所的相同性アルゴリズムのＳｍｉｔｈ ａｎｄ Ｗａｔｅｒｍａｎ，（１９７０）Ａｄｖ．Ａｐｐｌ．Ｍａｔｈ．２：４８２ｃ、相同性アラインメントアルゴリズムのＮｅｅｄｌｅｍａｎ ａｎｄ Ｗｕｎｓｃｈ，（１９７０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４３、類似法検索のＰｅａｒｓｏｎ ａｎｄ Ｌｉｐｍａｎ，（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：２４４４、これらアルゴリズムのコンピュータによる実施（Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｓｏｆｔｗａｒｅ Ｐａｃｋａｇｅ，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ，５７５ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｄｒ．，ウィスコンシン州マジソンにおいて、ＧＡＰ、ＢＥＳＴＦＩＴ、ＦＡＳＴＡ、及びＴＦＡＳＴＡ）、または、マニュアルアラインメント及び目視による調査（例えば、Ｂｒｅｎｔ ｅｔ ａｌ．，（２００３）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ参照）によって行うことができる。配列同一性及び配列類似性率の測定に適したアルゴリズムの２つの例は、ＢＬＡＳＴ及びＢＬＡＳＴ ２．０アルゴリズムであり、これらは、それぞれ、Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，（１９７７）Ｎｕｃ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２５：３３８９－３４０２；及びＡｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，（１９９０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－４１０に記載されている。ＢＬＡＳＴ分析を行うためのソフトウェアは、国立バイオテクノロジー情報センター（Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ）によって公開されている。

【０１７９】

１つの態様において、本発明は、機能的に等価な分子を産生する出発抗体またはフラグメント（例えば、ｓｃＦｖ）のアミノ酸配列の修飾を企図する。例えば、ＴＦＰに含まれる抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインのV_HまたはV_L、例えば、ｓｃＦｖは、該

抗ＣＤ１９結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖの出発$Ｖ_{Ｈ}$または$Ｖ_{Ｌ}$フレームワーク領域の少なくとも約７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％の同一性を保持するように修飾され得る。本発明は、全ＴＦＰ構築物の修飾、例えば、機能的に等価な分子を産生するための該ＴＦＰ構築物の様々なドメインの１つ以上のアミノ酸配列の修飾を企図する。該ＴＦＰ構築物は、出発ＴＦＰ構築物の少なくとも約７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％の同一性を保持するように修飾され得る。

【０１８０】

細胞外ドメイン

細胞外ドメインは、天然または組み換え起源のいずれかから誘導され得る。該起源が天然の場合、該ドメインは、任意のタンパク質由来でよいが、具体的には膜結合または膜貫通タンパク質以外である。１つの態様において、該細胞外ドメインは、該膜貫通ドメインと会合することが可能である。本発明における特定の用途の細胞外ドメインは、例えば、Ｔ細胞受容体のアルファ、ベータ、もしくはゼータ鎖、またはＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマ、もしくはＣＤ３デルタ、または別の実施形態では、ＣＤ２８、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４の少なくとも細胞外領域（複数可）を含み得る。

【０１８１】

膜貫通ドメイン

一般に、ＴＦＰ配列は、単一のゲノム配列によってコードされる細胞外ドメイン及び膜貫通ドメインを含む。別の実施形態では、ＴＦＰは、該ＴＦＰの細胞外ドメインに対して異種の膜貫通ドメインを含むように設計され得る。膜貫通ドメインは、該膜貫通領域に隣接した１つ以上のさらなるアミノ酸、例えば、該膜貫通が由来したタンパク質の細胞外領域に会合した１つ以上のアミノ酸（例えば、該細胞外領域の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、または１５までのアミノ酸）及び／または該膜貫通タンパク質が由来するタンパク質の細胞内領域と会合した１つ以上のさらなるアミノ酸（例えば、該細胞内領域の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、または１５までのアミノ酸）を含み得る。１つの態様において、該膜貫通ドメインは、該ＴＦＰの他のドメインの１つと会合しているものであり、使用される。いくつかの例では、該膜貫通ドメインは、かかるドメインが同じまたは異なる膜表面タンパク質の膜貫通ドメインに結合しないように、例えば、受容体複合体の他のメンバーとの相互作用を最小限にするために、選択またはアミノ酸置換で修飾され得る。１つの態様において、該膜貫通ドメインは、ＴＦＰ－Ｔ細胞表面の別のＴＦＰとホモ二量化することが可能である。異なる態様において、該膜貫通ドメインのアミノ酸配列は、同じＴＦＰに存在する天然の結合パートナーの結合ドメインとの相互作用を最小にするために修飾または置換され得る。

【０１８２】

該膜貫通ドメインは、天然または組み換え起源のいずれかから誘導され得る。該起源が天然の場合、該ドメインは、任意の膜結合または膜貫通タンパク質由来でよい。１つの態様において、該膜貫通ドメインは、該ＴＦＰが標的に結合している場合はいつでも、該細胞内ドメイン（複数可）にシグナル伝達することが可能である。本発明において、特定の用途の膜貫通ドメインは、例えば、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の少なくとも膜貫通領域（複数可）を含み得る。

【０１８３】

いくつかの例では、該膜貫通ドメインは、ＴＦＰの細胞外領域、例えば、ＴＦＰの抗原結合ドメインに、ヒンジ、例えば、ヒトタンパク質由来のヒンジを介して取り付けることができる。例えば、１つの実施形態では、該ヒンジは、ヒト免疫グロブリン（Ｉｇ）のヒンジ、例えば、ＩｇＧ４のヒンジ、またはＣＤ８ａのヒンジであり得る。

【０１８４】

リンカー

任意に、長さ２～１０アミノ酸の短いオリゴまたはポリペプチドリンカーは、ＴＦＰの膜貫通ドメインと細胞質領域間の結合を形成し得る。グリシン－セリンダブレットは、特に適切なリンカーを提供する。例えば、１つの態様において、該リンカーはＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号３）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、該リンカーは、ＧＧＴＧＧＣＧＧＡＧＧＴＴＣＴＧＧＡＧＧＴＧＧＡＧＧＴＴＣＣ（配列番号４）のヌクレオチド配列によってコードされる。

【０１８５】

細胞質ドメイン

ＴＦＰの細胞質ドメインは、該ＴＦＰがＣＤ３ガンマ、デルタ、またはイプシロンポリペプチドを含む場合、細胞内シグナル伝達ドメインを含むことができる。すなわち、ＴＣＲアルファ及びＴＣＲベータサブユニットは、一般にシグナル伝達ドメインを欠いている。細胞内シグナル伝達ドメインは、一般に、該ＴＦＰが導入されている免疫細胞の少なくとも１つの正常なエフェクター機能の活性化に関与する。用語「エフェクター機能」は、細胞の特殊な機能を指す。Ｔ細胞のエフェクター機能は、例えば、細胞溶解活性またはサイトカインの分泌を含めたヘルパー活性であり得る。従って、用語「細胞内シグナル伝達ドメイン」は、該エフェクター機能のシグナルを伝達し、該細胞に特殊機能を行うように指示するタンパク質の部分を指す。通常全細胞内シグナル伝達ドメインが使用され得るが、多くの場合、全鎖を使用する必要はない。該細胞内シグナル伝達ドメインの切断部分が用いられる限りでは、かかる切断部分は、それがエフェクター機能のシグナルを伝達する限り、無傷の鎖の代わりに用いることができる。細胞内シグナル伝達ドメインという用語は、従って、該エフェクター機能のシグナルを伝達するのに十分な該細胞内シグナル伝達ドメインの任意の切断部分を含めることを意図されている。

【０１８６】

本発明のＴＦＰに用いる細胞内シグナル伝達ドメインの例としては、同時に作用して、抗原受容体係合後にシグナル伝達を開始するＴ細胞受容体（ＴＣＲ）及び共受容体の細胞質配列、ならびにこれらの配列の任意の誘導体または変異体及び同じ機能を有する任意の組み換え配列が挙げられる。

【０１８７】

ＴＣＲのみを介して生成されるシグナルは、ナイーブＴ細胞の完全な活性化には不十分であること、ならびに二次及び／または共刺激シグナルが必要であることが知られている。従って、ナイーブＴ細胞の活性化は、２つの異なるクラスの細胞質シグナル伝達配列、すなわち、ＴＣＲを介して抗原依存性の一次活性化を開始するもの（一次細胞内シグナル伝達ドメイン）、及び、抗原非依存的様式で作用し、二次または共刺激シグナルを与えるもの（二次細胞質ドメイン、例えば、共刺激ドメイン）によって媒介されると言える。

【０１８８】

一次シグナル伝達ドメインは、促進的方法または抑制的方法のいずれかで、ＴＣＲ複合体の一次活性化を調節する。促進的な方法で作用する一次細胞内シグナル伝達ドメインは、免疫受容活性化チロシンモチーフ（ＩＴＡＭ）として知られるシグナル伝達モチーフを含み得る。

【０１８９】

本発明において特に用いられる一次細胞内シグナル伝達ドメインを含むＩＴＡＭの例としては、ＣＤ３ゼータ、ＦｃＲガンマ、ＦｃＲベータ、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ５、ＣＤ２２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、及びＣＤ６６ｄのものが挙げられる。１つの実施形態では、本発明のＴＦＰは、細胞内シグナル伝達ドメイン、例

えば、ＣＤ３イプシロンの一次シグナル伝達ドメインを含む。１つの実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、変性ＩＴＡＭドメイン、例えば、天然のＩＴＡＭドメインと比較して、活性が変化（例えば、増加または減少）している変異ＩＴＡＭドメインを含む。１つの実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、変性ＩＴＡＭ含有一次細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、最適化された及び／または切断されたＩＴＡＭ含有一次細胞内シグナル伝達ドメインを含む。実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、１つ、２つ、３つ、４つ、またはそれより多いＩＴＡＭモチーフを含む。

【０１９０】

ＴＦＰの細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメインをそれ自体で含むことも、本発明のＴＦＰとの関連で有用な任意の他の所望の細胞内シグナル伝達ドメイン（複数可）と組み合わせることもできる。例えば、該ＴＦＰの細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３イプシロン鎖部分及び共刺激シグナル伝達ドメインを含むことができる。

該共刺激シグナル伝達ドメインは、共刺激分子の細胞内ドメインを含むＴＦＰの部分を指す。共刺激分子は、抗原に対するリンパ球の効率的な反応に必要とされる、抗原受容体またはそのリガンド以外の細胞表面分子である。かかる分子の例としては、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＰＤ１、ＩＣＯＳ、リンパ球機能関連抗原１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、Ｂ７－Ｈ３、及びＣＤ８３に特異的に結合するリガンド等が挙げられる。例えば、ＣＤ２７の共刺激は、ヒトＴＦＰ－Ｔ細胞のインビトロでの増殖、エフェクター機能、及び生存率を向上させることが明らかにされており、インビボでのヒトＴ細胞の持続及び抗腫瘍活性を増大させる（Ｓｏｎｇ　ｅｔ　ａｌ．　Ｂｌｏｏｄ．　２０１２；１１９（３）：６９６－７０６）。

【０１９１】

本発明のＴＦＰの細胞質部分内の細胞内シグナル伝達配列は、ランダムまたは特定の順序で互いに連結されている場合がある。任意に、例えば、長さ２～１０アミノ酸（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０アミノ酸）の短いオリゴまたはポリペプチドリンカーは細胞内シグナル伝達配列間の結合を形成し得る。

【０１９２】

１つの実施形態では、グリシン－セリンダブレットが適切なリンカーとして使用され得る。１つの実施形態では、単一のアミノ酸，例えば、アラニン、グリシンが適切なリンカーとして使用され得る。

【０１９３】

１つの態様において、本明細書に記載のＴＦＰ発現細胞は、さらに、第二のＴＦＰ、例えば、異なる抗原結合ドメイン、例えば、同じ標的（ＣＤ１９もしくはＢＣＭＡ）または異なる標的（例えば、ＣＤ１２３）に対するものを含む第二のＴＦＰを含むことができる。１つの実施形態では、該ＴＦＰ発現細胞が２つ以上の異なるＴＦＰを含む場合、該異なるＴＦＰの抗原結合ドメインは、該抗原結合ドメインが互いに相互作用しないようにもなり得る。例えば、第一及び第二のＴＦＰを発現する細胞は、第一のＴＦＰの抗原結合ドメインを例えば、フラグメント、例えば、ｓｃＦｖとして有することができ、これは、第二のＴＦＰの抗原結合ドメインと会合を形成しないものであり、例えば、該第二のＴＦＰの抗原結合ドメインはV_{HH}である。

【０１９４】

別の態様では、本明細書に記載のＴＦＰ発現細胞は、さらに、別の作用物質、例えば、ＴＦＰ発現細胞の活性を高める作用物質を発現することができる。例えば、１つの実施形態では、該作用物質は、抑制分子を阻害する作用物質でありうる。抑制分子、例えば、ＰＤ１は、いくつかの実施形態では、ＴＦＰ発現細胞の免疫エフェクター反応の開始能力を弱める場合がある。抑制分子の例としては、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、及びＴＧＦＲベータが挙げられる。１つの実施形態では、抑制分子を阻害する該作用物質は

、第一のポリペプチド、例えば、陽性シグナルを細胞、例えば、本明細書に記載の細胞内シグナル伝達ドメインに与える第二のポリペプチドに会合した抑制分子を含む。１つの実施形態では、該作用物質は、第一のポリペプチド、例えば、ＰＤ１、ＬＡＧ３、ＣＴＬＡ４、ＣＤ１６０、ＢＴＬＡ、ＬＡＩＲ１、ＴＩＭ３、２Ｂ４、及びＴＩＧＩＴ、またはこれらのいずれかのフラグメント（例えば、これらのいずれかの細胞外ドメインの少なくとも一部）等の抑制分子のもの、ならびに、本明細書に記載の細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、共刺激ドメイン（例えば、４－１ＢＢ、ＣＤ２７、またはＣＤ２８、例えば、本明細書に記載の）及び／または一次シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載のＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメインを含む）である第二のポリペプチドを含む。１つの実施形態では、該作用物質は、ＰＤ１の第一のポリペプチドまたはそのフラグメント（例えば、ＰＤ１の細胞外ドメインの少なくとも一部）、及び本明細書に記載の細胞内シグナル伝達ドメインの第二のポリペプチド（例えば、本明細書に記載のＣＤ２８シグナル伝達ドメイン及び／または本明細書に記載のＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメイン）を含む。ＰＤ１は、ＣＤ２８、ＣＴＬＡ－４、ＩＣＯＳ、及びＢＴＬＡも含む受容体のＣＤ２８ファミリーの抑制性メンバーである。ＰＤ－１は、活性化Ｂ細胞、Ｔ細胞、及び骨髄細胞上で発現される（Ａｇａｔａ ｅｔ ａｌ．１９９６ Ｉｎｔ．Ｉｍｍｕｎｏｌ ８：７６５－７５）。ＰＤ１に対する２つのリガンド、すなわち、ＰＤ－Ｌ１及びＰＤ－Ｌ２が、ＰＤ１への結合時、Ｔ細胞の活性化を下方制御することが示された（Ｆｒｅｅｍａｎ ｅｔ ａｌ．２０００ Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ １９２：１０２７－３４；Ｌａｔｃｈｍａｎ ｅｔ ａｌ．２００１ Ｎａｔ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２：２６１－８；Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．２００２ Ｅｕｒ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ ３２：６３４－４３）。ＰＤ－Ｌ１は、ヒトのがんに豊富に含まれている（Ｄｏｎｇ ｅｔ ａｌ．２００３ Ｊ Ｍｏｌ Ｍｅｄ ８１：２８１－７；Ｂｌａｎｋ ｅｔ ａｌ．２００５ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ ５４：３０７－３１４；Ｋｏｎｉｓｈｉ ｅｔ ａｌ．２００４ Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ １０：５０９４）。免疫抑制は、ＰＤ１とＰＤ－Ｌ１の局所的相互作用を阻害することによって覆され得る。

【０１９５】

１つの実施形態では、該作用物質は、抑制分子の細胞外ドメイン（ＥＣＤ）を含み、例えば、プログラム死１（Ｐｒｏｇｒａｍｍｅｄ Ｄｅａｔｈ １）（ＰＤ１）は、膜貫通ドメインならびに任意に細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、４１ＢＢ及びＣＤ３ゼータと融合することができる（本明細書ではＰＤ１ ＴＦＰとも呼ばれる）。１つの実施形態では、該ＰＤ１ ＴＦＰは、本明細書に記載の抗ＣＤ１９ ＴＦＰと組み合わせて使用された場合、Ｔ細胞の持続性を向上させる。１つの実施形態では、ＴＦＰは、ＰＤ １の細胞外ドメインを含むＰＤ１ ＴＦＰである。選択的に、抗体または抗体フラグメント、例えば、プログラム死リガンド１（ＰＤ－Ｌ１）またはプログラム死リガンド２（ＰＤ－Ｌ２）に特異的に結合するｓｃＦｖを含むＴＦＰを提供する。

【０１９６】

別の態様において、本発明は、ＴＦＰ発現Ｔ細胞、例えば、ＴＦＰ－Ｔ細胞の集団を提供する。いくつかの実施形態では、該ＴＦＰ発現Ｔ細胞の集団は、異なるＴＦＰを発現する細胞の混合物を含む、例えば、１つの実施形態では、該ＴＦＰ－Ｔ細胞の集団は、本明細書に記載の抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインを有するＴＦＰを発現する第一の細胞、及び異なる抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば、該第一の細胞によって発現されるＴＦＰ内の抗ＣＤ１９結合ドメインとは異なる本明細書に記載の抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインを含むことができる。別の例として、該ＴＦＰ発現細胞の集団は、抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、例えば、本明細書に記載のものを含むＴＦＰを発現する第一の細胞、及びＣＤ１９やＢＣＭＡ以外の標的（例えば、別の腫瘍関連抗原）に対する抗原結合ドメインを含むＴＦＰを発現する第二の細胞を含むことができる。

【０１９７】

別の態様において、本発明は、当該集団内の少なくとも１つの細胞が本明細書に記載の

抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ結合ドメインを有するＴＦＰを発現する細胞の集団、及び別の作用物質、例えば、ＴＦＰ発現細胞の活性を高める作用物質を発現する第二の細胞を提供する。例えば、１つの実施形態では、該作用物質は、抑制分子を阻害する作用物質であり得る。抑制分子は、例えば、いくつかの実施形態では、ＴＦＰ発現細胞の免疫エフェクター反応の開始能力を弱める場合がある。抑制分子の例としては、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、及びＴＧＦＲベータが挙げられる。１つの実施形態では、抑制分子を阻害する該作用物質は、第一のポリペプチド、例えば、陽性シグナルを細胞、例えば、本明細書に記載の細胞内シグナル伝達ドメインに与える第二のポリペプチドに会合した抑制分子を含む。

【０１９８】

ＴＦＰをコードするインビトロで転写されたＲＮＡの産生方法を本明細書に開示する。また、本発明は、細胞に直接トランスフェクトすることができるＴＦＰをコードするＲＮＡ構築物を含む。トランスフェクションに用いるｍＲＮＡの生成方法は、特別に設計されたプライマーでの鋳型のインビトロ転写（ＩＶＴ）に続いてポリＡ付加を含んで、３’及び５’非翻訳配列（「ＵＴＲ」）、５’キャップ、及び／または配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）、発現される核酸、及び通常は５０～２０００塩基の長さのポリＡ尾部を含む構築物を産生することができる。このようにして産生されたＲＮＡは、異なる種類の細胞を効率的にトランスフェクトすることができる。１つの態様において、該鋳型は、ＴＦＰに対する配列を含む。

【０１９９】

１つの態様において、該抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰは、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）によってコードされる。１つの態様において、該抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰをコードするｍＲＮＡは、ＴＦＰ－Ｔ細胞の産生のため、Ｔ細胞に導入される。１つの実施形態では、該インビトロで転写されたＲＮＡ　ＴＦＰは、一過性トランスフェクションとして細胞に導入され得る。該ＲＮＡは、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）で生成される鋳型を用いたインビトロ転写によって産生される。任意の起源由来の目的のＤＮＡは、ＰＣＲによってインビトロｍＲＮＡ合成用の鋳型に、適切なプライマー及びＲＮＡポリメラーゼを用いて直接変換することができる。該ＤＮＡの起源は、例えば、ゲノムＤＮＡ、プラスミドＤＮＡ、ファージＤＮＡ、ｃＤＮＡ、合成ＤＮＡ配列、または任意の他の適切なＤＮＡ起源でよい。インビトロ転写用の所望の鋳型は、本発明のＴＦＰである。１つの実施形態では、ＰＣＲに使用されるＤＮＡは、オープンリーディングフレームを含む。該ＤＮＡは、有機体のゲノム由来の天然ＤＮＡ配列由来でよい。１つの実施形態では、該核酸は、５’及び／または３’非翻訳領域（ＵＴＲ）の一部または全部を含み得る。該核酸はエキソン及びイントロンを含み得る。１つの実施形態では、ＰＣＲに使用されるＤＮＡは、ヒト核酸配列である。別の実施形態では、ＰＣＲに使用されるＤＮＡは、５’及び３’ＵＴＲを含むヒト核酸配列である。該ＤＮＡは、代替的に、天然に存在する有機体で通常発現されない人工ＤＮＡ配列でよい。例示的な人口ＤＮＡ配列は、融合タンパク質をコードするオープンリーディングフレームを形成するために合わせて連結される遺伝子の部分を含むものである。合わせて連結されるＤＮＡの該部分は、単一の有機体由来でも、複数の有機体由来でもよい。

【０２００】

ＰＣＲを用いて、トランスフェクションに用いられるｍＲＮＡのインビトロ転写用の鋳型を生成する。ＰＣＲの実施方法は、当技術分野で周知である。ＰＣＲ用のプライマーは、該ＰＣＲ用の鋳型として用いられるＤＮＡの領域に実質的に相補的な領域を有するように設計される。本明細書で用いられる、「実質的に相補的」とは、プライマー配列における塩基の大部分もしくはすべてが相補的である、または、１つ以上の塩基が非相補的、もしくは不一致であるヌクレオチド配列を指す。実質的に相補的な配列は、ＰＣＲに用いられるアニーリング条件下で、アニーリングまたは目的のＤＮＡ標的とのハイブリッド形成が可能である。該プライマーは、ＤＮＡ鋳型の任意の部分と実質的に相補的になるように

設計され得る。例えば、該プライマーは、細胞内で通常転写される核酸（オープンリーディングフレーム）の部分を５’及び３’ＵＴＲを含めて増幅するように設計され得る。また、該プライマーは、目的の特定のドメインをコードする核酸の部分を増幅するように設計することもできる。１つの実施形態では、該プライマーは、ヒトｃＤＮＡのコード領域を５’及び３’ＵＴＲのすべてまたは一部を含めて増幅するように設計される。ＰＣＲに有用なプライマーは、当技術分野で周知の合成方法によって産生され得る。「フォワードプライマー」は、増幅されるＤＮＡ配列の上流であるＤＮＡ鋳型上のヌクレオチドに実質的に相補的なヌクレオチドの領域を含むプライマーである。「上流」は、コード鎖に関して増幅されるＤＮＡ配列に対する５の位置を指すために本明細書で用いられる。「リバースプライマー」は、増幅されるＤＮＡ配列の下流である二本鎖ＤＮＡ鋳型に実質的に相補的なヌクレオチドの領域を含むプライマーである。「下流」は、コード鎖に関して増幅されるＤＮＡ配列に対する３’の位置を指すために本明細書で用いられる。

【０２０１】

ＰＣＲに有用な任意のＤＮＡポリメラーゼを本明細書に開示の方法に用いることができる。当該試薬とポリメラーゼは、複数の供給源から市販されている。

【０２０２】

安定性及び／または翻訳効率を促進する能力がある化学構造も用いることができる。該ＲＮＡは、好ましくは５’及び３’ＵＴＲを有する。１つの実施形態では、該５’ＵＴＲは、１～３０００ヌクレオチドの長さである。コード領域に付加される５’及び３’ＵＴＲ配列の長さは、当該ＵＴＲの異なる領域にアニーリングするＰＣＲ用のプライマー設計を含むがこれに限定されない異なる方法によって変更することができる。この方法を用いて、当業者は、転写されたＲＮＡのトランスフェクションに続いて、最適な翻訳効率を達成するために必要な５’及び３’ＵＴＲの長さを変更することができる。

【０２０３】

該５’及び３’ＵＴＲは、目的の核酸に対する天然に存在する内因性５’及び３’ＵＴＲであってよい。別の方法として、目的の核酸にとって内因性でないＵＴＲ配列を、該ＵＴＲ配列をフォワード及びリバースプライマーに組み込むことによって、または当該鋳型の任意の他の修飾によって付加することができる。目的の核酸にとって内因性でないＵＴＲ配列の使用は、該ＲＮＡの安定性及び／または翻訳効率を変更するために有用な場合がある。例えば、３’ＵＴＲ配列内のＡＵリッチ領域は、ｍＲＮＡの安定性を弱め得ることが知られている。従って、３’ＵＴＲは、当技術分野で周知のＵＴＲの特性に基づいて、転写されたＲＮＡの安定性を高めるように選択または設計され得る。

【０２０４】

１つの実施形態では、該５’ＵＴＲは、内因性核酸のコザック配列を含み得る。別の方法として、目的の核酸にとって内因性でない５’ＵＴＲが上記の通りＰＣＲによって付加される場合、コンセンサスコザック配列は、該５’ＵＴＲ配列の付加によって再設計され得る。コザック配列は、いくつかのＲＮＡ転写産物の翻訳効率を高めることができるが、効率的な翻訳を可能にするためにすべてのＲＮＡに必要であるとは思われない。多くのｍＲＮＡに対するコザック配列の必要性は当技術分野で知られている。他の実施形態では、該５’ＵＴＲは、そのＲＮＡゲノムが細胞内で安定であるＲＮＡウイルスの５’ＵＴＲであってよい。他の実施形態では、該３’または５’ＵＴＲに様々なヌクレオチド類似体を用いて当該ｍＲＮＡのエキソヌクレアーゼ分解を妨げることができる。

【０２０５】

遺伝子クローニングを必要とせずに、ＤＮＡ鋳型からのＲＮＡ合成を可能にするために、転写プロモーターが転写される配列の上流のＤＮＡ鋳型に取り付けられるべきである。ＲＮＡポリメラーゼに対するプロモーターとして機能する配列がフォワードプライマーの５’末端に付加される場合、該ＲＮＡポリメラーゼのプロモーターは、転写されるオープンリーディングフレームの上流のＰＣＲ産物に取り込まれる。１つの好ましい実施形態では、該プロモーターは、本明細書の他の箇所に記載されるＴ７ポリメラーゼプロモーターである。他の有用なプロモーターとしては、Ｔ３及びＳＰ６　ＲＮＡポリメラーゼプロモ

ーターが挙げられるがこれらに限定されない。Ｔ７、Ｔ３、及びＳＰ６プロモーターに対するコンセンサスヌクレオチド配列は、当技術分野で知られている。

【０２０６】

好ましい実施形態では、ｍＲＮＡは、５’末端のキャップ及び３’ポリ（Ａ）尾部の両方を有し、これらは細胞内でのｍＲＮＡのリボソーム結合、転写の開始、及び安定性を決定する。環状ＤＮＡ鋳型、例えば、プラスミドＤＮＡ上で、ＲＮＡポリメラーゼは、真核細胞での発現に適さない長い鎖状体産物を産生する。３’ＵＴＲの末端で線形化したプラスミドＤＮＡの転写で、通常のサイズのｍＲＮＡができるが、これが転写後にポリアデニル化されても、真核生物のトランスフェクションには有効ではない。

【０２０７】

線状ＤＮＡ鋳型上で、ファージＴ７　ＲＮＡポリメラーゼは、該転写産物の３’末端を該鋳型の最後の塩基を越えて延長することができる（Ｓｃｈｅｎｂｏｒｎ　ａｎｄ　Ｍｉｅｒｅｎｄｏｒｆ，　Ｎｕｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．，　１３：６２２３－３６　（１９８５）；Ｎａｃｈｅｖａ　ａｎｄ　Ｂｅｒｚａｌ－Ｈｅｒｒａｎｚ，　Ｅｕｒ．　Ｊ．　Ｂｉｏｃｈｅｍ．，　２７０：１４８５－６５　（２００３）。

【０２０８】

ＤＮＡ鋳型内へのポリＡ／Ｔストレッチの従来の統合法は、分子クローニングである。しかしながら、プラスミドＤＮＡ内に統合されたポリＡ／Ｔ配列は、プラスミドの不安定性の原因となるため、細菌の細胞由来のプラスミドＤＮＡ鋳型は、多くの場合、欠失及び他の異常によって高度に不純である。このことが、クローニング法を面倒で時間がかかるだけでなく、しばしば信頼できないものにする。そのようなわけで、クローニングすることなくポリＡ／Ｔ３’ストレッチを備えたＤＮＡ鋳型の構築を可能にする方法が非常に望ましい。

【０２０９】

転写ＤＮＡ鋳型のポリＡ／Ｔセグメントは、ポリＴ尾部、例えば、１００Ｔ尾部（サイズは５０～５０００Ｔでよい）を含むリバースプライマーを用いてＰＣＲの過程で、または、ＤＮＡ連結反応もしくはインビトロ組み換えを含むがこれに限定されない任意の他の方法によるＰＣＲ後に産生され得る。ポリ（Ａ）尾部はまた、ＲＮＡに安定性をもたらし、それらの分解を減少させる。一般に、ポリ（Ａ）尾部の長さは、転写されたＲＮＡの安定性と正の相関がある。１つの実施形態では、該ポリ（Ａ）尾部は、１００～５０００アデノシンである。

【０２１０】

ＲＮＡのポリ（Ａ）尾部は、ポリ（Ａ）ポリメラーゼ、例えば、Ｅ．ｃｏｌｉのポリＡポリメラーゼ（Ｅ－ＰＡＰ）を用いてインビトロ転写後にさらに延長され得る。１つの実施形態では、ポリ（Ａ）尾部の長さを１００ヌクレオチドから３００～４００ヌクレオチドまで増加させることは、当該ＲＮＡの翻訳効率において約２倍の増加をもたらす。さらに、３’末端への異なる化学基の連結は、ｍＲＮＡの安定性を増加させうる。かかる連結は、変性／人口ヌクレオチド、アプタマー、及び他の化合物を含むことができる。例えば、ポリ（Ａ）ポリメラーゼを用いて、該ポリ（Ａ）尾部にＡＴＰ類似体を組み入れることができる。ＡＴＰ類似体は、さらに当該ＲＮＡの安定性を高める。

【０２１１】

５’キャップを付けることは、同様にＲＮＡ分子に安定性をもたらす。好ましい実施形態では、本明細書に開示の方法で産生されるＲＮＡは、５’キャップを含む。５’キャップは、当技術分野で知られているとともに本明細書に記載される技術を用いて提供される（Ｃｏｕｇｏｔ，　ｅｔ　ａｌ．，　Ｔｒｅｎｄｓ　ｉｎ　Ｂｉｏｃｈｅｍ．　Ｓｃｉ．，　２９：４３６－４４４　（２００１）；Ｓｔｅｐｉｎｓｋｉ，　ｅｔ　ａｌ．，　ＲＮＡ，　７：１４６８－９５　（２００１）；Ｅｌａｎｇｏ，　ｅｔ　ａｌ．，　Ｂｉｏｃｈｉｍ．　Ｂｉｏｐｈｙｓ．　Ｒｅｓ．　Ｃｏｍｍｕｎ．，　３３０：９５８－９６６　（２００５））。

【０２１２】

本明細書に開示の方法によって産生されるＲＮＡは、配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）の配列も含むことができる。該ＩＲＥＳ配列は、任意のウイルス、染色体、または人工的に設計された配列でよく、これがｍＲＮＡに対するキャップ非依存性リボソーム結合を開始し、翻訳の開始を促す。糖、ペプチド、脂質、タンパク質、酸化防止剤、及び界面活性剤等の、細胞の透過性及び生存能力を促進する因子を含み得る細胞のエレクトロポレーションに適した任意の溶質を含めることができる。

【０２１３】

ＲＮＡは、複数の異なる方法、例えば、エレクトロポレーション（Ａｍａｘａ　Ｎｕｃｌｅｏｆｅｃｔｏｒ－ＩＩ（Ａｍａｘａ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、ドイツ、ケルン））、（ＥＣＭ　８３０（ＢＴＸ）（Ｈａｒｖａｒｄ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ、マサチューセッツ州ボストン）、もしくはＧｅｎｅ　Ｐｕｌｓｅｒ　ＩＩ（ＢｉｏＲａｄ、コロラド州デンバー）、Ｍｕｌｔｉｐｏｒａｔｏｒ（Ｅｐｐｅｎｄｏｒｔ、ドイツ、ハンブルク）、リポフェクションを用いたカチオン性リポソーム媒介トランスフェクション、ポリマーカプセル化、ペプチド媒介トランスフェクション、または微粒子銃粒子送達システム、例えば、「遺伝子銃」（例えば、Ｎｉｓｈｉｋａｗａ，　ｅｔ　ａｌ．　Ｈｕｍ　Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ．，　１２（８）：８６１－７０　（２００１）参照）が挙げられるがこれらに限定されない商業的に利用可能な方法のいずれかを用いて、標的細胞に導入することができる。

【０２１４】

ＴＦＰをコードする核酸構築物

本発明は、本明細書に記載の１つ以上のＴＦＰ構築物をコードする核酸分子もまた提供する。１つの態様において、該核酸分子は、メッセンジャーＲＮＡ転写物として提供される。１つの態様において、該核酸分子は、ＤＮＡ構築物として提供される。

【０２１５】

所望の分子をコードする核酸配列は、当技術分野で知られている組み換え法を用いて、例えば、該遺伝子を発現する細胞のライブラリのスクリーニングによって、それを含むことが知られているベクターから当該遺伝子を抽出することによって、またはそれを含む細胞及び組織から直接単離することによって、標準的な技術を用いて得ることができる。別の方法として、目的の遺伝子は、クローンではなく、合成的に産生することができる。

【０２１６】

本発明は、本発明のＤＮＡが挿入されるベクターもまた提供する。レンチウイルス等のレトロウイルス由来のベクターは、それらが長期間にわたる安定した導入遺伝子の統合及び娘細胞におけるその増殖を可能にするため、長期間にわたる遺伝子導入を達成するのに適したツールである。レンチウイルスベクターは、それらが肝細胞等の非増殖性細胞を形質導入することができるという点で、マウス白血病ウイルス等のオンコレトロウイルス由来のベクターより追加された利点を有する。それらはまた、追加された低免疫原性の利点を有する。

【０２１７】

別の実施形態では、本発明の所望のＴＦＰをコードする核酸を含むベクターは、アデノウイルスベクター（Ａ５／３５）である。別の実施形態では、ＴＦＰをコードする核酸の発現は、スリーピングビューティー、クリスパー（ｃｒｉｓｐｅｒ）、ＣＡＳ９、及びジンクフィンガーヌクレアーゼ等のトランスポゾンを用いて達成され得る。下記参照Ｊｕｎｅ　ｅｔ　ａｌ．　２００９　Ｎａｔｕｒｅ　Ｒｅｖｉｅｗｓ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　９．１０：　７０４－７１６は、参照することによって本明細書に組み込まれる。

【０２１８】

本発明の発現構築物は、標準的な遺伝子導入プロトコルを用いて核酸免疫付与及び遺伝子治療にも用いることができる。遺伝子導入方法は、当技術分野で知られている（例えば、米国特許第５，３９９，３４６号、第５，５８０，８５９号、第５，５８９，４６６号参照。参照することによってそれらの全体が本明細書に組み込まれる）。別の実施形態では、本発明は、遺伝子治療ベクターを提供する。

【０２１９】
該核酸は、複数のタイプのベクターにクローニングされ得る。例えば、該核酸は、プラスミド、ファージミド、ファージ誘導体、動物ウイルス、及びコスミドが挙げられるがこれらに限定されないベクターにクローニングすることができる。特に重要であるベクターには、発現ベクター、複製ベクター、プローブ生成ベクター、及び配列決定ベクターが含まれる。
【０２２０】
さらに、該発現ベクターは、ウイルスベクターの形態で細胞に提供され得る。ウイルスベクター技術は、当技術分野で周知であり、例えばＳａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，２０１２，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，ｖｏｌｕｍｅｓ　１－４，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ）、ならびに他のウイルス学及び分子生物学マニュアルに記載されている。ベクターとして有用なウイルスとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、及びレンチウイルスが挙げられるがこれらに限定されない。一般に、適切なベクターは、少なくとも１つの有機体で機能する複製起点、プロモーター配列、都合の良い制限エンドヌクレアーゼ部位、及び１つ以上の選択マーカーを含む（例えば、ＷＯ０１／９６５８４；ＷＯ０１／２９０５８；及び米国特許第６，３２６，１９３号）。
【０２２１】
複数のウイルスベースの系が、哺乳類細胞への遺伝子導入用に開発されてきた。例えば、レトロウイルスは、遺伝子導入系に都合の良いプラットフォームを提供する。選択された遺伝子は、ベクターに挿入され、当技術分野で知られている技術を用いてレトロウイルス粒子内に包装され得る。該組み換えウイルスは次に単離され、インビボまたはエキソビボのいずれかで、目的の細胞に導入され得る。複数のレトロウイルス系が当技術分野で知られている。いくつかの実施形態では、アデノウイルスベクターが用いられる。複数のアデノウイルスベクターが当技術分野で知られている。１つの実施形態では、レンチウイルスベクターが用いられる。
【０２２２】
さらなるプロモーター要素、例えば、エンハンサーは、転写開始の頻度を調節する。通常、これらは、開始部位の３０～１１０ｂｐ上流の領域に位置しているが、複数のプロモーターが該開始部位の下流に同様に機能要素を含むことが示されている。要素が互いに反転または互いに連動される場合にプロモーターの機能が保存されるように、プロモーター要素間の間隔にはしばしば柔軟性がある。チミジンキナーゼ（ｔｋ）プロモーターにおいて、プロモーター要素間の間隔は、活性が低下し始める前に５０ｂｐ離れるまで増加し得る。プロモーターに応じて、個々の要素は、協調的または独立的に機能して転写を活性化し得ると思われる。
【０２２３】
哺乳類のＴ細胞においてＴＦＰ導入遺伝子を発現することが可能なプロモーターの例は、ＥＦ１ａプロモーターである。天然ＥＦ１ａプロモーターは、アミノアシルｔＲＮＡのリボソームへの酵素的導入に関与する伸長因子１複合体のアルファサブユニットの発現を動作させる。該ＥＦ１ａプロモーターは、哺乳類の発現プラスミドに広く用いられており、レンチウイルスベクターにクローニングされた導入遺伝子からのＴＦＰ発現を動作させるのに有効であることが示されている（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．　Ｔｈｅｒ．　１７（８）：　１４５３－１４６４　（２００９）参照）。プロモーターの別の例は、前初期サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）プロモーター配列である。このプロモーター配列は、それに作動可能に連結された任意のポリヌクレオチド配列の高レベルの発現を動作させることができる強力な構成的プロモーター配列である。しかしながら、シミアンウイルス４０（ＳＶ４０）初期プロモーター、マウス乳がんウイルス（ＭＭＴＶ）、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）の長い末端反復（ＬＴＲ）プロモーター、ＭｏＭｕＬＶプロモーター、トリ白血病ウイルスプロモーター、エプスタイン・バーウイルス前初

期プロモーター、ラウス肉腫ウイルスプロモーター、ならびに、ヒト遺伝子のプロモーター、例えば、限定されないが、アクチンプロモーター、ミオシンプロモーター、伸長因子１ａプロモーター、ヘモグロビンプロモーター、及びクレアチンキナーゼプロモーターが挙げられるがこれらに限定されない他の構成的プロモーター配列もまた使用され得る。さらに、本発明は、構成的プロモーターの使用に限定されないものとする。誘導性プロモーターもまた本発明の一部として企図される。誘導性プロモーターの使用は、作動可能に連結されたポリヌクレオチド配列の発現を、かかる発現が望まれる場合にオンにすること、または発現が望まれない場合には該発現をオフにすることが可能な分子スイッチを提供する。誘導性プロモーターの例としては、メタロチオネイン（ｍｅｔａｌｌｏｔｈｉｏｎｉｎｅ）プロモーター、グルココルチコイドプロモーター、プロゲステロンプロモーター、及びテトラサイクリン調節プロモーターが挙げられるがこれらに限定されない。

【０２２４】

ＴＦＰポリペプチドまたはその一部の発現を評価するため、細胞に導入される発現ベクターはまた、選択マーカー遺伝子もしくはレポーター遺伝子のいずれかまたはその両方を含んで、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ようとする細胞の集団からの発現細胞の特定及び選択を容易にすることができる。他の態様において、該選択マーカーは、ＤＮＡの別々の片上に担持され、同時トランスフェクション法に用いられる場合がある。選択マーカーとレポーター遺伝子の両方が、当該宿主細胞内での発現を可能にするために適切な調節配列に隣接されてもよい。有用な選択マーカーとしては、例えば、抗生物質抵抗性遺伝子、例えば、ｎｅｏ等が挙げられる。

【０２２５】

レポーター遺伝子は、トランスフェクトされた可能性のある細胞を特定するため、及び調節配列の機能を評価するために用いられる。一般に、レポーター遺伝子は、レシピエントの有機体または組織内に含まれない、またはこれらによって発現されず、その発現が、多少容易に検出可能な特性、例えば、酵素活性によって明らかにされるポリペプチドをコードする遺伝子である。レポーター遺伝子の発現は、当該ＤＮＡが当該レシピエント細胞に導入された後の適切な時点でアッセイされる。適切なレポーター遺伝子としては、ルシフェラーゼ、ベータガラクトシダーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ、分泌アルカリフォスファターゼをコードする遺伝子、または緑色蛍光タンパク質遺伝子を挙げることができる（例えば、Ｕｉ－Ｔｅｉ ｅｔ ａｌ．，２０００ ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔｅｒｓ ４７９：７９－８２）。適切な発現系は周知であり、既知の技術を用いて調製しても、商業的に入手してもよい。一般に、最も高いレポーター遺伝子の発現レベルを示す最小の５’隣接領域を備えた構築物は、プロモーターとして特定される。かかるプロモーター領域は、レポーター遺伝子に連結され、プロモーターに動作される転写を調節する能力について作用物質を評価するために使用され得る。

【０２２６】

細胞内に遺伝子を導入及び発現させる方法は、当技術分野で知られている。発現ベクターとの関連では、該ベクターは、宿主細胞、例えば、哺乳類、細菌、酵母、または昆虫の細胞に、当技術分野の任意の方法によって容易に導入することができる。例えば、該発現ベクターは、物理的、化学的、または生物学的手段によって宿主細胞に移植することができる。

【０２２７】

宿主細胞内へポリヌクレオチドを導入するための物理的方法には、リン酸カルシウム沈殿、リポフェクション、微粒子銃、マイクロインジェクション、エレクトロポレーション等が含まれる。ベクター及び／または外因性核酸を含む細胞の産生方法は、当技術分野で周知である。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，２０１２，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，ｖｏｌｕｍｅｓ １－４，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ参照）。宿主細胞内へのポリヌクレオチドの導入のための好ましい方法は、リン酸カルシウム法である。

【０２２８】
目的のポリヌクレオチドを宿主細胞内に導入するための生物学的方法には、ＤＮＡ及びＲＮＡベクターの使用が含まれる。ウイルスベクター、特にレトロウイルスベクターは、哺乳類、例えば、ヒト細胞に遺伝子を挿入するために最も広く用いられる方法となっている。他のウイルスベクターは、レンチウイルス、ポックスウイルス、単純ヘルペスウイルスＩ型、アデノウイルス、及びアデノ随伴ウイルス等から誘導され得る（例えば、米国特許第５，３５０，６７４号及び第５，５８５，３６２号参照。
【０２２９】
宿主細胞内へポリヌクレオチドを導入するための化学的手段には、コロイド分散系、例えば、高分子複合体、ナノカプセル、ミクロスフェア、ビーズ、ならびに水中油型エマルション、ミセル、混合ミセル、及びリポソームを含めた脂質ベースの系が含まれる。インビトロ及びインビボでの送達媒体として使用するための例示的なコロイド系は、リポソーム（例えば、人工膜小胞）である。他の最先端の核酸の標的化送達、例えば、標的化ナノ粒子または他の適切なサブミクロンサイズの送達システムでのポリヌクレオチドの送達が利用可能である。
【０２３０】
非ウイルス送達システムが利用される場合、例示的な送達媒体はリポソームである。脂質製剤の使用は、宿主細胞内への核酸の導入（インビトロ、エキソビボ、またはインビボ）を企図する。別の態様において、該核酸は、脂質と会合され得る。脂質に会合した核酸は、リポソームの水性内部に封入、リポソームの脂質二重層内に散在、リポソーム及びオリゴヌクレオチドの両方に会合した連結分子を介してリポソームに付着、リポソーム内に封入、リポソームと複合化、脂質含有溶液に分散、脂質と混合、脂質と統合、脂質中に懸濁液として含有、ミセルとともに含有もしくは複合化、または他の場合には脂質と会合され得る。脂質、脂質／ＤＮＡ、または脂質／発現ベクター関連組成物は、溶液中でいかなる特定の構造にも限定されない。例えば、それらは二層構造で、ミセルとして、または「崩壊した」構造で存在してもよい。それらはまた、単に溶液に散在されてもよく、サイズも形も均一でない凝集体を形成すると思われる。脂質は、脂肪性の物質であり、天然に存在する脂質でも合成脂質でもよい。例えば、脂質には、細胞質に天然に存在する脂肪小滴、ならびに長鎖脂肪族炭化水素及びそれらの誘導体、例えば、脂肪酸、アルコール、アミン、アミノアルコール、及びアルデヒドを含む化合物のクラスが含まれる。
【０２３１】
使用に適した脂質は、商業的供給源から入手することができる。例えば、ジミリスチルホスファチジルコリン（「ＤＭＰＣ」）は、ミズーリ州セントルイスＳｉｇｍａから入手可能であり；リン酸ジセチル（「ＤＣＰ」）は、Ｋ　＆　Ｋ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（ニューヨーク州プレーンビュー）から入手可能であり；コレステロール（「Ｃｈｏｉ」）は、Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ－Ｂｅｈｒｉｎｇから入手可能であり；ジミリスチルホスファチジルグリセロール（「ＤＭＰＧ」）及び他の脂質は、Ａｖａｎｔｉ　Ｐｏｌａｒ　Ｌｉｐｉｄｓ，　Ｉｎｃ．（アラバマ州バーミングハム）から入手され得る。脂質のクロロホルムまたはクロロホルム／メタノール中での原液は、約－２０℃で保存され得る。クロロホルムは、メタノールより容易に蒸発するため、唯一の溶媒として用いられる。「リポソーム」は、封入された脂質二重層または凝集体の生成によって形成される様々な単層または多重膜の脂質媒体を包含する総称である。リポソームは、リン脂質二重膜及び内側の水性媒体を備えた小胞構造を有することを特徴とし得る。多重膜リポソームは、水性媒体によって分離された複数の脂質層を有する。それらは、リン脂質が過剰の水溶液に懸濁された場合に自然に生じる。該脂質成分は、自己再編成を経て、閉鎖構造を形成し、当該脂質二重層間に水及び溶解した溶質を封入する（Ｇｈｏｓｈ　ｅｔ　ａｌ．，　１９９１　Ｇｌｙｃｏｂｉｏｌｏｇｙ　５：　５０５－１０）。しかしながら、通常の小胞構造とは溶液中での構造が異なる組成物も包含される。例えば、該脂質は、ミセル構造をとってもよいし、単に脂質分子の不均一な凝集体として存在してもよい。リポフェクタミン・核酸複合体もまた企図される。

【０２３２】
宿主細胞内へ外因性核酸を導入するのに用いられる方法、または他の場合には本発明の阻害剤に細胞を暴露するのに用いられる方法にかかわらず、宿主細胞内での組み換えＤＮＡ配列の存在を確認するために様々なアッセイが行われ得る。かかるアッセイとしては、例えば、当業者に周知の「分子生物学的」アッセイ、例えば、サザン及びノーザンブロット法、ＲＴ－ＰＣＲ、及びＰＣＲ；「生化学的」アッセイ、例えば、特定のペプチドの有無を例えば、免疫学的手段（ＥＬＩＳＡ及びウェスタンブロット法）によって、または本明細書に記載のアッセイによって検出し、本発明の範囲に含まれる作用物質を特定することが挙げられる。

【０２３３】
本発明はさらに、ＴＦＰをコードする核酸分子を含むベクターを提供する。１つの態様において、ＴＦＰベクターは、細胞、例えば、Ｔ細胞に直接導入することができる。１つの態様において、該ベクターは、クローニングまたは発現ベクター、例えば、１つ以上のプラスミド（例えば、発現プラスミド、クローニングベクター、ミニサークル、ミニベクター、二重微小染色体）、レトロウイルスベクター構築物及びレンチウイルスベクター構築物が挙げられるがこれらに限定されないベクターである。１つの態様において、該ベクターは、哺乳類のＴ細胞でＴＦＰ構築物を発現することが可能である。１つの態様において、該哺乳類のＴ細胞は、ヒトＴ細胞である。

【０２３４】
Ｔ細胞源
増殖及び遺伝子組み換えに先立って、Ｔ細胞源を対象から採取する。用語「対象」は、免疫反応が誘発され得る生体（例えば、哺乳類）を含むことが意図されている。対象の例としては、ヒト、イヌ、ネコ、マウス、ラット、及びそれらのトランスジェニック種が挙げられる。Ｔ細胞は、末梢血単核細胞、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位由来の組織、腹水、胸水、脾臓組織、及び腫瘍を含めた複数の起源から採取することができる。本発明の特定の態様において、当技術分野で入手可能な様々なＴ細胞株が用いられる場合がある。本発明の特定の態様において、Ｔ細胞は、当業者に知られる様々な技術、例えば、Ｆｉｃｏｌｌ（商標）分離を用いて対象から採取された血液の単位から得ることができる。１つの好ましい態様において、個体の循環血液由来の細胞は、アフェレーシスによって採取される。該アフェレーシス産物は、通常、Ｔ細胞を含めたリンパ球、単球、顆粒球、Ｂ細胞、他の有核白血球細胞、赤血球、及び血小板を含む。１つの態様において、アフェレーシスによって採取された細胞は、血漿画分を除去し、該細胞をその後の処理段階に適切な緩衝液または媒体に配するために洗浄され得る。本発明の１つの態様において、該細胞はリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で洗浄される。別の態様において、該洗浄液は、カルシウムを欠いており、かつ、マグネシウムを欠く場合も２価カチオンのすべてではないがその多くを欠く場合もある。カルシウムの非存在下での最初の活性化段階は、活性化の拡大につながり得る。当業者には容易に理解されるように、洗浄段階は当業者に知られる方法によって、例えば、半自動の「フロースルー」遠心分離（例えば、Ｃｏｂｅ　２９９１セルプロセッサー、Ｂａｘｔｅｒ　ＣｙｔｏＭａｔｅ、またはＨａｅｍｏｎｅｔｉｃｓ　Ｃｅｌｌ　Ｓａｖｅｒ　５）を用いて、メーカーの指示に従って達成され得る。洗浄後、細胞を様々な生体適合性緩衝液、例えば、ＣａフリーでＭｇフリーのＰＢＳ、ＰｌａｓｍａＬｙｔｅ　Ａ、または、緩衝液を含むもしくは含まない他の生理食塩水に再懸濁され得る。別の方法として、該アフェレーシス試料の望ましくない成分を除去し、細胞を直接培地に再懸濁してもよい。

【０２３５】
１つの態様において、Ｔ細胞は、赤血球を溶解し、単球を、例えば、ＰＥＲＣＯＬＬ（商標）勾配を介した遠心分離によって、または向流遠心水簸によって、枯渇させることによって、末梢血リンパ球から単離される。Ｔ細胞の特定の亜集団、例えば、ＣＤ３＋、ＣＤ２８＋、ＣＤ４＋、ＣＤ８＋、ＣＤ４５ＲＡ＋、及びＣＤ４５ＲＯ＋Ｔ細胞をさらに、正のまたは負の選択技術によって単離することができる。例えば、１つの態様において、

Ｔ細胞は、抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８（例えば、３×２８）結合ビーズ、例えば、ＤＹＮＡＢＥＡＤＳ（商標）Ｍ－４５０　ＣＤ３／ＣＤ２８　Ｔとともに、所望のＴ細胞の正の選択に十分な期間インキュベートすることによって単離される。１つの態様において、該期間は、約３０分である。さらなる態様において、該期間は３０分から３６時間またはそれ以上及びその間のすべての整数値に及ぶ。さらなる態様において、該期間は、少なくとも１、２、３、４、５、または６時間である。さらに別の好ましい態様において、該期間は、１０～２４時間である。１つの態様において、該インキュベート期間は、２４時間である。腫瘍組織または免疫不全の個体から腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）を単離するような、他の細胞型と比較してＴ細胞が少ない任意の状況でＴ細胞を単離するために、より長いインキュベート時間を用いてもよい。さらに、より長いインキュベート時間を用いることで、ＣＤ８＋Ｔ細胞の捕捉の効率を高めることができる。従って、Ｔ細胞を該ＣＤ３／ＣＤ２８ビーズに結合させる時間を単に短縮または延長することによって、及び／またはＴ細胞に対する該ビーズの割合を増加または減少させる（本明細書にさらに記載される）ことによって、Ｔ細胞の亜集団が優先的に培養開始時または当該工程の他の時点で選択または反選択され得る。さらに、該ビーズもしくは他の表面上で抗ＣＤ３及び／または抗ＣＤ２８抗体の比を増加もしくは減少させることによって、Ｔ細胞の亜集団は、優先的に培養開始時または他の所望の時点で選択または反選択され得る。当業者であれば、本発明の中で複数の選択期間もまた使用することができることが認められよう。特定の態様において、該選択手順を行い、「選択されていない」細胞を活性化及び増殖工程で用いることが望ましい場合がある。「選択されていない」細胞は、さらなる選択期間に供することもできる。

【０２３６】

負の選択によるＴ細胞集団の濃縮は、負に選択された細胞に特有の表面マーカーに対する抗体の組合せを用いて達成することができる。１つの方法は、負に選択された細胞に存在する細胞表面マーカーに対するモノクローナル抗体のカクテルを用いる負磁気免疫接着またはフローサイトメトリーを介した細胞選別及び／または選択である。例えば、負の選択によってＣＤ４＋細胞を濃縮するためには、モノクローナル抗体カクテルは通常、ＣＤ１４、ＣＤ２０、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ１６、ＨＬＡ－ＤＲ、及びＣＤ８に対する抗体を含む。特定の態様において、通常ＣＤ４＋、ＣＤ２５＋、ＣＤ６２Ｌｈｉ、ＧＩＴＲ＋、及びＦｏｘＰ３＋を発現する調節性Ｔ細胞を濃縮または正に選択することが望ましい場合がある。別の方法として、特定の態様において、調節性Ｔ細胞は、抗Ｃ２５結合ビーズまたは他の同様の選択方法によって枯渇される。

【０２３７】

１つの実施形態では、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－アルファ、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、グランザイムＢ、及びパーフォリン、または他の適切な分子、例えば、他のサイトカインのうちの１つ以上を発現するＴ細胞集団が選択され得る。細胞発現のスクリーニング方法は、例えば、ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１３／１２６７１２号に記載の方法によって、決定することができる。

【０２３８】

正または負の選択による所望の細胞集団の単離のため、細胞濃度及び表面（例えば、ビーズ等の粒子）は変更され得る。特定の態様において、ビーズと細胞が混合される体積を大幅に減少させ（例えば、細胞濃度を増加させ）、細胞とビーズを最大に接触させることが望ましい場合がある。例えば、１つの態様において、２０億個の細胞／ｍＬの濃度が用いられる。１つの態様において、１０億個の細胞／ｍＬの濃度が用いられる。さらなる態様において、１億個超の細胞／ｍＬが用いられる。さらなる態様において、１０００万、１５００万、２０００万、２５００万、３０００万、３５００万、４０００万、４５００万、または５０００万個の細胞／ｍＬの細胞濃度が用いられる。さらに１つの態様において、７５００万、８０００万、８５００万、９０００万、９５００万、または１億個の細胞／ｍＬからの細胞濃度が用いられる。さらなる態様において、１億２５００万または１億５０００万個の細胞／ｍＬの濃度を用いることができる。高濃度の使用は、細胞収率、細胞活性化、及び細胞増殖の増加をもたらすことができる。さらに、高細胞濃度の使用は

、目的の標的抗原の発現が弱い可能性がある細胞、例えば、ＣＤ２８陰性Ｔ細胞、または多くの腫瘍細胞が存在する試料（例えば、白血病血液、腫瘍組織等）からの細胞のより効率的な捕捉を可能にする。かかる細胞集団は、治療的価値を有する場合があり、得ることが望ましい。例えば、高細胞濃度の使用は、通常ＣＤ２８の発現が弱いＣＤ８＋Ｔ細胞のより効率的な選択を可能にする。

【０２３９】

関連する態様において、より低濃度の細胞を使用することが望ましい場合がある。Ｔ細胞と表面（例えば、ビーズ等の粒子）の混合物を大幅に希釈することによって、該粒子と細胞間の相互作用が最小化される。これは、該粒子に結合される所望の抗原を豊富に発現する細胞を選択する。例えば、ＣＤ４＋Ｔ細胞は高レベルのＣＤ２８を発現し、希釈濃度において、ＣＤ８＋Ｔ細胞より効率的に捕捉される。１つの態様において、使用される細胞濃度は5×10^{6}／ｍＬである。他の態様において、使用される濃度は約1×10^{5}／ｍＬ～1×10^{6}／ｍＬ、及びその間の任意の整数値であり得る。他の態様において、該細胞は、回転装置上で様々な長さの時間、様々な速度で、２～１０℃または室温のいずれかでインキュベートされ得る。

【０２４０】

刺激用のＴ細胞は、洗浄段階の後、凍結させることもできる。理論に拘束されることを望むものではないが、凍結及びそれに続く解凍段階は、当該細胞集団の顆粒球及びある程度の単球を除去することによってより均一な産物を提供する。血漿及び血小板を除去する洗浄段階の後、該細胞は、凍結溶液に懸濁され得る。多くの凍結溶液及びパラメータが当技術分野で知られており、これに関して有用であるが、１つの方法は、２０％ＤＭＳＯ及び８％ヒト血清アルブミンを含むＰＢＳ、または、１０％デキストラン４０及び５％デキストロース、２０％ヒト血清アルブミン及び７．５％ＤＭＳＯ、もしくは３１．２５％Ｐｌａｓｍａｌｙｔｅ－Ａ、３１．２５％デキストロース５％、０．４５％ＮａＣｌ、１０％デキストラン４０及び５％デキストロース、２０％ヒト血清アルブミン、ならびに７．５％ＤＭＳＯを含む培地、または例えば、Ｈｅｓｐａｎ及びＰｌａｓｍａＬｙｔｅ Ａを含む他の適切な細胞凍結媒体の使用を含み、該細胞をその後－８０℃に毎分１の速度で凍結し、液体窒素貯蔵タンクの気相で保存する。他の制御凍結法は、－２０℃でのまたは液体窒素中での制御されていない即時凍結と同様に使用され得る。特定の態様において、凍結保存細胞は、本明細書に記載の通り解凍及び洗浄され、室温で１時間静置され、その後本発明の方法を用いて活性化される。

【０２４１】

本発明の中で同様に企図されるのは、本明細書に記載の増殖細胞が必要とされる前の期間における対象からの血液試料またはアフェレーシス産物の採取である。従って、増殖される細胞源は、任意の必要な時点で採取され、所望の細胞、例えば、Ｔ細胞は、Ｔ細胞療法で恩恵を受ける様々な疾患または状態、例えば、本明細書に記載のそれらのためのＴ細胞療法における後の使用のために単離及び凍結される。１つの態様において、血液試料またはアフェレーシスは、概して健康な対象から採取される。特定の態様において、血液試料またはアフェレーシスは、疾患の発症の危険性があるがまだ発病していない概して健康な対象から採取し、目的の細胞を後の使用のために単離及び凍結する。特定の態様において、該Ｔ細胞は、増殖され、凍結され、その後使用され得る。特定の態様において、試料は、本明細書に記載の特定の疾患の診断の直後で、いずれかの治療の前の患者から採取される。さらなる態様において、該細胞は、ナタリズマブ、エファリズマブ、抗ウイルス剤、化学療法、放射線、免疫抑制剤、例えば、シクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキサート、ミコフェノール酸、及びＦＫ５０６、抗体、または他の免疫消失薬、例えば、ＣＡＭＰＡＴＨ、抗ＣＤ３抗体、シトキサン、フルダラビン、シクロスポリン、ＦＫ５０６、ラパマイシン、ミコフェノール酸、ステロイド、ＦＲ９０１２２８、ならびに放射線照射等の薬剤での治療が挙げられるがこれに限定されない様々な関連する治療法に先立って、対象からの血液試料またはアフェレーシスから単離される。

【０２４２】

本発明のさらなる態様において、Ｔ細胞は、当該対象に機能的Ｔ細胞を残す治療の後に、患者から直接採取される。その点について、特定のがん治療の後、免疫系に損傷を与える薬物での特定の治療において、治療の直後、患者が当該治療から通常回復する期間に、得られたＴ細胞の品質は、エキソビボでのそれらの増殖能が最適であるか、または改善されている可能性がある。同様に、本明細書に記載の方法を用いたエキソビボ操作の後、これらの細胞は、生着及びインビボ増殖の向上に好ましい状態にあり得る。従って、本発明の中に、Ｔ細胞を含めた血液細胞、樹状細胞、または造血系の他の細胞をこの回復期に採取することが企図される。さらに、特定の態様において、動員（例えば、ＧＭ－ＣＳＦでの動員）及び前処置レジメンを用いて、特定の細胞型の再増殖、再循環、再生、及び／または増殖が促進される対象における、特に治療後の所定の時間窓での条件を作成することができる。例示的な細胞型としては、Ｔ細胞、Ｂ細胞、樹状細胞、及び免疫系の他の細胞が挙げられる。

【０２４３】

Ｔ細胞の活性化及び増殖

Ｔ細胞は、例えば、米国特許第６，３５２，６９４号；第６，５３４，０５５号；第６，９０５，６８０号；第６，６９２，９６４号；第５，８５８，３５８号；第６，８８７，４６６号；第６，９０５，６８１号；第７，１４４，５７５号；第７，０６７，３１８号；第７，１７２，８６９号；第７，２３２，５６６号；第７，１７５，８４３号；第５，８８３，２２３号；第６，９０５，８７４号；第６，７９７，５１４号；第６，８６７，０４１号；及び米国特許出願公開第２００６０１２１００５号に記載の方法を用いて通常活性化及び増殖され得る。

【０２４４】

一般に、本発明のＴ細胞は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体関連シグナルを刺激する作用物質を付着された表面及び該Ｔ細胞の表面の共刺激分子を刺激するリガンドとの接触によって増殖され得る。特に、Ｔ細胞集団は、本明細書に記載の通り、例えば、抗ＣＤ３抗体もしくはその抗原結合フラグメント、もしくは表面に固定化された抗ＣＤ２抗体との接触によって、またはカルシウムイオノフォアと組み合わせてプロテインキナーゼＣ活性化剤（例えば、ブリオスタチン）との接触によって刺激され得る。Ｔ細胞表面のアクセサリー分子の共刺激に対しては、該アクセサリー分子に結合するリガンドが用いられる。例えば、Ｔ細胞集団は、該Ｔ細胞の増殖を刺激するために適切な条件下、抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体と接触され得る。ＣＤ４＋Ｔ細胞またはＣＤ８＋Ｔ細胞のいずれかの増殖を刺激するためには、抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体。抗ＣＤ２８抗体の例としては、９．３、Ｂ－Ｔ３、ＸＲ－ＣＤ２８（Ｄｉａｃｌｏｎｅ、フランス、ブザンソン）が挙げられ、当技術分野で一般に知られる他の方法を用いてもよい（Ｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．、Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔ Ｐｒｏｃ． ３０（８）：３９７５－３９７７、１９９８；Ｈａａｎｅｎ ｅｔ ａｌ．、Ｊ． Ｅｘｐ． Ｍｅｄ． １９０（９）：１３１９１３２８、１９９９；Ｇａｒｌａｎｄ ｅｔ ａｌ．、Ｊ． Ｉｍｍｕｎｏｌ． Ｍｅｔｈ． ２２７（１－２）：５３－６３、１９９９）。

【０２４５】

多様な刺激時間に曝露されたＴ細胞は、異なる特性を呈し得る。例えば、典型的な血液またはアフェレーシスで得られた末梢血の単核細胞産物は、ヘルパーＴ細胞集団（ＴＨ、ＣＤ４＋）を有し、これは細胞傷害性やサプレッサーＴ細胞集団（ＴＣ、ＣＤ８＋）より多い。ＣＤ３及びＣＤ２８受容体を刺激することによるＴ細胞のエキソビボでの増殖は、約８～９日目より前には、主にＴＨ細胞からなるＴ細胞集団を産生するが、約８～９日目より後は、Ｔ細胞集団は次第に増加するＴＣ細胞集団を含む。従って、治療の目的に応じて、主にＴＨ細胞を含むＴ細胞集団を対象に注入することが有利な場合がある。同様に、抗原特異的なＴＣ細胞のサブセットが単離された場合、このサブセットをさらに増殖させることが有益な場合がある。

【０２４６】

さらに、ＣＤ４及びＣＤ８のマーカーに加えて、該細胞増殖工程において、他の表現型

のマーカーは大きく変化するが、大部分は再現性がよい。従って、かかる再現性が、活性化Ｔ細胞産物を特定の目的用に調整する能力を可能にする。

【０２４７】

抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰが構築されると、様々なアッセイを用いて該分子の活性、例えば、抗原刺激後のＴ細胞を増殖する能力、再刺激の非存在下でＴ細胞増殖を維持する能力、及び適切なインビトロ及び動物モデルでの抗がん活性等であるがこれらに限定されない活性を評価することができる。抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰの効果を評価するアッセイは、以下にさらに詳細に説明する。

【０２４８】

一次Ｔ細胞におけるＴＦＰ発現のウェスタンブロット分析を用いて、モノマー及びダイマーの存在を検出することができる（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：　１４５３－１４６４　（２００９）参照）。極めて簡潔には、該ＴＦＰを発現するＴ細胞（ＣＤ４$^+$とＣＤ８$^+$Ｔ細胞の１：１混合物）を、インビトロで１０日より長く増殖させ、その後溶解し還元条件でＳＤＳ－ＰＡＧＥに供する。ＴＦＰは、ＴＣＲ鎖に対する抗体を用いてウェスタンブロット法によって検出される。同じＴ細胞のサブセットを、非還元条件でのＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析に用い共有結合ダイマーの生成の評価を可能にする。

【０２４９】

抗原刺激後のＴＦＰ$^+$Ｔ細胞のインビトロでの増殖は、フローサイトメトリーで測定することができる。例えば、ＣＤ４$^+$及びＣＤ８$^+$Ｔ細胞の混合物を、アルファＣＤ３／アルファＣＤ２８及びＡＰＣで刺激し、その後分析されるプロモーターの制御下で、ＧＦＰを発現するレンチウイルスベクターで形質導入する。例示的なプロモーターとしては、ＣＭＶ　ＩＥ遺伝子、ＥＦ－１アルファ、ユビキチンＣ、またはホスホグリセロキナーゼ（ＰＧＫ）プロモーターが挙げられる。ＧＦＰの蛍光は、ＣＤ４＋及び／またはＣＤ８＋Ｔ細胞のサブセット中での培養の６日目に、フローサイトメトリーによって評価される（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：　１４５３－１４６４　（２００９）参照）。別の方法として、ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞の混合物をアルファＣＤ３／アルファＣＤ２８被覆磁気ビーズで０日目に刺激し、１日目に、ＴＦＰを発現するバイシストロニックなレンチウイルスベクターを用い、ｅＧＦＰとともに、２Ａリボソームスキッピング配列を用いてＴＦＰで形質導入する。培養物を洗浄後、ＣＤ１９＋Ｋ５６２細胞（Ｋ５６２－ＣＤ１９）、野生型Ｋ５６２細胞（Ｋ５６２野生型）、または抗ＣＤ３及び抗ＣＤ２８抗体の存在下でｈＣＤ３２及び４－１ＢＢＬを発現するＫ５６２細胞（Ｋ５６２－ＢＢＬ３／２８）のいずれかで再刺激する。外因性ＩＬ－２を該培養物に１日おきに１００ＩＵ／ｍＬで添加する。ＧＦＰ＋Ｔ細胞は、ビーズに基づく計数を用いてフローサイトメトリーによって数えられる（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：　１４５３－１４６４　（２００９）参照）。

【０２５０】

再刺激の非存在下で持続するＴＦＰ＋Ｔ細胞の増殖もまた測定することができる（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：　１４５３－１４６４　（２００９）参照）。簡潔には、アルファＣＤ３／アルファＣＤ２８被覆磁気ビーズで０日目に刺激し、指示されたＴＦＰで１日目に形質導入した後、培養の８日目に、平均Ｔ細胞体積（ｆｌ）をＣｏｕｌｔｅｒ　Ｍｕｌｔｉｓｉｚｅｒ　ＩＩ粒子計測器を用いて測定する。

【０２５１】

動物モデルを用いてＴＦＰ－Ｔ活性を測定することもできる。例えば、免疫不全マウスにおいて初代ヒトプレＢ　ＡＬＬを治療するためのヒトＣＤ１９特異的ＴＦＰ＋Ｔ細胞を用いた異種移植モデルを用いることができる（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：　１４５３－１４６４　（２００９）参照）。極めて簡潔には、ＡＬＬの定着後、マウスを治療群に応じてランダム化する。

異なる数の改変Ｔ細胞を１：１の比でＢ－ＡＬＬを有するＮＯＤ／ＳＣＩＤ／γ－／－マウスに同時注入する。マウス由来の脾臓ＤＮＡにおける各ベクターのコピー数を、Ｔ細胞の注入後の様々な時点で評価する。動物を１週間間隔で白血病について評価する。末梢血ＣＤ１９＋Ｂ－ＡＬＬ芽細胞数を、アルファＣＤ１９－ゼータＴＦＰ＋Ｔ細胞またはｍｏｃｋ形質導入Ｔ細胞を注入されたマウスで測定する。これらの群についての生存曲線を、ログランク検定を用いて比較する。さらに、ＮＯＤ／ＳＣＩＤ／γ－／－マウスにおけるＴ細胞注入の４週間後の末梢血ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞の絶対数も分析することができる。マウスに白血病細胞を注入し、３週間後、ｅＧＦＰに連結されたＴＦＰをコードするバイシストロニックなレンチウイルスベクターによって、ＴＦＰを発現するように改変されたＴ細胞を注入する。Ｔ細胞は、注入に先立って、ｍｏｃｋ形質導入細胞と混合することによって、４５～５０％入力ＧＦＰ＋Ｔ細胞に正規化され、フローサイトメトリーによって確認される。動物を１週間間隔で白血病について評価する。ＴＦＰ＋Ｔ細胞群についての生存曲線を、ログランク検定を用いて比較する。

【０２５２】

用量依存的なＴＦＰ治療反応が評価され得る（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔｈｅｒａｐｙ １７（８）：１４５３－１４６４（２００９）参照）。例えば、末梢血を、２１日目にＴＦＰ Ｔ細胞、もしくは同数のｍｏｃｋ形質導入Ｔ細胞を注入した、またはＴ細胞を注入しないマウスにおいて、白血病の成立後３５～７０日で採取する。３５日目及び４９日目に、末梢血ＣＤ１９＋ＡＬＬ芽細胞数の測定のため、各群のマウスをランダムに採血し、その後殺処分する。残りの動物は５７日目及び７０日目に評価する。

【０２５３】

細胞増殖及びサイトカイン産生の評価は、以前に例えば、Ｍｉｌｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔｈｅｒａｐｙ １７（８）：１４５３－１４６４（２００９）で記載されている。簡潔には、ＴＦＰ媒介増殖の評価は、マイクロタイタープレートにて、洗浄したＴ細胞を、ＣＤ１９を発現するＫ５６２細胞（Ｋ１９）またはＣＤ３２及びＣＤ１３７を発現するＫ５６２細胞（ＫＴ３２－ＢＢＬ）と、最終的なＴ細胞：Ｋ５６２比が２：１になるように混合することによって行われる。Ｋ５６２細胞には、使用に先立ってガンマ線を照射する。抗ＣＤ３（クローンＯＫＴ３）及び抗ＣＤ２８（クローン９．３）モノクローナル抗体を、ＫＴ３２－ＢＢＬ細胞との培養物に加えてＴ細胞増殖刺激用陽性対照とする。これは、これらのシグナルが長期的なＣＤ８＋Ｔ細胞のエキソビボでの増殖を裏付けるためである。Ｔ細胞は、ＣｏｕｎｔＢｒｉｇｈｔ（商標）蛍光ビーズ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）及びフローサイトメトリーを用いて培養下でメーカーの記載通りに数える。ＴＦＰ＋Ｔ細胞は、ｅＧＦＰ－２Ａが連結されたＴＦＰ発現レンチウイルスベクターで改変されたＴ細胞を用いてＧＦＰの発現によって特定される。ＧＦＰを発現しないＴＦＰ＋Ｔ細胞については、該ＴＦＰ＋Ｔ細胞は、ビオチン化組み換えＣＤ１９タンパク質及び二次アビジン・ＰＥ複合体で検出される。Ｔ細胞上でのＣＤ４＋及びＣＤ８＋の発現は、特定のモノクローナル抗体（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）でも同時に検出される。サイトカインの測定は、再刺激の２４時間後に採取された上清にて、ヒトＴＨ１／ＴＨ２サイトカインサイトメトリービーズアレイキット（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を用い、メーカーの指示に従って行う。蛍光は、ＦＡＣＳｃａｌｉｂｕｒフローサイトメーターを用いて評価し、データはメーカーの指示に従って分析する。

【０２５４】

細胞傷害性は、標準的な^{51}Ｃｒ放出アッセイによって評価することができる（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔｈｅｒａｐｙ １７（８）：１４５３－１４６４（２００９）参照）。簡潔には、標的細胞（Ｋ５６２系列及び初代プロＢ－ＡＬＬ細胞）に、３７℃で２時間、頻繁に攪拌しながら^{51}Ｃｒ（$NaCrO_4$として、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｎｕｃｌｅａｒ）をロードし、これを完全ＲＰＭＩで２度洗浄し、マイクロタイタープレートに播種する。エフェクターＴ細胞を、該ウェル内で、完全ＲＰＭＩ中で標的細胞と、様々なエフェクター細胞：標的細胞（Ｅ：Ｔ）比で

混合する。培地のみを含む（自然放出、ＳＲ）または界面活性剤トリトン－Ｘ１００の１％溶液を含む（総放出、ＴＲ）さらなるウェルも用意する。３７℃で４時間の培養後、各ウェルから上清を採取する。放出された^{51}Ｃｒをその後ガンマパーティクルカウンター（Ｐａｃｋａｒｄ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔ　Ｃｏ．、マサチューセッツ州ウォルサム）を用いて測定する。各条件を少なくとも３連で行い、溶解率を式：溶解％＝（ＥＲ－ＳＲ）／（ＴＲ－ＳＲ）を用いて計算する。式中、ＥＲは各実験条件についての^{51}Ｃｒ放出の平均を表す。

【０２５５】

画像技術を用いて、腫瘍を有する動物モデルにおけるＴＦＰの特異的輸送及び増殖を評価することができる。かかるアッセイは、例えば、Ｂａｒｒｅｔｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｈｕｍａｎ　Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒａｐｙ　２２：１５７５－１５８６（２０１１）に記載されている。簡潔には、ＮＯＤ／ＳＣＩＤ／γｃ－／－（ＮＳＧ）マウスに、Ｎａｌｍ－６細胞に続いて７日後、ＴＦＰ構築物でのエレクトロポレーションの４時間後にＴ細胞を静注する。該Ｔ細胞は、ホタルルシフェラーゼを発現させるためにレンチウイルス構築物を安定的にトランスフェクトされ、マウスは生物発光に対して撮像される。別の方法として、Ｎａｌｍ－６異種移植モデルにおけるＴＦＰ＋Ｔ細胞の単回注射の治療効果及び特異性は以下の通りに測定することができる：ＮＳＧマウスに、ホタルルシフェラーゼを安定的に発現するように形質導入したＮａｌｍ－６を注射し、続いて７日後にＣＤ１９　ＴＦＰをエレクトロポレーションしたＴ細胞を単回尾静脈注射する。動物を注射後の様々な時点で撮像する。例えば、代表的なマウスにおけるホタルルシフェラーゼ陽性白血病光子密度ヒートマップを５日目（処置の２日前）及び８日目（ＴＦＰ＋ＰＢＬの２４時間後）に生成することができる。

【０２５６】

本明細書の実施例の節に記載のものならびに当技術分野で既知のものを含めた他のアッセイもまた、本発明の抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ構築物を評価するために用いることができる。

【０２５７】

治療への応用

ＣＤ１９またはＢＣＭＡ関連疾患及び／または障害

１つの態様において、本発明は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う疾患の治療方法を提供する。１つの態様において、本発明は、腫瘍の一部がＣＤ１９またはＢＣＭＡに対して陰性であり、腫瘍の一部がＣＤ１９またはＢＣＭＡに対して陽性である疾患の治療方法を提供する。例えば、本発明のＴＦＰは、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現の上昇を伴う疾患の治療を受けた対象の治療に有用であり、この場合、ＣＤ１９またはＢＣＭＡのレベルの上昇の治療を受けた該対象は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡのレベルの上昇を伴う疾患を呈する。

【０２５８】

１つの態様において、本発明は、哺乳類のＴ細胞での発現用のプロモーターに作動可能に連結された抗ＣＤ１９またはＢＣＭＡ　ＴＦＰを含むベクターに関する。１つの態様において、本発明は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する腫瘍の治療用のＣＤ１９またはＢＣＭＡ　ＴＦＰを発現する組み換えＴ細胞を提供し、該ＣＤ１９またはＢＣＭＡ　ＴＦＰを発現する組み換えＴ細胞は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡ　ＴＦＰ－Ｔと呼ばれる。１つの態様において、本発明のＣＤ１９またはＢＣＭＡ　ＴＦＰ－Ｔは、該ＴＦＰ－Ｔが腫瘍細胞を標的とし、該腫瘍の成長が阻害されるように、腫瘍細胞を、その表面で発現する少なくとも１つの本発明のＣＤ１９またはＢＣＭＡ　ＴＦＰと接触させることが可能である。

【０２５９】

１つの態様において、本発明は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する腫瘍細胞の成長の阻害方法であって、該ＴＦＰ－Ｔが抗原に反応して活性化され、がん細胞を標的化し、該腫瘍の成長が阻害されるように、該腫瘍細胞を本発明のＣＤ１９またはＢＣＭＡ　ＴＦＰ－Ｔ細胞と接触させることを含む方法に関する。

【０２６０】
１つの態様において、本発明は、対象におけるがんの治療方法に関する。該方法は、該がんが該対象において治療されるように、本発明のＣＤ１９またはＢＣＭＡ　ＴＦＰ－Ｔ細胞を該対象に投与することを含む。本発明のＣＤ１９またはＢＣＭＡ　ＴＦＰ－Ｔ細胞で治療可能ながんの例は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴うがんである。１つの態様において、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う該がんは血液がんである。１つの態様において、該血液がんは、白血病またはリンパ腫である。１つの態様において、ＣＤ１９の発現を伴うがんには、例えば、Ｂ細胞急性リンパ性白血病（「ＢＡＬＬ」）、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（「ＴＡＬＬ」）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）が挙げられるがこれらに限定されない例えば１つ以上の急性白血病；例えば、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）が挙げられるがこれらに限定されない１つ以上の慢性白血病が挙げられるがこれらに限定されないがん及び悪性腫瘍が挙げられる。ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴うさらなるがんまたは血液疾患としては、例えば、Ｂ細胞前リンパ球性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、ヘアリー細胞白血病、小細胞もしくは大細胞濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性疾患、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成及び骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、ならびに骨髄の血液細胞の無効な産生（または異形成）によってまとめられる様々な血液疾患の集まりである「前白血病」等が挙げられるがこれらに限定されない。さらに、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う疾患としては、例えば、非定型及び／または非古典的がん、悪性腫瘍、ＣＤ１９もしくはＢＣＭＡの発現を伴う前がん状態または増殖性疾患が挙げられるがこれらに限定されない。

【０２６１】
いくつかの実施形態では、ＣＤ１９またはＢＣＭＡ　ＴＦＰ、例えば、本明細書に記載のもので治療され得るがんは、多発性骨髄腫である。多発性骨髄腫は、血液のがんであり、骨髄での形質細胞クローンの蓄積を特徴とする。多発性骨髄腫に対する現行の治療は、サリドマイド類似体であるレナリドミドでの治療が挙げられるがこれに限定されない。レナリドミドは、抗腫瘍活性、血管形成阻害、及び免疫修飾を含む活性を有する。一般に、骨髄腫細胞は、フローサイトメトリーによって、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現に対して陰性であると考えられている。本発明は、骨髄腫の腫瘍細胞の数パーセントがＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現することの認識を包含する。従って、いくつかの実施形態では、ＣＤ１９またはＢＣＭＡ　ＴＦＰ、例えば、本明細書に記載のものは、骨髄腫細胞を標的化するために使用され得る。いくつかの実施形態では、ＣＤ１９またはＢＣＭＡ　ＴＦＰ治療は、１つ以上のさらなる治療、例えば、レナリドミド治療と組み合わせて使用され得る。

【０２６２】
本発明は、Ｔ細胞がＴＦＰを発現するように遺伝子組み換えされ、該ＴＦＰ発現Ｔ細胞が、それを必要とするレシピエントに注入される、一種の細胞療法を含む。注入された細胞は、レシピエントの腫瘍細胞を死滅させることが可能である。抗体療法と異なり、ＴＦＰ発現Ｔ細胞は、インビボで複製することが可能であり、長期持続をもたらし、それが腫瘍の持続的制御につながり得る。様々な態様において、患者に投与された該Ｔ細胞、またはそれらの後代は、患者に該Ｔ細胞を投与後、少なくとも４ヶ月、５ヶ月、６ヶ月、７ヶ月、８ヶ月、９ヶ月、１０ヶ月、１１ヶ月、１２ヶ月、１３ヶ月、１４ヶ月、１５ヶ月、１６ヶ月、１７ヶ月、１８ヶ月、１９ヶ月、２０ヶ月、２１ヶ月、２２ヶ月、２３ヶ月、２年、３年、４年、または５年間、当該患者内で存続する。

【０２６３】
また、本発明は、Ｔ細胞が、ＴＦＰを一過性に発現するために、例えば、インビトロで転写されたＲＮＡによって改変され、該ＴＦＰ発現Ｔ細胞が、それを必要とするレシピエントに注入される、一種の細胞療法を含む。注入された細胞は、レシピエントの腫瘍細胞を死滅させることが可能である。従って、様々な態様において、患者に投与された該Ｔ細

胞は、患者に該Ｔ細胞を投与後、１ヶ月未満、例えば、３週間、２週間、または１週間存在する。

【０２６４】

いかなる特定の理論にも拘束されることを望むものではないが、該ＴＦＰ発現Ｔ細胞によって誘発される抗腫瘍免疫反応は、能動でも受動免疫反応でもよく、代替的に、直接対間接免疫反応によってもよい。１つの態様において、該ＴＦＰを形質導入したＴ細胞は、該ＣＤ１９またはＢＣＭＡ抗原を発現するヒトがん細胞に反応して特定の炎症性サイトカイン分泌及び強力な細胞溶解反応を呈し、可溶性ＣＤ１９またはＢＣＭＡ阻害に耐性であり、バイスタンダー殺傷を媒介し、定着したヒト腫瘍の退行を媒介する。例えば、ＣＤ１９を発現するまたはＢＣＭＡを発現する腫瘍の異種フィールド内の抗原のない腫瘍細胞は、隣接する抗原陽性がん細胞にすでに反応しているＣＤ１９再指向性またはＢＣＭＡ再指向性Ｔ細胞による間接的な破壊に対して敏感である可能性がある。

【０２６５】

１つの態様において、本発明のヒトＴＦＰ改変Ｔ細胞は、哺乳類における、エキソビボでの免疫付与及び／またはインビボ治療用の一種のワクチンであり得る。１つの態様において、該哺乳類はヒトである。

【０２６６】

エキソビボでの免疫付与に関しては、該細胞を哺乳類に投与する前に、以下のうちの少なくとも１つがインビトロで行われる：ｉ）該細胞の増殖、ｉｉ）ＴＦＰをコードする核酸を該細胞に導入する、またはｉｉｉ）該細胞の凍結保存。

【０２６７】

エキソビボ手順は、当技術分野で周知であり、以下により詳細に論じる。簡潔には、細胞を哺乳類（例えば、ヒト）から単離し、本明細書に開示のＴＦＰを発現するベクターで遺伝子組み換えする（すなわち、インビトロで形質導入またはトランスフェクトする）。該ＴＦＰで改変された細胞を哺乳類レシピエントに投与し、治療効果を得ることができる。該哺乳類レシピエントは、ヒトでよく、該ＴＦＰで改変された細胞は、該レシピエントに関して自己移植の場合がある。別の方法として、該細胞は、該レシピエントに関して同種異系、同系、または異種の場合がある。

【０２６８】

造血幹及び前駆細胞のエキソビボでの増殖手順は、参照することによって本明細書に組み込まれる米国特許第５，１９９，９４２号に記載されており、本発明の細胞に適用することができる。他の適切な方法は当技術分野で知られており、従って、本発明は、該細胞の任意の特定のエキソビボでの増殖方法に限定されない。簡潔には、Ｔ細胞のエキソビボでの培養及び増殖は：（１）末梢血採取または骨髄外植片から、哺乳類由来のＣＤ３４＋造血幹及び前駆細胞を採取し；（２）かかる細胞をエキソビボで増殖させることを含む。米国特許第５，１９９，９４２号に記載の細胞増殖因子に加えて、ｆｌｔ３－Ｌ、ＩＬ－１、ＩＬ－３、及びｃ－ｋｉｔリガンド等の他の因子を該細胞の培養及び増殖のために用いることができる。

【０２６９】

エキソビボでの免疫付与において、細胞ベースのワクチンの使用に加えて本発明は、患者の抗原に対する免疫反応を誘発するインビボでの免疫付与のための組成物及び方法もまた提供する。

【０２７０】

一般に、本明細書に記載の活性化及び増殖された細胞は、免疫不全の個体で生じる疾患の治療及び予防に利用され得る。特に、本発明のＴＦＰで改変されたＴ細胞は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う疾患、障害、及び状態の治療に用いられる。特定の態様において、本発明の細胞は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う疾患、障害、及び状態を発症する危険性がある患者の治療に用いられる。従って、本発明は、治療有効量の本発明のＴＦＰで改変されたＴ細胞を、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う疾患、障害、及び状態の治療または予防を必要とする対象に投与することを含む、該治療または予防のための

方法を提供する。

【０２７１】

１つの態様において、本発明のＴＦＰ－Ｔ細胞は、がんや悪性腫瘍などの増殖性疾患、または骨髄異形成、骨髄異形成症候群、もしくは前白血病などの前がん状態の治療に使用され得る。１つの態様において、該がんは血液がんである。１つの態様において、該血液がんは、白血病またはリンパ腫である。１つの態様において、本発明のＴＦＰ－Ｔ細胞は、例えば、Ｂ細胞急性リンパ性白血病（「ＢＡＬＬ」）、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（「ＴＡＬＬ」）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）が挙げられるがこれらに限定されない例えば急性白血病；例えば、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）が挙げられるがこれらに限定されない１つ以上の慢性白血病；例えば、Ｂ細胞前リンパ球性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、ヘアリー細胞白血病、小細胞もしくは大細胞濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性疾患、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成及び骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、ならびに骨髄の血液細胞の無効な産生（または異形成）によってまとめられる様々な血液疾患の集まりである「前白血病」等が挙げられるがこれらに限定されないさらなる血液がんまたは血液疾患等であるがこれらに限定されないがん及び悪性腫瘍を治療するために使用され得る。さらに、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う疾患としては、例えば、非定型及び／または非古典的がん、悪性腫瘍、ＣＤ１９もしくはＢＣＭＡを発現する前がん状態または増殖性疾患が挙げられるがこれらに限定されない。ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う非がん関連の適応症としては、例えば、自己免疫疾患（例えば、狼瘡）、炎症性疾患（アレルギー及び喘息）、ならびに移植が挙げられるがこれらに限定されない。

【０２７２】

本発明のＴＦＰで改変されたＴ細胞は、単独で投与しても、希釈剤及び／または他の成分、例えば、ＩＬ－２もしくは他のサイトカイン、または細胞集団と組み合わせて医薬組成物として投与してもよい。

【０２７３】

血液がん

血液がん疾患は、白血病及び悪性リンパ増殖性疾患等の、血液、骨髄、ならびにリンパ系に影響を与える種類のがんである。

【０２７４】

白血病は、急性白血病と慢性白血病に分類することができる。急性白血病は、さらに急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）及び急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）として分類することができる。慢性白血病には、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）及び慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）が含まれる。他の関連する疾患としては、骨髄の血液細胞の無効な産生（または異形成）及びＡＭＬへの転換の危険性によってまとめられる様々な血液疾患の集まりである骨髄異形成症候群（ＭＤＳ、かつて「前白血病」として知られていた）が挙げられる。

【０２７５】

本発明は、がんの治療用の組成物及び方法を提供する。１つの態様において、該がんは、白血病またはリンパ腫が挙げられるがこれに限定されない血液がんである。１つの態様において、本発明のＴＦＰ－Ｔ細胞は、例えば、Ｂ細胞急性リンパ性白血病（「ＢＡＬＬ」）、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（「ＴＡＬＬ」）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）が挙げられるがこれらに限定されない例えば急性白血病；例えば、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）が挙げられるがこれらに限定されない１つ以上の慢性白血病；例えば、Ｂ細胞前リンパ球性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、ヘアリー細胞白血病、小細胞もしくは大細胞濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性疾患、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成及び骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ヴァルデンストレ

ームマクログロブリン血症、ならびに骨髄の血液細胞の無効な産生（または異形成）によってまとめられる様々な血液疾患の集まりである「前白血病」等が挙げられるがこれらに限定されないさらなる血液がんまたは血液疾患等であるがこれらに限定されないがん及び悪性腫瘍を治療するために使用され得る。さらに、ＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現を伴う疾患としては、例えば、非定型及び／または非古典的がん、悪性腫瘍、ＣＤ１９もしくはＢＣＭＡを発現する前がん状態または増殖性疾患が挙げられるがこれらに限定されない。

【０２７６】

また、本発明は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する細胞集団の増殖を阻害、または該集団を減少させる方法であって、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する細胞を含む細胞集団を、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する細胞に結合する本発明の抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ－Ｔ細胞と接触させることを含む方法を提供する。特定の態様において、本発明は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現するがん細胞集団の増殖を阻害、または該集団を減少させる方法であって、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現するがん細胞集団を、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する細胞に結合する本発明の抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ－Ｔ細胞と接触させることを含む方法を提供する。１つの態様において、本発明は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現するがん細胞集団の増殖を阻害、または該集団を減少させる方法であって、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現するがん細胞集団を、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する細胞に結合する本発明の抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ－Ｔ細胞と接触させることを含む方法を提供する。特定の態様において、本発明の抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ－Ｔ細胞は、細胞及び／またはがん細胞の分量、数、量、または割合を、骨髄性白血病または他のＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する細胞に関連するがんを有する対象またはそれに対する動物モデルにおいて、陰性対照と比較して、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９５％、または少なくとも９９％低下させる。１つの態様において、該対象はヒトである。

【０２７７】

また、本発明は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する細胞に関連する疾患（例えば、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する血液がんまたは非定型がん）を予防、治療、及び／または管理する方法であって、必要とする対象に対して、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する細胞に結合する本発明の抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ－Ｔ細胞を投与することを含む方法を提供する。１つの態様において、該対象はヒトである。ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する細胞に関連する疾患の非限定的な例としては、自己免疫疾患（狼瘡等）、炎症性疾患（アレルギー及び喘息等）、ならびにがん（血液がんまたはＣＤ１９もしくはＢＣＭＡを発現する非定型がん等）が挙げられる。

【０２７８】

また、本発明は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する細胞に関連する疾患を予防、治療、及び／または管理する方法であって、必要とする対象に対して、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する細胞に結合する本発明の抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ－Ｔ細胞を投与することを含む方法を提供する。１つの態様において、該対象はヒトである。

【０２７９】

本発明は、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する細胞に関連するがんの再発の予防方法であって、それを必要とする対象に対して、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する細胞に結合する本発明の抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ－Ｔ細胞を投与することを含む方法を提供する。１つの態様において、該方法は、それを必要とする対象に対して、ＣＤ１９またはＢＣＭＡを発現する細胞に結合する本明細書に記載の抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ－Ｔ細胞の有効量を別の治療の有効量と組み合わせて投与することを含む。

【０２８０】

併用療法

本明細書に記載のＴＦＰ発現細胞は、他の既知の薬剤及び治療と組み合わせて使用してもよい。本明細書で用いられる、「組み合わせて」投与されるとは、対象に対して、２つ

（またはそれ以上）の異なる治療が、該対象の疾患の苦痛の過程において送達されること、例えば、該２つ以上の治療が、該対象が該障害と診断された後、該障害が治癒もしくは除去される前、または治療が他の理由のために中止される前に送達されることを意味する。いくつかの実施形態では、投与に関して重複があるように、１つの治療の送達は、第二の送達の開始時に依然として行われている。これは、本明細書では「同時」または「同時送達」と呼ばれる場合がある。他の実施形態では、１つの治療の送達は、他方の治療の送達の開始前に終了する。いずれかの場合のいくつかの実施形態では、該治療は、併用投与のためにより効果的である。例えば、該第二の治療はより効果的であり、例えば、該第一の治療なしで該第二の治療が施される場合に見られるより、より少ない該第二の治療で同等の効果が見られるか、または、該第二の治療は症状を大幅に減少させ、類似の状況は該第一の治療でも見られる。いくつかの実施形態では、送達は、症状、または、障害に関連する他のパラメータの減少が、他方の非存在下で送達される１つの治療で観察されるものより大きくなるようになされる。該２つの治療の効果は、一部相加的であるか、完全に相加的であるか、または相加的を超える場合がある。該送達は、送達された第一の治療の効果が、第二の治療が送達される際に依然として検出可能であるようになされ得る。

【０２８１】

いくつかの実施形態では、「少なくとも１つの追加の治療薬」には、ＴＦＰ発現細胞が含まれる。また、同じもしくは異なる標的抗原、または同じ標的抗原上の同じもしくは異なるエピトープに結合する複数のＴＦＰを発現するＴ細胞を提供する。また、第一のＴ細胞のサブセットが第一のＴＦＰを発現し、第二のＴ細胞のサブセットが第二のＴＦＰを発現するＴ細胞の集団を提供する。

【０２８２】

本明細書に記載のＴＦＰ発現細胞及び少なくとも１つの追加の治療薬は、同時に、同じもしくは別々の組成物中で、または連続的に投与され得る。連続投与については、本明細書に記載のＴＦＰ発現細胞を第一に投与し、該追加の薬剤を第二に投与してもよいし、該投与順序を入れ替えてもよい。

【０２８３】

さらなる態様において、本明細書に記載のＴＦＰ発現細胞は、手術、化学療法、放射線、免疫抑制剤、例えば、シクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキサート、ミコフェノール酸、及びＦＫ５０６、抗体、もしくは他の免疫消失薬、例えば、ＣＡＭＰＡＴＨ、抗ＣＤ３抗体、または他の抗体療法、シトキシン（ｃｙｔｏｘｉｎ）、フルダラビン、シクロスポリン、ＦＫ５０６、ラパマイシン、ミコフェノール酸、ステロイド、ＦＲ９０１２２８、サイトカイン、及び放射線照射、ペプチドワクチン、例えば、Ｉｚｕｍｏｔｏ ｅｔ ａｌ． ２００８ Ｊ Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ １０８：９６３－９７１に記載のものと組み合わせて治療計画に使用され得る。

【０２８４】

１つの実施形態では、該対象は、ＴＦＰ発現細胞の投与に伴う副作用を減少または改善する薬剤を投与される場合がある。ＴＦＰ発現細胞の投与に伴う副作用としては、サイトカイン放出症候群（ＣＲＳ）、及びマクロファージ活性化症候群（ＭＡＳ）とも呼ばれる血球貪食性リンパ組織球症（ＨＬＨ）が挙げられるがこれらに限定されない。ＣＲＳの症状としては、高熱、吐き気、一過性低血圧、低酸素症等が挙げられる。従って、本明細書に記載の方法は、本明細書に記載のＴＦＰ発現細胞を対象に投与し、さらにＴＦＰ発現細胞での治療を起因とする可溶性因子レベルの上昇を管理する薬剤を投与することを含むことができる。１つの実施形態では、該対象内で上昇される可溶性因子は、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦα、ＩＬ－２、及びＩＬ－６のうちの１つ以上である。従って、この副作用を治療するために投与される薬剤は、１つ以上のこれらの可溶性因子を中和する薬剤であり得る。かかる薬剤としては、ステロイド、ＴＮＦαの阻害剤、及びＩＬ－６の阻害剤が挙げられるがこれらに限定されない。ＴＮＦα阻害剤の例は、エンタネルセプト（ｅｎｔａｎｅｒｃｅｐｔ）である。ＩＬ－６阻害剤の例はトシリズマブ（ｔｏｃ）である。

【０２８５】

１つの実施形態では、対象は、ＴＦＰ発現細胞の活性を高める薬剤を投与される場合がある。例えば、１つの実施形態では、該薬剤は、抑制分子を阻害する薬剤であり得る。抑制分子、例えば、プログラム死１（ＰＤ１）は、いくつかの実施形態では、ＴＦＰ発現細胞の免疫エフェクター反応の開始能力を弱める場合がある。抑制分子の例としては、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、及びＴＧＦＲベータが挙げられる。抑制分子の、例えば、ＤＮＡ、ＲＮＡ、またはタンパク質レベルの阻害による阻害は、ＴＦＰ発現細胞の性能を最適化する可能性がある。実施形態では、抑制性核酸、例えば、抑制性核酸、例えば、ｄｓＲＮＡ、例えば、ｓｉＲＮＡ、またはｓｈＲＮＡは、該ＴＦＰ発現細胞において抑制分子の発現を阻害するために使用され得る。実施形態では、該阻害剤はｓｈＲＮＡである。実施形態では、該抑制分子は、ＴＦＰ発現細胞内で阻害される。これらの実施形態では、該抑制分子の発現を阻害するｄｓＲＮＡ分子が、該ＴＦＰの成分、例えばすべての成分をコードする核酸に結合される。１つの実施形態では、抑制シグナルの阻害剤は、例えば、抑制分子に結合する抗体または抗体フラグメントであり得る。例えば、該薬剤は、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、またはＣＴＬＡ４（例えば、イピリムマブ（ＭＤＸ－０１０及びＭＤＸ－１０１とも呼ばれ、Ｙｅｒｖｏｙ（商標）として市販されている；Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ；トレメリムマブ（Ｐｆｉｚｅｒから入手可能なＩｇＧ２モノクローナル抗体、かつてチシリムマブとして知られていたもの、ＣＰ－６７５，２０６））に結合する抗体また抗体フラグメントであり得る。実施形態では、該薬剤は、ＴＩＭ３に結合する抗体または抗体フラグメントである。実施形態では、該薬剤は、ＬＡＧ３に結合する抗体または抗体フラグメントである。

【０２８６】

いくつかの実施形態では、ＴＦＰ発現細胞の活性を高める薬剤、例えば、第一のドメイン及び第二のドメインを含み、該第一のドメインが抑制分子またはそのフラグメントであり、該第二のドメインが陽性シグナルに関連するポリペプチド、例えば、本明細書に記載の細胞内シグナル伝達ドメインを含むポリペプチドである融合タンパク質であり得る。いくつかの実施形態では、陽性シグナルに関連している該ポリペプチドは、ＣＤ２８、ＣＤ２７、ＩＣＯＳの共刺激ドメイン、例えば、ＣＤ２８、ＣＤ２７、及び／またはＩＣＯＳの細胞内シグナル伝達ドメイン、及び／または一次シグナル伝達ドメイン、例えば、ＣＤ３ゼータの、例えば、本明細書に記載のものを含み得る。１つの実施形態では、該融合タンパク質は、ＴＦＰを発現するのと同じ細胞によって発現される。別の実施形態では、該融合タンパク質は、細胞、例えば、抗ＣＤ１９　ＴＦＰを発現しないＴ細胞によって発現される。

【０２８７】

医薬組成物

本発明の医薬組成物は、ＴＦＰ発現細胞、例えば、本明細書に記載の複数のＴＦＰ発現細胞を、１つ以上の医薬的にもしくは生理学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤と組み合わせて含み得る。かかる組成物は、緩衝液、例えば、中性緩衝生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水等；炭水化物、例えば、グルコース、マンノース、スクロースもしくはデキストラン、マンニトール；タンパク質；ポリペプチドもしくはアミノ酸、例えば、グリシン；酸化防止剤；キレート剤、例えば、ＥＤＴＡもしくはグルタチオン；アジュバント（例えば、水酸化アルミニウム）；ならびに保存料を含んでよい。本発明の組成物は、１つの態様において、静脈内投与用に処方される。

【０２８８】

本発明の医薬組成物は、治療される（または予防される）疾患に適切な方法で投与され得る。投与の量及び頻度は、当該患者の状態ならびに該患者の疾患のタイプ及び重症度等の要因によって決定されるが、適切な用量は臨床試験で決定される場合がある。

【０２８９】

１つの実施形態では、該医薬組成物は、混入物質、例えば、エンドトキシン、マイコプラズマ、自己複製レンチウイルス（ＲＣＬ）、ｐ２４、ＶＳＶ－Ｇ核酸、ＨＩＶ　ｇａｇ

、残存抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８被覆ビーズ、マウス抗体、保存ヒト血清、ウシ血清アルブミン、ウシ血清、培地成分、ベクターパッケージング細胞もしくはプラスミド成分、細菌、及び真菌からなる群から選択される混入物質が実質的になく、例えば、検出レベルの該混入物質がない。１つの実施形態では、該細菌は、Ａｌｃａｌｉｇｅｎｅｓ ｆａｅｃａｌｉｓ、Ｃａｎｄｉｄａ ａｌｂｉｃａｎｓ、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ、Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｉｎｆｌｕｅｎｚａ、Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｍｅｎｉｎｇｉｔｉｄｅｓ、Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｎｅｕｍｏｎｉａ、及びＳｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｙｏｇｅｎｅｓＡ群からなる群から選択される少なくとも１つである。

【０２９０】

「免疫学的有効量」、「抗腫瘍有効量」「腫瘍阻害有効量」、または「治療量」が示される場合、投与される本発明の組成物の正確な量は、当該患者（対象）の年齢、体重、腫瘍サイズ、感染もしくは転移の程度、及び状態の個体差を考慮して医師によって決定され得る。本明細書に記載のＴ細胞を含む医薬組成物は、10^4～10^9細胞／ｋｇ体重、いくつかの例では10^5～10^6細胞／ｋｇ体重で、これらの範囲内のすべての整数値を含めた用量で投与され得るということが一般に言える。また、Ｔ細胞組成物は、これらの用量において複数回投与され得る。該細胞は、免疫療法で広く知られている注入技術を用いて投与することができる（例えば、Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｎｅｗ Ｅｎｇ．Ｊ．ｏｆ Ｍｅｄ．３１９：１６７６，１９８８参照）。

【０２９１】

特定の態様において、活性化Ｔ細胞を対象に投与し、その後続いて再採血し（またはアフェレーシスが行われている）、本発明に従ってそこからＴ細胞を活性化し、これらの活性化及び増殖されたＴ細胞を該患者に再注入することが望ましい場合がある。この工程は数週間ごとに複数回行われ得る。特定の態様において、Ｔ細胞は１０ｃｃ～４００ｃｃの採血から活性化することができる。特定の態様において、Ｔ細胞は、２０ｃｃ、３０ｃｃ、４０ｃｃ、５０ｃｃ、６０ｃｃ、７０ｃｃ、８０ｃｃ、９０ｃｃ、または１００ｃｃの採血から活性化される。

【０２９２】

目的の組成物の投与は、エアロゾル吸入、注射、経口摂取、輸液、注入、または移植を含めた任意の都合の良い方法で行ってよい。本明細書に記載の組成物は、患者に対して、経動脈的に、皮下に、皮内に、腫瘍内に、節内に、髄内に、筋肉内に、静脈内（ｉ．ｖ．）注射により、または腹腔内に投与され得る。１つの態様では、本発明のＴ細胞組成物は、患者に対して、皮内または皮下注射によって投与される。１つの態様において、本発明のＴ細胞組成物は、ｉ．ｖ．注射によって投与される。該Ｔ細胞組成物は、腫瘍、リンパ節、または感染部位に直接注入してもよい。

【０２９３】

特定の例示的な態様において、対象は、白血球を採取し、エキソビボで濃縮しまたは枯渇させて目的の細胞、例えば、Ｔ細胞を選択及び／または単離する白血球除去療法を受けてもよい。これらのＴ細胞分離株は、当技術分野で知られている方法によって増殖され、１つ以上の本発明のＴＦＰ構築物が導入され得るように処理され、それによって本発明のＴＦＰ発現Ｔ細胞を生成してもよい。それを必要とする対象は、その後標準的な大量化学療法での治療に続いて末梢血幹細胞移植を受けてもよい。特定の態様において、該移植の後、またはそれと同時に、対象は、本発明の増殖されたＴＦＰ　Ｔ細胞の注入を受ける。さらなる態様において、増殖された細胞は、手術の前または後に投与される。

【０２９４】

患者に施される上記治療の用量は、治療される状態の正確な性質及び治療のレシピエントによって変わる。ヒトへの投与に対する用量のスケーリングは、当該分野で認められた慣行に従って行うことができる。例えば、ＣＡＭＰＡＴＨの投与量は通常、成人患者に対して、１～約１００ｍｇの範囲であり、通常、１～３０日間、毎日投与される。好ましい１日用量は、１～１０ｍｇ／日であるが、いくつかの例では、より大量の４０ｍｇ／日ま

でが用いられてもよい（米国特許第６，１２０，７６６号に記載されている）。
【０２９５】
１つの実施形態では、該ＴＦＰは、例えば、インビトロ転写を用いてＴ細胞内に導入され、対象（例えば、ヒト）は、本発明のＴＦＰ　Ｔ細胞の最初の投与及び１回以上のそれに続く本発明のＴＦＰ　Ｔ細胞の投与を受けるが、該１回以上のそれに続く投与は、先の投与後、１５日未満で、例えば、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、または２日で施される。１つの実施形態では、本発明のＴＦＰ　Ｔ細胞の複数回の投与が、該対象（例えば、ヒト）に対して１週間ごとに施され、例えば、本発明のＴＦＰ－Ｔ細胞の２、３、または４回の投与が１週間ごとに施される。１つの実施形態では、該対象（例えば、ヒト対象）は、１週間ごとに複数回のＴＦＰ　Ｔ細胞の投与（例えば、１週間ごとに２、３、または４回の投与）（本明細書ではサイクルとも呼ぶ）を受け、続いて１週間はＴＦＰ　Ｔ細胞の投与をせず、その後１回以上の追加のＴＦＰ　Ｔ細胞の投与（例えば、１週間ごとに複数回の該ＴＦＰ　Ｔ細胞の投与）が該対象に施される。別の実施形態では、該対象（例えば、ヒト対象）は、複数サイクルのＴＦＰ　Ｔ細胞を受けるとともに、各サイクルの間隔は１０、９、８、７、６、５、４、または３日未満である。１つの実施形態では、該ＴＦＰ－Ｔ細胞は、１週間ごとに３回の投与のために１日おきに投与される。１つの実施形態では、本発明のＴＦＰ　Ｔ細胞は、少なくとも２、３、４、５、６、７、８週間、またはそれ以上投与される。
【０２９６】
１つの態様において、ＣＤ１９　ＴＦＰ　Ｔ細胞は、レンチウイルス等のレンチウイルス性ウイルスベクターを用いて生成される。その方法で生成されるＴＦＰ－Ｔ細胞は、安定的にＴＦＰを発現する。
【０２９７】
１つの態様において、ＴＦＰ　Ｔ細胞は、形質導入後、ＴＦＰベクターを４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５日間一過性に発現する。ＴＦＰの一過性の発現は、ＲＮＡ　ＴＦＰベクターの送達によってもたらされ得る。１つの態様において、該ＴＦＰ　ＲＮＡは、エレクトロポレーションによってＴ細胞に形質導入される。
【０２９８】
一過性に発現するＴＦＰ　Ｔ細胞を用いて（特にマウスｓｃＦｖ担持ＴＦＰ　Ｔ細胞で）治療される患者に生じ得る潜在的な問題は、複合的治療後のアナフィラキシーである。
【０２９９】
本理論に拘束されるものではないが、かかるアナフィラキシー反応は、体液性抗ＴＦＰ反応を発症している患者、すなわち、抗ＩｇＥアイソタイプを有する抗ＴＦＰ抗体によって引き起こされる可能性があると考えられる。患者の抗体産生細胞は、抗原への曝露が１０～１４日間中断された場合、ＩｇＧアイソタイプ（これはアナフィラキシーを引き起こさない）からＩｇＥアイソタイプへのクラススイッチを受けていると思われる。
【０３００】
患者が一過性ＴＦＰ治療（ＲＮＡ形質導入によって生成されるもの等）の過程で抗ＴＦＰ抗体反応を生成する危険性が高い場合、ＴＦＰ　Ｔ細胞注入の中断は、１０～１４日より長く続けるべきではない。
【実施例】
【０３０１】
本発明を、以下の実験実施例を参照することによってさらに詳細に説明する。これらの実施例は、例示の目的でのみ提供し、特に明記しない限り限定することを意図しない。従って、本発明は、以下の実施例には一切限定されないと解釈されるものとし、本明細書で提供される教示の結果として明らかになるありとあらゆる変形を包含すると解釈されるものとする。さらに説明することなく、当業者には、前述の説明及び以下の例示的な実施例を用いて、本発明の化合物を作製及び利用すること、ならびに請求項に係る方法を実施することが可能であると考えられる。以下の実施例は、本発明の様々な態様を具体的に挙げるが、これらは本開示の残余の部分を限定するとは一切解釈されない。

【０３０２】
実施例１：ＴＦＰ構築物
抗ＣＤ１９　ＴＦＰ構築物は、短いリンカー（ＳＬ）：ＡＡＡＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥ（配列番号５）または長いリンカー（ＬＬ）：ＡＡＡＩＥＶＭＹＰＰＰＹＬＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥ（配列番号６）をコードするＤＮＡ配列のいずれかによってＣＤ３またはＴＣＲ　ＤＮＡフラグメントに連結した抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ　ＤＮＡフラグメントを、ＸｂａＩ及びＥｃｏＲ１部位でｐ５１０ベクター（（Ｓｙｓｔｅｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ（ＳＢＩ））にクローニングすることによって作り出した。
【０３０３】
生成した抗ＣＤ１９　ＴＲｕＣ構築物は、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＴＣＲα（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒト完全長Ｔ細胞受容体α鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＴＣＲ　αＣ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＴ細胞受容体α定常ドメイン鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＴＣＲβ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒト完全長Ｔ細胞受容体β鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＴＣＲβＣ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＴ細胞受容体β定常ドメイン鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＣＤ３γ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＣＤ３γ鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＣＤ３δ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＣＤ３δ鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＣＤ３ε（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＣＤ３ε鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＳＬ＿ＴＣＲβ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－短いリンカー－ヒト完全長Ｔ細胞受容体β鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＳＬ＿ＣＤ３γ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－短いリンカー－ヒトＣＤ３γ鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＳＬ＿ＣＤ３δ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－短いリンカー－ヒトＣＤ３δ鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＳＬ＿ＣＤ３ε（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－短いリンカー－ヒトＣＤ３ε鎖）であった。
【０３０４】
抗ＣＤ１９　ＣＡＲ構築物であるｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿２８ζは、抗ＣＤ１９、部分的なＣＤ２８の細胞外ドメイン、ＣＤ２８の膜貫通ドメイン、ＣＤ２８の細胞内ドメイン、及びＣＤ３ゼータをコードする合成ＤＮＡを、ＸｂａＩ及びＥｃｏＲ１部位でｐ５１０ベクターにクローニングすることによって生成した。
【０３０５】
抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ構築物は、リンカー：ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥ（配列番号７）をコードするＤＮＡ配列によってＣＤ３　ＤＮＡフラグメントに連結された抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖ　ＤＮＡフラグメントを、ＸｂａＩ及びＥｃｏＲ１部位でｐ５１０ベクター（ＳＢＩ）にクローニングすることによって作り出した。生成した抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ構築物は、ｐ５１０＿抗ＢＣＭＡ＿ＣＤ３γ（抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖ－リンカー－ヒトＣＤ３γ鎖）及びｐ５１０＿抗ＢＣＭＡ＿ＣＤ３ε（抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖ－リンカー－ヒトＣＤ３ε鎖）であった。
【０３０６】
完全長ＢＣＭＡを合成し、ＢａｍＨＩ及びＮｈｅＩ部位でｐ５１４（ＳＢＩ）にクローニングし、安定な標的細胞株を生成するために用いられる構築物ｐ５１４＿ＢＣＭＡを生成した。
【０３０７】
抗線維芽細胞活性化タンパク質（ＦＡＰ）及び抗カルボアンヒドラーゼ－９（ＣＡＩＸ）ＴＦＰ構築物は、リンカー：ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥ（配列番号７）をコードするＤＮＡ配列によって、ＣＤ３　ＤＮＡフラグメントに連結された抗ＦＡＰまたは抗ＣＡＩＸ　ｓｃＦｖ　ＤＮＡフラグメントを、ＸｂａＩ及びＥｃｏＲ１部位でｐ５１０ベクター（ＳＢＩ）にクローニングすることによって作り出した。生成され得る抗ＦＡＰまたは抗ＣＡＩＸ　ＴＦＰ構築物としては、ｐ５１０＿抗ＦＡＰ＿ＣＤ３γ（抗ＦＡＰ　ｓｃＦｖ－リンカー－ヒトＣＤ３γ鎖）及びｐ５１０＿抗ＦＡＰ＿ＣＤ３ε（抗ＦＡＰ　ｓｃＦｖ－リンカー－ヒトＣＤ３ε鎖）ならびにｐ５１０＿抗ＣＡＩＸ＿ＣＤ３γ（抗Ｃ

ＡＩＸ　ｓｃＦｖ－リンカー－ヒトＣＤ３γ鎖）及びｐ５１０＿抗ＣＡＩＸ＿ＣＤ３ε（抗ＣＡＩＸ　ｓｃＦｖ－リンカー－ヒトＣＤ３ε鎖）が挙げられる。

【０３０８】

完全長ＦＡＰ及びＣＡＩＸを合成し、ＢａｍＨＩ及びＮｈｅＩ部位でｐ５１４（ＳＢＩ）にクローニングし、構築物ｐ５１４＿ＦＡＰ及びｐ５１４＿ＣＡＩＸを生成することができ、これを安定な標的細胞株を生成するために用いることができる。

【０３０９】

例示的な構築物の配列を以下に示す。

構築物の配列

標的構築物

ｐ５１４＿ＢＣＭＡ（配列番号８）

【０３１０】

【表３－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacataa acgggtctct
241 ctggttagac cagatctgag cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc cactgcttaa
301 gcctcaataa agcttgcctt gagtgcttca agtagtgtgt gcccgtctgt tgtgtgactc
361 tggtaactag agatccctca gacccttta gtcagtgtgg aaaatctcta gcagtggcgc
421 ccgaacaggg acctgaaagc gaaagggaaa ccagagctct ctcgacgcag gactcggctt
481 gctgaagcgc gcacggcaag aggcgagggg cggcgactgg tgagtacgcc aaaaattttg
541 actagcggag gctagaagga gagagatggg tgcgagagcg tcagtattaa gcgggggaga
601 attagatcgc gatgggaaaa aattcggtta aggccagggg gaaagaaaaa atataaatta
661 aaacatatag tatgggcaag cagggagcta gaacgattcg cagttaatcc tggcctgtta
721 gaaacatcag aaggctgtag acaaatactg ggacagctac aaccatccct tcagacagga
781 tcagaagaac ttagatcatt atataatata gtagcaaccc tctattgtgt gcatcaaagg
841 atagagataa aagacaccaa ggaagcttta gacaagatag aggaagagca aaacaaaagt
901 aagaccaccg cacagcaagc ggccactgat cttcagacct ggaggaggag atatgaggga
961 caattggaga agtgaattat ataaatataa agtagtaaaa attgaaccat taggagtagc
1021 acccaccaag gcaaagagaa gagtggtgca gagagaaaaa agagcagtgg gaataggagc
1081 tttgttcctt gggttcttgg gagcagcagg aagcactatg ggcgcagcgt caatgacgct
1141 gacggtacag gccagacaat tattgtctgg tatagtgcag cagcagaaca atttgctgag
1201 ggctattgag gcgcaacagc atctgttgca actcacagtc tggggcatca agcagctcca
1261 ggcaagaatc ctggctgtgg aaagatacct aaaggatcaa cagctcctgg ggatttgggg
1321 ttgctctgga aaactcattt gcaccactgc tgtgccttgg aatgctagtt ggagtaataa
1381 atctctggaa cagatttgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagctagcg ccgccaccat gctccagatg gctggccagt gcagccagaa cgagtacttc
2341 gacagcctgc tgcacgcctg catcccttgc cagctgcggt gcagcagcaa caccccaccc

【０３１１】

【表３－２】

2401 ctgacctgcc agcggtactg caacgccagc gtgaccaaca gcgtgaaggg caccaacgcc
2461 atcctgtgga cctgcctggg cctgagcctg atcatcagcc tggccgtgtt cgtgctgatg
2521 ttcctgctgc ggaagatcaa cagcgagccc ctgaaggacg agttcaagaa caccggcagc
2581 ggcctgctgg gcatggccaa catcgacctg gaaaagagcc ggaccggcga cgagatcatc
2641 ctgcccagag gcctggagta caccgtggaa gagtgtacct gcgaggactg catcaagagc
2701 aagcccaagg tggacagcga ccactgcttc cctctgcccg ccatggaaga gggcgccacc
2761 atcctggtga caacaaagac caacgactac tgcaagagcc tgcctgccgc cctgagcgcc
2821 accgagatcg agaagtccat cagcgccaga tgaggatccg cggccgcaag gatctgcgat
2881 cgctccggtg cccgtcagtg ggcagagcgc acatcgccca cagtccccga gaagttgggg
2941 ggaggggtcg gcaattgaac gggtgcctag agaaggtggc gcggggtaaa ctgggaaagt
3001 gatgtcgtgt actggctccg cctttttccc gagggtgggg gagaaccgta tataagtgca
3061 gtagtcgccg tgaacgttct ttttcgcaac gggtttgccg ccagaacaca gctgaagctt
3121 cgaggggctc gcatctctcc ttcacgcgcc cgccgcccta cctgaggccg ccatccacgc
3181 cggttgagtc gcgttctgcc gcctcccgcc tgtggtgcct cctgaactgc gtccgccgtc
3241 taggtaagtt taaagctcag gtcgagaccg ggcctttgtc cggcgctccc ttggagccta
3301 cctagactca gccggctctc cacgctttgc ctgaccctgc ttgctcaact ctacgtcttt
3361 gtttcgtttt ctgttctgcg ccgttacaga tccaagctgt gaccggcgcc tacgtcgaga
3421 tgattgaaca agatggattg cacgcaggtt ctccggccgc ttgggtggag aggctattcg
3481 gctatgactg ggcacaacag acaatcggct gctctgatgc cgccgtgttc cggctgtcag
3541 cgcaggggcg cccggttctt tttgtcaaga ccgacctgtc cggtgccctg aatgaactgc
3601 aggacgaggc agcgcggcta tcgtggctgg ccgcgacggg cgttccttgc gcagctgtgc
3661 tcgacgttgt cactgaagcg ggaagggact ggctgctatt gggcgaagtg ccggggcagg
3721 atctcctgtc atctcacctt gctcctgccg agaaagtatc catcatggct gatgcaatgc
3781 ggcggctgca tacgcttgat ccggctacct gcccattcga ccaccaagcg aaacatcgca
3841 tcgagcgagc acgtactcgg atggaagccg gtcttgtcga tcaggatgat ctggacgaag
3901 agcatcaggg gctcgcgcca gccgaactgt tcgccaggct caaggcgcgc atgcccgacg
3961 gcgaggatct cgtcgtgacc catggcgatg cctgcttgcc gaatatcatg gtggaaaatg
4021 gccgcttttc tggattcatc gactgtggcc ggctgggtgt ggcggaccgc tatcaggaca
4081 tagcgttggc tacccgtgat attgctgaag agcttggcgg cgaatgggct gaccgcttcc
4141 tcgtgcttta cggtatcgcc gctcccgatt cgcagcgcat cgccttctat cgccttcttg
4201 acgagttctt ctgactcgac aatcaacctc tggattacaa aatttgtgaa agattgactg
4261 gtattcttaa ctatgttgct ccttttacgc tatgtggata cgctgcttta atgcctttgt
4321 atcatgctat tgcttcccgt atggctttca ttttctcctc cttgtataaa tcctggttgc
4381 tgtctcttta tgaggagttg tggcccgttg tcaggcaacg tggcgtggtg tgcactgtgt
4441 ttgctgacgc aacccccact ggttggggca ttgccaccac ctgtcagctc ctttccggga
4501 ctttcgcttt ccccctccct attgccacgg cggaactcat cgccgcctgc cttgcccgct
4561 gctggacagg ggctcggctg ttgggcactg acaattccgt ggtgttgtcg gggaaatcat
4621 cgtcctttcc ttggctgctc gcctgtgttg ccacctggat tctgcgcggg acgtccttct
4681 gctacgtccc ttcggccctc aatccagcgg accttccttc ccgcggcctg ctgccggctc
4741 tgcggcctct tccgcgtctt cgccttcgcc ctcagacgag tcggatctcc ctttgggccg

【０３１２】

【表３－３】

4801 cctccccgcc tggtaccttt aagaccaatg acttacaagg cagctgtaga tcttagccac
4861 tttttaaaag aaaaggggg actggaaggg ctaattcact cccaacgaag ataagatctg
4921 ctttttgctt gtactgggtc tctctggtta gaccagatct gagcctggga gctctctggc
4981 taactaggga acccactgct taagcctcaa taaagcttgc cttgagtgct tcaagtagtg
5041 tgtgcccgtc tgttgtgtga ctctggtaac tagagatccc tcagaccctt ttagtcagtg
5101 tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta ttcagtattt ataacttgca
5161 aagaaatgaa tatcagagag tgagaggaac ttgtttattg cagcttataa tggttacaaa
5221 taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt tttcactgca ttctagttgt
5281 ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctggc tctagctatc ccgcccctaa
5341 ctccgcccat cccgccccta actccgccca gttccgccca ttctccgccc catggctgac
5401 taatttttt tatttatgca gaggccgagg ccgcctcggc ctctgagcta ttccagaagt
5461 agtgaggagg ctttttgga ggcctagact tttgcagaga cggcccaaat tcgtaatcat
5521 ggtcatagct gtttcctgtg tgaaattgtt atccgctcac aattccacac aacatacgag
5581 ccggaagcat aaagtgtaaa gcctggggtg cctaatgagt gagctaactc acattaattg
5641 cgttgcgctc actgcccgct ttccagtcgg gaaacctgtc gtgccagctg cattaatgaa
5701 tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc gtattgggcg ctcttccgct tcctcgctca
5761 ctgactcgct gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcggt atcagctcac tcaaaggcgg
5821 taatacggtt atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc
5881 agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc gtttttccat aggctccgcc
5941 cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac
6001 tataaagata ccaggcgttt ccccctggaa gctccctcgt gcgctctcct gttccgaccc
6061 tgccgcttac cggatacctg tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata
6121 gctcacgctg taggtatctc agttcggtgt aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc
6181 acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca
6241 acccggtaag acacgactta tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag
6301 cgaggtatgt aggcggtgct acagagttct tgaagtggtg gcctaactac ggctacacta
6361 gaaggacagt atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg
6421 gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc
6481 agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt
6541 ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa
6601 ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat
6661 atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga
6721 tctgtctatt tcgttcatcc atagttgcct gactccccgt cgtgtagata actacgatac
6781 gggagggctt accatctggc cccagtgctg caatgatacc gcgagaccca cgctcaccgg
6841 ctccagattt atcagcaata aaccagccag ccggaagggc cgagcgcaga agtggtcctg
6901 caactttatc cgcctccatc cagtctatta attgttgccg ggaagctaga gtaagtagtt
6961 cgccagttaa tagtttgcgc aacgttgttg ccattgctac aggcatcgtg gtgtcacgct
7021 cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat
7081 cccccatgtt gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcggtcc tccgatcgtt gtcagaagta
7141 agttggccgc agtgttatca ctcatggtta tggcagcact gcataattct cttactgtca

【０３１３】

【表３－４】

7201 tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat
7261 agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat acgggataat accgcgccac
7321 atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa
7381 ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaacccac tcgtgcaccc aactgatctt
7441 cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa aacaggaagg caaaatgccg
7501 caaaaaaggg aataagggcg acacggaaat gttgaatact catactcttc ctttttcaat
7561 attattgaag catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt
7621 agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca catttccccg aaaagtgcca cctgacgtct
7681 aagaaaccat tattatcatg acattaacct ataaaaatag gcgtatcacg aggccctttc
7741 gtctcgcgcg tttcggtgat gacggtgaaa acctctgaca catgcagctc ccggagacgg
7801 tcacagcttg tctgtaagcg gatgccggga gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg
7861 gtgttggcgg gtgtcggggc tggcttaact atgcggcatc agagcagatt gtactgagag
7921 tgcaccatat gcggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag gagaaaatac cgcatcaggc
7981 gccattcgcc attcaggctg cgcaactgtt gggaagggcg atcggtgcgg gcctcttcgc
8041 tattacgcca gctggcgaaa gggggatgtg ctgcaaggcg attaagttgg gtaacgccag
8101 ggttttccca gtcacgacgt tgtaaaacga cggccagtgc caagctg.

【０３１４】

ＣＡＲ構築物

ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿２８ζ（配列番号９）

【０３１５】

【表４－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agacccttttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct

【０３１６】

【表４－２】

2401 ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat
2461 tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggtctgga gtggctggga
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct
3121 cctccttacc tagacaatga gaagagcaat ggaaccatta tccatgtgaa agggaaacac
3181 ctttgtccaa gtcccctatt tcccggacct tctaagccct tttgggtgct ggtggtggtt
3241 gggggagtcc tggcttgcta tagcttgcta gtaacagtgg cctttattat tttctgggtg
3301 aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc
3361 gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc
3421 tccagagtga agttcagcag gagcgcagac gcccccgcgt accagcaggg ccagaaccag
3481 ctctataacg agctcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttgga caagagacgt
3541 ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac
3601 aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag
3661 cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtacagc caccaaggac
3721 acctacgacg cccttcacat gcaggccctg ccccctcgct aagaattcgg atccgcggcc
3781 gcgaaggatc tgcgatcgct ccggtgcccg tcagtgggca gagcgcacat cgcccacagt
3841 ccccgagaag ttgggggggag gggtcggcaa ttgaacgggt gcctagagaa ggtggcgcgg
3901 ggtaaactgg gaaagtgatg tcgtgtactg gctccgcctt tttcccgagg gtgggggaga
3961 accgtatata agtgcagtag tcgccgtgaa cgttcttttt cgcaacgggt ttgccgccag
4021 aacacagctg aagcttcgag gggctcgcat ctctccttca cgcgcccgcc gccctacctg
4081 aggccgccat ccacgccggt tgagtcgcgt tctgccgcct cccgcctgtg gtgcctcctg
4141 aactgcgtcc gccgtctagg taagtttaaa gctcaggtcg agaccgggcc tttgtccggc
4201 gctcccttgg agcctaccta gactcagccg gctctccacg ctttgcctga ccctgcttgc
4261 tcaactctac gtctttgttt cgttttctgt tctgcgccgt tacagatcca agctgtgacc
4321 ggcgcctacg ctagatgacc gagtacaagc ccacggtgcg cctcgccacc cgcgacgacg
4381 tccccagggc cgtacgcacc ctcgccgccg cgttcgccga ctaccccgcc acgcgccaca
4441 ccgtcgatcc ggaccgccac atcgagcggg tcaccgagct gcaagaactc ttcctcacgc
4501 gcgtcgggct cgacatcggc aaggtgtggg tcgcggacga cggcgccgcg gtggcggtct
4561 ggaccacgcc ggagagcgtc gaagcggggg cggtgttcgc cgagatcggc ccgcgcatgg
4621 ccgagttgag cggttcccgg ctggccgcgc agcaacagat ggaaggcctc ctggcgccgc
4681 accggcccaa ggagcccgcg tggttcctgg ccaccgtcgg cgtctcgccc gaccaccagg
4741 gcaagggtct gggcagcgcc gtcgtgctcc ccggagtgga ggcggccgag cgcgccgggg

【０３１７】

【表４－３】

4801 tgcccgcctt cctggagacc tccgcgcccc gcaacctccc cttctacgag cggctcggct
4861 tcaccgtcac cgccgacgtc gaggtgcccg aaggaccgcg cacctggtgc atgacccgca
4921 agcccggtgc ctgagtcgac aatcaacctc tggattacaa aatttgtgaa agattgactg
4981 gtattcttaa ctatgttgct ccttttacgc tatgtggata cgctgcttta atgcctttgt
5041 atcatgctat tgcttcccgt atggctttca ttttctcctc cttgtataaa tcctggttgc
5101 tgtctcttta tgaggagttg tggcccgttg tcaggcaacg tggcgtggtg tgcactgtgt
5161 ttgctgacgc aacccccact ggttggggca ttgccaccac ctgtcagctc ctttccggga
5221 ctttcgcttt ccccctccct attgccacgg cggaactcat cgccgcctgc cttgcccgct
5281 gctggacagg ggctcggctg ttgggcactg acaattccgt ggtgttgtcg gggaaatcat
5341 cgtcctttcc ttggctgctc gcctgtgttg ccacctggat tctgcgcggg acgtccttct
5401 gctacgtccc ttcggccctc aatccagcgg accttccttc ccgcggcctg ctgccggctc
5461 tgcggcctct tccgcgtctt cgccttcgcc ctcagacgag tcggatctcc ctttgggccg
5521 cctccccgcc tggtaccttt aagaccaatg acttacaagg cagctgtaga tcttagccac
5581 tttttaaaag aaaaggggga actggaaggg ctaattcact cccaacgaaa ataagatctg
5641 ctttttgctt gtactgggtc tctctggtta gaccagatct gagcctggga gctctctggc
5701 taactaggga acccactgct taagcctcaa taaagcttgc cttgagtgct tcaagtagtg
5761 tgtgcccgtc tgttgtgtga ctctggtaac tagagatccc tcagaccctt ttagtcagtg
5821 tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta ttcagtattt ataacttgca
5881 aagaaatgaa tatcagagag tgagaggaac ttgtttattg cagcttataa tggttacaaa
5941 taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt tttcactgca ttctagttgt
6001 ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctggc tctagctatc ccgcccctaa
6061 ctccgcccag ttccgcccat tctccgcccc atggctgact aatttttttt atttatgcag
6121 aggccgaggc cgcctcggcc tctgagctat tccagaagta gtgaggaggc ttttttggag
6181 gcctagactt ttgcagagac ggcccaaatt cgtaatcatg gtcatagctg tttcctgtgt
6241 gaaattgtta tccgctcaca attccacaca acatacgagc cggaagcata aagtgtaaag
6301 cctggggtgc ctaatgagtg agctaactca cattaattgc gttgcgctca ctgcccgctt
6361 tccagtcggg aaacctgtcg tgccagctgc attaatgaat cggccaacgc gcggggagag
6421 gcggtttgcg tattgggcgc tcttccgctt cctcgctcac tgactcgctg cgctcggtcg
6481 ttcggctgcg gcgagcggta tcagctcact caaaggcggt aatacggtta tccacagaat
6541 caggggataa cgcaggaaag aacatgtgag caaaaggcca gcaaaaggcc aggaaccgta
6601 aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggctccgccc ccctgacgag catcacaaaa
6661 atcgacgctc aagtcagagg tggcgaaacc cgacaggact ataaagatac caggcgtttc
6721 cccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg ttccgaccct gccgcttacc ggatacctgt
6781 ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc tttctcatag ctcacgctgt aggtatctca
6841 gttcggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca cgaaccccc gttcagcccg
6901 accgctgcgc cttatccggt aactatcgtc ttgagtccaa cccggtaaga cacgacttat
6961 cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc gaggtatgta ggcggtgcta
7021 cagagttctt gaagtggtgg cctaactacg gctacactag aaggacagta tttggtatct
7081 gcgctctgct gaagccagtt accttcggaa aaagagttgg tagctcttga tccggcaaac
7141 aaaccaccgc tggtagcggt ggtttttttg tttgcaagca gcagattacg cgcagaaaaa

【０３１８】

【表４－４】

7201 aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacggggtc tgacgctcag tggaacgaaa
7261 actcacgtta agggattttg gtcatgagat tatcaaaaag gatcttcacc tagatccttt
7321 taaattaaaa atgaagtttt aaatcaatct aaagtatata tgagtaaact tggtctgaca
7381 gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta tctcagcgat ctgtctattt cgttcatcca
7441 tagttgcctg actccccgtc gtgtagataa ctacgatacg ggagggctta ccatctggcc
7501 ccagtgctgc aatgataccg cgagacccac gctcaccggc tccagattta tcagcaataa
7561 accagccagc cggaagggcc gagcgcagaa gtggtcctgc aactttatcc gcctccatcc
7621 agtctattaa ttgttgccgg gaagctagag taagtagttc gccagttaat agtttgcgca
7681 acgttgttgc cattgctaca ggcatcgtgg tgtcacgctc gtcgtttggt atggcttcat
7741 tcagctccgg ttcccaacga tcaaggcgag ttacatgatc ccccatgttg tgcaaaaaag
7801 cggttagctc cttcggtcct ccgatcgttg tcagaagtaa gttggccgca gtgttatcac
7861 tcatggttat ggcagcactg cataattctc ttactgtcat gccatccgta agatgctttt
7921 ctgtgactgg tgagtactca accaagtcat tctgagaata gtgtatgcgg cgaccgagtt
7981 gctcttgccc ggcgtcaata cgggataata ccgcgccaca tagcagaact ttaaaagtgc
8041 tcatcattgg aaaacgttct tcggggcgaa aactctcaag gatcttaccg ctgttgagat
8101 ccagttcgat gtaacccact cgtgcaccca actgatcttc agcatctttt actttcacca
8161 gcgtttctgg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccgc aaaaaaggga ataagggcga
8221 cacggaaatg ttgaatactc atactcttcc tttttcaata ttattgaagc atttatcagg
8281 gttattgtct catgagcgga tacatatttg aatgtattta gaaaaataaa caaatagggg
8341 ttccgcgcac atttccccga aaagtgccac ctgacgtcta agaaaccatt attatcatga
8401 cattaaccta taaaaatagg cgtatcacga ggccctttcg tctcgcgcgt ttcggtgatg
8461 acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc cggagacggt cacagcttgt ctgtaagcgg
8521 atgccgggag cagacaagcc cgtcagggcg cgtcagcggg tgttggcggg tgtcggggct
8581 ggcttaacta tgcggcatca gagcagattg tactgagagt gcaccatatg cggtgtgaaa
8641 taccgcacag atgcgtaagg agaaaataccc gcatcaggcg ccattcgcca ttcaggctgc
8701 gcaactgttg ggaagggcga tcggtgcggg cctcttcgct attacgccag ctggcgaaag
8761 ggggatgtgc tgcaaggcga ttaagttggg taacgccagg gttttcccag tcacgacgtt
8821 gtaaaacgac ggccagtgcc aagctg.

【０３１９】

ｐ５２６Ａ＿１９ＢＢＺ（配列番号１０）

【０３２０】

【表５－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agacccttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcg tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagatttgg aatcacacga cctggatgga gtgggacaga gaaattaaca
1441 attacacaag cttaatacac tccttaattg aagaatcgca aaaccagcaa gaaaagaatg
1501 aacaagaatt attggaatta gataaatggg caagtttgtg gaattggttt aacataacaa
1561 attggctgtg gtatataaaa ttattcataa tgatagtagg aggcttggta ggtttaagaa
1621 tagtttttgc tgtactttct atagtgaata gagttaggca gggatattca ccattatcgt
1681 ttcagaccca cctcccaacc ccgaggggac ccgacaggcc cgaaggaata gaagaagaag
1741 gtggagagag agacagagac agatccattc gattagtgaa cggatctcga cggtatcggt
1801 taacttttaa aagaaaaggg gggattgggg ggtacagtgc aggggaaaga atagtagaca
1861 taatagcaac agacatacaa actaaagaat tacaaaaaca aattacaaaa ttcaaaattt
1921 tatcgatact agtggatctg cgatcgctcc ggtgcccgtc agtgggcaga gcgcacatcg
1981 cccacagtcc ccgagaagtt gggggggaggg gtcggcaatt gaacgggtgc ctagagaagg
2041 tggcgcgggg taaactggga aagtgatgtc gtgtactggc tccgcctttt tcccgagggt
2101 gggggagaac cgtatataag tgcagtagtc gccgtgaacg ttctttttcg caacgggttt
2161 gccgccagaa cacagctgaa gcttcgaggg gctcgcatct ctccttcacg cgcccgccgc
2221 cctacctgag gccgccatcc acgccggttg agtcgcgttc tgccgcctcc cgcctgtggt
2281 gcctcctgaa ctgcgtccgc cgtctaggta agtttaaagc tcaggtcgag accgggcctt
2341 tgtccggcgc tcccttggag cctacctaga ctcagccggc tctccacgct ttgcctgacc

【０３２１】

【表５－２】

2401 ctgcttgctc aactctacgt ctttgtttcg ttttctgttc tgcgccgtta cagatccaag
2461 ctgtgaccgg cgcctactct agagccgcca ccatggccct gcctgtgaca gctctgctgc
2521 tgcctctggc cctgctgctc catgccgcca gacccgatat ccagatgacc cagaccacca
2581 gcagcctgag cgccagcctg ggcgatagag tgaccatcag ctgccgggcc agccaggaca
2641 tcagcaagta cctgaactgg tatcagcaga aacccgacgg caccgtgaag ctgctgatct
2701 accacaccag cagactgcac agcggcgtgc ccagcagatt ttctggcagc ggctccggca
2761 ccgactacag cctgaccatc tccaacctgg aacaggaaga tatcgctacc tacttctgtc
2821 agcaaggcaa caccctgccc tacaccttcg gcggaggcac caagctggaa atcacaggcg
2881 gcggaggatc tggcggaggt ggaagtggcg gaggcggcag cgaagtgaaa ctgcaggaaa
2941 gcggccctgg cctggtggcc ccttctcagt ctctgtccgt gacctgtacc gtgtccggcg
3001 tgtccctgcc cgattatggc gtgtcctgga tccggcagcc tcccagaaag ggcctggaat
3061 ggctgggcgt gatctggggc agcgagacaa cctactacaa cagcgccctg aagtcccggc
3121 tgaccatcat caaggacaac tccaagagcc aggtgttcct gaagatgaac agcctgcaga
3181 ccgacgacac cgccatctac tactgcgcca agcactacta ctacggcggc agctacgcca
3241 tggactactg gggccagggc accagcgtga ccgtgtctag cacaaccacc cctgccccta
3301 gacctcccac cccagccccа acaattgcca gccagcctct gtctctgcgg cccgaagctt
3361 gtagacctgc tgccggcgga gccgtgcaca ccagaggact ggatttcgcc tgcgacatct
3421 acatctgggc ccctctggcc ggcacatgtg gcgtgctgct cctcagcctg gtcatcaccc
3481 tgtactgcaa gcggggcaga aagaaactgc tctacatctt caagcagccc ttcatgcggc
3541 ccgtgcagac cacacaggaa gaggacggct gctcctgcag attccccgag gaagaagaag
3601 gcggctgcga gctgagagtg aagttcagca gatccgccga cgcccctgcc taccagcagg
3661 gacagaacca gctgtacaac gagctgaacc tgggcagacg ggaagagtac gacgtgctgg
3721 acaagcggag aggcagagat cccgagatgg gcggcaagcc cagacggaag aatccccagg
3781 aaggcctgta taacgaactg cagaaagaca agatggccga ggcctacagc gagatcggaa
3841 tgaagggcga gcggagaaga ggcaagggcc acgatggcct gtaccagggc ctgagcaccg
3901 ccaccaagga cacctacgat gccctgcaca tgcaggccct gccacccaga gaattcgaag
3961 gatccgcggc cgctgagggc agaggaagtc ttctaacatg cggtgacgtg gaggagaatc
4021 ccggcccttc cggaatggag agcgacgaga gcggcctgcc cgccatggag atcgagtgcc
4081 gcatcaccgg caccctgaac ggcgtggagt tcgagctggt gggcggcgga gagggcaccc
4141 ccaagcaggg ccgcatgacc aacaagatga agagcaccaa aggcgccctg accttcagcc
4201 cctacctgct gagccacgtg atgggctacg gcttctacca cttcggcacc taccccagcg
4261 gctacgagaa ccccttcctg cacgccatca acaacggcgg ctacaccaac acccgcatcg
4321 agaagtacga ggacggcggc gtgctgcacg tgagcttcag ctaccgctac gaggccggcc
4381 gcgtgatcgg cgacttcaag gtggtgggca ccggcttccc cgaggacagc gtgatcttca
4441 ccgacaagat catccgcagc aacgccaccg tggagcacct gcaccccatg ggcgataacg
4501 tgctggtggg cagcttcgcc cgcaccttca gcctgcgcga cggcggctac tacagcttcg
4561 tggtggacag ccacatgcac ttcaagagcg ccatccaccc cagcatcctg cagaacgggg
4621 gccccatgtt cgccttccgc cgcgtggagg agctgcacag caacaccgag ctgggcatcg
4681 tggagtacca gcacgccttc aagaccccca tcgccttcgc cagatcccgc gctcagtcgt
4741 ccaattctgc cgtggacggc accgccggac ccggctccac cggatctcgc tagagctgaa

【０３２２】

【表５－３】

4801 tctaagtcga caatcaacct ctggattaca aaatttgtga aagattgact ggtattctta
4861 actatgttgc tccttttacg ctatgtggat acgctgcttt aatgcctttg tatcatgcta
4921 ttgcttcccg tatggctttc attttctcct ccttgtataa atcctggttg ctgtctcttt
4981 atgaggagtt gtggcccgtt gtcaggcaac gtggcgtggt gtgcactgtg tttgctgacg
5041 caacccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct cctttccggg actttcgctt
5101 tccccctccc tattgccacg gcggaactca tcgccgcctg ccttgcccgc tgctggacag
5161 gggctcggct gttgggcact gacaattccg tggtgttgtc ggggaaatca tcgtcctttc
5221 cttggctgct cgcctgtgtt gccacctgga ttctgcgcgg gacgtccttc tgctacgtcc
5281 cttcggccct caatccagcg gaccttcctt cccgcggcct gctgccggct ctgcggcctc
5341 ttccgcgtct tcgccttcgc cctcagacga gtcggatctc cctttgggcc gcctccccgc
5401 ctggtacctt taagaccaat gacttacaag gcagctgtag atcttagcca ctttttaaaa
5461 gaaaaggggg gactggaagg gctaattcac tcccaacgaa aataagatct gctttttgct
5521 tgtactgggt ctctctggtt agaccagatc tgagcctggg agctctctgg ctaactaggg
5581 aacccactgc ttaagcctca ataaagcttg ccttgagtgc ttcaagtagt gtgtgcccgt
5641 ctgttgtgtg actctggtaa ctagagatcc ctcagaccct tttagtcagt gtggaaaatc
5701 tctagcagta gtagttcatg tcatcttatt attcagtatt tataacttgc aaagaaatga
5761 atatcagaga gtgagaggaa cttgtttatt gcagcttata atggttacaa ataaagcaat
5821 agcatcacaa atttcacaaa taaagcattt ttttcactgc attctagttg tggtttgtcc
5881 aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg ctctagctat cccgccccta actccgccca
5941 gttccgccca ttctccgccc catggctgac taatttttt tatttatgca gaggccgagg
6001 ccgcctcggc ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg ctttttgga ggcctagact
6061 tttgcagaga cggcccaaat tcgtaatcat ggtcatagct gtttcctgtg tgaaattgtt
6121 atccgctcac aattccacac aacatacgag ccggaagcat aaagtgtaaa gcctggggtg
6181 cctaatgagt gagctaactc acattaattg cgttgcgctc actgcccgct ttccagtcgg
6241 gaaacctgtc gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc
6301 gtattgggcg ctcttccgct tcctcgctca ctgactcgct gcgctcggtc gttcggctgc
6361 ggcgagcggt atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaa tcaggggata
6421 acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg
6481 cgttgctggc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct
6541 caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt ccccctggaa
6601 gctccctcgt gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac cggatacctg tccgcctttc
6661 tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcggtgt
6721 aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg
6781 ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggtaag acacgactta tcgccactgg
6841 cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcggtgct acagagttct
6901 tgaagtggtg gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggtatc tgcgctctgc
6961 tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg
7021 ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc
7081 aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt
7141 aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaaa

【０３２３】

【表５－４】

7201 aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat
7261 gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatcc atagttgcct
7321 gactccccgt cgtgtagata actacgatac gggagggctt accatctggc cccagtgctg
7381 caatgatacc gcgagaccca cgctcaccgg ctccagattt atcagcaata aaccagccag
7441 ccggaagggc cgagcgcaga agtggtcctg caactttatc cgcctccatc cagtctatta
7501 attgttgccg ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa tagtttgcgc aacgttgttg
7561 ccattgctac aggcatcgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg
7621 gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat cccccatgtt gtgcaaaaaa gcggttagct
7681 ccttcggtcc tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctcatggtta
7741 tggcagcact gcataattct cttactgtca tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg
7801 gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc
7861 cggcgtcaat acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg
7921 gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga
7981 tgtaacccac tcgtgcaccc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg
8041 ggtgagcaaa aacaggaagg caaaatgccg caaaaaaggg aataagggcg acacggaaat
8101 gttgaatact catactcttc ctttttcaat attattgaag catttatcag ggttattgtc
8161 tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca
8221 catttccccg aaaagtgcca cctgacgtct aagaaaccat tattatcatg acattaacct
8281 ataaaaatag gcgtatcacg aggccctttc gtctcgcgcg tttcggtgat gacggtgaaa
8341 acctctgaca catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg tctgtaagcg gatgccggga
8401 gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttggcgg gtgtcggggc tggcttaact
8461 atgcggcatc agagcagatt gtactgagag tgcaccatat gcggtgtgaa ataccgcaca
8521 gatgcgtaag gagaaaatac cgcatcaggc gccattcgcc attcaggctg cgcaactgtt
8581 gggaagggcg atcggtgcgg gcctcttcgc tattacgcca gctggcgaaa gggggatgtg
8641 ctgcaaggcg attaagttgg gtaacgccag ggttttccca gtcacgacgt tgtaaaacga
8701 cggccagtgc caagctg.

【０３２４】

ＴＦＰ（ＴＲｕＣ）構築物

ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＴＣＲアルファ（配列番号１１）

【０３２５】

【表６－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agacccttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct

【０３２６】

【表６－２】

2401 ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat
2461 tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggtctgga gtggctggga
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct
3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc
3181 gaggtgaatg gagagaatgt ggagcagcat ccttcaaccc tgagtgtcca ggagggagac
3241 agcgctgtta tcaagtgtac ttattcagac agtgcctcaa actacttccc ttggtataag
3301 caagaacttg gaaaaagacc tcagcttatt atagacattc gttcaaatgt gggcgaaaag
3361 aaagaccaac gaattgctgt tacattgaac aagacagcca aacatttctc cctgcacatc
3421 acagagaccc aacctgaaga ctcggctgtc tacttctgtg cagcaagtag gaaggactct
3481 gggggttacc agaaagttac ctttggaact ggaacaaagc tccaagtcat cccaaatatc
3541 cagaaccctg accctgccgt gtaccagctg agagactcta aatccagtga caagtctgtc
3601 tgcctattca ccgattttga ttctcaaaca aatgtgtcac aaagtaagga ttctgatgtg
3661 tatatcacag acaaaactgt gctagacatg aggtctatgg acttcaagag caacagtgct
3721 gtggcctgga gcaacaaatc tgactttgca tgtgcaaacg ccttcaacaa cagcattatt
3781 ccagaagaca ccttcttccc cagcccagaa agttcctgtg atgtcaagct ggtcgagaaa
3841 agctttgaaa cagatacgaa cctaaacttt caaaacctgt cagtgattgg gttccgaatc
3901 ctcctcctga aagtggccgg gtttaatctg ctcatgacgc tgcggctgtg gtccagctga
3961 taagaattcg atccgcggcc gcgaaggatc tgcgatcgct ccggtgcccg tcagtgggca
4021 gagcgcacat cgcccacagt ccccgagaag ttgggggggag gggtcggcaa ttgaacgggt
4081 gcctagagaa ggtggcgcgg ggtaaactgg gaaagtgatg tcgtgtactg gctccgcctt
4141 tttcccgagg gtgggggaga accgtatata agtgcagtag tcgccgtgaa cgttcttttt
4201 cgcaacgggt ttgccgccag aacacagctg aagcttcgag gggctcgcat ctctccttca
4261 cgcgcccgcc gccctacctg aggccgccat ccacgccggt tgagtcgcgt tctgccgcct
4321 cccgcctgtg gtgcctcctg aactgcgtcc gccgtctagg taagtttaaa gctcaggtcg
4381 agaccgggcc tttgtccggc gctcccttgg agcctaccta gactcagccg gctctccacg
4441 ctttgcctga ccctgcttgc tcaactctac gtctttgttt cgttttctgt tctgcgccgt
4501 tacagatcca agctgtgacc ggcgcctacg ctagatgacc gagtacaagc ccacggtgcg
4561 cctcgccacc cgcgacgacg tccccagggc cgtacgcacc ctcgccgccg cgttcgccga
4621 ctaccccgcc acgcgccaca ccgtcgatcc ggaccgccac atcgagcggg tcaccgagct
4681 gcaagaactc ttcctcacgc gcgtcgggct cgacatcggc aaggtgtggg tcgcggacga
4741 cggcgccgcg gtggcggtct ggaccacgcc ggagagcgtc gaagcggggg cggtgttcgc

【０３２７】

【表６－３】

4801 cgagatcggc ccgcgcatgg ccgagttgag cggttcccgg ctggccgcgc agcaacagat
4861 ggaaggcctc ctggcgccgc accggcccaa ggagcccgcg tggttcctgg ccaccgtcgg
4921 cgtctcgccc gaccaccagg gcaagggtct gggcagcgcc gtcgtgctcc ccggagtgga
4981 ggcggccgag cgcgccgggg tgcccgcctt cctggagacc tccgcgcccc gcaacctccc
5041 cttctacgag cggctcggct tcaccgtcac cgccgacgtc gaggtgcccg aaggaccgcg
5101 cacctggtgc atgacccgca agcccggtgc ctgagtcgac aatcaacctc tggattacaa
5161 aatttgtgaa agattgactg gtattcttaa ctatgttgct ccttttacgc tatgtggata
5221 cgctgcttta atgcctttgt atcatgctat tgcttcccgt atggctttca ttttctcctc
5281 cttgtataaa tcctggttgc tgtctcttta tgaggagttg tggcccgttg tcaggcaacg
5341 tggcgtggtg tgcactgtgt ttgctgacgc aacccccact ggttggggca ttgccaccac
5401 ctgtcagctc ctttccggga ctttcgcttt ccccctccct attgccacgg cggaactcat
5461 cgccgcctgc cttgcccgct gctggacagg ggctcggctg ttgggcactg acaattccgt
5521 ggtgttgtcg gggaaatcat cgtcctttcc ttggctgctc gcctgtgttg ccacctggat
5581 tctgcgcggg acgtccttct gctacgtccc ttcggccctc aatccagcgg accttccttc
5641 ccgcggcctg ctgccggctc tgcggcctct tccgcgtctt cgccttcgcc ctcagacgag
5701 tcggatctcc ctttgggccg cctccccgcc tggtaccttt aagaccaatg acttacaagg
5761 cagctgtaga tcttagccac tttttaaaag aaaaggggga actggaaggg ctaattcact
5821 cccaacgaaa ataagatctg ctttttgctt gtactgggtc tctctggtta gaccagatct
5881 gagcctggga gctctctggc taactaggga acccactgct taagcctcaa taaagcttgc
5941 cttgagtgct tcaagtagtg tgtgcccgtc tgttgtgtga ctctggtaac tagagatccc
6001 tcagaccctt ttagtcagtg tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta
6061 ttcagtattt ataacttgca aagaaatgaa tatcagagag tgagaggaac ttgtttattg
6121 cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt
6181 tttcactgca ttctagttgt ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctggc
6241 tctagctatc ccgcccctaa ctccgcccag ttccgcccat tctccgcccc atggctgact
6301 aatttttttt atttatgcag aggccgaggc cgcctcggcc tctgagctat tccagaagta
6361 gtgaggaggc ttttttggag gcctagactt ttgcagagac ggcccaaatt cgtaatcatg
6421 gtcatagctg tttcctgtgt gaaattgtta tccgctcaca attccacaca acatacgagc
6481 cggaagcata aagtgtaaag cctggggtgc ctaatgagtg agctaactca cattaattgc
6541 gttgcgctca ctgcccgctt tccagtcggg aaacctgtcg tgccagctgc attaatgaat
6601 cggccaacgc gcggggagag gcggtttgcg tattgggcgc tcttccgctt cctcgctcac
6661 tgactcgctg cgctcggtcg ttcggctgcg gcgagcggta tcagctcact caaaggcggt
6721 aatacggtta tccacagaat caggggataa cgcaggaaag aacatgtgag caaaaggcca
6781 gcaaaaggcc aggaaccgta aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggctccgccc
6841 ccctgacgag catcacaaaa atcgacgctc aagtcagagg tggcgaaacc cgacaggact
6901 ataaagatac caggcgtttc cccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg ttccgaccct
6961 gccgcttacc ggatacctgt ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc tttctcatag
7021 ctcacgctgt aggtatctca gttcggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca
7081 cgaacccccc gttcagcccg accgctgcgc cttatccggt aactatcgtc ttgagtccaa
7141 cccggtaaga cacgacttat cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc

【０３２８】

【表６－４】

7201 gaggtatgta ggcggtgcta cagagttctt gaagtggtgg cctaactacg gctacactag
7261 aaggacagta tttggtatct gcgctctgct gaagccagtt accttcggaa aaagagttgg
7321 tagctcttga tccggcaaac aaaccaccgc tggtagcggt ggtttttttg tttgcaagca
7381 gcagattacg cgcagaaaaa aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacggggtc
7441 tgacgctcag tggaacgaaa actcacgtta agggattttg gtcatgagat tatcaaaaag
7501 gatcttcacc tagatccttt taaattaaaa atgaagtttt aaatcaatct aaagtatata
7561 tgagtaaact tggtctgaca gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta tctcagcgat
7621 ctgtctattt cgttcatcca tagttgcctg actccccgtc gtgtagataa ctacgatacg
7681 ggagggctta ccatctggcc ccagtgctgc aatgataccg cgagacccac gctcaccggc
7741 tccagattta tcagcaataa accagccagc cggaagggcc gagcgcagaa gtggtcctgc
7801 aactttatcc gcctccatcc agtctattaa ttgttgccgg gaagctagag taagtagttc
7861 gccagttaat agtttgcgca acgttgttgc cattgctaca ggcatcgtgg tgtcacgctc
7921 gtcgtttggt atggcttcat tcagctccgg ttcccaacga tcaaggcgag ttacatgatc
7981 ccccatgttg tgcaaaaaag cggttagctc cttcggtcct ccgatcgttg tcagaagtaa
8041 gttggccgca gtgttatcac tcatggttat ggcagcactg cataattctc ttactgtcat
8101 gccatccgta agatgctttt ctgtgactgg tgagtactca accaagtcat tctgagaata
8161 gtgtatgcgg cgaccgagtt gctcttgccc ggcgtcaata cgggataata ccgcgccaca
8221 tagcagaact ttaaaagtgc tcatcattgg aaaacgttct tcggggcgaa aactctcaag
8281 gatcttaccg ctgttgagat ccagttcgat gtaacccact cgtgcaccca actgatcttc
8341 agcatctttt actttcacca gcgtttctgg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccgc
8401 aaaaaaggga ataagggcga cacggaaatg ttgaatactc atactcttcc tttttcaata
8461 ttattgaagc atttatcagg gttattgtct catgagcgga tacatatttg aatgtattta
8521 gaaaaataaa caaatagggg ttccgcgcac atttccccga aaagtgccac ctgacgtcta
8581 agaaaccatt attatcatga cattaaccta taaaaatagg cgtatcacga ggcccttcg
8641 tctcgcgcgt ttcggtgatg acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc cggagacggt
8701 cacagcttgt ctgtaagcgg atgccgggag cagacaagcc cgtcagggcg cgtcagcggg
8761 tgttggcggg tgtcggggct ggcttaacta tgcggcatca gagcagattg tactgagagt
8821 gcaccatatg cggtgtgaaa taccgcacag atgcgtaagg agaaaataccc gcatcaggcg
8881 ccattcgcca ttcaggctgc gcaactgttg ggaagggcga tcggtgcggg cctcttcgct
8941 attacgccag ctggcgaaag ggggatgtgc tgcaaggcga ttaagttggg taacgccagg
9001 gttttcccag tcacgacgtt gtaaaacgac ggccagtgcc aagctg.

【０３２９】

ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＴＣＲアルファＣ（配列番号１２）

【０３３０】

【表７－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agacccttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct

【０３３１】

【表７－２】

2401 ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat
2461 tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggtctgga gtggctggga
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct
3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc
3181 gagccaaata tccagaaccc tgaccctgcc gtgtaccagc tgagagactc taaatccagt
3241 gacaagtctg tctgcctatt caccgatttt gattctcaaa caaatgtgtc acaaagtaag
3301 gattctgatg tgtatatcac agacaaaact gtgctagaca tgaggtctat ggacttcaag
3361 agcaacagtg ctgtggcctg gagcaacaaa tctgactttg catgtgcaaa cgccttcaac
3421 aacagcatta ttccagaaga caccttcttc cccagcccag aaagttcctg tgatgtcaag
3481 ctggtcgaga aaagctttga aacagatacg aacctaaact ttcaaaacct gtcagtgatt
3541 gggttccgaa tcctcctcct gaaagtggcc gggtttaatc tgctcatgac gctgcggctg
3601 tggtccagct gataagaatt cgatccgcgg ccgcgaagga tctgcgatcg ctccggtgcc
3661 cgtcagtggg cagagcgcac atcgcccaca gtccccgaga agttgggggg aggggtcggc
3721 aattgaacgg gtgcctagag aaggtggcgc ggggtaaact gggaaagtga tgtcgtgtac
3781 tggctccgcc tttttcccga gggtggggga gaaccgtata taagtgcagt agtcgccgtg
3841 aacgttcttt ttcgcaacgg gtttgccgcc agaacacagc tgaagcttcg aggggctcgc
3901 atctctcctt cacgcgcccg ccgccctacc tgaggccgcc atccacgccg gttgagtcgc
3961 gttctgccgc ctcccgcctg tggtgcctcc tgaactgcgt ccgccgtcta ggtaagttta
4021 aagctcaggt cgagaccggg cctttgtccg gcgctccctt ggagcctacc tagactcagc
4081 cggctctcca cgctttgcct gaccctgctt gctcaactct acgtctttgt ttcgttttct
4141 gttctgcgcc gttacagatc caagctgtga ccggcgccta cgctagatga ccgagtacaa
4201 gcccacggtg cgcctcgcca cccgcgacga cgtccccagg gccgtacgca ccctcgccgc
4261 cgcgttcgcc gactaccccg ccacgcgcca caccgtcgat ccggaccgcc acatcgagcg
4321 ggtcaccgag ctgcaagaac tcttcctcac gcgcgtcggg ctcgacatcg gcaaggtgtg
4381 ggtcgcggac gacggcgccg cggtggcggt ctggaccacg ccggagagcg tcgaagcggg
4441 ggcggtgttc gccgagatcg gcccgcgcat ggccgagttg agcggttccc ggctggccgc
4501 gcagcaacag atggaaggcc tcctggcgcc gcaccggccc aaggagcccg cgtggttcct
4561 ggccaccgtc ggcgtctcgc ccgaccacca gggcaagggt ctgggcagcg ccgtcgtgct
4621 ccccggagtg gaggcggccg agcgcgccgg ggtgcccgcc ttcctggaga cctccgcgcc
4681 ccgcaacctc cccttctacg agcggctcgg cttcaccgtc accgccgacg tcgaggtgcc
4741 cgaaggaccg cgcacctggt gcatgacccg caagcccggt gcctgagtcg acaatcaacc

【０３３２】

【表７－３】

4801 tctggattac aaaatttgtg aaagattgac tggtattctt aactatgttg ctccttttac
4861 gctatgtgga tacgctgctt taatgccttt gtatcatgct attgcttccc gtatggcttt
4921 cattttctcc tccttgtata aatcctggtt gctgtctctt tatgaggagt tgtggcccgt
4981 tgtcaggcaa cgtggcgtgg tgtgcactgt gtttgctgac gcaaccccca ctggttgggg
5041 cattgccacc acctgtcagc tcctttccgg gactttcgct ttccccctcc ctattgccac
5101 ggcggaactc atcgccgcct gccttgcccg ctgctggaca ggggctcggc tgttgggcac
5161 tgacaattcc gtggtgttgt cggggaaatc atcgtccttt ccttggctgc tcgcctgtgt
5221 tgccacctgg attctgcgcg ggacgtcctt ctgctacgtc ccttcggccc tcaatccagc
5281 ggaccttcct tcccgcggcc tgctgccggc tctgcggcct cttccgcgtc ttcgccttcg
5341 ccctcagacg agtcggatct ccctttgggc cgcctccccg cctggtacct ttaagaccaa
5401 tgacttacaa ggcagctgta gatcttagcc acttttaaa agaaaagggg ggactggaag
5461 ggctaattca ctcccaacga aaataagatc tgctttttgc ttgtactggg tctctctggt
5521 tagaccagat ctgagcctgg gagctctctg gctaactagg gaacccactg cttaagcctc
5581 aataaagctt gccttgagtg cttcaagtag tgtgtgcccg tctgttgtgt gactctggta
5641 actagagatc cctcagaccc ttttagtcag tgtggaaaat ctctagcagt agtagttcat
5701 gtcatcttat tattcagtat ttataacttg caaagaaatg aatatcagag agtgagagga
5761 acttgtttat tgcagcttat aatggttaca aataaagcaa tagcatcaca aatttcacaa
5821 ataaagcatt tttttcactg cattctagtt gtggtttgtc caaactcatc aatgtatctt
5881 atcatgtctg gctctagcta tcccgcccct aactccgccc agttccgccc attctccgcc
5941 ccatggctga ctaatttttt ttatttatgc agaggccgag gccgcctcgg cctctgagct
6001 attccagaag tagtgaggag gctttttttgg aggcctagac ttttgcagag acggcccaaa
6061 ttcgtaatca tggtcatagc tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca caattccaca
6121 caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctggggt gcctaatgag tgagctaact
6181 cacattaatt gcgttgcgct cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct
6241 gcattaatga atcggccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc
6301 ttcctcgctc actgactcgc tgcgctcggt cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca
6361 ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg
6421 agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca
6481 taggctccgc cccctgacg agcatcacaa aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa
6541 cccgacagga ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc
6601 tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc
6661 gctttctcat agctcacgct gtaggtatct cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct
6721 gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg
6781 tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag
6841 gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta
6901 cggctacact agaaggacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg
6961 aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt
7021 tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt
7081 ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga aaactcacgt taagggattt tggtcatgag
7141 attatcaaaa aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat

【０３３３】

【表７－４】

7201 ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc
7261 tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc catagttgcc tgactccccg tcgtgtagat
7321 aactacgata cgggagggct taccatctgg ccccagtgct gcaatgatac cgcgagaccc
7381 acgctcaccg gctccagatt tatcagcaat aaaccagcca gccggaaggg ccgagcgcag
7441 aagtggtcct gcaactttat ccgcctccat ccagtctatt aattgttgcc gggaagctag
7501 agtaagtagt tcgccagtta atagtttgcg caacgttgtt gccattgcta caggcatcgt
7561 ggtgtcacgc tcgtcgtttg gtatggcttc attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg
7621 agttacatga tcccccatgt tgtgcaaaaa agcggttagc tccttcggtc ctccgatcgt
7681 tgtcagaagt aagttggccg cagtgttatc actcatggtt atggcagcac tgcataattc
7741 tcttactgtc atgccatccg taagatgctt ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc
7801 attctgagaa tagtgtatgc ggcgaccgag ttgctcttgc ccggcgtcaa tacgggataa
7861 taccgcgcca catagcagaa ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacgtt cttcggggcg
7921 aaaactctca aggatcttac cgctgttgag atccagttcg atgtaaccca ctcgtgcacc
7981 caactgatct tcagcatctt ttactttcac cagcgtttct gggtgagcaa aaacaggaag
8041 gcaaaatgcc gcaaaaaagg gaataagggc gacacggaaa tgttgaatac tcatactctt
8101 cctttttcaa tattattgaa gcatttatca gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt
8161 tgaatgtatt tagaaaaata aacaaatagg ggttccgcgc acatttcccc gaaaagtgcc
8221 acctgacgtc taagaaacca ttattatcat gacattaacc tataaaaata ggcgtatcac
8281 gaggcccttt cgtctcgcgc gtttcggtga tgacggtgaa aacctctgac acatgcagct
8341 cccggagacg gtcacagctt gtctgtaagc ggatgccggg agcagacaag cccgtcaggg
8401 cgcgtcagcg ggtgttggcg ggtgtcgggg ctggcttaac tatgcggcat cagagcagat
8461 tgtactgaga gtgcaccata tgcggtgtga aataccgcac agatgcgtaa ggagaaaata
8521 ccgcatcagg cgccattcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc gatcggtgcg
8581 ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa aggggatgt gctgcaaggc gattaagttg
8641 ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg ccaagctg.

【０３３４】

ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＴＣＲベータ（配列番号１３）

【０３３５】

【表８－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agacccttttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct

【０３３６】

【表８－２】

2401 ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat
2461 tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggtctgga gtggctggga
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct
3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc
3181 gagctgggag caggcccagt ggattctgga gtcacacaaa ccccaaagca cctgatcaca
3241 gcaactggac agcgagtgac gctgagatgc tcccctaggt ctggagacct ctctgtgtca
3301 tggtaccaac agagcctgga ccagggcctc cagttcctca ttcagtatta taatggagaa
3361 gagagagcaa aaggaaacat tcttgaacga ttctccgcac aacagttccc tgacttgcac
3421 tctgaactaa acctgagctc tctggagctg ggggactcag ctttgtattt ctgtgccagc
3481 agcccccgga caggcctgaa cactgaagct ttctttggac aaggcaccag actcacagtt
3541 gtagaggacc tgaacaaggt gttcccaccc gaggtcgctg tgtttgagcc atcagaagca
3601 gagatctccc acacccaaaa ggccacactg gtgtgcctgg ccacaggctt cttccccgac
3661 cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggg aaggaggtgc acagtggggt cagcacggac
3721 ccgcagcccc tcaaggagca gcccgccctc aatgactcca gatactgcct gagcagccgc
3781 ctgagggtct cggccacctt ctggcagaac ccccgcaacc acttccgctg tcaagtccag
3841 ttctacgggc tctcggagaa tgacgagtgg acccaggata gggccaaacc cgtcacccag
3901 atcgtcagcg ccgaggcctg gggtagagca gactgtggct ttacctcggt gtcctaccag
3961 caaggggtcc tgtctgccac catcctctat gagatcctgc tagggaaggc caccctgtat
4021 gctgtgctgg tcagcgccct tgtgttgatg gccatggtca agagaaagga tttctgataa
4081 gaattcgatc cgcggccgcg aaggatctgc gatcgctccg gtgcccgtca gtgggcagag
4141 cgcacatcgc ccacagtccc cgagaagttg gggggagggg tcggcaattg aacgggtgcc
4201 tagagaaggt ggcgcggggt aaactgggaa agtgatgtcg tgtactggct ccgccttttt
4261 cccgagggtg ggggagaacc gtatataagt gcagtagtcg ccgtgaacgt tcttttcgc
4321 aacgggtttg ccgccagaac acagctgaag cttcgagggg ctcgcatctc tccttcacgc
4381 gcccgccgcc ctacctgagg ccgccatcca cgccggttga gtcgcgttct gccgcctccc
4441 gcctgtggtg cctcctgaac tgcgtccgcc gtctaggtaa gtttaaagct caggtcgaga
4501 ccgggccttt gtccggcgct cccttggagc ctacctagac tcagccggct ctccacgctt
4561 tgcctgaccc tgcttgctca actctacgtc tttgtttcgt tttctgttct gcgccgttac
4621 agatccaagc tgtgaccggc gcctacgcta gatgaccgag tacaagccca cggtgcgcct
4681 cgccacccgc gacgacgtcc ccagggccgt acgcaccctc gccgccgcgt tcgccgacta
4741 ccccgccacg cgccacaccg tcgatccgga ccgccacatc gagcgggtca ccgagctgca

【０３３７】

【表８－３】

4801 agaactcttc ctcacgcgcg tcgggctcga catcggcaag gtgtgggtcg cggacgacgg
4861 cgccgcggtg gcggtctgga ccacgccgga gagcgtcgaa gcgggggcgg tgttcgccga
4921 gatcggcccg cgcatggccg agttgagcgg ttcccggctg gccgcgcagc aacagatgga
4981 aggcctcctg gcgccgcacc ggcccaagga gcccgcgtgg ttcctggcca ccgtcggcgt
5041 ctcgcccgac caccagggca agggtctggg cagcgccgtc gtgctccccg gagtggaggc
5101 ggccgagcgc gccggggtgc ccgccttcct ggagacctcc gcgccccgca acctcccctt
5161 ctacgagcgg ctcggcttca ccgtcaccgc cgacgtcgag gtgcccgaag gaccgcgcac
5221 ctggtgcatg acccgcaagc ccggtgcctg agtcgacaat caacctctgg attacaaaat
5281 ttgtgaaaga ttgactggta ttcttaacta tgttgctcct tttacgctat gtggatacgc
5341 tgctttaatg cctttgtatc atgctattgc ttcccgtatg gctttcattt tctcctcctt
5401 gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga ggagttgtgg cccgttgtca ggcaacgtgg
5461 cgtggtgtgc actgtgtttg ctgacgcaac ccccactggt tggggcattg ccaccacctg
5521 tcagctcctt tccgggactt tcgctttccc cctccctatt gccacggcgg aactcatcgc
5581 cgcctgcctt gcccgctgct ggacaggggc tcggctgttg ggcactgaca attccgtggt
5641 gttgtcgggg aaatcatcgt cctttccttg gctgctcgcc tgtgttgcca cctggattct
5701 gcgcgggacg tccttctgct acgtcccttc ggccctcaat ccagcggacc ttccttcccg
5761 cggcctgctg ccggctctgc ggcctcttcc gcgtcttcgc cttcgccctc agacgagtcg
5821 gatctccctt tgggccgcct ccccgcctgg taccttttaag accaatgact tacaaggcag
5881 ctgtagatct tagccacttt ttaaaagaaa ggggggact ggaagggcta attcactccc
5941 aacgaaaata agatctgctt tttgcttgta ctgggtctct ctggttagac cagatctgag
6001 cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc cactgcttaa gcctcaataa agcttgcctt
6061 gagtgcttca agtagtgtgt gcccgtctgt tgtgtgactc tggtaactag agatccctca
6121 gaccctttta gtcagtgtgg aaaatctcta gcagtagtag ttcatgtcat cttattattc
6181 agtatttata acttgcaaag aaatgaatat cagagagtga gaggaacttg tttattgcag
6241 cttataatgg ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa gcatttttt
6301 cactgcattc tagttgtggt ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctggctct
6361 agctatcccg cccctaactc cgcccagttc cgcccattct ccgccccatg gctgactaat
6421 ttttttatt tatgcagagg ccgaggccgc ctcggcctct gagctattcc agaagtagtg
6481 aggaggcttt tttggaggcc tagacttttg cagagacggc ccaaattcgt aatcatggtc
6541 atagctgttt cctgtgtgaa attgttatcc gctcacaatt ccacacaaca tacgagccgg
6601 aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta atgagtgagc taactcacat taattgcgtt
6661 gcgctcactg cccgctttcc agtcgggaaa cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg
6721 ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct tccgcttcct cgctcactga
6781 ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca gctcactcaa aggcggtaat
6841 acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca
6901 aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt ttccataggc tccgcccccc
6961 tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaaacccga caggactata
7021 aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc
7081 gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc
7141 acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga

【０３３８】

【表８－４】

7201 acccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc
7261 ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag
7321 gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct aactacggct acactagaag
7381 gacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttcggaaaaa gagttggtag
7441 ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt ttttttgttt gcaagcagca
7501 gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga
7561 cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat
7621 cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga
7681 gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg
7741 tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg tagataacta cgatacggga
7801 gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga gacccacgct caccggctcc
7861 agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag cgcagaagtg gtcctgcaac
7921 tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc
7981 agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc atcgtggtgt cacgctcgtc
8041 gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc
8101 catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg atcgttgtca gaagtaagtt
8161 ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc
8221 atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg
8281 tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg gataataccg cgccacatag
8341 cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg gggcgaaaac tctcaaggat
8401 cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt gcacccaact gatcttcagc
8461 atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa
8521 aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata ctcttccttt ttcaatatta
8581 ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa
8641 aaataaacaa atagggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga
8701 aaccattatt atcatgacat taacctataa aaataggcgt atcacgaggc cctttcgtct
8761 cgcgcgtttc ggtgatgacg gtgaaaacct ctgacacatg cagctcccgg agacggtcac
8821 agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag acaagcccgt cagggcgcgt cagcgggtgt
8881 tggcgggtgt cggggctggc ttaactatgc ggcatcagag cagattgtac tgagagtgca
8941 ccatatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg cgtaaggaga aaataccgca tcaggcgcca
9001 ttcgccattc aggctgcgca actgttggga agggcgatcg gtgcgggcct cttcgctatt
9061 acgccagctg gcgaaagggg gatgtgctgc aaggcgatta agttgggtaa cgccagggtt
9121 ttcccagtca cgacgttgta aaacgacggc cagtgccaag ctg

【０３３９】

ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＴＣＲベータＣ（配列番号１４）

【０３４０】

【表９－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agacccttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct

【０３４１】

【表９－２】

2401 ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat
2461 tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggtctgga gtggctggga
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct
3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc
3181 gaggaggacc tgaacaaggt gttcccaccc gaggtcgctg tgtttgagcc atcagaagca
3241 gagatctccc acacccaaaa ggccacactg gtgtgcctgg ccacaggctt cttccccgac
3301 cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggg aaggaggtgc acagtggggt cagcacagac
3361 ccgcagcccc tcaaggagca gcccgccctc aatgactcca gatactgcct gagcagccgc
3421 ctgagggtct cggccacctt ctggcagaac ccccgcaacc acttccgctg tcaagtccag
3481 ttctacgggc tctcggagaa tgacgagtgg acccaggata gggccaaacc cgtcacccag
3541 atcgtcagcg ccgaggcctg gggtagagca gactgtggct ttacctcggt gtcctaccag
3601 caaggggtcc tgtctgccac catcctctat gagatcctgc tagggaaggc caccctgtat
3661 gctgtgctgg tcagcgccct tgtgttgatg gccatggtca agagaaagga tttctgataa
3721 gaattcgatc cgcggccgcg aaggatctgc gatcgctccg gtgcccgtca gtgggcagag
3781 cgcacatcgc ccacagtccc cgagaagttg gggggagggg tcggcaattg aacgggtgcc
3841 tagagaaggt ggcgcggggt aaactgggaa agtgatgtcg tgtactggct ccgccttttt
3901 cccgagggtg ggggagaacc gtatataagt gcagtagtcg ccgtgaacgt tctttttcgc
3961 aacgggtttg ccgccagaac acagctgaag cttcgagggg ctcgcatctc tccttcacgc
4021 gcccgccgcc ctacctgagg ccgccatcca cgccggttga gtcgcgttct gccgcctccc
4081 gcctgtggtg cctcctgaac tgcgtccgcc gtctaggtaa gtttaaagct caggtcgaga
4141 ccgggccttt gtccggcgct cccttggagc ctacctagac tcagccggct ctccacgctt
4201 tgcctgaccc tgcttgctca actctacgtc tttgtttcgt tttctgttct gcgccgttac
4261 agatccaagc tgtgaccggc gcctacgcta gatgaccgag tacaagccca cggtgcgcct
4321 cgccacccgc gacgacgtcc ccagggccgt acgcaccctc gccgccgcgt tcgccgacta
4381 ccccgccacg cgccacaccg tcgatccgga ccgccacatc gagcgggtca ccgagctgca
4441 agaactcttc ctcacgcgcg tcgggctcga catcggcaag gtgtgggtcg cggacgacgg
4501 cgccgcggtg gcggtctgga ccacgccgga gagcgtcgaa gcgggggcgg tgttcgccga
4561 gatcggcccg cgcatggccg agttgagcgg ttcccggctg gccgcgcagc aacagatgga
4621 aggcctcctg gcgccgcacc ggcccaagga gcccgcgtgg ttcctggcca ccgtcggcgt
4681 ctcgcccgac caccagggca agggtctggg cagcgccgtc gtgctccccg gagtggaggc
4741 ggccgagcgc gccggggtgc ccgccttcct ggagacctcc gcgccccgca acctcccctt

【０３４２】

【表９－３】

4801 ctacgagcgg ctcggcttca ccgtcaccgc cgacgtcgag gtgcccgaag gaccgcgcac
4861 ctggtgcatg acccgcaagc ccggtgcctg agtcgacaat caacctctgg attacaaaat
4921 ttgtgaaaga ttgactggta ttcttaacta tgttgctcct tttacgctat gtggatacgc
4981 tgctttaatg cctttgtatc atgctattgc ttcccgtatg gctttcattt tctcctcctt
5041 gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga ggagttgtgg cccgttgtca ggcaacgtgg
5101 cgtggtgtgc actgtgtttg ctgacgcaac ccccactggt tggggcattg ccaccacctg
5161 tcagctcctt tccgggactt tcgctttccc cctccctatt gccacggcgg aactcatcgc
5221 cgcctgcctt gcccgctgct ggacaggggc tcggctgttg ggcactgaca attccgtggt
5281 gttgtcgggg aaatcatcgt cctttccttg gctgctcgcc tgtgttgcca cctggattct
5341 gcgcgggacg tccttctgct acgtcccttc ggccctcaat ccagcggacc ttccttcccg
5401 cggcctgctg ccggctctgc ggcctcttcc gcgtcttcgc cttcgccctc agacgagtcg
5461 gatctccctt tgggccgcct ccccgcctgg taccttttaag accaatgact tacaaggcag
5521 ctgtagatct tagccacttt ttaaaagaaa agggggggact ggaagggcta attcactccc
5581 aacgaaaata agatctgctt tttgcttgta ctgggtctct ctggttagac cagatctgag
5641 cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc cactgcttaa gcctcaataa agcttgcctt
5701 gagtgcttca agtagtgtgt gcccgtctgt tgtgtgactc tggtaactag agatccctca
5761 gacccttta gtcagtgtgg aaaatctcta gcagtagtag ttcatgtcat cttattattc
5821 agtatttata acttgcaaag aaatgaatat cagagagtga gaggaacttg tttattgcag
5881 cttataatgg ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa gcatttttt
5941 cactgcattc tagttgtggt ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctggctct
6001 agctatcccg cccctaactc cgcccagttc cgcccattct ccgccccatg gctgactaat
6061 ttttttatt tatgcagagg ccgaggccgc ctcggcctct gagctattcc agaagtagtg
6121 aggaggcttt tttggaggcc tagacttttg cagagacggc ccaaattcgt aatcatggtc
6181 atagctgttt cctgtgtgaa attgttatcc gctcacaatt ccacacaaca tacgagccgg
6241 aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta atgagtgagc taactcacat taattgcgtt
6301 gcgctcactg cccgctttcc agtcgggaaa cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg
6361 ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct tccgcttcct cgctcactga
6421 ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca gctcactcaa aggcggtaat
6481 acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca
6541 aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt ttccataggc tccgcccccc
6601 tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaaacccga caggactata
6661 aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc
6721 gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc
6781 acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga
6841 acccccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc
6901 ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag
6961 gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct aactacggct acactagaag
7021 gacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttcggaaaaa gagttggtag
7081 ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcggtggt ttttttgttt gcaagcagca
7141 gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga

【０３４３】

【表９－４】

7201 cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat
7261 cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga
7321 gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg
7381 tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgtcgtg tagataacta cgatacggga
7441 gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga gacccacgct caccggctcc
7501 agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag cgcagaagtg gtcctgcaac
7561 tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc
7621 agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc atcgtggtgt cacgctcgtc
7681 gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc
7741 catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg atcgttgtca gaagtaagtt
7801 ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc
7861 atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg
7921 tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg gataataccg cgccacatag
7981 cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg gggcgaaaac tctcaaggat
8041 cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt gcacccaact gatcttcagc
8101 atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa
8161 aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata ctcttccttt ttcaatatta
8221 ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa
8281 aaataaacaa atagggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga
8341 aaccattatt atcatgacat taacctataa aaataggcgt atcacgaggc cctttcgtct
8401 cgcgcgtttc ggtgatgacg gtgaaaacct ctgacacatg cagctcccgg agacggtcac
8461 agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag acaagcccgt cagggcgcgt cagcgggtgt
8521 tggcgggtgt cggggctggc ttaactatgc ggcatcagag cagattgtac tgagagtgca
8581 ccatatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg cgtaaggaga aaataccgca tcaggcgcca
8641 ttcgccattc aggctgcgca actgttggga agggcgatcg gtgcgggcct cttcgctatt
8701 acgccagctg gcgaaagggg gatgtgctgc aaggcgatta agttgggtaa cgccagggtt
8761 ttcccagtca cgacgttgta aaacgacggc cagtgccaag ctg.

【０３４４】

ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＣＤ３ガンマ（配列番号１５）

【０３４５】

【表１０－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agacccttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct

【０３４６】

【表１０－２】

2401 ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat
2461 tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggtctgga gtggctggga
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct
3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc
3181 gagcagtcaa tcaaaggaaa ccacttggtt aaggtgtatg actatcaaga agatggttcg
3241 gtacttctga cttgtgatgc agaagccaaa aatatcacat ggtttaaaga tgggaagatg
3301 atcggcttcc taactgaaga taaaaaaaaa tggaatctgg gaagtaatgc caaggaccca
3361 cgagggatgt atcagtgtaa aggatcacag aacaagtcaa aaccactcca agtgtattac
3421 agaatgtgtc agaactgcat tgaactaaat gcagccacca tatctggctt tctctttgct
3481 gaaatcgtca gcattttcgt ccttgctgtt ggggtctact tcattgctgg acaggatgga
3541 gttcgccagt cgagagcttc agacaagcag actctgttgc ccaatgacca gctctaccag
3601 cccctcaagg atcgagaaga tgaccagtac agccaccttc aaggaaacca gttgaggagg
3661 aattgataag aattcgatcc gcggccgcga aggatctgcg atcgctccgg tgcccgtcag
3721 tgggcagagc gcacatcgcc cacagtcccc gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga
3781 acgggtgcct agagaaggtg gcgcggggta aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc
3841 cgccttttc ccgagggtgg gggagaaccg tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt
3901 ctttttcgca acgggtttgc cgccagaaca cagctgaagc ttcgaggggc tcgcatctct
3961 ccttcacgcg cccgccgccc tacctgaggc cgccatccac gccggttgag tcgcgttctg
4021 ccgcctcccg cctgtggtgc ctcctgaact gcgtccgccg tctaggtaag tttaaagctc
4081 aggtcgagac cgggcctttg tccggcgctc ccttggagcc tacctagact cagccggctc
4141 tccacgcttt gcctgaccct gcttgctcaa ctctacgtct ttgtttcgtt ttctgttctg
4201 cgccgttaca gatccaagct gtgaccggcg cctacgctag atgaccgagt acaagcccac
4261 ggtgcgcctc gccacccgcg acgacgtccc cagggccgta cgcaccctcg ccgccgcgtt
4321 cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac
4381 cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgcgt cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtcgc
4441 ggacgacggc gccgcggtgg cggtctggac cacgccggag agcgtcgaag cgggggcggt
4501 gttcgccgag atcggcccgc gcatggccga gttgagcggt tcccggctgg ccgcgcagca
4561 acagatggaa ggcctcctgg cgccgcaccg gcccaaggag cccgcgtggt tcctggccac
4621 cgtcggcgtc tcgcccgacc accagggcaa gggtctgggc agcgccgtcg tgctccccgg
4681 agtggaggcg gccgagcgcg ccggggtgcc cgccttcctg gagacctccg cgccccgcaa
4741 cctccccttc tacgagcggc tcggcttcac cgtcaccgcc gacgtcgagg tgcccgaagg

【０３４７】

【表１０－３】

4801 accgcgcacc tggtgcatga cccgcaagcc cggtgcctga gtcgacaatc aacctctgga
4861 ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat tcttaactat gttgctcctt ttacgctatg
4921 tggatacgct gctttaatgc ctttgtatca tgctattgct tcccgtatgg ctttcatttt
4981 ctcctccttg tataaatcct ggttgctgtc tctttatgag gagttgtggc ccgttgtcag
5041 gcaacgtggc gtggtgtgca ctgtgtttgc tgacgcaacc cccactggtt ggggcattgc
5101 caccacctgt cagctccttt ccgggacttt cgctttcccc ctccctattg ccacggcgga
5161 actcatcgcc gcctgccttg cccgctgctg gacaggggct cggctgttgg gcactgacaa
5221 ttccgtggtg ttgtcgggga aatcatcgtc ctttccttgg ctgctcgcct gtgttgccac
5281 ctggattctg cgcgggacgt ccttctgcta cgtcccttcg gccctcaatc cagcggacct
5341 tccttcccgc ggcctgctgc cggctctgcg gcctcttccg cgtcttcgcc ttcgccctca
5401 gacgagtcgg atctcccttt gggccgcctc cccgcctggt acctttaaga ccaatgactt
5461 acaaggcagc tgtagatctt agccactttt taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa
5521 ttcactccca acgaaaataa gatctgcttt ttgcttgtac tgggtctctc tggttagacc
5581 agatctgagc ctgggagctc tctggctaac tagggaaccc actgcttaag cctcaataaa
5641 gcttgccttg agtgcttcaa gtagtgtgtg cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga
5701 gatccctcag acccttttag tcagtgtgga aaatctctag cagtagtagt tcatgtcatc
5761 ttattattca gtatttataa cttgcaaaga aatgaatatc agagagtgag aggaacttgt
5821 ttattgcagc ttataatggt tacaaataaa gcaatagcat cacaaatttc acaaataaag
5881 catttttttc actgcattct agttgtggtt tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg
5941 tctggctcta gctatcccgc ccctaactcc gcccagttcc gcccattctc cgccccatgg
6001 ctgactaatt ttttttattt atgcagaggc cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca
6061 gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct agacttttgc agagacggcc caaattcgta
6121 atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa ttgttatccg ctcacaattc cacacaacat
6181 acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg gggtgcctaa tgagtgagct aactcacatt
6241 aattgcgttg cgctcactgc ccgctttcca gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta
6301 atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg tttgcgtatt gggcgctctt ccgcttcctc
6361 gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa
6421 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa
6481 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct
6541 ccgccccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac
6601 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc
6661 gaccctgccg cttaccggat acctgtccgc ctttctccct tcgggaagcg tggcgctttc
6721 tcatagctca cgctgtaggt atctcagttc ggtgtaggtc gttcgctcca agctgggctg
6781 tgtgcacgaa ccccccgttc agcccgaccg ctgcgcctta tccggtaact atcgtcttga
6841 gtccaacccg gtaagacacg acttatcgcc actggcagca gccactggta acaggattag
6901 cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga gttcttgaag tggtggccta actacggcta
6961 cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag
7021 agttggtagc tcttgatccg gcaaacaaac caccgctggt agcggtggtt tttttgtttg
7081 caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg atctcaagaa gatcctttga tcttttctac
7141 ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc acgttaaggg attttggtca tgagattatc

【０３４８】

【表１０－４】

7201 aaaaaggatc ttcacctaga tccttttaaa ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag
7261 tatatatgag taaacttggt ctgacagtta ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc
7321 agcgatctgt ctatttcgtt catccatagt tgcctgactc cccgtcgtgt agataactac
7381 gatacgggag ggcttaccat ctggccccag tgctgcaatg ataccgcgag acccacgctc
7441 accggctcca gatttatcag caataaacca gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg
7501 tcctgcaact ttatccgcct ccatccagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag
7561 tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgtc
7621 acgctcgtcg tttggtatgg cttcattcag ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac
7681 atgatccccc atgttgtgca aaaaagcggt tagctccttc ggtcctccga tcgttgtcag
7741 aagtaagttg gccgcagtgt tatcactcat ggttatggca gcactgcata attctcttac
7801 tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt gactggtgag tactcaacca agtcattctg
7861 agaatagtgt atgcggcgac cgagttgctc ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc
7921 gccacatagc agaactttaa aagtgctcat cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact
7981 ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg
8041 atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa
8101 tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg gaaatgttga atactcatac tcttcctttt
8161 tcaatattat tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg
8221 tatttagaaa aataaacaaa taggggttcc gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga
8281 cgtctaagaa accattatta tcatgacatt aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc
8341 ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga
8401 gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc
8461 agcgggtgtt ggcgggtgtc ggggctggct taactatgcg gcatcagagc agattgtact
8521 gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat
8581 caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa ctgttgggaa gggcgatcgg tgcgggcctc
8641 ttcgctatta cgccagctgg cgaaaggggg atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac
8701 gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc agtgccaagc tg.

【０３４９】

ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＣＤデルタ（配列番号１６）

【０３５０】

【表１１－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agacccttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct

【０３５１】

【表１１－２】

2401 ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat
2461 tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggtctgga gtggctggga
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct
3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc
3181 gagttcaaga tacctataga ggaacttgag gacagagtgt ttgtgaattg caataccagc
3241 atcacatggg tagagggaac ggtgggaaca ctgctctcag acattacaag actggacctg
3301 ggaaaacgca tcctggaccc acgaggaata tataggtgta atgggacaga tatatacaag
3361 gacaaagaat ctaccgtgca agttcattat cgaatgtgcc agagctgtgt ggagctggat
3421 ccagccaccg tggctggcat cattgtcact gatgtcattg ccactctgct ccttgctttg
3481 ggagtcttct gctttgctgg acatgagact ggaaggctgt ctggggctgc cgacacacaa
3541 gctctgttga ggaatgacca ggtctatcag cccctccgag atcgagatga tgctcagtac
3601 agccaccttg gaggaaactg ggctcggaac aagtgataag aattcgatcc gcggccgcga
3661 aggatctgcg atcgctccgg tgcccgtcag tgggcagagc gcacatcgcc cacagtcccc
3721 gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga acgggtgcct agagaaggtg gcgcggggta
3781 aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc cgccttttтc ccgagggtgg gggagaaccg
3841 tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt ctttttcgca acgggtttgc cgccagaaca
3901 cagctgaagc ttcgaggggc tcgcatctct ccttcacgcg cccgccgccc tacctgaggc
3961 cgccatccac gccggttgag tcgcgttctg ccgcctcccg cctgtggtgc ctcctgaact
4021 gcgtccgccg tctaggtaag tttaaagctc aggtcgagac cgggcctttg tccggcgctc
4081 ccttggagcc tacctagact cagccggctc tccacgcttt gcctgaccct gcttgctcaa
4141 ctctacgtct ttgtttcgtt ttctgttctg cgccgttaca gatccaagct gtgaccggcg
4201 cctacgctag atgaccgagt acaagcccac ggtgcgcctc gccacccgcg acgacgtccc
4261 cagggccgta cgcaccctcg ccgccgcgtt cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt
4321 cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgcgt
4381 cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtcgc ggacgacggc gccgcggtgg cggtctggac
4441 cacgccggag agcgtcgaag cgggggcggt gttcgccgag atcggcccgc gcatggccga
4501 gttgagcggt tcccggctgg ccgcgcagca acagatggaa ggcctcctgg cgccgcaccg
4561 gcccaaggag cccgcgtggt tcctggccac cgtcggcgtc tcgcccgacc accagggcaa
4621 gggtctgggc agcgccgtcg tgctccccgg agtggaggcg gccgagcgcg ccggggtgcc
4681 cgccttcctg gagacctccg cgccccgcaa cctccccttc tacgagcggc tcggcttcac
4741 cgtcaccgcc gacgtcgagg tgcccgaagg accgcgcacc tggtgcatga cccgcaagcc

【０３５２】

【表１１－３】

4801 cggtgcctga gtcgacaatc aacctctgga ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat
4861 tcttaactat gttgctcctt ttacgctatg tggatacgct gctttaatgc ctttgtatca
4921 tgctattgct tcccgtatgg ctttcatttt ctcctccttg tataaatcct ggttgctgtc
4981 tctttatgag gagttgtggc ccgttgtcag gcaacgtggc gtggtgtgca ctgtgtttgc
5041 tgacgcaacc cccactggtt ggggcattgc caccacctgt cagctccttt ccgggacttt
5101 cgctttcccc ctccctattg ccacggcgga actcatcgcc gcctgccttg cccgctgctg
5161 gacaggggct cggctgttgg gcactgacaa ttccgtggtg ttgtcgggga aatcatcgtc
5221 ctttccttgg ctgctcgcct gtgttgccac ctggattctg cgcgggacgt ccttctgcta
5281 cgtcccttcg gccctcaatc cagcggacct tccttcccgc ggcctgctgc cggctctgcg
5341 gcctcttccg cgtcttcgcc ttcgccctca gacgagtcgg atctcccttt gggccgcctc
5401 cccgcctggt acctttaaga ccaatgactt acaaggcagc tgtagatctt agccactttt
5461 taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa ttcactccca acgaaaataa gatctgcttt
5521 ttgcttgtac tgggtctctc tggttagacc agatctgagc ctgggagctc tctggctaac
5581 tagggaaccc actgcttaag cctcaataaa gcttgccttg agtgcttcaa gtagtgtgtg
5641 cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga gatccctcag acccttttag tcagtgtgga
5701 aaatctctag cagtagtagt tcatgtcatc ttattattca gtatttataa cttgcaaaga
5761 aatgaatatc agagagtgag aggaacttgt ttattgcagc ttataatggt tacaaataaa
5821 gcaatagcat cacaaatttc acaaataaag catttttttc actgcattct agttgtggtt
5881 tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg tctggctcta gctatcccgc ccctaactcc
5941 gcccagttcc gcccattctc cgccccatgg ctgactaatt ttttttattt atgcagaggc
6001 cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct
6061 agacttttgc agagacggcc caaattcgta atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa
6121 ttgttatccg ctcacaattc cacacaacat acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg
6181 gggtgcctaa tgagtgagct aactcacatt aattgcgttg cgctcactgc ccgctttcca
6241 gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg
6301 tttgcgtatt gggcgctctt ccgcttcctc gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg
6361 gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg
6421 ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa
6481 ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct ccgcccccct gacgagcatc acaaaaatcg
6541 acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac aggactataa agataccagg cgtttccccc
6601 tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc gaccctgccg cttaccggat acctgtccgc
6661 ctttctccct tcgggaagcg tggcgctttc tcatagctca cgctgtaggt atctcagttc
6721 ggtgtaggtc gttcgctcca agctgggctg tgtgcacgaa cccccgttc agcccgaccg
6781 ctgcgcctta tccggtaact atcgtcttga gtccaacccg gtaagacacg acttatcgcc
6841 actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga
6901 gttcttgaag tggtggccta actacggcta cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc
6961 tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag agttggtagc tcttgatccg gcaaacaaac
7021 caccgctggt agcggtggtt tttttgtttg caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg
7081 atctcaagaa gatcctttga tcttttctac ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc
7141 acgttaaggg attttggtca tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tccttttaaa

【０３５３】

【表１１－４】

7201 ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgag taaacttggt ctgacagtta
7261 ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgatctgt ctatttcgtt catccatagt
7321 tgcctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag ggcttaccat ctggccccag
7381 tgctgcaatg ataccgcgag acccacgctc accggctcca gatttatcag caataaacca
7441 gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcctgcaact ttatccgcct ccatccagtc
7501 tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt
7561 tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgtc acgctcgtcg tttggtatgg cttcattcag
7621 ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatccccc atgttgtgca aaaaagcggt
7681 tagctccttc ggtcctccga tcgttgtcag aagtaagttg gccgcagtgt tatcactcat
7741 ggttatggca gcactgcata attctcttac tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt
7801 gactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagtgt atgcggcgac cgagttgctc
7861 ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgctcat
7921 cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag
7981 ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt
8041 ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg
8101 gaaatgttga atactcatac tcttcctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta
8161 ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa aataaacaaa taggggttcc
8221 gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa accattatta tcatgacatt
8281 aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg
8341 tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga cacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc
8401 cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc agcgggtgtt ggcgggtgtc ggggctggct
8461 taactatgcg gcatcagagc agattgtact gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc
8521 gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa
8581 ctgttgggaa gggcgatcgg tgcgggcctc ttcgctatta cgccagctgg cgaaaggggg
8641 atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa
8701 aacgacggcc agtgccaagc tg.

【０３５４】

ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＣＤ３イプシロン（配列番号１７）

【０３５５】

【表１２－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agacccttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct

【０３５６】

【表１２－２】

2401 ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat
2461 tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggtctgga gtggctggga
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caattgaagt tatgtatcct
3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc
3181 gaggatggta atgaagaaat gggtggtatt acacagacac catataaagt ctccatctct
3241 ggaaccacag taatattgac atgccctcag tatcctggat ctgaaatact atggcaacac
3301 aatgataaaa acataggcgg tgatgaggat gataaaaaca taggcagtga tgaggatcac
3361 ctgtcactga aggaattttc agaattggag caaagtggtt attatgtctg ctaccccaga
3421 ggaagcaaac cagaagatgc gaacttttat ctctacctga gggcaagagt gtgtgagaac
3481 tgcatggaga tggatgtgat gtcggtggcc acaattgtca tagtggacat ctgcatcact
3541 gggggcttgc tgctgctggt ttactactgg agcaagaata gaaaggccaa ggccaagcct
3601 gtgacacgag gagcgggtgc tggcggcagg caaaggggac aaaacaagga gaggccacca
3661 cctgttccca acccagacta tgagcccatc cggaaaggcc agcgggacct gtattctggc
3721 ctgaatcaga gacgcatctg ataagaattc gatccgcggc cgcgaaggat ctgcgatcgc
3781 tccggtgccc gtcagtgggc agagcgcaca tcgcccacag tccccgagaa gttgggggga
3841 ggggtcggca attgaacggg tgcctagaga aggtggcgcg gggtaaactg ggaaagtgat
3901 gtcgtgtact ggctccgcct ttttcccgag ggtgggggag aaccgtatat aagtgcagta
3961 gtcgccgtga acgttctttt tcgcaacggg tttgccgcca gaacacagct gaagcttcga
4021 ggggctcgca tctctccttc acgcgcccgc cgccctacct gaggccgcca tccacgccgg
4081 ttgagtcgcg ttctgccgcc tcccgcctgt ggtgcctcct gaactgcgtc cgccgtctag
4141 gtaagtttaa agctcaggtc gagaccgggc ctttgtccgg cgctcccttg gagcctacct
4201 agactcagcc ggctctccac gctttgcctg accctgcttg ctcaactcta cgtctttgtt
4261 tcgttttctg ttctgcgccg ttacagatcc aagctgtgac cggcgcctac gctagatgac
4321 cgagtacaag cccacggtgc gcctcgccac ccgcgacgac gtccccaggg ccgtacgcac
4381 cctcgccgcc gcgttcgccg actaccccgc cacgcgccac accgtcgatc cggaccgcca
4441 catcgagcgg gtcaccgagc tgcaagaact cttcctcacg cgcgtcgggc tcgacatcgg
4501 caaggtgtgg gtcgcggacg acggcgccgc ggtggcggtc tggaccacgc cggagagcgt
4561 cgaagcgggg gcggtgttcg ccgagatcgg cccgcgcatg gccgagttga gcggttcccg
4621 gctggccgcg cagcaacaga tggaaggcct cctggcgccg caccggccca aggagcccgc
4681 gtggttcctg gccaccgtcg gcgtctcgcc cgaccaccag ggcaagggtc tgggcagcgc
4741 cgtcgtgctc cccggagtgg aggcggccga gcgcgccggg gtgcccgcct tcctggagac

【０３５７】

【表１２－３】

4801 ctccgcgccc cgcaacctcc ccttctacga gcggctcggc ttcaccgtca ccgccgacgt
4861 cgaggtgccc gaaggaccgc gcacctggtg catgacccgc aagcccggtg cctgagtcga
4921 caatcaacct ctggattaca aaatttgtga aagattgact ggtattctta actatgttgc
4981 tccttttacg ctatgtggat acgctgcttt aatgcctttg tatcatgcta ttgcttcccg
5041 tatggctttc attttctcct ccttgtataa atcctggttg ctgtctcttt atgaggagtt
5101 gtggcccgtt gtcaggcaac gtggcgtggt gtgcactgtg tttgctgacg caacccccac
5161 tggttggggc attgccacca cctgtcagct cctttccggg actttcgctt tccccctccc
5221 tattgccacg gcggaactca tcgccgcctg ccttgcccgc tgctggacag gggctcggct
5281 gttgggcact gacaattccg tggtgttgtc ggggaaatca tcgtcctttc cttggctgct
5341 cgcctgtgtt gccacctgga ttctgcgcgg gacgtccttc tgctacgtcc cttcggccct
5401 caatccagcg gaccttcctt cccgcggcct gctgccggct ctgcggcctc ttccgcgtct
5461 tcgccttcgc cctcagacga gtcggatctc cctttgggcc gcctccccgc ctggtacctt
5521 taagaccaat gacttacaag gcagctgtag atcttagcca ctttttaaaa gaaaaggggg
5581 gactggaagg gctaattcac tcccaacgaa aataagatct gctttttgct tgtactgggt
5641 ctctctggtt agaccagatc tgagcctggg agctctctgg ctaactaggg aacccactgc
5701 ttaagcctca ataaagcttg ccttgagtgc ttcaagtagt gtgtgcccgt ctgttgtgtg
5761 actctggtaa ctagagatcc ctcagaccct tttagtcagt gtggaaaatc tctagcagta
5821 gtagttcatg tcatcttatt attcagtatt tataacttgc aaagaaatga atatcagaga
5881 gtgagaggaa cttgtttatt gcagcttata atggttacaa ataaagcaat agcatcacaa
5941 atttcacaaa taaagcattt ttttcactgc attctagttg tggtttgtcc aaactcatca
6001 atgtatctta tcatgtctgg ctctagctat cccgccccta actccgccca gttccgccca
6061 ttctccgccc catggctgac taatttttt tatttatgca gaggccgagg ccgcctcggc
6121 ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg ctttttgga ggcctagact tttgcagaga
6181 cggcccaaat tcgtaatcat ggtcatagct gtttcctgtg tgaaattgtt atccgctcac
6241 aattccacac aacatacgag ccggaagcat aaagtgtaaa gcctggggtg cctaatgagt
6301 gagctaactc acattaattg cgttgcgctc actgcccgct ttccagtcgg gaaacctgtc
6361 gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc gtattgggcg
6421 ctcttccgct tcctcgctca ctgactcgct gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcggt
6481 atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa
6541 gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc
6601 gtttttccat aggctccgcc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag
6661 gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt cccccctggaa gctccctcgt
6721 gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac cggatacctg tccgcctttc tcccttcggg
6781 aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcggtgt aggtcgttcg
6841 ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg ccttatccgg
6901 taactatcgt cttgagtcca acccggtaag acacgactta tcgccactgg cagcagccac
6961 tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcggtgct acagagttct tgaagtggtg
7021 gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt
7081 taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg
7141 tggtttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc

【０３５８】

【表１２－４】

7201 tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt aagggatttt
7261 ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt
7321 taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag
7381 tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatcc atagttgcct gactccccgt
7441 cgtgtagata actacgatac gggagggctt accatctggc cccagtgctg caatgatacc
7501 gcgagaccca cgctcaccgg ctccagattt atcagcaata aaccagccag ccggaagggc
7561 cgagcgcaga agtggtcctg caactttatc cgcctccatc cagtctatta attgttgccg
7621 ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa tagtttgcgc aacgttgttg ccattgctac
7681 aggcatcgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg
7741 atcaaggcga gttacatgat cccccatgtt gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcggtcc
7801 tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctcatggtta tggcagcact
7861 gcataattct cttactgtca tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc
7921 aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat
7981 acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc
8041 ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaacccac
8101 tcgtgcaccc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa
8161 aacaggaagg caaaatgccg caaaaaaggg aataagggcg acacggaaat gttgaatact
8221 catactcttc ctttttcaat attattgaag catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg
8281 atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca catttccccg
8341 aaaagtgcca cctgacgtct aagaaaccat tattatcatg acattaacct ataaaaatag
8401 gcgtatcacg aggccctttc gtctcgcgcg tttcggtgat gacggtgaaa acctctgaca
8461 catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg tctgtaagcg gatgccggga gcagacaagc
8521 ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttggcgg gtgtcggggc tggcttaact atgcggcatc
8581 agagcagatt gtactgagag tgcaccatat gcggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag
8641 gagaaaatac cgcatcaggc gccattcgcc attcaggctg cgcaactgtt gggaagggcg
8701 atcggtgcgg gcctcttcgc tattacgcca gctggcgaaa gggggatgtg ctgcaaggcg
8761 attaagttgg gtaacgccag ggttttccca gtcacgacgt tgtaaaacga cggccagtgc
8821 caagctg.

【０３５９】

ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＳＬ＿ＣＤ３イプシロン（配列番号１８）

【０３６０】

【表１３－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agacccttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct

【０３６１】

【表１３－２】

2401 ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat
2461 tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggtctgga gtggctggga
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caggtggcgg cggttctggt
3121 ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc gaggatggta atgaagaaat gggtggtatt
3181 acacagacac catataaagt ctccatctct ggaaccacag taatattgac atgccctcag
3241 tatcctggat ctgaaatact atggcaacac aatgataaaa acataggcgg tgatgaggat
3301 gataaaaaca taggcagtga tgaggatcac ctgtcactga aggaattttc agaattggag
3361 caaagtggtt attatgtctg ctaccccaga ggaagcaaac cagaagatgc gaacttttat
3421 ctctacctga gggcaagagt gtgtgagaac tgcatggaga tggatgtgat gtcggtggcc
3481 acaattgtca tagtggacat ctgcatcact gggggcttgc tgctgctggt ttactactgg
3541 agcaagaata gaaaggccaa ggccaagcct gtgacacgag gagcgggtgc tggcggcagg
3601 caaaggggac aaaacaagga gaggccacca cctgttccca acccagacta tgagcccatc
3661 cggaaaggcc agcgggacct gtattctggc ctgaatcaga gacgcatctg ataagaattc
3721 gatccgcggc cgcgaaggat ctgcgatcgc tccggtgccc gtcagtgggc agagcgcaca
3781 tcgcccacag tccccgagaa gttgggggga ggggtcggca attgaacggg tgcctagaga
3841 aggtggcgcg gggtaaactg ggaaagtgat gtcgtgtact ggctccgcct ttttcccgag
3901 ggtgggggag aaccgtatat aagtgcagta gtcgccgtga acgttctttt tcgcaacggg
3961 tttgccgcca gaacacagct gaagcttcga ggggctcgca tctctccttc acgcgcccgc
4021 cgccctacct gaggccgcca tccacgccgg ttgagtcgcg ttctgccgcc tcccgcctgt
4081 ggtgcctcct gaactgcgtc cgccgtctag gtaagtttaa agctcaggtc gagaccgggc
4141 ctttgtccgg cgctcccttg gagcctacct agactcagcc ggctctccac gctttgcctg
4201 accctgcttg ctcaactcta cgtctttgtt tcgttttctg ttctgcgccg ttacagatcc
4261 aagctgtgac cggcgcctac gctagatgac cgagtacaag cccacggtgc gcctcgccac
4321 ccgcgacgac gtccccaggg ccgtacgcac cctcgccgcc gcgttcgccg actaccccgc
4381 cacgcgccac accgtcgatc cggaccgcca catcgagcgg gtcaccgagc tgcaagaact
4441 cttcctcacg cgcgtcgggc tcgacatcgg caaggtgtgg gtcgcggacg acggcgccgc
4501 ggtggcggtc tggaccacgc cggagagcgt cgaagcgggg gcggtgttcg ccgagatcgg
4561 cccgcgcatg gccgagttga gcggttcccg gctggccgcg cagcaacaga tggaaggcct
4621 cctggcgccg caccggccca aggagcccgc gtggttcctg gccaccgtcg gcgtctcgcc
4681 cgaccaccag ggcaagggtc tgggcagcgc cgtcgtgctc cccggagtgg aggcggccga
4741 gcgcgccggg gtgcccgcct tcctggagac ctccgcgccc cgcaacctcc ccttctacga

【０３６２】

【表１３－３】

4801 gcggctcggc ttcaccgtca ccgccgacgt cgaggtgccc gaaggaccgc gcacctggtg
4861 catgacccgc aagcccggtg cctgagtcga caatcaacct ctggattaca aaatttgtga
4921 aagattgact ggtattctta actatgttgc tccttttacg ctatgtggat acgctgcttt
4981 aatgcctttg tatcatgcta ttgcttcccg tatggctttc attttctcct ccttgtataa
5041 atcctggttg ctgtctcttt atgaggagtt gtggcccgtt gtcaggcaac gtggcgtggt
5101 gtgcactgtg tttgctgacg caacccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct
5161 cctttccggg actttcgctt tccccctccc tattgccacg gcggaactca tcgccgcctg
5221 ccttgcccgc tgctggacag gggctcggct gttgggcact gacaattccg tggtgttgtc
5281 ggggaaatca tcgtcctttc cttggctgct cgcctgtgtt gccacctgga ttctgcgcgg
5341 gacgtccttc tgctacgtcc cttcggccct caatccagcg gaccttcctt cccgcggcct
5401 gctgccggct ctgcggcctc ttccgcgtct tcgccttcgc cctcagacga gtcggatctc
5461 cctttgggcc gcctccccgc ctggtacctt taagaccaat gacttacaag gcagctgtag
5521 atcttagcca ctttttaaaa gaaaaggggg gactggaagg gctaattcac tcccaacgaa
5581 aataagatct gctttttgct tgtactgggt ctctctggtt agaccagatc tgagcctggg
5641 agctctctgg ctaactaggg aacccactgc ttaagcctca ataaagcttg ccttgagtgc
5701 ttcaagtagt gtgtgcccgt ctgttgtgtg actctggtaa ctagagatcc ctcagaccct
5761 tttagtcagt gtggaaaatc tctagcagta gtagttcatg tcatcttatt attcagtatt
5821 tataacttgc aaagaaatga atatcagaga gtgagaggaa cttgtttatt gcagcttata
5881 atggttacaa ataaagcaat agcatcacaa atttcacaaa taaagcattt ttttcactgc
5941 attctagttg tggtttgtcc aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg ctctagctat
6001 cccgccccta actccgccca gttccgccca ttctccgccc catggctgac taatttttt
6061 tatttatgca gaggccgagg ccgcctcggc ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg
6121 ctttttgga ggcctagact tttgcagaga cggcccaaat tcgtaatcat ggtcatagct
6181 gtttcctgtg tgaaattgtt atccgctcac aattccacac aacatacgag ccggaagcat
6241 aaagtgtaaa gcctggggtg cctaatgagt gagctaactc acattaattg cgttgcgctc
6301 actgcccgct ttccagtcgg gaaacctgtc gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg
6361 cgcggggaga ggcggtttgc gtattgggcg ctcttccgct tcctcgctca ctgactcgct
6421 gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcggt atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt
6481 atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc
6541 caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga
6601 gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata
6661 ccaggcgttt cccctggaa gctccctcgt gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac
6721 cggatacctg tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg
6781 taggtatctc agttcggtgt aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc
6841 cgttcagccc gaccgctgcg ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggtaag
6901 acacgactta tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt
6961 aggcggtgct acagagttct tgaagtggtg gcctaactac ggctacacta gaaggacagt
7021 atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg
7081 atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac
7141 gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca

【０３６３】

【表１３－４】

7201 gtggaacgaa aactcacgtt aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac
7261 ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac
7321 ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt
7381 tcgttcatcc atagttgcct gactccccgt cgtgtagata actacgatac gggagggctt
7441 accatctggc cccagtgctg caatgatacc gcgagaccca cgctcaccgg ctccagattt
7501 atcagcaata aaccagccag ccggaagggc cgagcgcaga agtggtcctg caactttatc
7561 cgcctccatc cagtctatta attgttgccg ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa
7621 tagtttgcgc aacgttgttg ccattgctac aggcatcgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg
7681 tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat cccccatgtt
7741 gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcggtcc tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc
7801 agtgttatca ctcatggtta tggcagcact gcataattct cttactgtca tgccatccgt
7861 aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg
7921 gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat acgggataat accgcgccac atagcagaac
7981 tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc
8041 gctgttgaga tccagttcga tgtaacccac tcgtgcaccc aactgatctt cagcatcttt
8101 tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa aacaggaagg caaaatgccg caaaaaaggg
8161 aataagggcg acacggaaat gttgaatact catactcttc ctttttcaat attattgaag
8221 catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt agaaaaataa
8281 acaaataggg gttccgcgca catttccccg aaaagtgcca cctgacgtct aagaaaccat
8341 tattatcatg acattaacct ataaaaatag gcgtatcacg aggccctttc gtctcgcgcg
8401 tttcggtgat gacggtgaaa acctctgaca catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg
8461 tctgtaagcg gatgccggga gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttggcgg
8521 gtgtcggggc tggcttaact atgcggcatc agagcagatt gtactgagag tgcaccatat
8581 gcggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag gagaaaatac cgcatcaggc gccattcgcc
8641 attcaggctg cgcaactgtt gggaagggcg atcggtgcgg gcctcttcgc tattacgcca
8701 gctggcgaaa gggggatgtg ctgcaaggcg attaagttgg gtaacgccag ggttttccca
8761 gtcacgacgt tgtaaaacga cggccagtgc caagctg.

【０３６４】

ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＳＬ＿ＣＤ３ガンマ（配列番号１９）

【０３６５】

【表１４－１】

```
1    acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61   acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121  cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181  attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241  tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301  agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361  ctggtaacta gagatccctc agacccttttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421  cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481  tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541  gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601  aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661  aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721  agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781  atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841  gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901  taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961  acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct
```

【０３６６】

【表１４－２】

2401 ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat
2461 tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggtctgga gtggctggga
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caggtggcgg cggttctggt
3121 ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc gagcagtcaa tcaaaggaaa ccacttggtt
3181 aaggtgtatg actatcaaga agatggttcg gtacttctga cttgtgatgc agaagccaaa
3241 aatatcacat ggtttaaaga tgggaagatg atcggcttcc taactgaaga taaaaaaaaa
3301 tggaatctgg gaagtaatgc caaggaccca cgagggatgt atcagtgtaa aggatcacag
3361 aacaagtcaa aaccactcca agtgtattac agaatgtgtc agaactgcat tgaactaaat
3421 gcagccacca tatctggctt tctctttgct gaaatcgtca gcattttcgt ccttgctgtt
3481 ggggtctact tcattgctgg acaggatgga gttcgccagt cgagagcttc agacaagcag
3541 actctgttgc ccaatgacca gctctaccag cccctcaagg atcgagaaga tgaccagtac
3601 agccaccttc aaggaaacca gttgaggagg aattgataag aattcgatcc gcggccgcga
3661 aggatctgcg atcgctccgg tgcccgtcag tgggcagagc gcacatcgcc cacagtcccc
3721 gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga acgggtgcct agagaaggtg gcgcggggta
3781 aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc cgccttttc ccgagggtgg gggagaaccg
3841 tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt ctttttcgca acgggtttgc cgccagaaca
3901 cagctgaagc ttcgaggggc tcgcatctct ccttcacgcg cccgccgccc tacctgaggc
3961 cgccatccac gccggttgag tcgcgttctg ccgcctcccg cctgtggtgc ctcctgaact
4021 gcgtccgccg tctaggtaag tttaaagctc aggtcgagac cgggcctttg tccggcgctc
4081 ccttggagcc tacctagact cagccggctc tccacgcttt gcctgaccct gcttgctcaa
4141 ctctacgtct ttgtttcgtt ttctgttctg cgccgttaca gatccaagct gtgaccggcg
4201 cctacgctag atgaccgagt acaagcccac ggtgcgcctc gccacccgcg acgacgtccc
4261 cagggccgta cgcaccctcg ccgccgcgtt cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt
4321 cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgcgt
4381 cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtcgc ggacgacggc gccgcggtgg cggtctggac
4441 cacgccggag agcgtcgaag cgggggcggt gttcgccgag atcggcccgc gcatggccga
4501 gttgagcggt tcccggctgg ccgcgcagca acagatggaa ggcctcctgg cgccgcaccg
4561 gcccaaggag cccgcgtggt tcctggccac cgtcggcgtc tcgcccgacc accagggcaa
4621 gggtctgggc agcgccgtcg tgctccccgg agtggaggcg gccgagcgcg ccggggtgcc
4681 cgccttcctg gagacctccg cgccccgcaa cctccccttc tacgagcggc tcggcttcac
4741 cgtcaccgcc gacgtcgagg tgcccgaagg accgcgcacc tggtgcatga cccgcaagcc

【０３６７】

【表１４－３】

4801 cggtgcctga gtcgacaatc aacctctgga ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat
4861 tcttaactat gttgctcctt ttacgctatg tggatacgct gctttaatgc ctttgtatca
4921 tgctattgct tcccgtatgg ctttcatttt ctcctccttg tataaatcct ggttgctgtc
4981 tctttatgag gagttgtggc ccgttgtcag gcaacgtggc gtggtgtgca ctgtgtttgc
5041 tgacgcaacc cccactggtt ggggcattgc caccacctgt cagctccttt ccgggacttt
5101 cgctttcccc ctccctattg ccacggcgga actcatcgcc gcctgccttg cccgctgctg
5161 gacaggggct cggctgttgg gcactgacaa ttccgtggtg ttgtcgggga aatcatcgtc
5221 ctttccttgg ctgctcgcct gtgttgccac ctggattctg cgcgggacgt ccttctgcta
5281 cgtcccttcg gccctcaatc cagcggacct tccttcccgc ggcctgctgc cggctctgcg
5341 gcctcttccg cgtcttcgcc ttcgccctca gacgagtcgg atctcccttt gggccgcctc
5401 cccgcctggt acctttaaga ccaatgactt acaaggcagc tgtagatctt agccactttt
5461 taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa ttcactccca acgaaaataa gatctgcttt
5521 ttgcttgtac tgggtctctc tggttagacc agatctgagc ctgggagctc tctggctaac
5581 tagggaaccc actgcttaag cctcaataaa gcttgccttg agtgcttcaa gtagtgtgtg
5641 cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga gatccctcag acccttttag tcagtgtgga
5701 aaatctctag cagtagtagt tcatgtcatc ttattattca gtatttataa cttgcaaaga
5761 aatgaatatc agagagtgag aggaacttgt ttattgcagc ttataatggt tacaaataaa
5821 gcaatagcat cacaaatttc acaaataaag catttttttc actgcattct agttgtggtt
5881 tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg tctggctcta gctatcccgc ccctaactcc
5941 gcccagttcc gcccattctc cgccccatgg ctgactaatt ttttttattt atgcagaggc
6001 cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct
6061 agacttttgc agagacggcc caaattcgta atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa
6121 ttgttatccg ctcacaattc cacacaacat acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg
6181 gggtgcctaa tgagtgagct aactcacatt aattgcgttg cgctcactgc ccgctttcca
6241 gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg
6301 tttgcgtatt gggcgctctt ccgcttcctc gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg
6361 gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg
6421 ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa
6481 ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct ccgcccccct gacgagcatc acaaaaatcg
6541 acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac aggactataa agataccagg cgtttccccc
6601 tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc gaccctgccg cttaccggat acctgtccgc
6661 ctttctccct tcgggaagcg tggcgctttc tcatagctca cgctgtaggt atctcagttc
6721 ggtgtaggtc gttcgctcca agctgggctg tgtgcacgaa ccccccgttc agcccgaccg
6781 ctgcgcctta tccggtaact atcgtcttga gtccaacccg gtaagacacg acttatcgcc
6841 actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga
6901 gttcttgaag tggtggccta actacggcta cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc
6961 tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag agttggtagc tcttgatccg gcaaacaaac
7021 caccgctggt agcggtggtt tttttgtttg caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg
7081 atctcaagaa gatcctttga tcttttctac ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc
7141 acgttaaggg attttggtca tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tccttttaaa

【０３６８】

【表１４－４】

7201 ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgag taaacttggt ctgacagtta
7261 ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgatctgt ctatttcgtt catccatagt
7321 tgcctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag ggcttaccat ctggccccag
7381 tgctgcaatg ataccgcgag acccacgctc accggctcca gatttatcag caataaacca
7441 gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcctgcaact ttatccgcct ccatccagtc
7501 tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt
7561 tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgtc acgctcgtcg tttggtatgg cttcattcag
7621 ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatccccc atgttgtgca aaaaagcggt
7681 tagctccttc ggtcctccga tcgttgtcag aagtaagttg gccgcagtgt tatcactcat
7741 ggttatggca gcactgcata attctcttac tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt
7801 gactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagtgt atgcggcgac cgagttgctc
7861 ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgctcat
7921 cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag
7981 ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt
8041 ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg
8101 gaaatgttga atactcatac tcttcctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta
8161 ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa aataaacaaa taggggttcc
8221 gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa accattatta tcatgacatt
8281 aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg
8341 tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga cacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc
8401 cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc agcgggtgtt ggcgggtgtc ggggctggct
8461 taactatgcg gcatcagagc agattgtact gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc
8521 gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa
8581 ctgttgggaa gggcgatcgg tgcgggcctc ttcgctatta cgccagctgg cgaaaggggg
8641 atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa
8701 aacgacggcc agtgccaagc tg.

【０３６９】

ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＳＬ＿ＣＤ３デルタ（配列番号２０）

【０３７０】

【表１５－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agacccttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct

【０３７１】

【表１５－２】

2401 ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat
2461 tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggtctgga gtggctggga
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caggtggcgg cggttctggt
3121 ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc gagttcaaga tacctataga ggaacttgag
3181 gacagagtgt ttgtgaattg caataccagc atcacatggg tagagggaac ggtgggaaca
3241 ctgctctcag acattacaag actggacctg ggaaaacgca tcctggaccc acgaggaata
3301 tataggtgta atgggacaga tatatacaag gacaaagaat ctaccgtgca agttcattat
3361 cgaatgtgcc agagctgtgt ggagctggat ccagccaccg tggctggcat cattgtcact
3421 gatgtcattg ccactctgct ccttgctttg ggagtcttct gctttgctgg acatgagact
3481 ggaaggctgt ctggggctgc cgacacacaa gctctgttga ggaatgacca ggtctatcag
3541 cccctccgag atcgagatga tgctcagtac agccaccttg gaggaaactg ggctcggaac
3601 aagtgataag aattcgatcc gcggccgcga aggatctgcg atcgctccgg tgcccgtcag
3661 tgggcagagc gcacatcgcc cacagtcccc gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga
3721 acgggtgcct agagaaggtg gcgcggggta aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc
3781 cgccttttc ccgagggtgg gggagaaccg tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt
3841 ctttttcgca acgggtttgc cgccagaaca cagctgaagc ttcgaggggc tcgcatctct
3901 ccttcacgcg cccgccgccc tacctgaggc cgccatccac gccggttgag tcgcgttctg
3961 ccgcctcccg cctgtggtgc ctcctgaact gcgtccgccg tctaggtaag tttaaagctc
4021 aggtcgagac cgggcctttg tccggcgctc ccttggagcc tacctagact cagccggctc
4081 tccacgcttt gcctgaccct gcttgctcaa ctctacgtct ttgtttcgtt ttctgttctg
4141 cgccgttaca gatccaagct gtgaccggcg cctacgctag atgaccgagt acaagcccac
4201 ggtgcgcctc gccacccgcg acgacgtccc cagggccgta cgcaccctcg ccgccgcgtt
4261 cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac
4321 cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgcgt cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtcgc
4381 ggacgacggc gccgcggtgg cggtctggac cacgccggag agcgtcgaag cgggggcggt
4441 gttcgccgag atcggcccgc gcatggccga gttgagcggt tcccggctgg ccgcgcagca
4501 acagatggaa ggcctcctgg cgccgcaccg gcccaaggag cccgcgtggt tcctggccac
4561 cgtcggcgtc tcgcccgacc accagggcaa gggtctgggc agcgccgtcg tgctcccggg
4621 agtggaggcg gccgagcgcg ccggggtgcc cgccttcctg gagacctccg cgccccgcaa
4681 cctccccttc tacgagcggc tcggcttcac cgtcaccgcc gacgtcgagg tgcccgaagg
4741 accgcgcacc tggtgcatga cccgcaagcc cggtgcctga gtcgacaatc aacctctgga

【０３７２】

【表１５－３】

4801 ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat tcttaactat gttgctcctt ttacgctatg
4861 tggatacgct gctttaatgc ctttgtatca tgctattgct tcccgtatgg ctttcatttt
4921 ctcctccttg tataaatcct ggttgctgtc tctttatgag gagttgtggc ccgttgtcag
4981 gcaacgtggc gtggtgtgca ctgtgtttgc tgacgcaacc cccactggtt ggggcattgc
5041 caccacctgt cagctccttt ccgggacttt cgctttcccc ctccctattg ccacggcgga
5101 actcatcgcc gcctgccttg cccgctgctg gacaggggct cggctgttgg gcactgacaa
5161 ttccgtggtg ttgtcgggga aatcatcgtc ctttccttgg ctgctcgcct gtgttgccac
5221 ctggattctg cgcgggacgt ccttctgcta cgtcccttcg gccctcaatc cagcggacct
5281 tccttcccgc ggcctgctgc cggctctgcg gcctcttccg cgtcttcgcc ttcgccctca
5341 gacgagtcgg atctcccttt gggccgcctc cccgcctggt acctttaaga ccaatgactt
5401 acaaggcagc tgtagatctt agccactttt taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa
5461 ttcactccca acgaaaataa gatctgcttt ttgcttgtac tgggtctctc tggttagacc
5521 agatctgagc ctgggagctc tctggctaac tagggaaccc actgcttaag cctcaataaa
5581 gcttgccttg agtgcttcaa gtagtgtgtg cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga
5641 gatccctcag acccttttag tcagtgtgga aaatctctag cagtagtagt tcatgtcatc
5701 ttattattca gtatttataa cttgcaaaga aatgaatatc agagagtgag aggaacttgt
5761 ttattgcagc ttataatggt tacaaataaa gcaatagcat cacaaatttc acaaataaag
5821 catttttttc actgcattct agttgtggtt tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg
5881 tctggctcta gctatcccgc ccctaactcc gcccagttcc gcccattctc cgccccatgg
5941 ctgactaatt ttttttattt atgcagaggc cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca
6001 gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct agacttttgc agagacggcc caaattcgta
6061 atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa ttgttatccg ctcacaattc cacacaacat
6121 acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg gggtgcctaa tgagtgagct aactcacatt
6181 aattgcgttg cgctcactgc ccgctttcca gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta
6241 atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg tttgcgtatt gggcgctctt ccgcttcctc
6301 gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa
6361 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa
6421 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct
6481 ccgccccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac
6541 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc
6601 gaccctgccg cttaccggat acctgtccgc ctttctccct tcgggaagcg tggcgctttc
6661 tcatagctca cgctgtaggt atctcagttc ggtgtaggtc gttcgctcca agctgggctg
6721 tgtgcacgaa ccccccgttc agcccgaccg ctgcgcctta tccggtaact atcgtcttga
6781 gtccaacccg gtaagacacg acttatcgcc actggcagca gccactggta acaggattag
6841 cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga gttcttgaag tggtggccta actacggcta
6901 cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag
6961 agttggtagc tcttgatccg gcaaacaaac caccgctggt agcggtggtt tttttgtttg
7021 caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg atctcaagaa gatcctttga tcttttctac
7081 ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc acgttaaggg attttggtca tgagattatc
7141 aaaaaggatc ttcacctaga tccttttaaa ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag

【０３７３】

【表１５－４】

7201 tatatatgag taaacttggt ctgacagtta ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc
7261 agcgatctgt ctatttcgtt catccatagt tgcctgactc cccgtcgtgt agataactac
7321 gatacgggag ggcttaccat ctggccccag tgctgcaatg ataccgcgag acccacgctc
7381 accggctcca gatttatcag caataaacca gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg
7441 tcctgcaact ttatccgcct ccatccagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag
7501 tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgtc
7561 acgctcgtcg tttggtatgg cttcattcag ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac
7621 atgatccccc atgttgtgca aaaaagcggt tagctccttc ggtcctccga tcgttgtcag
7681 aagtaagttg gccgcagtgt tatcactcat ggttatggca gcactgcata attctcttac
7741 tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt gactggtgag tactcaacca agtcattctg
7801 agaatagtgt atgcggcgac cgagttgctc ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc
7861 gccacatagc agaactttaa aagtgctcat cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact
7921 ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg
7981 atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa
8041 tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg gaaatgttga atactcatac tcttcctttt
8101 tcaatattat tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg
8161 tatttagaaa aataaacaaa taggggttcc gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga
8221 cgtctaagaa accattatta tcatgacatt aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc
8281 ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga
8341 gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc
8401 agcgggtgtt ggcgggtgtc ggggctggct taactatgcg gcatcagagc agattgtact
8461 gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat
8521 caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa ctgttgggaa gggcgatcgg tgcgggcctc
8581 ttcgctatta cgccagctgg cgaaaggggg atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac
8641 gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc agtgccaagc tg.

【０３７４】

ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＳＬ＿ＴＣＲベータ（配列番号２１）

【０３７５】

【表１６－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agacccttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct

【０３７６】

【表１６－２】

2401 ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat
2461 tggtatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct
2761 ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggtctgga gtggctggga
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caggtggcgg cggttctggt
3121 ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc gagctgggag caggcccagt ggattctgga
3181 gtcacacaaa ccccaaagca cctgatcaca gcaactggac agcgagtgac gctgagatgc
3241 tcccctaggt ctggagacct ctctgtgtca tggtaccaac agagcctgga ccagggcctc
3301 cagttcctca ttcagtatta taatggagaa gagagagcaa aaggaaacat tcttgaacga
3361 ttctccgcac aacagttccc tgacttgcac tctgaactaa acctgagctc tctggagctg
3421 ggggactcag ctttgtattt ctgtgccagc agcccccgga caggcctgaa cactgaagct
3481 ttctttggac aaggcaccag actcacagtt gtagaggacc tgaacaaggt gttcccaccc
3541 gaggtcgctg tgtttgagcc atcagaagca gagatctccc acacccaaaa ggccacactg
3601 gtgtgcctgg ccacaggctt cttccccgac cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggg
3661 aaggaggtgc acagtggggt cagcacggac ccgcagcccc tcaaggagca gcccgccctc
3721 aatgactcca gatactgcct gagcagccgc ctgagggtct cggccacctt ctggcagaac
3781 ccccgcaacc acttccgctg tcaagtccag ttctacgggc tctcggagaa tgacgagtgg
3841 acccaggata gggccaaacc cgtcacccag atcgtcagcg ccgaggcctg gggtagagca
3901 gactgtggct ttacctcggt gtcctaccag caaggggtcc tgtctgccac catcctctat
3961 gagatcctgc tagggaaggc caccctgtat gctgtgctgg tcagcgccct tgtgttgatg
4021 gccatggtca agagaaagga tttctgataa gaattcgatc cgcggccgcg aaggatctgc
4081 gatcgctccg gtgcccgtca gtgggcagag cgcacatcgc ccacagtccc cgagaagttg
4141 gggggagggg tcggcaattg aacgggtgcc tagagaaggt ggcgcggggt aaactgggaa
4201 agtgatgtcg tgtactggct ccgccttttt cccgagggtg ggggagaacc gtatataagt
4261 gcagtagtcg ccgtgaacgt tctttttcgc aacgggtttg ccgccagaac acagctgaag
4321 cttcgagggg ctcgcatctc tccttcacgc gcccgccgcc ctacctgagg ccgccatcca
4381 cgccggttga gtcgcgttct gccgcctccc gcctgtggtg cctcctgaac tgcgtccgcc
4441 gtctaggtaa gtttaaagct caggtcgaga ccgggccttt gtccggcgct cccttggagc
4501 ctacctagac tcagccggct ctccacgctt tgcctgaccc tgcttgctca actctacgtc
4561 tttgtttcgt tttctgttct gcgccgttac agatccaagc tgtgaccggc gcctacgcta
4621 gatgaccgag tacaagccca cggtgcgcct cgccacccgc gacgacgtcc ccagggccgt
4681 acgcaccctc gccgccgcgt tcgccgacta ccccgccacg cgccacaccg tcgatccgga
4741 ccgccacatc gagcgggtca ccgagctgca agaactcttc ctcacgcgcg tcgggctcga

【０３７７】

【表１６－３】

4801 catcggcaag gtgtgggtcg cggacgacgg cgccgcggtg gcggtctgga ccacgccgga
4861 gagcgtcgaa gcgggggcgg tgttcgccga gatcggcccg cgcatggccg agttgagcgg
4921 ttcccggctg gccgcgcagc aacagatgga aggcctcctg gcgccgcacc ggcccaagga
4981 gcccgcgtgg ttcctggcca ccgtcggcgt ctcgcccgac caccagggca agggtctggg
5041 cagcgccgtc gtgctccccg gagtggaggc ggccgagcgc gccggggtgc ccgccttcct
5101 ggagacctcc gcgccccgca acctcccctt ctacgagcgg ctcggcttca ccgtcaccgc
5161 cgacgtcgag gtgcccgaag gaccgcgcac ctggtgcatg acccgcaagc ccggtgcctg
5221 agtcgacaat caacctctgg attacaaaat ttgtgaaaga ttgactggta ttcttaacta
5281 tgttgctcct tttacgctat gtggatacgc tgctttaatg cctttgtatc atgctattgc
5341 ttcccgtatg gctttcattt tctcctcctt gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga
5401 ggagttgtgg cccgttgtca ggcaacgtgg cgtggtgtgc actgtgtttg ctgacgcaac
5461 ccccactggt tggggcattg ccaccacctg tcagctcctt tccgggactt tcgctttccc
5521 cctccctatt gccacggcgg aactcatcgc cgcctgcctt gcccgctgct ggacaggggc
5581 tcggctgttg ggcactgaca attccgtggt gttgtcgggg aaatcatcgt cctttccttg
5641 gctgctcgcc tgtgttgcca cctggattct gcgcgggacg tccttctgct acgtcccttc
5701 ggccctcaat ccagcggacc ttccttcccg cggcctgctg ccggctctgc ggcctcttcc
5761 gcgtcttcgc cttcgccctc agacgagtcg gatctccctt tgggccgcct ccccgcctgg
5821 taccttttaag accaatgact tacaaggcag ctgtagatct tagccacttt ttaaaagaaa
5881 agggggggact ggaagggcta attcactccc aacgaaaata agatctgctt tttgcttgta
5941 ctgggtctct ctggttagac cagatctgag cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc
6001 cactgcttaa gcctcaataa agcttgcctt gagtgcttca agtagtgtgt gcccgtctgt
6061 tgtgtgactc tggtaactag agatccctca gacccttta gtcagtgtgg aaaatctcta
6121 gcagtagtag ttcatgtcat cttattattc agtatttata acttgcaaag aaatgaatat
6181 cagagagtga gaggaacttg tttattgcag cttataatgg ttacaaataa agcaatagca
6241 tcacaaattt cacaaataaa gcatttttt cactgcattc tagttgtggt ttgtccaaac
6301 tcatcaatgt atcttatcat gtctggctct agctatcccg cccctaactc cgcccagttc
6361 cgcccattct ccgccccatg gctgactaat ttttttatt tatgcagagg ccgaggccgc
6421 ctcggcctct gagctattcc agaagtagtg aggaggcttt tttggaggcc tagacttttg
6481 cagagacggc ccaaattcgt aatcatggtc atagctgttt cctgtgtgaa attgttatcc
6541 gctcacaatt ccacacaaca tacgagccgg aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta
6601 atgagtgagc taactcacat taattgcgtt gcgctcactg cccgctttcc agtcgggaaa
6661 cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat
6721 tgggcgctct tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg
6781 agcggtatca gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc
6841 aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt
6901 gctggcgttt ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag
6961 tcagaggtgg cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc
7021 cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc
7081 ttcgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt
7141 cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga acccccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt

【０３７８】

【表１６－４】

7201 atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc
7261 agccactggt aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa
7321 gtggtggcct aactacggct acactagaag gacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa
7381 gccagttacc ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg
7441 tagcggtggt ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga
7501 agatcctttg atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg
7561 gattttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg
7621 aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt
7681 aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact
7741 ccccgtcgtg tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat
7801 gataccgcga gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg
7861 aagggccgag cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg
7921 ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat
7981 tgctacaggc atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc
8041 ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt
8101 cggtcctccg atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc
8161 agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga
8221 gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc
8281 gtcaatacgg gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa
8341 acgttcttcg gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta
8401 acccactcgt gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg
8461 agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg
8521 aatactcata ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat
8581 gagcggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa atagggggttc cgcgcacatt
8641 tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga aaccattatt atcatgacat taacctataa
8701 aaataggcgt atcacgaggc cctttcgtct cgcgcgtttc ggtgatgacg gtgaaaacct
8761 ctgacacatg cagctcccgg agacggtcac agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag
8821 acaagcccgt cagggcgcgt cagcgggtgt tggcgggtgt cggggctggc ttaactatgc
8881 ggcatcagag cagattgtac tgagagtgca ccatatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg
8941 cgtaaggaga aaataccgca tcaggcgcca ttcgccattc aggctgcgca actgttggga
9001 agggcgatcg gtgcgggcct cttcgctatt acgccagctg gcgaaagggg gatgtgctgc
9061 aaggcgatta agttgggtaa cgccagggtt ttcccagtca cgacgttgta aaacgacggc
9121 cagtgccaag ctg.

【０３７９】

ｐ５１０＿抗ＢＣＭＡ＿ＣＤ３イプシロン（配列番号２２）

【０３８０】

【表１７－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agacccttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaca ggtgcagctg gtgcagagcg gcgcggaagt gaaaaaaccg

【０３８１】

【表１７－２】

2401 ggcgcgagcg tgaaagtgag ctgcaaagcg agcggctata gctttccgga ttattatatt
2461 aactgggtgc gccaggcgcc gggccagggc ctggaatgga tgggctggat ttattttgcg
2521 agcggcaaca gcgaatataa ccagaaattt accggccgcg tgaccatgac ccgcgatacc
2581 agcagcagca ccgcgtatat ggaactgagc agcctgcgca gcgaagatac cgcggtgtat
2641 ttttgcgcga gcctgtatga ttatgattgg tattttgatg tgtggggcca gggcaccatg
2701 gtgaccgtga gcagcggcgg cggcggcagc ggcggcggcg gcagcggcgg cggcggcagc
2761 gatattgtga tgacccagac cccgctgagc ctgagcgtga ccccgggcga accggcgagc
2821 attagctgca aaagcagcca gagcctggtg catagcaacg gcaacaccta tctgcattgg
2881 tatctgcaga aaccgggcca gagcccgcag ctgctgattt ataaagtgag caaccgcttt
2941 agcggcgtgc cggatcgctt tagcggcagc ggcagcggcg cggattttac cctgaaaatt
3001 agccgcgtgg aagcggaaga tgtgggcgtg tattattgcg cggaaaccag ccatgtgccg
3061 tggacctttg gccagggcac caaactggaa attaaaagcg gtggcggcgg ttctggtggc
3121 ggcggttctg gtggcggcgg ttctctcgag gatggtaatg aagaaatggg tggtattaca
3181 cagacaccat ataaagtctc catctctgga accacagtaa tattgacatg ccctcagtat
3241 cctggatctg aaatactatg gcaacacaat gataaaaaca taggcggtga tgaggatgat
3301 aaaaacatag gcagtgatga ggatcacctg tcactgaagg aattttcaga attggagcaa
3361 agtggttatt atgtctgcta ccccagagga agcaaaccag aagatgcgaa cttttatctc
3421 tacctgaggg caagagtgtg tgagaactgc atggagatgg atgtgatgtc ggtggccaca
3481 attgtcatag tggacatctg catcactggg ggcttgctgc tgctggttta ctactggagc
3541 aagaatagaa aggccaaggc caagcctgtg acacgaggag cgggtgctgg cggcaggcaa
3601 aggggacaaa acaaggagag gccaccacct gttcccaacc cagactatga gcccatccgg
3661 aaaggccagc gggacctgta ttctggcctg aatcagagac gcatctgata agaattcgga
3721 tccgcggccg cgaaggatct gcgatcgctc cggtgcccgt cagtgggcag agcgcacatc
3781 gcccacagtc cccgagaagt tgggggggagg ggtcggcaat tgaacgggtg cctagagaag
3841 gtggcgcggg gtaaactggg aaagtgatgt cgtgtactgg ctccgccttt ttcccgaggg
3901 tgggggagaa ccgtatataa gtgcagtagt cgccgtgaac gttcttttтc gcaacgggtt
3961 tgccgccaga acacagctga agcttcgagg ggctcgcatc tctccttcac gcgcccgccg
4021 ccctacctga ggccgccatc cacgccggtt gagtcgcgtt ctgccgcctc ccgcctgtgg
4081 tgcctcctga actgcgtccg ccgtctaggt aagtttaaag ctcaggtcga gaccgggcct
4141 ttgtccggcg ctcccttgga gcctacctag actcagccgg ctctccacgc tttgcctgac
4201 cctgcttgct caactctacg tctttgtttc gttttctgtt ctgcgccgtt acagatccaa
4261 gctgtgaccg gcgcctacgc tagatgaccg agtacaagcc cacggtgcgc ctcgccaccc
4321 gcgacgacgt ccccagggcc gtacgcaccc tcgccgccgc gttcgccgac taccccgcca
4381 cgcgccacac cgtcgatccg gaccgccaca tcgagcgggt caccgagctg caagaactct
4441 tcctcacgcg cgtcgggctc gacatcggca aggtgtgggt cgcggacgac ggcgccgcgg
4501 tggcggtctg gaccacgccg gagagcgtcg aagcgggggc ggtgttcgcc gagatcggcc
4561 cgcgcatggc cgagttgagc ggttcccggc tggccgcgca gcaacagatg gaaggcctcc
4621 tggcgccgca ccggcccaag gagcccgcgt ggttcctggc caccgtcggc gtctcgcccg
4681 accaccaggg caagggtctg ggcagcgccg tcgtgctccc cggagtggag gcggccgagc
4741 gcgccggggt gcccgccttc ctggagacct ccgcgccccg caacctcccc ttctacgagc

【０３８２】

【表１７－３】

4801 ggctcggctt caccgtcacc gccgacgtcg aggtgcccga aggaccgcgc acctggtgca
4861 tgacccgcaa gcccggtgcc tgagtcgaca atcaacctct ggattacaaa atttgtgaaa
4921 gattgactgg tattcttaac tatgttgctc cttttacgct atgtggatac gctgctttaa
4981 tgcctttgta tcatgctatt gcttcccgta tggctttcat tttctcctcc ttgtataaat
5041 cctggttgct gtctctttat gaggagttgt ggcccgttgt caggcaacgt ggcgtggtgt
5101 gcactgtgtt tgctgacgca acccccactg gttggggcat tgccaccacc tgtcagctcc
5161 tttccgggac tttcgctttc cccctcccta ttgccacggc ggaactcatc gccgcctgcc
5221 ttgcccgctg ctggacaggg gctcggctgt tgggcactga caattccgtg gtgttgtcgg
5281 ggaaatcatc gtcctttcct tggctgctcg cctgtgttgc cacctggatt ctgcgcggga
5341 cgtccttctg ctacgtccct tcggccctca atccagcgga ccttccttcc cgcggcctgc
5401 tgccggctct gcggcctctt ccgcgtcttc gccttcgccc tcagacgagt cggatctccc
5461 tttgggccgc ctccccgcct ggtaccttta agaccaatga cttacaaggc agctgtagat
5521 cttagccact ttttaaaaga aaaggggtga ctggaagggc taattcactc ccaacgaaaa
5581 taagatctgc tttttgcttg tactgggtct ctctggttag accagatctg agcctgggag
5641 ctctctggct aactagggaa cccactgctt aagcctcaat aaagcttgcc ttgagtgctt
5701 caagtagtgt gtgcccgtct gttgtgtgac tctggtaact agagatccct cagacccttt
5761 tagtcagtgt ggaaaatctc tagcagtagt agttcatgtc atcttattat tcagtattta
5821 taacttgcaa agaaatgaat atcagagagt gagaggaact tgtttattgc agcttataat
5881 ggttacaaat aaagcaatag catcacaaat ttcacaaata aagcattttt ttcactgcat
5941 tctagttgtg gtttgtccaa actcatcaat gtatcttatc atgtctggct ctagctatcc
6001 cgcccctaac tccgcccagt tccgcccatt ctccgcccca tggctgacta attttttta
6061 tttatgcaga ggccgaggcc gcctcggcct ctgagctatt ccagaagtag tgaggaggct
6121 tttttggagg cctagacttt tgcagagacg gcccaaattc gtaatcatgg tcatagctgt
6181 ttcctgtgtg aaattgttat ccgctcacaa ttccacacaa catacgagcc ggaagcataa
6241 agtgtaaagc ctggggtgcc taatgagtga gctaactcac attaattgcg ttgcgctcac
6301 tgcccgcttt ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg
6361 cggggagagg cggtttgcgt attgggcgct cttccgcttc ctcgctcact gactcgctgc
6421 gctcggtcgt tcggctgcgg cgagcggtat cagctcactc aaaggcggta atacggttat
6481 ccacagaatc aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca
6541 ggaaccgtaa aaaggccgcg ttgctggcgt ttttccatag gctccgcccc cctgacgagc
6601 atcacaaaaa tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaaccc gacaggacta taaagatacc
6661 aggcgtttcc ccctggaagc tccctcgtgc gctctcctgt tccgaccctg ccgcttaccg
6721 gatacctgtc cgcctttctc ccttcgggaa gcgtggcgct ttctcatagc tcacgctgta
6781 ggtatctcag ttcggtgtag gtcgttcgct ccaagctggg ctgtgtgcac gaacccccg
6841 ttcagcccga ccgctgcgcc ttatccggta actatcgtct tgagtccaac ccggtaagac
6901 acgacttatc gccactggca gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag
6961 gcggtgctac agagttcttg aagtggtggc ctaactacgg ctacactaga aggacagtat
7021 ttggtatctg cgctctgctg aagccagtta ccttcggaaa aagagttggt agctcttgat
7081 ccggcaaaca aaccaccgct ggtagcggtg gtttttttgt ttgcaagcag cagattacgc
7141 gcagaaaaaa aggatctcaa gaagatcctt tgatcttttc tacggggtct gacgctcagt

【０３８３】

【表１７－４】

7201 ggaacgaaaa ctcacgttaa gggattttgg tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct
7261 agatcctttt aaattaaaaa tgaagtttta aatcaatcta aagtatatat gagtaaactt
7321 ggtctgacag ttaccaatgc ttaatcagtg aggcacctat ctcagcgatc tgtctatttc
7381 gttcatccat agttgcctga ctccccgtcg tgtagataac tacgatacgg gagggcttac
7441 catctggccc cagtgctgca atgataccgc gagacccacg ctcaccggct ccagatttat
7501 cagcaataaa ccagccagcc ggaagggccg agcgcagaag tggtcctgca actttatccg
7561 cctccatcca gtctattaat tgttgccggg aagctagagt aagtagttcg ccagttaata
7621 gtttgcgcaa cgttgttgcc attgctacag gcatcgtggt gtcacgctcg tcgtttggta
7681 tggcttcatt cagctccggt tcccaacgat caaggcgagt tacatgatcc cccatgttgt
7741 gcaaaaaagc ggttagctcc ttcggtcctc cgatcgttgt cagaagtaag ttggccgcag
7801 tgttatcact catggttatg gcagcactgc ataattctct tactgtcatg ccatccgtaa
7861 gatgcttttc tgtgactggt gagtactcaa ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgcggc
7921 gaccgagttg ctcttgcccg gcgtcaatac gggataatac cgcgccacat agcagaactt
7981 taaaagtgct catcattgga aaacgttctt cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc
8041 tgttgagatc cagttcgatg taacccactc gtgcacccaa ctgatcttca gcatctttta
8101 ctttcaccag cgtttctggg tgagcaaaaa caggaaggca aaatgccgca aaaaagggaa
8161 taagggcgac acggaaatgt tgaatactca tactcttcct ttttcaatat tattgaagca
8221 tttatcaggg ttattgtctc atgagcggat acatatttga atgtatttag aaaaataaac
8281 aaataggggt tccgcgcaca tttccccgaa aagtgccacc tgacgtctaa gaaaccatta
8341 ttatcatgac attaacctat aaaaataggc gtatcacgag gccctttcgt ctcgcgcgtt
8401 tcggtgatga cggtgaaaac ctctgacaca tgcagctccc ggagacggtc acagcttgtc
8461 tgtaagcgga tgccgggagc agacaagccc gtcagggcgc gtcagcgggt gttggcgggt
8521 gtcggggctg gcttaactat gcggcatcag agcagattgt actgagagtg caccatatgc
8581 ggtgtgaaat accgcacaga tgcgtaagga gaaaataccg catcaggcgc cattcgccat
8641 tcaggctgcg caactgttgg gaagggcgat cggtgcgggc ctcttcgcta ttacgccagc
8701 tggcgaaagg gggatgtgct gcaaggcgat taagttgggt aacgccaggg ttttcccagt
8761 cacgacgttg taaaacgacg gccagtgcca agctg

【０３８４】

ｐ５１０＿抗ＢＣＭＡ＿ＣＤ３ガンマ（配列番号２３）

【０３８５】

【表１８－１】

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggtctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccactgctta
301 agcctcaata aagcttgcct tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact
361 ctggtaacta gagatccctc agacccтttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag
1021 cacccaccaa ggcaaagaga agagtggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt
1681 tcagacccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga
2101 gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca
2341 gcattcctcc tgatcccaca ggtgcagctg gtgcagagcg gcgcggaagt gaaaaaaccg

【０３８６】

【表１８－２】

2401 ggcgcgagcg tgaaagtgag ctgcaaagcg agcggctata gctttccgga ttattatatt
2461 aactgggtgc gccaggcgcc gggccagggc ctggaatgga tgggctggat ttattttgcg
2521 agcggcaaca gcgaatataa ccagaaattt accggccgcg tgaccatgac ccgcgatacc
2581 agcagcagca ccgcgtatat ggaactgagc agcctgcgca gcgaagatac cgcggtgtat
2641 ttttgcgcga gcctgtatga ttatgattgg tattttgatg tgtggggcca gggcaccatg
2701 gtgaccgtga gcagcggcgg cggcggcagc ggcggcggcg gcagcggcgg cggcggcagc
2761 gatattgtga tgacccagac cccgctgagc ctgagcgtga ccccgggcga accggcgagc
2821 attagctgca aaagcagcca gagcctggtg catagcaacg gcaacaccta tctgcattgg
2881 tatctgcaga aaccgggcca gagcccgcag ctgctgattt ataaagtgag caaccgcttt
2941 agcggcgtgc cggatcgctt tagcggcagc ggcagcggcg cggattttac cctgaaaatt
3001 agccgcgtgg aagcggaaga tgtgggcgtg tattattgcg cggaaaccag ccatgtgccg
3061 tggacctttg gccagggcac caaactggaa attaaaagcg gtggcggcgg ttctggtggc
3121 ggcggttctg gtggcggcgg ttctctcgag cagtcaatca aaggaaacca cttggttaag
3181 gtgtatgact atcaagaaga tggttcggta cttctgactt gtgatgcaga agccaaaaat
3241 atcacatggt ttaaagatgg gaagatgatc ggcttcctaa ctgaagataa aaaaaaatgg
3301 aatctgggaa gtaatgccaa ggacccacga gggatgtatc agtgtaaagg atcacagaac
3361 aagtcaaaac cactccaagt gtattacaga atgtgtcaga actgcattga actaaatgca
3421 gccaccatat ctggctttct ctttgctgaa atcgtcagca ttttcgtcct tgctgttggg
3481 gtctacttca ttgctggaca ggatggagtt cgccagtcga gagcttcaga caagcagact
3541 ctgttgccca atgaccagct ctaccagccc ctcaaggatc gagaagatga ccagtacagc
3601 caccttcaag gaaaccagtt gaggaggaat tgataagaat tcggatccgc ggccgcgaag
3661 gatctgcgat cgctccggtg cccgtcagtg ggcagagcgc acatcgccca cagtccccga
3721 gaagttgggg ggaggggtcg gcaattgaac gggtgcctag agaaggtggc gcggggtaaa
3781 ctgggaaagt gatgtcgtgt actggctccg ccttttccc gagggtgggg gagaaccgta
3841 tataagtgca gtagtcgccg tgaacgttct ttttcgcaac gggtttgccg ccagaacaca
3901 gctgaagctt cgaggggctc gcatctctcc ttcacgcgcc cgccgcccta cctgaggccg
3961 ccatccacgc cggttgagtc gcgttctgcc gcctcccgcc tgtggtgcct cctgaactgc
4021 gtccgccgtc taggtaagtt taaagctcag gtcgagaccg ggcctttgtc cggcgctccc
4081 ttggagccta cctagactca gccggctctc cacgctttgc ctgaccctgc ttgctcaact
4141 ctacgtcttt gtttcgtttt ctgttctgcg ccgttacaga tccaagctgt gaccggcgcc
4201 tacgctagat gaccgagtac aagcccacgg tgcgcctcgc cacccgcgac gacgtcccca
4261 gggccgtacg caccctcgcc gccgcgttcg ccgactaccc cgccacgcgc cacaccgtcg
4321 atccggaccg ccacatcgag cgggtcaccg agctgcaaga actcttcctc acgcgcgtcg
4381 ggctcgacat cggcaaggtg tgggtcgcgg acgacggcgc cgcggtggcg gtctggacca
4441 cgccggagag cgtcgaagcg ggggcggtgt tcgccgagat cggcccgcgc atggccgagt
4501 tgagcggttc ccggctggcc gcgcagcaac agatggaagg cctcctggcg ccgcaccggc
4561 ccaaggagcc cgcgtggttc ctggccaccg tcggcgtctc gcccgaccac cagggcaagg
4621 gtctgggcag cgccgtcgtg ctccccggag tggaggcggc cgagcgcgcc ggggtgcccg
4681 ccttcctgga gacctccgcg ccccgcaacc tccccttcta cgagcggctc ggcttcaccg
4741 tcaccgccga cgtcgaggtg cccgaaggac cgcgcacctg gtgcatgacc cgcaagcccg

【０３８７】

【表１８－３】

4801 gtgcctgagt cgacaatcaa cctctggatt acaaaatttg tgaaagattg actggtattc
4861 ttaactatgt tgctcctttt acgctatgtg gatacgctgc tttaatgcct ttgtatcatg
4921 ctattgcttc ccgtatggct ttcattttct cctccttgta taaatcctgg ttgctgtctc
4981 tttatgagga gttgtggccc gttgtcaggc aacgtggcgt ggtgtgcact gtgtttgctg
5041 acgcaacccc cactggttgg ggcattgcca ccacctgtca gctcctttcc gggactttcg
5101 ctttcccccc ccctattgcc acggcggaac tcatcgccgc ctgccttgcc cgctgctgga
5161 caggggctcg gctgttgggc actgacaatt ccgtggtgtt gtcggggaaa tcatcgtcct
5221 ttccttggct gctcgcctgt gttgccacct ggattctgcg cgggacgtcc ttctgctacg
5281 tcccttcggc cctcaatcca gcggaccttc cttcccgcgg cctgctgccg gctctgcggc
5341 ctcttccgcg tcttcgcctt cgccctcaga cgagtcggat ctccctttgg gccgcctccc
5401 cgcctggtac ctttaagacc aatgacttac aaggcagctg tagatcttag ccacttttta
5461 aaagaaaagg ggggactgga agggctaatt cactcccaac gaaaataaga tctgcttttt
5521 gcttgtactg ggtctctctg gttagaccag atctgagcct gggagctctc tggctaacta
5581 gggaacccac tgcttaagcc tcaataaagc ttgccttgag tgcttcaagt agtgtgtgcc
5641 cgtctgttgt gtgactctgg taactagaga tccctcagac cttttagtc agtgtggaaa
5701 atctctagca gtagtagttc atgtcatctt attattcagt atttataact tgcaaagaaa
5761 tgaatatcag agagtgagag gaacttgttt attgcagctt ataatggtta caaataaagc
5821 aatagcatca caaatttcac aaataaagca ttttttcac tgcattctag ttgtggtttg
5881 tccaaactca tcaatgtatc ttatcatgtc tggctctagc tatcccgccc ctaactccgc
5941 ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt ttttatttat gcagaggccg
6001 aggccgcctc ggcctctgag ctattccaga agtagtgagg aggctttttt ggaggcctag
6061 acttttgcag agacggccca attcgtaat catggtcata gctgtttcct gtgtgaaatt
6121 gttatccgct cacaattcca cacaacatac gagccggaag cataaagtgt aaagcctggg
6181 gtgcctaatg agtgagctaa ctcacattaa ttgcgttgcg ctcactgccc gctttccagt
6241 cgggaaacct gtcgtgccag ctgcattaat gaatcggcca acgcgcgggg agaggcggtt
6301 tgcgtattgg gcgctcttcc gcttcctcgc tcactgactc gctgcgctcg gtcgttcggc
6361 tgcggcgagc ggtatcagct cactcaaagg cggtaatacg gttatccaca gaatcagggg
6421 ataacgcagg aaagaacatg tgagcaaaag gccagcaaaa ggccaggaac cgtaaaaagg
6481 ccgcgttgct ggcgtttttc cataggctcc gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac
6541 gctcaagtca gaggtggcga aacccgacag gactataaag ataccaggcg tttccccctg
6601 gaagctccct cgtgcgctct cctgttccga ccctgccgct taccggatac ctgtccgcct
6661 ttctcccttc gggaagcgtg gcgctttctc atagctcacg ctgtaggtat ctcagttcgg
6721 tgtaggtcgt tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc ccccgttcag cccgaccgct
6781 gcgccttatc cggtaactat cgtcttgagt ccaacccggt aagacacgac ttatcgccac
6841 tggcagcagc cactggtaac aggattagca gagcgaggta tgtaggcggt gctacagagt
6901 tcttgaagtg gtggcctaac tacggctaca ctagaaggac agtatttggt atctgcgctc
6961 tgctgaagcc agttaccttc ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca
7021 ccgctggtag cggtggtttt tttgtttgca agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat
7081 ctcaagaaga tcctttgatc ttttctacgg ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac
7141 gttaagggat tttggtcatg agattatcaa aaaggatctt cacctagatc cttttaaatt

【０３８８】

【表１８－４】

7201 aaaaatgaag ttttaaatca atctaaagta tatatgagta aacttggtct gacagttacc
7261 aatgcttaat cagtgaggca cctatctcag cgatctgtct atttcgttca tccatagttg
7321 cctgactccc cgtcgtgtag ataactacga tacgggaggg cttaccatct ggccccagtg
7381 ctgcaatgat accgcgagac ccacgctcac cggctccaga tttatcagca ataaaccagc
7441 cagccggaag ggccgagcgc agaagtggtc ctgcaacttt atccgcctcc atccagtcta
7501 ttaattgttg ccgggaagct agagtaagta gttcgccagt taatagtttg cgcaacgttg
7561 ttgccattgc tacaggcatc gtggtgtcac gctcgtcgtt tggtatggct tcattcagct
7621 ccggttccca acgatcaagg cgagttacat gatccccat gttgtgcaaa aaagcggtta
7681 gctccttcgg tcctccgatc gttgtcagaa gtaagttggc cgcagtgtta tcactcatgg
7741 ttatggcagc actgcataat tctcttactg tcatgccatc cgtaagatgc ttttctgtga
7801 ctggtgagta ctcaaccaag tcattctgag aatagtgtat gcggcgaccg agttgctctt
7861 gcccggcgtc aatacgggat aataccgcgc cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca
7921 ttggaaaacg ttcttcgggg cgaaaactct caaggatctt accgctgttg agatccagtt
7981 cgatgtaacc cactcgtgca cccaactgat cttcagcatc ttttactttc accagcgttt
8041 ctgggtgagc aaaaacagga aggcaaaatg ccgcaaaaaa gggaataagg gcgacacgga
8101 aatgttgaat actcatactc ttccttttc aatattattg aagcatttat cagggttatt
8161 gtctcatgag cggatacata tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttccgc
8221 gcacatttcc ccgaaaagtg ccacctgacg tctaagaaac cattattatc atgacattaa
8281 cctataaaaa taggcgtatc acgaggccct ttcgtctcgc gcgtttcggt gatgacggtg
8341 aaaacctctg acacatgcag ctcccggaga cggtcacagc ttgtctgtaa gcggatgccg
8401 ggagcagaca agcccgtcag ggcgcgtcag cgggtgttgg cgggtgtcgg ggctggctta
8461 actatgcggc atcagagcag attgtactga gagtgcacca tatgcggtgt gaaataccgc
8521 acagatgcgt aaggagaaaa taccgcatca ggcgccattc gccattcagg ctgcgcaact
8581 gttgggaagg gcgatcggtg cgggcctctt cgctattacg ccagctggcg aaaggggat
8641 gtgctgcaag gcgattaagt tgggtaacgc cagggtttc ccagtcacga cgttgtaaaa
8701 cgacggccag tgccaagctg.

【０３８９】

実施例２：抗体配列

抗体配列の生成

ヒトＣＤ１９ポリペプチドの標準的な配列は、Ｕｎｉｐｒｏｔアクセッション番号Ｐ１５３９１（またはＰ１５３９１－１）である。ヒトＢＣＭＡポリペプチドの標準的な配列は、Ｕｎｉｐｒｏｔアクセッション番号Ｑ０２２２３（またはＱ０２２２３－１）である。ヒトＣＤ１９ポリペプチドもしくはヒトＢＣＭＡポリペプチドまたはヒトＦＡＰポリペプチドもしくはヒトＢＣＭＡポリペプチド、及びそのフラグメントまたはドメインに特異的に結合することが可能な抗体ポリペプチドを提供する。抗ＣＤ１９、抗ＦＡＰ、抗ＣＡＩＸ、及び抗ＢＣＭＡ抗体は、様々な技術を用いて生成することができる（例えば、（Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ，　１９９７）参照。マウス抗ＣＤ１９、抗ＦＡＰ、抗ＣＡＩＸ、または抗ＢＣＭＡ抗体が出発物質として使用される場合、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）治療、すなわち、このＴＦＰ．ＣＤ１９、ＴＦＰ．ＦＡＰ、ＴＦＰ．ＣＡＩＸ、またはＴＦＰ．ＢＣＭＡ構築物で形質導入されたＴ細胞での治療を受ける対象において、これらマウス特異的残基が、ヒト－抗マウス抗原（ＨＡＭＡ）反応を誘導する場合があるマウス抗ＣＤ１９、抗ＦＡＰ、抗ＣＡＩＸ、または抗ＢＣＭＡ抗体のヒト化が臨床環境では望まれる。ヒト化は、マウス抗ＣＤ１９、抗ＦＡＰ、抗ＣＡＩＸ、

または抗ＢＣＭＡ抗体由来のＣＤＲ領域を、適切なヒト生殖細胞系列のアクセプターフレームワークに移植することならびに任意にＣＤＲ及び／またはフレームワーク領域に対する他の修飾によって達成される。本明細書で提供される、抗体及び抗体フラグメント残基の番号付けは、Ｋａｂａｔに従う（Ｋａｂａｔ　Ｅ．　Ａ．　ｅｔ　ａｌ，　１９９１；Ｃｈｏｔｈｉａ　ｅｔ　ａｌ，　１９８７）。

【０３９０】

ｓｃＦｖの生成

ヒトもしくはヒト化抗ＣＤ１９、抗ＦＡＰ、抗ＣＡＩＸ、または抗ＢＣＭＡ　ＩｇＧを用いてＴＦＰ構築物用のｓｃＦｖ配列を生成する。ヒトまたはヒト化V_L及びV_HドメインをコードするＤＮＡ配列を得、これら構築物のコドンを任意に、ヒト由来の細胞での発現に最適化する。ｓｃＦｖに現れるV_L及びV_Hドメインの順序は様々であり（すなわち、V_L－V_HまたはV_H－V_L配向）、「Ｇ４Ｓ」または「G_4S」サブユニットの３つのコピー（G_4S）$_3$がこれら可変ドメインをつないでｓｃＦｖドメインを生成する。抗ＣＤ１９、抗ＦＡＰ、抗ＣＡＩＸ、及び抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖプラスミド構築物は、任意のＦｌａｇ、Ｈｉｓ、または他のアフィニティタグを有する場合があり、ＨＥＫ２９３または他の適切なヒトもしくは哺乳類の細胞株にエレクトロポレートされ、精製される。検証アッセイとしては、ＦＡＣＳによる結合分析、Ｐｒｏｔｅｏｎを用いる動態解析、及びＣＤ１９発現細胞の染色が挙げられる。

【０３９１】

V_L及びV_Hドメインの例示的な抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ＣＤＲならびにそれらをそれぞれコードするヌクレオチド配列を以下に示す。

【０３９２】

抗ＣＤ１９

抗ＣＤ１９軽鎖ＣＤＲ１

コード配列：ＡＧＧＧＣＡＡＧＴＣＡＧＧＡＣＡＴＴＡＧＴＡＡＡ（配列番号２４）

アミノ酸配列：ＲＡＳＱＤＩＳＫ（配列番号２５）

【０３９３】

抗ＣＤ１９軽鎖ＣＤＲ２

コード配列：ＡＴＣＴＡＣＣＡＴＡＣＡＴＣＡＡＧＡＴＴＡ（配列番号２６）

アミノ酸配列：ＩＹＨＴＳＲＬ（配列番号２７）

【０３９４】

抗ＣＤ１９軽鎖ＣＤＲ３

コード配列：ＣＡＡＣＡＧＧＧＴＡＡＴＡＣＧＣＴＴＣＣＧＴＡＣＡＣＧ（配列番号２８）

アミノ酸配列：ＱＱＧＮＴＬＰＹＴ（配列番号２９）

【０３９５】

抗ＣＤ１９重鎖ＣＤＲ１

コード配列：ＧＧＧＧＴＣＴＣＡＴＴＡＣＣＣＧＡＣＴＡＴＧＧＴＧＴＡＡＧＣ（配列番号３０）

アミノ酸配列：ＧＶＳＬＰＤＹＧＶＳ（配列番号３１）

【０３９６】

抗ＣＤ１９重鎖ＣＤＲ２

コード配列：ＧＴＡＡＴＡＴＧＧＧＧＴＡＧＴＧＡＡＡＣＣＡＣＡＴＡＣＴＡＴＡＡＴＴＣＡＧＣＴＣＴＣ（配列番号３２）

アミノ酸配列：ＶＩＷＧＳＥＴＴＹＹＮＳＡＬ（配列番号３３）

【０３９７】

抗ＣＤ１９重鎖ＣＤＲ３

コード配列：ＣＡＴＴＡＴＴＡＣＴＡＣＧＧＴＧＧＴＡＧＣＴＡＴＧＣＴＡＴＧＧＡＣＴＡＣ（配列番号３４）

アミノ酸配列：ＨＹＹＹＧＧＳＹＡＭＤＹ（配列番号３５）

【０３９８】
抗ＢＣＭＡ
抗ＢＣＭＡ軽鎖ＣＤＲ１
コード配列：ＡＡＡＡＧＣＡＧＣＣＡＧＡＧＣＣＴＧＧＴＧＣＡＴＡＧＣＡＡＣＧＧＣＡＡＣＡＣＣＴＡＴＣＴＧＣＡＴ（配列番号３６）
アミノ酸配列：ＫＳＳＱＳＬＶＨＳＮＧＮＴＹＬＨ（配列番号３７）
【０３９９】
抗ＢＣＭＡ軽鎖ＣＤＲ２
コード配列：ＡＡＡＧＴＧＡＧＣＡＡＣＣＧＣＴＴＴＡＧＣ（配列番号３８）
アミノ酸配列：ＫＶＳＮＲＦＳ（配列番号３９）
【０４００】
抗ＢＣＭＡ軽鎖ＣＤＲ３
コード配列：ＧＣＧＧＡＡＡＣＣＡＧＣＣＡＴＧＴＧＣＣＧＴＧＧＡＣＣ（配列番号４０）
アミノ酸配列：ＡＥＴＳＨＶＰＷＴ（配列番号４１）
【０４０１】
抗ＢＣＭＡ重鎖ＣＤＲ１
コード配列：ＡＡＡＧＣＧＡＧＣＧＧＣＴＡＴＡＧＣＴＴＴＣＣＧＧＡＴＴＡＴＴＡＴＡＴＴＡＡＣ（配列番号４２）
アミノ酸配列：ＫＡＳＧＹＳＦＰＤＹＹＩＮ（配列番号４３）
【０４０２】
抗ＢＣＭＡ重鎖ＣＤＲ２
コード配列：ＴＧＧＡＴＴＴＡＴＴＴＧＣＧＡＧＣＧＧＣＡＡＣＡＧＣＧＡＡＴＡＴＡＡＣＣＡＧＡＡＡＴＴＴＡＣＣＧＧＣ（配列番号４４）
アミノ酸配列：ＷＩＹＦＡＳＧＮＳＥＹＮＱＫＦＴＧ（配列番号４５）
【０４０３】
抗ＢＣＭＡ重鎖ＣＤＲ３
コード配列：ＣＴＧＴＡＴＧＡＴＴＡＴＧＡＴＴＧＧＴＡＴＴＴＴＧＡＴＧＴＧ（配列番号４６）
アミノ酸配列：ＬＹＤＹＤＷＹＦＤＶ（配列番号４７）
【０４０４】
抗ＣＤ１９軽鎖可変領域
コード配列：
ＧＡＣＡＴＣＣＡＧＡＴＧＡＣＡＣＡＧＡＣＴＡＣＡＴＣＣＴＣＣＣＴＧＴＣＴＧＣＣＴＣＣＴＣＴＧＧＧＡＧＡＣＡＧＡＧＴＣＡＣＣＡＴＣＡＧＴＴＧＣＡＧＧＧＣＡＡＧＴＣＡＧＧＡＣＡＴＴＡＧＴＡＡＡＴＡＴＴＴＡＡＡＴＴＧＧＴＡＴＣＡＧＣＡＧＡＡＡＣＣＡＧＡＴＧＧＡＡＣＴＧＴＴＡＡＡＣＴＣＣＴＧＡＴＣＴＡＣＣＡＴＡＣＡＴＣＡＡＧＡＴＴＡＣＡＣＴＣＡＧＧＡＧＴＣＣＣＡＴＣＡＡＧＧＴＴＣＡＧＴＧＧＣＡＧＴＧＧＧＴＣＴＧＧＡＡＣＡＧＡＴＴＡＴＴＣＴＣＴＣＡＣＣＡＴＴＡＧＣＡＡＣＣＴＧＧＡＧＣＡＡＧＡＡＧＡＴＡＴＴＧＣＣＡＣＴＴＡＣＴＴＴＴＧＣＣＡＡＣＡＧＧＧＧＴＡＡＴＡＣＧＣＴＴＣＣＧＴＡＣＡＣＧＴＴＣＧＧＡＧＧＧＧＧＧＧＡＣＴＡＡＧＴＴＧＧＡＡＡＴＡＡＣＡ（配列番号４８）
アミノ酸配列：
ＤＩＱＭＴＱＴＴＳＳＬＳＡＳＬＧＤＲＶＴＩＳＣＲＡＳＱＤＩＳＫＹＬＮＷＹＱＱＫＰＤＧＴＶＫＬＬＩＹＨＴＳＲＬＨＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＹＳＬＴＩＳＮＬＥＱＥＤＩＡＴＹＦＣＱＱＧＮＴＬＰＹＴＦＧＧＧＴＫＬＥＩＴ（配列番号４９）
【０４０５】
抗ＣＤ１９重鎖可変領域
コード配列：
ＧＡＧＧＴＧＡＡＡＣＴＧＣＡＧＧＡＧＴＣＡＧＧＡＣＣＴＧＧＣＣＴＧＧＴＧＧＣＧＣ

ＣＣＴＣＡＣＡＧＡＧＣＣＴＧＴＣＣＧＴＣＡＣＡＴＧＣＡＣＴＧＴＣＴＣＡＧＧＧＧＴ
ＣＴＣＡＴＴＡＣＣＣＧＡＣＴＡＴＧＧＴＧＴＡＡＧＣＴＧＧＡＴＴＣＧＣＣＡＧＣＣＴ
ＣＣＡＣＧＡＡＡＧＧＧＴＣＴＧＧＡＧＴＧＧＣＴＧＧＧＡＧＴＡＡＴＡＴＧＧＧＧＴＡ
ＧＴＧＡＡＡＣＣＡＣＡＴＡＣＴＡＴＡＡＴＴＣＡＧＣＴＣＴＣＡＡＡＴＣＣＡＧＡＣＴ
ＧＡＣＣＡＴＣＡＴＣＡＡＧＧＡＣＡＡＣＴＣＣＡＡＧＡＧＣＣＡＡＧＴＴＴＴＣＴＴＡ
ＡＡＡＡＴＧＡＡＣＡＧＴＣＴＧＣＡＡＡＣＴＧＡＴＧＡＣＡＣＡＧＣＣＡＴＴＴＡＣＴ
ＡＣＴＧＴＧＣＣＡＡＡＣＡＴＴＡＴＴＡＣＴＡＣＧＧＴＧＧＧＴＡＧＣＴＡＴＧＣＴＡＴ
ＧＧＡＣＴＡＣＴＧＧＧＧＴＣＡＡＧＧＡＡＣＣＴＣＡＧＴＣＡＣＣＧＴＣＴＣＣＴＣＡ
（配列番号５０）

アミノ酸配列：

ＥＶＫＬＱＥＳＧＰＧＬＶＡＰＳＱＳＬＳＶＴＣＴＶＳＧＶＳＬＰＤＹＧＶＳＷＩＲＱＰ
ＰＲＫＧＬＥＷＬＧＶＩＷＧＳＥＴＴＹＹＮＳＡＬＫＳＲＬＴＩＩＫＤＮＳＫＳＱＶＦＬ
ＫＭＮＳＬＱＴＤＤＴＡＩＹＹＣＡＫＨＹＹＹＧＧＳＹＡＭＤＹＷＧＱＧＴＳＶＴＶＳＳ
（配列番号５１）

【０４０６】

抗ＢＣＭＡ軽鎖可変領域

コード配列：

ＧＡＴＡＴＴＧＴＧＡＴＧＡＣＣＣＡＧＡＣＣＣＣＧＣＴＧＡＧＣＣＴＧＡＧＣＧＴＧＡ
ＣＣＣＣＧＧＧＣＧＡＡＣＣＧＧＣＧＡＧＣＡＴＴＡＧＣＴＧＣＡＡＡＡＧＣＡＧＣＣＡ
ＧＡＧＣＣＴＧＧＴＧＣＡＴＡＧＣＡＡＣＧＧＣＡＡＣＡＣＣＴＡＴＣＴＧＣＡＴＴＧＧ
ＴＡＴＣＴＧＣＡＧＡＡＡＣＣＧＧＧＣＣＡＧＡＧＣＣＣＧＣＡＧＣＴＧＣＴＧＡＴＴＴ
ＡＴＡＡＡＧＴＧＡＧＣＡＡＣＣＧＣＴＴＴＡＧＣＧＧＣＧＴＧＣＣＧＧＡＴＣＧＣＴＴ
ＴＡＧＣＧＧＣＡＧＣＧＧＣＡＧＣＧＧＣＧＣＧＧＡＴＴＴＴＡＣＣＣＴＧＡＡＡＡＴＴ
ＡＧＣＣＧＣＧＴＧＧＡＡＧＣＧＧＡＡＧＡＴＧＴＧＧＧＣＧＴＧＴＡＴＴＡＴＴＧＣＧ
ＣＧＧＡＡＡＣＣＡＧＣＣＡＴＧＴＧＣＣＧＴＧＧＡＣＣＴＴＴＧＧＣＣＡＧＧＧＣＡＣ
ＣＡＡＡＣＴＧＧＡＡＡＴＴＡＡＡＡＧＣ（配列番号５２）

アミノ酸配列：

ＤＩＶＭＴＱＴＰＬＳＬＳＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＫＳＳＱＳＬＶＨＳＮＧＮＴＹＬＨＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＫＶＳＮＲＦＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＡＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＡＥＴＳＨＶＰＷＴＦＧＱＧＴＫＬＥＩＫＳ（配列番号：
５３）

【０４０７】

抗ＢＣＭＡ重鎖可変領域

コード配列：

ＣＡＧＧＴＧＣＡＧＣＴＧＧＴＧＣＡＧＡＧＣＧＧＣＧＣＧＧＡＡＧＴＧＡＡＡＡＡＡＣ
ＣＧＧＧＣＧＣＧＡＧＣＧＴＧＡＡＡＧＴＧＡＧＣＴＧＣＡＡＡＧＣＧＡＧＣＧＧＣＴＡ
ＴＡＧＣＴＴＴＣＣＧＧＡＴＴＡＴＴＡＴＡＴＴＡＡＣＴＧＧＧＴＧＣＧＣＣＡＧＧＣＧ
ＣＣＧＧＧＣＣＡＧＧＧＣＣＴＧＧＡＡＴＧＧＡＴＧＧＧＣＴＧＧＡＴＴＴＡＴＴＴＴＧ
ＣＧＡＧＣＧＧＣＡＡＣＡＧＣＧＡＡＴＡＴＡＡＣＣＡＧＡＡＡＴＴＴＡＣＣＧＧＣＣＧ
ＣＧＴＧＡＣＣＡＴＧＡＣＣＣＧＣＧＡＴＡＣＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣＡＣＣＧＣＧＴＡＴ
ＡＴＧＧＡＡＣＴＧＡＧＣＡＧＣＣＴＧＣＧＣＡＧＣＧＡＡＧＡＴＡＣＣＧＣＧＧＴＧＴ
ＡＴＴＴＴＧＣＧＣＧＡＧＣＣＴＧＴＡＴＧＡＴＴＡＴＧＡＴＴＧＧＴＡＴＴＴＴＧＡ
ＴＧＴＧＴＧＧＧＧＣＣＡＧＧＧＣＡＣＣＡＴＧＧＴＧＡＣＣＧＴＧＡＧＣＡＧＣ（配列
番号５４）

アミノ酸配列：

ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＳＦＰＤＹＹＩＮＷＶＲＱＡ
ＰＧＱＧＬＥＷＭＧＷＩＹＦＡＳＧＮＳＥＹＮＱＫＦＴＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＳＳＴＡＹ
ＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＦＣＡＳＬＹＤＹＤＷＹＦＤＶＷＧＱＧＴＭＶＴＶＳＳ（
配列番号５５）

【０４０８】

ＴＣＲサブユニット源

ヒトＴ細胞受容体（ＴＣＲ）複合体のサブユニットはすべて、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含む。ヒトＴＣＲ複合体は、ＣＤ３イプシロンポリペプチド、ＣＤ３ガンマポリペプチド、ＣＤ３デルタポリペプチド、ＣＤ３ゼータポリペプチド、ＴＣＲアルファ鎖ポリペプチド、及びＴＣＲベータ鎖ポリペプチドを含む。ヒトＣＤ３イプシロンポリペプチドの標準的な配列は、Ｕｎｉｐｒｏｔアクセッション番号Ｐ０７７６６である。ヒトＣＤ３ガンマポリペプチドの標準的な配列は、Ｕｎｉｐｒｏｔアクセッション番号Ｐ０９６９３である。ヒトＣＤ３デルタポリペプチドの標準的な配列は、Ｕｎｉｐｒｏｔアクセッション番号Ｐ０４３２３４である。ヒトＣＤ３ゼータポリペプチドの標準的な配列は、Ｕｎｉｐｒｏｔアクセッション番号Ｐ２０９６３である。ヒトＴＣＲアルファ鎖の標準的な配列は、Ｕｎｉｐｒｏｔアクセッション番号Ｑ６ＩＳＵ１である。ヒトＴＣＲベータ鎖Ｃ領域の標準的な配列は、Ｕｎｉｐｒｏｔアクセッション番号Ｐ０１８５０であり、ヒトＴＣＲベータ鎖Ｖ領域の配列は、Ｐ０４４３５である。

【０４０９】

ヒトＣＤ３イプシロンポリペプチドの標準的な配列は：

ＭＱＳＧＴＨＷＲＶＬＧＬＣＬＬＳＶＧＶＷＧＱＤＧＮＥＥＭＧＧＩＴＱＴＰＹＫＶＳＩ
ＳＧＴＴＶＩＬＴＣＰＱＹＰＧＳＥＩＬＷＱＨＮＤＫＮＩＧＧＤＥＤＤＫＮＩＧＳＤＥＤ
ＨＬＳＬＫＥＦＳＥＬＥＱＳＧＹＹＶＣＹＰＲＧＳＫＰＥＤＡＮＦＹＬＹＬＲＡＲＶＣＥ
ＮＣＭＥＭＤＶＭＳＶＡＴＩＶＩＶＤＩＣＩＴＧＧＬＬＬＬＶＹＹＷＳＫＮＲＫＡＫＡＫ
ＰＶＴＲＧＡＧＡＧＧＲＱＲＧＱＮＫＥＲＰＰＰＶＰＮＰＤＹＥＰＩＲＫＧＱＲＤＬＹＳ
ＧＬＮＱＲＲＩ（配列番号５６）である。

【０４１０】

ヒトＣＤ３ガンマポリペプチドの標準的な配列は：

ＭＥＱＧＫＧＬＡＶＬＩＬＡＩＩＬＬＱＧＴＬＡＱＳＩＫＧＮＨＬＶＫＶＹＤＹＱＥＤＧ
ＳＶＬＬＴＣＤＡＥＡＫＮＩＴＷＦＫＤＧＫＭＩＧＦＬＴＥＤＫＫＫＷＮＬＧＳＮＡＫＤ
ＰＲＧＭＹＱＣＫＧＳＱＮＫＳＫＰＬＱＶＹＹＲＭＣＱＮＣＩＥＬＮＡＡＴＩＳＧＦＬＦ
ＡＥＩＶＳＩＦＶＬＡＶＧＶＹＦＩＡＧＱＤＧＶＲＱＳＲＡＳＤＫＱＴＬＬＰＮＤＱＬＹ
ＱＰＬＫＤＲＥＤＤＱＹＳＨＬＱＧＮＱＬＲＲＮ（配列番号５７）である。

【０４１１】

ヒトＣＤ３デルタポリペプチドの標準的な配列は：

ＭＥＨＳＴＦＬＳＧＬＶＬＡＴＬＬＳＱＶＳＰＦＫＩＰＩＥＥＬＥＤＲＶＦＶＮＣＮＴＳ
ＩＴＷＶＥＧＴＶＧＴＬＬＳＤＩＴＲＬＤＬＧＫＲＩＬＤＰＲＧＩＹＲＣＮＧＴＤＩＹＫ
ＤＫＥＳＴＶＱＶＨＹＲＭＣＱＳＣＶＥＬＤＰＡＴＶＡＧＩＩＶＴＤＶＩＡＴＬＬＬＡＬ
ＧＶＦＣＦＡＧＨＥＴＧＲＬＳＧＡＡＤＴＱＡＬＬＲＮＤＱＶＹＱＰＬＲＤＲＤＤＡＱＹ
ＳＨＬＧＧＮＷＡＲＮＫ（配列番号５８）である。

【０４１２】

ヒトＣＤ３ゼータポリペプチドの標準的な配列は：

ＭＫＷＫＡＬＦＴＡＡＩＬＱＡＱＬＰＩＴＥＡＱＳＦＧＬＬＤＰＫＬＣＹＬＬＤＧＩＬＦ
ＩＹＧＶＩＬＴＡＬＦＬＲＶＫＦＳＲＳＡＤＡＰＡＹＱＱＧＱＮＱＬＹＮＥＬＮＬＧＲＲ
ＥＥＹＤＶＬＤＫＲＲＧＲＤＰＥＭＧＧＫＰＱＲＲＫＮＰＱＥＧＬＹＮＥＬＱＫＤＫＭＡ
ＥＡＹＳＥＩＧＭＫＧＥＲＲＲＧＫＧＨＤＧＬＹＱＧＬＳＴＡＴＫＤＴＹＤＡＬＨＭＱＡ
ＬＰＰＲ（配列番号５９）である。

【０４１３】

ヒトＴＣＲアルファ鎖の標準的な配列は：

ＭＡＧＴＷＬＬＬＬＬＡＬＧＣＰＡＬＰＴＧＶＧＧＴＰＦＰＳＬＡＰＰＩＭＬＬＶＤＧＫ
ＱＱＭＶＶＶＣＬＶＬＤＶＡＰＰＧＬＤＳＰＩＷＦＳＡＧＮＧＳＡＬＤＡＦＴＹＧＰＳＰ
ＡＴＤＧＴＷＴＮＬＡＨＬＳＬＰＳＥＥＬＡＳＷＥＰＬＶＣＨＴＧＰＧＡＥＧＨＳＲＳＴ
ＱＰＭＨＬＳＧＥＡＳＴＡＲＴＣＰＱＥＰＬＲＧＴＰＧＧＡＬＷＬＧＶＬＲＬＬＬＦＫＬ
ＬＬＦＤＬＬＬＴＣＳＣＬＣＤＰＡＧＰＬＰＳＰＡＴＴＴＲＬＲＡＬＧＳＨＲＬＨＰＡＴ
ＥＴＧＧＲＥＡＴＳＳＰＲＰＱＰＲＤＲＲＷＧＤＴＰＰＧＲＫＰＧＳＰＶＷＧＥＧＳＹＬ

ＳＳＹＰＴＣＰＡＱＡＷＣＳＲＳＡＬＲＡＰＳＳＳＬＧＡＦＦＡＧＤＬＰＰＰＬＱＡＧＡＡ（配列番号６０）である。

【０４１４】

ヒトＴＣＲアルファ鎖Ｃ領域の標準的な配列は：

ＰＮＩＱＮＰＤＰＡＶＹＱＬＲＤＳＫＳＳＤＫＳＶＣＬＦＴＤＦＤＳＱＴＮＶＳＱＳＫＤＳＤＶＹＩＴＤＫＴＶＬＤＭＲＳＭＤＦＫＳＮＳＡＶＡＷＳＮＫＳＤＦＡＣＡＮＡＦＮＮＳＩＩＰＥＤＴＦＦＰＳＰＥＳＳＣＤＶＫＬＶＥＫＳＦＥＴＤＴＮＬＮＦＱＮＬＳＶＩＧＦＲＩＬＬＬＫＶＡＧＦＮＬＬＭＴＬＲＬＷＳＳ（配列番号６１）である。

【０４１５】

ヒトＴＣＲアルファ鎖Ｖ領域ＣＴＬ－Ｌ１７の標準的な配列は：

ＭＡＭＬＬＧＡＳＶＬＩＬＷＬＱＰＤＷＶＮＳＱＱＫＮＤＤＱＱＶＫＱＮＳＰＳＬＳＶＱＥＧＲＩＳＩＬＮＣＤＹＴＮＳＭＦＤＹＦＬＷＹＫＫＹＰＡＥＧＰＴＦＬＩＳＩＳＳＩＫＤＫＮＥＤＧＲＦＴＶＦＬＮＫＳＡＫＨＬＳＬＨＩＶＰＳＱＰＧＤＳＡＶＹＦＣＡＡＫＧＡＧＴＡＳＫＬＴＦＧＴＧＴＲＬＱＶＴＬ（配列番号６２）である。

【０４１６】

ヒトＴＣＲベータ鎖Ｃ領域の標準的な配列は：

ＥＤＬＮＫＶＦＰＰＥＶＡＶＦＥＰＳＥＡＥＩＳＨＴＱＫＡＴＬＶＣＬＡＴＧＦＦＰＤＨＶＥＬＳＷＷＶＮＧＫＥＶＨＳＧＶＳＴＤＰＱＰＬＫＥＱＰＡＬＮＤＳＲＹＣＬＳＳＲＬＲＶＳＡＴＦＷＱＮＰＲＮＨＦＲＣＱＶＱＦＹＧＬＳＥＮＤＥＷＴＱＤＲＡＫＰＶＴＱＩＶＳＡＥＡＷＧＲＡＤＣＧＦＴＳＶＳＹＱＱＧＶＬＳＡＴＩＬＹＥＩＬＬＧＫＡＴＬＹＡＶＬＶＳＡＬＶＬＭＡＭＶＫＲＫＤＦ（配列番号６３）である。

【０４１７】

ヒトＴＣＲベータ鎖Ｖ領域ＣＴＬ－Ｌ１７の標準的な配列は：

ＭＧＴＳＬＬＣＷＭＡＬＣＬＬＧＡＤＨＡＤＴＧＶＳＱＮＰＲＨＮＩＴＫＲＧＱＮＶＴＦＲＣＤＰＩＳＥＨＮＲＬＹＷＹＲＱＴＬＧＱＧＰＥＦＬＴＹＦＱＮＥＡＱＬＥＫＳＲＬＬＳＤＲＦＳＡＥＲＰＫＧＳＦＳＴＬＥＩＱＲＴＥＱＧＤＳＡＭＹＬＣＡＳＳＬＡＧＬＮＱＰＱＨＦＧＤＧＴＲＬＳＩＬ（配列番号６４）である。

【０４１８】

ヒトＴＣＲベータ鎖Ｖ領域ＹＴ３５の標準的な配列は：

ＭＤＳＷＴＦＣＣＶＳＬＣＩＬＶＡＫＨＴＤＡＧＶＩＱＳＰＲＨＥＶＴＥＭＧＱＥＶＴＬＲＣＫＰＩＳＧＨＮＳＬＦＷＹＲＱＴＭＭＲＧＬＥＬＬＩＹＦＮＮＮＶＰＩＤＤＳＧＭＰＥＤＲＦＳＡＫＭＰＮＡＳＦＳＴＬＫＩＱＰＳＥＰＲＤＳＡＶＹＦＣＡＳＳＦＳＴＣＳＡＮＹＧＹＴＦＧＳＧＴＲＬＴＶＶ（配列番号６５）である。

【０４１９】

例示的な抗ＢＣＭＡ重鎖配列は：

【０４２０】

ＴＣＲドメイン及びｓｃＦｖからのＴＦＰの生成

ＣＤ１９またはＢＣＭＡ　ｓｃＦｖは、リンカー配列、例えば、G_4S、$(G_4S)_2$、$(G_4S)_3$、または$(G_4S)_4$を用いてＣＤ３イプシロンまたは他のＴＣＲサブユニット（１Ｃ参照）に組み換え技術によって連結される。様々なリンカー及びｓｃＦｖの構造が利用される。ＴＦＰの生成のため、ＴＣＲアルファ鎖及びＴＣＲベータ鎖を完全長ポリペプチドまたはそれらの定常ドメインのみのいずれかとして用いた。ＴＣＲアルファ及びＴＣＲベータ鎖の任意の可変配列が、ＴＦＰの作製を可能にする。

【０４２１】

ＴＦＰ発現ベクター

プロモーター（サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）エンハンサー－プロモーター）、分泌を可能にするためのシグナル伝達配列、ポリアデニル化シグナル及び転写ターミネータ（ウシ成長ホルモン（ＢＧＨ）遺伝子）、エピソーム複製及び原核生物における複製を可能にする要素（例えば、ＳＶ４０起点及びＣｏｌＥ１または当技術分野で既知の他のもの）、ならびに選択を可能にする要素（アンピシリン耐性遺伝子及びゼオシンマーカー）を含

む発現ベクターを提供する。

【０４２２】

好ましくは、ＴＦＰをコードする核酸構築物は、レンチウイルス発現ベクターにクローニングされ、発現は、ＣＤ１９＋標的細胞に反応するＴＦＰ．ＣＤ１９形質導入Ｔ細胞（「ＣＤ１９．ＴＦＰ」もしくは「ＣＤ１９．ＴＦＰ　Ｔ細胞」または「ＴＦＰ．ＣＤ１９」もしくは「ＴＦＰ．ＣＤ１９　Ｔ細胞」）、ＦＡＰ＋標的細胞に反応するＴＦＰ．ＦＡＰ形質導入Ｔ細胞（「ＦＡＰ．ＴＦＰ」もしくは「ＦＡＰ．ＴＦＰ　Ｔ細胞」または「ＴＦＰ．ＦＡＰ」もしくは「ＴＦＰ．ＦＡＰ　Ｔ細胞」）、ＣＡＩＸ＋標的細胞に反応するＴＦＰ．ＣＡＩＸ形質導入Ｔ細胞（「ＣＡＩＸ．ＴＦＰ」もしくは「ＣＡＩＸ．ＴＦＰ　Ｔ細胞」または「ＴＦＰ．ＣＡＩＸ」もしくは「ＴＦＰ．ＣＡＩＸ　Ｔ細胞」）、またはＢＣＭＡ＋標的細胞に反応するＴＦＰ．ＢＣＭＡ形質導入Ｔ細胞（「ＢＣＭＡ．ＴＦＰ」もしくは「ＢＣＭＡ．ＴＦＰ　Ｔ細胞」または「ＴＦＰ．ＢＣＭＡ」もしくは「ＴＦＰ．ＢＣＭＡ　Ｔ細胞」）のエフェクターＴ細胞応答の量と質に基づいて認められる。エフェクターＴ細胞応答としては、細胞拡大、増殖、倍加、サイトカイン産生、及び標的細胞溶解または細胞溶解活性（すなわち、脱顆粒）が挙げられるがこれらに限定されない。

【０４２３】

ＴＦＰ．ＣＤ１９、ＴＦＰ．ＦＡＰ、ＴＦＰ．ＣＡＩＸ、またはＴＦＰ．ＢＣＭＡのレンチウイルス転移ベクターは、ＶＳＶｇ偽型レンチウイルス粒子にパッケージされるゲノム材料を産生するために用いられる。レンチウイルス転移ベクターのＤＮＡをＶＳＶｇの３つのパッケージング成分、ｇａｇ／ｐｏｌ及びｒｅｖをリポフェクタミン試薬と組み合わせて混合し、それらを一緒に２９３細胞にトランスフェクトする。２４及び４８時間後、培地を採取し、濾過し、超遠心分離によって濃縮する。得られたウイルス調製物を－８０Ｃで保存する。形質導入単位の数は、ＳｕｐＴ１細胞での滴定で決定される。再指向性ＴＦＰ．ＣＤ１９、ＴＦＰ．ＦＡＰ、ＴＦＰ．ＣＡＩＸ、またはＴＦＰ．ＢＣＭＡ　Ｔ細胞は、新たな天然のＴ細胞を抗ＣＤ３ｘ抗ＣＤ２８ビーズで２４時間活性化し、その後適切な数の形質導入単位を加え、所望の割合の形質導入Ｔ細胞を得ることによって産生される。これらの改変Ｔ細胞を、細胞が休止し、そのサイズが減少するまで増殖させ、この時点で細胞を後の分析用に凍結保存する。細胞の数及びサイズは、ｃｏｕｌｔｅｒのマルチサイザーＩＩＩを用いて測定する。凍結保存の前に、形質導入された細胞（ＴＦＰ．ＣＤ１９、ＴＦＰ．ＦＡＰ、ＴＦＰ．ＣＡＩＸ、またはＴＦＰ．ＢＣＭＡを細胞表面で発現する）の割合及びその発現のそれらの相対的蛍光強度をフローサイトメトリー分析によって決定する。ヒストグラムのプロットから、これらＴＦＰの相対的発現レベルが、形質導入された割合とそれらの相対的蛍光強度を比較することによって、調べられる。

【０４２４】

いくつかの実施形態では、複数のウイルスベクターでのＴ細胞の形質導入によって、複数のＴＦＰが導入される。

【０４２５】

ヒト化ＴＦＰ再指向性Ｔ細胞の細胞溶解活性、増殖能力、及びサイトカイン分泌の評価

ＴＦＰ．ＣＤ１９、ＴＦＰ．ＦＡＰ、ＴＦＰ．ＣＡＩＸ、またはＴＦＰ．ＢＣＭＡ　Ｔ細胞の細胞表面で発現するＴＦＰを産生し、標的腫瘍細胞を殺傷し、増殖し、サイトカインを分泌する機能的能力は、当技術分野で既知のアッセイを用いて決定される。

【０４２６】

ヒトＰＢＭＣ（例えば、天然のＴ細胞が、Ｔ細胞、すなわちＣＤ４＋及びＣＤ８＋リンパ球に対して負の選択によって得られる正常なアフェレーシスドナー由来の血液）をヒトインターロイキン－２（ＩＬ－２）で処理し、その後抗ＣＤ３ｘ抗ＣＤ２８ビーズで、例えば、１０％ＲＰＭＩ中、３７℃、５％CO_2にて、活性化し、その後ＴＦＰをコードするレンチウイルスベクターで形質導入する。フローサイトメトリーアッセイを用いて、例えば、抗ＦＬＡＧ抗体または抗マウス可変ドメイン抗体によって、ＴＦＰの細胞表面での存在を確認する。サイトカイン（例えば、ＩＦＮ－γ）産生は、ＥＬＩＳＡまたは他のアッセイを用いて測定される。

【０４２７】
実施例３：ヒトＡＬＬマウスモデルにおけるヒトＴＦＰ　Ｔ細胞効力
初代ヒトＡＬＬ細胞は、インビトロでそれらを培養することなく免疫不全マウス（例えば、ＮＳＧまたはＮＯＤ）で成長することができる。同様に、培養ヒトＡＬＬ細胞株は、かかるマウスにおいて白血病を誘導することができる。ＡＬＬを有するマウスは、例えば、ＨＡＬＬＸ５４４７モデルにおいて、ヒトＴＦＰ．ＣＤ１９、ＴＦＰ．ＦＡＰ、ＴＦＰ．ＣＡＩＸ、またはＴＦＰ．ＢＣＭＡ　Ｔ細胞の効力を調べるために用いることができる。このモデルでの読み出しは、ＡＬＬ細胞の静脈内（ｉ．ｖ．）注入後の、ヒトＴＦＰ．ＣＤ１９、ＴＦＰ．ＦＡＰ、ＴＦＰ．ＣＡＩＸ、またはＴＦＰ．ＢＣＭＡ　Ｔ細胞のｉ．ｖ．投与の非存在下及び存在下でのマウスの生存率である。

【０４２８】
実施例４：インビボ固形腫瘍異種移植マウスモデルにおけるヒトＴＦＰ　Ｔ細胞治療
ヒトＴＦＰ．ＣＤ１９またはＴＦＰ．ＢＣＭＡ　Ｔ細胞の効力もまた、ヒトＣＤ１９もしくはＢＣＭＡを発現するＡＬＬ、ＣＬＬ、またはＮＨＬヒト細胞株由来の皮下固形腫瘍を有する免疫不全マウスモデルで調べることできる。ヒトＴＦＰ．ＣＤ１９、ＴＦＰ．ＦＡＰ、ＴＦＰ．ＣＡＩＸ、またはＴＦＰ．ＢＣＭＡ　Ｔ細胞治療に反応した腫瘍の縮小は、キャリパーによる腫瘍サイズの測定によって、またはＧＦＰ発現腫瘍細胞によって放出されるＧＦＰの蛍光シグナルの強度を観察することのいずれかによって評価することができる。

【０４２９】
初代ヒト固形腫瘍細胞は、インビトロでそれらを培養することなく免疫不全マウスで成長することができる。例示的な固形がん細胞としては、例えば、Ｔｈｅ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｇｅｎｏｍｅ　Ａｔｌａｓ（ＴＣＧＡ）及び／またはｔｈｅ　Ｂｒｏａｄ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｃｅｌｌ　Ｌｉｎｅ　Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ（ＣＣＬＥ，Ｂａｒｒｅｔｉｎａ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｎａｔｕｒｅ　４８３：６０３　（２０１２）参照）に示される固形腫瘍細胞株が挙げられる。例示的な固形がん細胞としては、腎細胞がん、乳がん、肺がん、卵巣がん、前立腺がん、結腸がん、子宮頚がん、脳がん、肝臓がん、膵臓がん、腎臓または胃がんから単離される初代腫瘍細胞が挙げられる。これらのマウスを、ヒト腫瘍異種移植モデルにおいてＴＦＰ．ＣＤ１９、ＴＦＰ．ＦＡＰ、ＴＦＰ．ＣＡＩＸ、またはＴＦＰ．ＢＣＭＡ　Ｔ細胞の効力を調べるために用いることができる（例えば、Ｍｏｒｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｎａｔ．　Ｐｒｏｃｏｌ．　２：２４７　（２００７）参照）。1×10^{6}～1×10^{7}個の初代細胞（コラゲナーゼ処理バルク腫瘍のＥＣマトリクス材料懸濁物）または腫瘍フラグメント（ＥＣマトリクス材料中の初代腫瘍フラグメント）の皮下移植もしくは注射に続いて、腫瘍を治療開始に先立って２００～５００mm^{3}まで成長させる。

【０４３０】
実施例５：多重ＴＦＰポリペプチドの実証、及び多重ヒト化ＴＦＰ再指向性Ｔ細胞の使用
本明細書で提供されるＴＦＰポリペプチドは、内因性ＴＣＲサブユニットのポリペプチドと機能的に会合し、機能的ＴＣＲ複合体を形成することが可能である。ここで、レンチウイルスベクター内の複数のＴＦＰを用いて、機能的多重組み換えＴＣＲ複合体を生成するためにＴ細胞を形質導入する。例えば、ｉ）ＣＤ３－ｄｓｅｌｔａポリペプチド由来の細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインならびにＣＤ１９、ＦＡＰ、ＣＡＩＸ、またはＢＣＭＡ特異的ｓｃＦｖ抗体フラグメントを有する第一のＴＦＰ、ならびにｉｉ）ＣＤ３ガンマポリペプチド由来の細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインならびにＣＤ１９、ＦＡＰ、ＣＡＩＸ、またはＢＣＭＡ特異的抗体フラグメントを有する第二のＴＦＰを含むＴ細胞を提供する。該第一のＴＦＰ及び第二のＴＦＰは、互いに、及び内因性ＴＣＲサブユニットのポリペプチドと相互作用することが可能であり、それによって機能的ＴＣＲ複合体を形成する。

【０４３１】

これらの多重ヒト化ＴＦＰ．ＣＤ１９、ＴＦＰ．ＦＡＰ、ＴＦＰ．ＣＡＩＸ、またはＴＦＰ．ＢＣＭＡ　Ｔ細胞の使用は、上記実施例２及び３に示す通り、液性及び固形腫瘍で実証される。

【０４３２】

実施例６：ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞の調製

レンチウイルスの産生

適切な構築物をコードするレンチウイルスを以下のように調製した。５×１０^{6}個のＨＥＫ２９３ＦＴ細胞を、１００ｍｍのディッシュに播種し、培養密度７０～９０％になるまで一夜置いた。示されたＤＮＡプラスミド２．５μｇ及びレンチウイルスパッケージングミックス（ＡＬＳＴＥＭ、カタログ番号ＶＰ１００；付属書Ｂ３参照）２０μＬを０．５ｍＬの血清を含まないＤＭＥＭまたはＯｐｔｉ－ＭＥＭ　Ｉ培地で希釈し、緩やかに混合した。別のチューブで、ＮａｎｏＦｅｃｔトランスフェクション試薬（ＡＬＳＴＥＭ、カタログ番号ＮＦ１００）３０μＬを、０．５ｍＬの血清を含まないＤＭＥＭまたはＯｐｔｉ－ＭＥＭ　Ｉ培地で希釈し、緩やかに混合した。これらＮａｎｏＦｅｃｔ／ＤＭＥＭ及びＤＮＡ／ＤＭＥＭ溶液をその後混合し、１０～１５秒間ボルテックスし、その後、このＤＭＥＭ－プラスミド－ＮａｎｏＦｅｃｔ混合物を室温で１５分間インキュベートした。前段階からの完全トランスフェクション複合体を、細胞のプレートに滴下し、揺動してプレート内のトランスフェクション複合体を均等に分散させた。このプレートをその後加湿された５％CO_2インキュベータ内で、３７℃で一夜インキュベートした。翌日、上清を１０ｍＬの新たな培地で置換し、ＶｉｒａｌＢｏｏｓｔ（５００ｘ、ＡＬＳＴＥＭ、カタログ番号ＶＢ１００）２０μＬを追加した。これらのプレートをその後さらに２４時間、３７℃でインキュベートした。レンチウイルスを含む上清をその後５０ｍＬの滅菌蓋つきコニカル遠心チューブに採取し、氷上に置いた。４℃で１５分間、３０００ｒｐｍでの遠心分離後、透明な上清を低タンパク質結合性０．４５μｍ滅菌フィルターでろ過し、続いてウイルスを４℃で１．５時間、２５，０００ｒｐｍの超遠心分離（Ｂｅｃｋｍａｎｎ、Ｌ８－７０Ｍ）によって単離した。このペレットを取り出し、ＤＭＥＭ培地に再懸濁し、レンチウイルス濃度／力価を、定量的ＲＴ－ＰＣＲにて、Ｌｅｎｔｉ－Ｘ　ｑＲＴ－ＰＣＲ滴定キット（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ；カタログ番号６３１２３５）を用いて確立した。任意の残余のプラスミドＤＮＡは、ＤＮａｓｅＩで処理することで除去した。このウイルスストック調製物は、すぐに感染に用いたか、または等分し、後の使用のために－８０℃で保存した。

【０４３３】

同様の実験を、ＦＡＰ．ＴＦＰ及びＣＡＩＸ．ＴＦＰ構築物で行うことができる。

【０４３４】

ＰＢＭＣ単離

末梢血単核球（ＰＢＭＣ）は、全血またはバフィーコートのいずれかから調製した。全血は、１０ｍＬのヘパリンバキュテナーに採取し、すぐに処理したか、または４℃で一夜保存した。抗凝固処理した全血約１０ｍＬを、５０ｍＬのコニカル遠心チューブで、滅菌リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）緩衝液と総体積２０ｍＬになるまで混合した（ＰＢＳ、ｐＨ７．４、Ca^{2+}／Mg^{2+}を含まない）。この血液／ＰＢＳ混合物２０ｍＬをその後静かに１５ｍＬのＦｉｃｏｌｌ－Ｐａｑｕｅ　ＰＬＵＳ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、１７－１４４０－０３）の表面に載せ、その後４００ｇで３０～４０分間、室温にて、ブレーキをかけることなく遠心分離した。

【０４３５】

バフィーコートは、Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｂｌｏｏｄ　Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ（マサチューセッツ州ボストン）から購入した。Ｌｅｕｃｏｓｅｐチューブ（Ｇｒｅｉｎｅｒ　ｂｉｏ－ｏｎｅ）は、１５ｍＬのＦｉｃｏｌｌ－Ｐａｑｕｅ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｃａｒｅ）を加えて準備し、１０００ｇで１分間遠心分離した。バフィーコートは、ＰＢＳ（ｐＨ７．４、Ca^{2+}もMg^{2+}も含まない）で１：３に希釈した。この希釈バフィーコートをＬｅｕｃｏｓｅｐチューブに移し、１０００ｇで１５分間、ブレーキをかけることなく

遠心分離した。希釈血漿／Ｆｉｃｏｌｌ界面に見られる末梢血単核球（ＰＢＭＣ）を含む細胞層を、Ｆｉｃｏｌｌの混入を最小限にするように注意深く取り出した。残余のＦｉｃｏｌｌ、血小板、及び血漿タンパク質は、その後、このＰＢＭＣを４０ｍＬのＰＢＳで３回、室温にて２００ｇで１０分間遠心分離することによって洗浄して除去した。これらの細胞をその後血球計で計数した。この洗浄ＰＢＭＣをＣＡＲ－Ｔ培地（ＡＩＭ Ｖ－ＡｌｂｕＭＡＸ（ＢＳＡ）（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）、５％ＡＢ血清及び１．２５μｇ／ｍＬアンホテリシンＢ（Ｇｅｍｉｎｉ Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ、カリフォルニア州ウッドランド）、１００Ｕ／ｍＬペニシリン、ならびに１００μ／ｍＬストレプトマイシンを含む）で一度洗浄した。別の方法として、この洗浄ＰＢＭＣを断熱バイアルに移し、－８０℃で２４時間凍結し、その後、後の使用のために液体窒素中で保存した。

【０４３６】

同様の実験を、ＦＡＰ．ＴＦＰ及びＣＡＩＸ．ＴＦＰ構築物で行うことができる。

【０４３７】

Ｔ細胞の活性化

全血またはバフィーコートのいずれかから調製した末梢血単核球（ＰＢＭＣ）を、ウイルスの形質導入に先立って、抗ヒトＣＤ２８及びＣＤ３抗体結合磁気ビーズで２４時間刺激した。新たに単離したＰＢＭＣを、ＣＡＲ－Ｔ培地（ＡＩＭ Ｖ－ＡｌｂｕＭＡＸ（ＢＳＡ）（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）、５％ＡＢ血清及び１．２５μｇ／ｍＬアンホテリシンＢ（Ｇｅｍｉｎｉ Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ）、１００Ｕ／ｍＬペニシリン、ならびに１００μｇ／ｍＬストレプトマイシンを含む）でｈｕＩＬ－２なしで一度洗浄し、その後３００ＩＵ／ｍＬのヒトＩＬ－２（１０００ｘストックから；Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を含むＣＡＲ－Ｔ培地に、最終濃度１×１０^{6}細胞／ｍＬで再懸濁した。ＰＢＭＣが前もって凍結されたものであった場合、これらを解凍し、予め温めた（３７℃）ｃＤＭＥＭ培地（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）９ｍＬに１×１０^{7}細胞／ｍＬで再懸濁し、１０％ＦＢＳ、１００Ｕ／ｍＬペニシリン、及び１００μｇ／ｍＬストレプトマイシンの存在下、１×１０^{6}細胞／ｍＬの濃度で、ＣＡＲＴ培地で一度洗浄し、ＣＡＲ－Ｔ培地に１×１０^{6}細胞／ｍＬで再懸濁し、上記の通りＩＬ－２を添加した。

【０４３８】

活性化に先立って、抗ヒトＣＤ２８及びＣＤ３抗体結合磁気ビーズ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を、磁気ラックを使用して１ｍＬの滅菌１ｘ ＰＢＳ（ｐＨ７．４）で３回洗浄してビーズをこの溶液から分離し、その後、３００ＩＵ／ｍＬのヒトＩＬ－２とともにＣＡＲ－Ｔ培地に再懸濁し、最終濃度４×１０^{7}ビーズ／ｍＬにした。ＰＢＭＣ及びビーズをその後、２５μＬ（１×１０^{6}ビーズ）のビーズを１ｍＬのＰＢＭＣに移すことで、ビーズ対細胞比１：１で混合した。所望の数の分割量をその後１２ウェルの低付着性または未処理の細胞培養プレートの単一のウェルに分配し、ウイルスの形質導入に先立って３７℃、５％CO_2にて２４時間インキュベートした。

【０４３９】

同様の実験を、ＦＡＰ．ＴＦＰ及びＣＡＩＸ．ＴＦＰ構築物で行うことができる。

【０４４０】

Ｔ細胞の形質導入／トランスフェクション及び増殖

ＰＢＭＣの活性化後、細胞を３７℃、５％CO_2にて２４時間インキュベートした。レンチウイルスを氷上で解凍し、５×１０^{6}のレンチウイルスを、培地１ｍＬ当たり２μＬのＴｒａｎｓｐｌｕｓ（Ａｌｓｔｅｍ）（最終希釈１：５００）とともに１×１０^{6}細胞の各ウェルに加えた。細胞をさらに２４時間インキュベートし、その後ウイルスの添加を繰り返した。別の方法として、レンチウイルスを氷上で解凍し、それぞれのウイルスを５μｇ／ｍＬのポリブレン（Ｓｉｇｍａ）の存在下、５または５０ＭＯＩで加えた。細胞を室温で１００分間、１００ｇでスピノキュレートした。細胞をその後、３００ＩＵ／ｍＬのヒトＩＬ－２の継続的な存在下で６～１４日間成長させた（総インキュベート時間は、必要とされる最終的なＣＡＲ－Ｔ細胞の数による）。細胞濃度は、２～３日ごとに分析し、その際、培地を追加して細胞懸濁液を１×１０^{6}細胞／ｍＬに維持した。

【０４４１】
いくつかの例では、活性化されたＰＢＭＣをインビトロで転写された（ＩＶＴ）ｍＲＮＡでエレクトロポレートした（図１４）。ヒトＰＢＭＣをＤｙｎａビーズ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）で１対１の比で３日間、３００ＩＵ／ｍｌの組み換えヒトＩＬ－２（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍ）の存在下で刺激した。このビーズはエレクトロポレーションの前に除去した。これらの細胞を洗浄し、ＯＰＴＩ－ＭＥＭ培地（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）に２．５×１０^{7}細胞／ｍＬの濃度で再懸濁した。この細胞懸濁液２００μＬ（５×１０^{6}細胞）をギャップ２ｍｍのＥｌｅｃｔｒｏｐｏｒａｔｉｏｎ　Ｃｕｖｅｔｔｅｓ　Ｐｌｕｓ（商標）（Ｈａｒｖａｒｄ　Ａｐｐａｒａｔｕｓ　ＢＴＸ）に移し、氷上で予冷した。１０μｇのＩＶＴ　ＴＦＰ　ｍＲＮＡをこの細胞懸濁液に加えた。このｍＲＮＡ／細胞混合物をその後、ＥＣＭ８３０　Ｅｌｅｔｒｏ　Ｓｑｕａｒｅ　Ｗａｖｅ　Ｐｏｒａｔｏｒ（Ｈａｒｖａｒｄ　Ａｐｐａｒａｔｕｓ　ＢＴＸ）を用いて２００Ｖで２０ミリ秒間エレクトロポレートした。このエレクトロポレーションの直後、細胞を新たな細胞培養培地（ＡＩＭ　Ｖ　ＡｌｂｕＭＡＸ（ＢＳＡ）無血清培地＋５％ヒトＡＢ血清＋３００ＩＵ／ｍｌ　ＩＬ－２）に移し、３７℃でインキュベートした。
【０４４２】
同様の実験を、ＦＡＰ．ＴＦＰ及びＣＡＩＸ．ＴＦＰ構築物で行うことができる。
【０４４３】
細胞染色によるＴＦＰ発現の検証
レンチウイルスの形質導入またはｍＲＮＡのエレクトロポレーションに続いて、抗ＣＤ１９、抗ＦＡＰ、抗ＣＡＩＸ、及び抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲならびにＴＦＰの発現を、抗マウスＦａｂ抗体を用いてフローサイトメトリーにて確認し、マウス抗ＣＤ１９、抗ＦＡＰ、抗ＣＡＩＸ、または抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖを検出した。Ｔ細胞を３ｍＬの染色用緩衝液（ＰＢＳ、４％ＢＳＡ）にて３回洗浄し、ウェル当たり１×１０^{6}細胞でＰＢＳに再懸濁した。死細胞の排除のため、細胞をＬｉｖｅ　ｄｅａｄ　ａｑｕａ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）で３０分間氷上にてインキュベートした。細胞をＰＢＳで２回洗浄し、５０μＬの染色用緩衝液に再懸濁した。Ｆｃ受容体をブロックするため、１μＬの１：１００希釈正常ヤギＩｇＧ（ＬｉｆｅＴｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を各チューブに加え、氷中で１０分間インキュベートした。ＦＡＣＳ緩衝液１．０ｍＬを各チューブに加え、よく混合し、細胞を３００ｇで５分間の遠心分離によってペレットにした。ｓｃＦｖ　ＴＦＰの表面発現は、ビオチン標識ポリクローナルヤギ抗マウスＦ（ａｂ）$_{2}$抗体（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）と、アイソタイプコントロールとして働くビオチン標識正常ポリクローナルヤギＩｇＧ抗体（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）によって検出した。両抗体を１００μＬの反応体積中、１０μｇ／ｍＬで加えた。細胞をその後４℃で４５分間インキュベートし、１回洗浄し、ＦＡＣＳ緩衝液に再懸濁し、１００μＬの１：１０００希釈正常マウスＩｇＧを各チューブに加えることによって、正常マウスＩｇＧ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）でブロックした。細胞をその後氷上で１０分間インキュベートし、染色用緩衝液で洗浄し、１００μＬの染色用緩衝液に再懸濁した。これらの細胞をその後、１．０μＬのフィコエリトリン（ＰＥ）標識ストレプトアビジン（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）の添加によって染色し、ＡＰＣ抗ヒトＣＤ３抗体（クローンＵＣＨＴ１、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、ＰｅｒＣＰ／Ｃｙ５．５抗ヒトＣＤ８抗体（クローンＳＫ１、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、及びパシフィックブルー抗ヒトＣＤ４抗体（クローンＲＰＡ－Ｔ４、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を各チューブに加えた。フローサイトメトリーをＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａ（商標）Ｘ２０（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を用いて行い、データをＦＡＣＳ　ｄｉｖａソフトウェアを用いて取得し、ＦｌｏｗＪｏ（Ｔｒｅｅｓｔａｒ，Ｉｎｃ．オレゴン州アシュランド）で解析した。形質導入Ｔ細胞の２０％～４０％が抗ＣＤ１９　ＣＡＲ、抗ＣＤ１９　ＬＬ　ＴＦＰ、抗ＣＤ１９　ＳＬ　ＴＦＰ、または抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを発現し、ＣＡＲ及びＴＦＰ構築物の同等のレベルの形質導入ならびに表面発現を示した（図５～７）。
【０４４４】

同様の実験を、ＦＡＰ．ＴＦＰ及びＣＡＩＸ．ＴＦＰ構築物で行うことができる。

【０４４５】

実施例７：フローサイトメトリーによる細胞傷害性アッセイ

それぞれＣＤ１９、ＦＡＰ、ＣＡＩＸ、またはＢＣＭＡ標的に対して陽性または陰性のいずれかである標的細胞を蛍光染料であるカルボキシフルオレセイン二酢酸サクシニミジルエステル（ＣＦＳＥ）で標識した。これらの標的細胞を、未形質導入であるか、対照のＣＡＲ－Ｔ構築物で形質導入、またはＴＦＰで形質導入されたエフェクターＴ細胞と混合した。示されたインキュベーション時間の後、死対生ＣＦＳＥ標識標的細胞及び陰性対照の標的細胞の割合を各エフェクター／標的細胞培養に対してフローサイトメトリーで決定した。各Ｔ細胞＋標的細胞培養における標的細胞の生存率を、標的細胞のみを含むウェルに対して計算した。

【０４４６】

エフェクターＴ細胞の細胞傷害活性は、エフェクター及び標的細胞の共インキュベーション後のエフェクターＴ細胞を含まないまたは含む標的細胞における生存標的細胞の数を、フローサイトメトリーを用いて比較することによって測定した。ＣＤ１９　ＴＦＰまたはＣＡＲ－Ｔ細胞での実験において、標的細胞はＣＤ１９陽性Ｒａｊｉ　Ｂｕｒｋｉｔｔリンパ腫細胞（ＡＴＣＣ，ＣＣＬ－８６）であり、陰性対照として用いた細胞はＣＤ１９陰性Ｋ５６２細胞（ＡＴＣＣ，ＣＣＬ－２４３）であった。ＢＣＭＡ　ＴＦＰ　Ｔ細胞での実験では、標的細胞はＢＣＭＡ陽性ＲＰＭＩ－８２２６形質細胞腫／骨髄腫細胞（ＡＴＣＣ，ＣＣＬ－１５５）であり、陰性対照として用いた細胞は、ＢＣＭＡ陰性Ｒａｊｉ　Ｂｕｒｋｉｔｔリンパ腫細胞（ＡＴＣＣ，ＣＣＬ－８６）であった。

【０４４７】

標的細胞は、一度洗浄し、ＰＢＳに1×10^{6}細胞／ｍＬで再懸濁した。蛍光染料のカルボキシフルオレセイン二酢酸サクシニミジルエステル（ＣＦＳＥ）（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を濃度０．０３μＭでこの細胞懸濁液に加え、これらの細胞を室温で２０分間インキュベートした。反応体積の５倍の体積で完全細胞培養培地（ＲＰＭＩ－１６４０＋１０％ＨＩ－ＦＢＳ）をこの細胞懸濁液に加えることによって、この標識化反応を止め、室温でさらに２分間、これらの細胞をインキュベートした。これらの細胞を遠心分離によってペレットにし、細胞傷害性培地（フェノールレッドを含まないＲＰＭＩ１６４０（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）プラス５％ＡＢ血清（Ｇｅｍｉｎｉ　Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ）に2×10^{5}細胞／ｍＬで再懸濁した。ＣＦＳＥ標識標的細胞懸濁液（１０，０００細胞に相当）５０マイクロリットルを９６ウェルのＵ底プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）の各ウェルに加えた。

【０４４８】

ＢＣＭＡ　ＴＦＰ構築物で形質導入されたエフェクターＴ細胞を、陰性対照としての未形質導入Ｔ細胞と一緒に洗浄し、細胞傷害性培地に2×10^{6}細胞／ｍＬまたは1×10^{6}細胞／ｍＬで懸濁した。エフェクターＴ細胞懸濁液５０μＬ（１００，０００または５０，０００細胞に相当）を、播種した標的細胞に加え、総体積１００μＬ中、それぞれエフェクター対標的比１０対１または５対１にした。これらの培養物をその後混合し、沈降させ、３７℃、５％CO_2にて４時間インキュベートした。このインキュベートの直後、７ＡＡＤ（７－アミノアクチノマイシンＤ）（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ）をメーカーの推奨通りにこの培養細胞に加え、ＢＤ　Ｆｏｒｔｅｓｓａ　Ｘ－２０（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）でフローサイトメトリーを行った。フローサイトメトリーデータの解析は、ＦｌｏｗＪｏソフトウェア（ＴｒｅｅＳｔａｒ，Ｉｎｃ．）を用いて行った。

【０４４９】

ＲＰＭＩ－８２２６標的細胞の生存率は、エフェクターＴ細胞及び標的細胞を含む試料中の生存ＲＰＭＩ－８２２６標的細胞数（ＣＦＳＥ＋７－ＡＡＤ－）を、標的細胞のみを含む試料中の生存ＲＰＭＩ－８２２６標的細胞数（ＣＦＳＥ＋７－ＡＡＤ－）で除することによって計算した。エフェクター細胞の細胞傷害性は、ＲＰＭＩ－８２２６の殺傷率＝１００％－ＲＰＭＩ－８２２６細胞の生存率として計算した。

【０４５０】
上記の通り、抗ＣＤ１９－２８ζ　ＣＡＲ構築物で形質導入されたＴ細胞は、未形質導入であるか、または非ＣＤ１９特異的ＣＡＲ対照で形質導入したＴ細胞と比較した場合に、ＣＤ１９発現Ｒａｊｉ　Ｂ細胞に対して細胞傷害性を示した（図８）。しかしながら、抗ＣＤ１９－ＣＤ３εで形質導入されたＴ細胞は、調べたすべてのエフェクター：標的比において、抗ＣＤ１９　ＣＡＲ対照よりもＲａｊｉ標的に対して効果的な細胞傷害性を誘導した。抗ＣＤ１９－ＣＤ３γ　ＴＦＰもまた、５～１０：１のエフェクター：標的比において、抗ＣＤ１９　ＣＡＲで観察されるよりも高かった強い細胞傷害性を媒介した（図８）。多少の細胞傷害性が抗ＣＤ１９－ＴＣＲα及び抗ＣＤ１９－ＴＣＲβ　ＴＦＰで観察された。同様の結果が、代替ヒンジ領域で構築された抗ＣＤ１９　ＴＦＰで得られた。今度もまた、ＣＤ１９発現Ｒａｊｉ標的細胞に対する細胞傷害性は、抗ＣＤ１９－ＣＤ３εまたは抗ＣＤ１９－ＣＤ３γ　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞で、抗ＣＤ１９－ＣＡＲで形質導入されたＴ細胞よりも高かった。

【０４５１】
ＣＤ－１９に特異的なＴＦＰをコードするｍＲＮＡでエレクトロポレートされたＴ細胞もまた、ＣＤ１９発現Ｒａｊｉ細胞に対する強い細胞傷害性を示した。対照や抗ＣＤ１９ＴＲｕＣ構築物のいずれでもＣＤ１９陰性Ｋ５６２細胞の有意な殺傷が見られなかった一方、ＲａｊｉのＣＤ１９に特異的な殺傷が、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＳＬまたは抗ＣＤ１９－ＣＤ３γ　ＳＬ　ＴＲｕＣのいずれかで形質導入されたＴ細胞によって観察された（図１４）。

【０４５２】
Ｂ細胞成熟抗原（ＢＣＭＡ）に特異的なＴＦＰで形質導入されたＴ細胞も同様に、ＢＣＭＡ発現ＲＰＭＩ８２２６細胞に対する強い細胞傷害性を示した。抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３εまたは抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞は、ＢＣＭＡ発現ＲＰＭＩ８２２６標的細胞に対する細胞傷害性を効果的に媒介した。エフェクター対標的細胞比１０：１では、標的細胞のほとんど１００％が殺傷された（図９）。

【０４５３】
同様の実験を、ＦＡＰ．ＴＦＰ及びＣＡＩＸ．ＴＦＰ構築物で行うことができる。

【０４５４】
実施例８：リアルタイム細胞傷害性アッセイによる細胞傷害性
抗ＣＤ１９及び抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰはまた、リアルタイム細胞傷害性アッセイ（ＲＴＣＡ）形式でも抗ＣＤ１９　ＣＡＲより優れた細胞傷害性を示した。ＲＴＣＡアッセイは、特殊な９６ウェルプレートの各ウェルで、リアルタイムで接着性の標的細胞単層の電気インピーダンスを測定し、最終的な読み出しを細胞指数と呼ばれる値として示す。細胞指数の変化は、同時にインキュベートされたＴ細胞エフェクターによる標的細胞の殺傷の結果として、標的細胞単層の破壊を示す。従って、エフェクターＴ細胞の細胞傷害性は、標的細胞及びエフェクターＴ細胞の両方を含むウェルの細胞指数と標的細胞のみを含むウェルのそれとを比較した変化として評価することができる。

【０４５５】
ＲＴＣＡに対する標的細胞は、ＨｅＬａ細胞でＣＤ１９を発現する（ＣＤ１９－ＨｅＬａ）またはＢＣＭＡを発現する（ＢＣＭＡ－ＨｅＬａ）ものと、陰性対照として、親の、未形質導入ＨｅＬａ細胞である。完全長ヒトＣＤ１９またはＢＣＭＡをコードするＤＮＡは、ＧｅｎｅＡｒｔ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）によって合成し、ＥＦ１ａプロモーターの制御下で、選択マーカーとしてネオマイシンを担持するデュアルプロモーターのレンチウイルスベクターｐＣＤＨ５１４Ｂ（Ｓｙｓｔｅｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）の複数のクローニング部位に挿入した。ＣＤ１９またはＢＣＭＡをコードするベクターのいずれかを担持するレンチウイルスをその後パッケージした。ＨｅＬａ細胞をＣＤ１９またはＢＣＭＡレンチウイルスのいずれかで２４時間形質導入し、その後Ｇ４１８（１ｍｇ／ｍＬ）で選択した。この形質導入されたＣＤ１９－ＨｅｌａまたはＢＣＭＡ－ＨｅＬａによるＣＤ１９またはＢＣＭＡの発現は、抗ヒトＣＤ１９またはＢＣＭＡ抗体（ＢｉｏＬｅｇｅｎ

ｄ、クローン番号１９Ａ２；Ｍｉｌｔｅｎｙｉ、クローン番号ＲＥＡ３１５）でのＦＡＣＳ分析によって確認した。

【０４５６】

接着性標的細胞は、ＤＭＥＭ、１０％ＦＢＳ、１％抗生物質－抗真菌剤（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で培養した。ＲＴＣＡの調製のため、ＲＰＭＩ培地５０μＬをＥプレート（ＡＣＥＡ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ，カタログ番号：ＪＬ－１０－１５６０１０－１Ａ）の適切なウェルに加えた。このプレートをＲＴＣＡ ＭＰ機器（ＡＣＥＡ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ．）内に配置し、適切なプレートのレイアウト及びアッセイスケジュールを、メーカーの取扱説明書に記載の通り、ＲＴＣＡ２．０ソフトウェアに入力した。ベースラインの測定は、１００回の測定に対して１５分毎に行った。体積１００μＬ中1×10^{4}個の標的細胞をその後各アッセイウェルに加え、これらの細胞を１５分間沈殿させた。このプレートを読み取り機に戻し、読み取りを再開した。

【０４５７】

翌日、エフェクターＴ細胞を洗浄し、細胞傷害性培地（フェノールレッドを含まないＲＰＭＩ１６４０（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）プラス５％ＡＢ血清（Ｇｅｍｉｎｉ Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ；１００－３１８））に再懸濁した。このプレートをその後機器から取り出し、細胞傷害性培地（フェノールレッドを含まないＲＰＭＩ１６４０＋５％ＡＢ血清）に懸濁したエフェクターＴ細胞を１００，０００細胞または５０，０００細胞で各ウェルに加え、エフェクター対標的比をそれぞれ１０対１または５対１にした。このプレートをその後機器に戻した。測定を１００測定について２分ごとに行い、その後１０００測定について１５分ごとに行った。

【０４５８】

ＲＴＣＡアッセイにおいて、ＣＤ１９で形質導入されたＨｅＬａの殺傷は、エフェクター細胞の添加後、ＨｅＬａ単独または対照のＣＡＲ構築物で形質導入されたＴ細胞と共インキュベートされたＨｅＬａと比較して、細胞指数の時間依存性の減少によって示されるように、抗ＣＤ１９－２８ζ ＣＡＲで形質導入されたＴ細胞で形質導入されたＴ細胞によって観察された（図１１）。しかしながら、抗ＣＤ１９－ＣＤ３εまたは抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ ＴＦＰ発現Ｔ細胞による標的細胞の殺傷は、抗ＣＤ１９ ＣＡＲで観察されるよりも深く、迅速であった。例えば、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞の添加の４時間以内に、ＣＤ１９発現標的細胞の殺傷は基本的に完了した。他のＣＤ３及びＴＣＲ構築物を含み複数のＴＦＰ構築物で形質導入されたＴ細胞にはほとんどまたは全く殺傷が観察されなかった。同様の結果が、代替ヒンジ領域で構築された抗ＣＤ１９ ＴＦＰで得られた。ＣＤ１９で形質導入されたＨｅＬａ標的細胞に対する細胞傷害性は、この場合もやはり抗ＣＤ１９－ＣＤ３εまたは抗ＣＤ１９－ＣＤ３γ ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞で、抗ＣＤ１９－ＣＡＲで形質導入されたＴ細胞よりも大きかった。

【０４５９】

抗ＢＣＭＡ ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞もまた、ＢＣＭＡ発現ＲＰＭＩ８２２６細胞に対して強い細胞傷害性を示した。図９に示す通り、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３εまたは抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞は、ＢＣＭＡ発現ＲＰＭＩ８２２６標的細胞に対する細胞傷害性を効果的に媒介した。エフェクター対標的比１０：１で、ほとんど１００％の標的細胞が殺傷された（図１２）。

【０４６０】

ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞の細胞傷害活性は、形質導入に使用されたウイルス量（ＭＯＩ）に対して用量依存的であった。ＣＤ１９－ＨｅＬａの殺傷の増加は、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε ＴＦＰレンチウイルスのＭＯＩの増加とともに観察され、ＴＦＰの形質導入と細胞傷害活性の関係がさらに強まった（図１３）。

【０４６１】

同様の実験を、ＦＡＰ．ＴＦＰ及びＣＡＩＸ．ＴＦＰ構築物で行うことができる。

【０４６２】

実施例９：ＥＬＩＳＡによるＩＬ－２及びＩＦＮ－γ分泌

同族抗原を有する細胞の認識と関連するエフェクターＴ細胞活性化及び増殖の別の尺度は、インターロイキン－２（ＩＬ－２）及びインターフェロン－ガンマ（ＩＦＮ－γ）等のエフェクターサイトカインの産生である。

【０４６３】

ヒトＩＬ－２に対するＥＬＩＳＡアッセイ（カタログ番号ＥＨ２ＩＬ２、ＴｈｅｒｍｏＳｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）及びＩＦＮ－γに対するＥＬＩＳＡアッセイ　カタログ番号ＫＨＣ４０１２、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）をこれら製品の挿入物に記載の通りに行った。簡潔には、５０μＬの再構成された標準または試料を二連で９６ウェルプレートの各ウェルに加え、続いてビオチン化抗体試薬５０μＬを加えた。試料は、プレートを数回静かにタップすることによって混合した。その後標準も試料も含まないウェルのすべてに標準希釈剤を５０μＬ加え、このプレートを慎重に接着プレートカバーで密封し、その後室温（２０～２５℃）で３時間インキュベートした。このプレートカバーをその後外し、プレートの中を空にし、各ウェルに洗浄用緩衝液を満たした。この洗浄手順を合計３回繰り返し、このプレートを紙タオルや他の吸収材料にあてた。調製ストレプトアビジン－ＨＲＰ溶液１００μＬを各ウェルに加え、新しいプレートカバーを取り付けた後、室温で３０分間インキュベートした。このプレートカバーを再び外し、このプレートの内容物を廃棄し、ＴＭＢ基質溶液１００μＬを各ウェルに加えた。室温の暗所で３０分間反応させ、その後停止液１００μＬを各ウェルに加えた。このプレートを評価する。反応停止の３０分以内に、４５０ｎｍ及び５５０ｎｍに設定されたＥＬＩＳＡプレートリーダーで吸光度を測定した。４５０ｎｍの値から５５０ｎｍの値を引き、未知の試料のＩＬ－２量をＩＬ－２標準曲線から得られる値と比較して計算した。

【０４６４】

別の方法として、２プレックスアッセイをヒトサイトカイン磁気緩衝液試薬キット（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＬＨＢ０００１Ｍ）をヒトＩＬ－２磁気ビーズキット（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＬＨＣ００２１Ｍ）及びヒトＩＦＮ－γ磁気ビーズキット（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＬＨＣ４０３１Ｍ）とともに用いて行った。簡潔には、２５μＬのヒトＩＬ－２及びＩＦＮ－γ抗体ビーズを９６ウェルプレートの各ウェルに加え、以下のガイドラインを用いて洗浄した：１ｘ洗浄液２００μＬの２回洗浄、プレートを磁気９６ウェルプレートセパレータ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ａ１４１７９）に接触させて置き、ビーズを１分間沈殿させ、液体をデカントする。その後、インキュベーション緩衝液５０μＬをプレートの各ウェルに、二連で再構成標準１００μＬまたは三連で試料（細胞傷害性アッセイからの上清）５０μＬ及びアッセイ用希釈剤５０μＬを加え、合計体積を１５０μＬにした。試料を暗所にて、軌道半径３ｍｍのオービタルシェーカーを用いて、室温で２時間、６００ｒｐｍで混合した。同じ洗浄ガイドラインに従ってこのプレートを洗浄し、１００μＬのヒトＩＬ－２及びＩＦＮ－γビオチン化検出抗体を各ウェルに加えた。試料を暗所にて、軌道半径３ｍｍのオービタルシェーカーを用いて、室温で１時間、６００ｒｐｍで混合した。同じ洗浄ガイドラインに従ってこのプレートを洗浄し、ストレプトアビジン－Ｒ－フィコエリトリン１００μＬを各ウェルに加えた。試料を暗所にて、軌道半径３ｍｍのオービタルシェーカーを用いて、室温で３０分間、６００ｒｐｍで混合した。同じ洗浄ガイドラインを用いてこのプレートを３回洗浄し、液体をデカント後、試料を１ｘ洗浄液１５０μＬに再懸濁した。これらの試料を、軌道半径３ｍｍのオービタルシェーカーを用いて、６００ｒｐｍで３分間混合し、４℃で一夜保存した。その後、同じ洗浄ガイドラインに従ってこのプレートを洗浄し、これらの試料を１ｘ洗浄液１５０μＬに再懸濁した。

【０４６５】

このプレートをＭＡＧＰＩＸシステム（Ｌｕｍｉｎｅｘ）及びｘＰＯＮＥＮＴソフトウェアを用いて読み取った。このデータの解析は、標準曲線とサイトカイン濃度を与えるＭＩＬＬＩＰＬＥＸ　Ａｎａｌｙｓｔソフトウェアを用いて行った。

【０４６６】

図１５は、未形質導入または対照のＣＡＲで形質導入されたＴ細胞に対して、抗ＣＤ１９　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞が、内因的にＣＤ１９を発現するＲａｊｉ細胞または

ＣＤ１９で形質導入されたＨｅＬａ細胞のどちらかと共培養された場合に高レベルのＩＬ－２及びＩＦＮ－γの両方を産生することを示している。対照的に、ＣＤ１９陰性Ｋ５６２細胞または未形質導入ＨｅＬａ細胞との共培養では、ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞からほとんどサイトカインが分泌されなかった。先の細胞傷害性のデータと一致して、代替ヒンジ領域で構築された抗ＣＤ１９　ＴＦＰは、ＣＤ１９を有する標的細胞との共培養で同様の結果をもたらした（図１６）。

【０４６７】

先の細胞傷害性のデータと一致して、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε及び抗ＣＤ１９－ＣＤ３γは、ＴＦＰ構築物の中で最大レベルのＩＬ－２及びＩＦＮ－γを生じた（図１５及び１６）。しかしながら、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε及び抗ＣＤ１９－ＣＤ３γ　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞によるサイトカイン産生は、これらＴＦＰがより高レベルの標的細胞の殺傷を示している（図８及び１１）にもかかわらず、抗ＣＤ１９－２８ζ　ＣＡＲを発現するＴ細胞のそれと同程度であった。ＴＦＰはＣＡＲより効果的に標的細胞を殺傷するが、同程度またはより低いレベルの炎症性サイトカインを放出し得るという可能性は、高レベルのこれらサイトカインが、養子ＣＡＲ－Ｔ療法に対する用量制限毒性と関連していることから、ＣＡＲと比べてＴＦＰの潜在的な利点を表している。

【０４６８】

抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３εまたは抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ　ＴＦＰで形質導入されたＴ細胞もまた、ＢＣＭＡを発現しない対照のＨｅＬａ細胞ではなく、ＢＣＭＡ－ＨｅＬａとの共培養でＩＬ－２及びＩＦＮ－γを産生した（図１７）。

【０４６９】

同様の実験を、ＦＡＰ．ＴＦＰ及びＣＡＩＸ．ＴＦＰ構築物で行うことができる。

【０４７０】

実施例１０：フローサイトメトリーによるＣＤ１０７ａの曝露

Ｔ細胞活性化のさらなるアッセイは、休止細胞における細胞質細胞溶解性顆粒の膜に位置するリソソーム膜タンパク質（ＬＡＭＰ－１）であるＣＤ１０７ａの表面発現である。エフェクターＴ細胞の脱顆粒、すなわち、細胞溶解活性の必要条件は、活性化誘導の顆粒エキソサイトーシス後、ＣＤ１０７ａの細胞表面への動員をもたらす。従って、ＣＤ１０７ａの曝露は、細胞傷害性と密接に相関するサイトカイン産生に加えて、Ｔ細胞活性化のさらなる尺度を与える。

【０４７１】

標的及びエフェクター細胞は別々に洗浄し、細胞傷害性培地（ＲＰＭＩ＋５％ヒトＡＢ血清＋１％抗生物質抗真菌剤）に再懸濁した。このアッセイは、Ｕ底９６ウェルプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）にて、最終体積１００μＬ中、０．５μＬ／ウェルのＰＥ／Ｃｙ７標識抗ヒトＣＤ１０７ａ（ＬＡＭＰ－１）抗体（クローンＨ４Ａ３、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）の存在下、2×10^{5}個のエフェクター細胞と2×10^{5}個の標的細胞を混合することによって行った。これらの培養物をその後３７℃、５％CO_2にて１時間インキュベートした。このインキュベーションの直後、１：１０希釈の分泌阻害剤モネンシン（１０００ｘ溶液、ＢＤ　ＧｏｌｇｉＳｔｏｐ（商標））１０μＬを、細胞を乱さないように慎重に各ウェルに加えた。このプレートをその後３７℃、５％CO_2にてさらに２．５時間インキュベートした。このインキュベーションに続いて、これらの細胞をＡＰＣ抗ヒトＣＤ３抗体（クローンＵＣＨＴ１、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、ＰｅｒＣＰ／Ｃｙ５．５抗ヒトＣＤ８抗体（クローンＳＫ１、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、及びパシフィックブルー抗ヒトＣＤ４抗体（クローンＲＰＡ－Ｔ４、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で染色し、その後３７℃、５％CO_2にて３０分間インキュベートした。これらの細胞をその後ＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄し、（分析に先立ってＦＡＣＳ緩衝液１００μＬ及びＩＣ固定緩衝液１００ｕｌに再懸濁した。

【０４７２】

Ｔ細胞表面でのＣＤ１０７ａの曝露は、フローサイトメトリーによって検出した。フローサイトメトリーは、ＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａ（商標）Ｘ２０（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎ

ｃｅｓ）で行い、フローサイトメトリーデータの解析は、ＦｌｏｗＪｏソフトウェア（Ｔｒｅｅｓｔａｒ，Ｉｎｃ．オレゴン州アシュランド）を用いて行った。ＣＤ１０７＋ｖｅであるＣＤ３ゲート内のＣＤ８＋エフェクター細胞の割合を、各エフェクター／標的細胞培養について測定した。

【０４７３】

先の細胞傷害性及びサイトカインのデータと一致して、ＲａｊｉまたはＮａｌｍ－６細胞等のＣＤ－１９発現標的細胞と抗ＣＤ１９－２８ζ　ＣＡＲで形質導入されたエフェクターＴ細胞の共培養は、ＣＤ１９－ｖｅ標的細胞とともにインキュベートしたエフェクターと比較して、表面ＣＤ１０７ａ発現の３～５倍の増加を誘導した（図１８）。同じ条件下で比較すると、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＬＬまたは抗ＣＤ１９－ＣＤ３γ　ＬＬ　ＴＦＰ発現エフェクターは、ＣＤ１０７ａ発現の５～７倍の誘導を呈した。代替ヒンジ領域で構築された抗ＣＤ１９　ＴＦＰはＣＤ１９を有する標的細胞との共培養で同様の結果をもたらした。

【０４７４】

未形質導入のＴ細胞と比較して、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３εまたは抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γＴＦＰで形質導入された細胞も同様に、ＢＣＭＡ＋ｖｅ　ＲＰＭＩ８２２６細胞との共培養でＣＤ１０７ａの表面発現の増加を呈した（図１９）。これらの結果は、ＴＦＰで形質導入されたエフェクターＴ細胞が、それらの同族抗原を発現する標的細胞への曝露で活性化し、脱顆粒することを示している。

【０４７５】

同様の実験を、ＦＡＰ．ＴＦＰ及びＣＡＩＸ．ＴＦＰ構築物で行うことができる。

【０４７６】

実施例１１：マウスでのインビボ効力研究

抗ＣＤ１９　ＴＦＰで形質導入されたエフェクターＴ細胞のインビボでの抗腫瘍反応を達成する能力を評価するために、抗ＣＤ１９－２８ζ　ＣＡＲ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＬＬ　ＴＦＰ、または抗ＣＤ１９－ＣＤ３γ　ＬＬ　ＴＦＰのいずれかで形質導入されたエフェクターＴ細胞を、前もってＣＤ１９＋ＲａｊｉまたはＮａｌｍ－６ヒト白血病細胞株を接種したＮＯＤ／ＳＣＩＤ／ＩＬ－２Ｒγ－／－（ＮＳＧ－ＪＡＸ）マウスに養子移入した。

【０４７７】

本研究の開始前に少なくとも６週齢の雌のＮＯＤ／ＳＣＩＤ／ＩＬ－２Ｒγ－／－（ＮＳＧ－ＪＡＸ）マウスをＪａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ（ストック番号００５５５７）から入手し、実験的使用の前に３日間、順化させた。接種用のＲａｊｉ及びＮａｌｍ－６ヒト白血病細胞株は、対数期の培養に維持し、その後採取し、トリパンブルーで計数して生細胞数を測定した。腫瘍投与の当日、これらの細胞を３００ｇで５分間遠心分離し、予め温めた滅菌ＰＢＳに、1×10^{6}細胞／１００μＬ（Ｎａｌｍ－６）または5×10^{5}細胞／１００μＬ（Ｒａｊｉ）のいずれかで再懸濁した。未形質導入または抗ＣＤ１９－２８ζ　ＣＡＲ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＬＬ　ＴＦＰ、または抗ＣＤ３γ　ＬＬＴＦＰ構築物で形質導入された養子移入用のＴ細胞を調製した。本研究の０日目、実験群あたり１０匹の動物に5×10^{5}個のＲａｊｉまたは1×10^{6}個のＮａｌｍ－６細胞のいずれかを静脈内投与した。三日後、滅菌ＰＢＳ１００μＬ中の示されたエフェクターＴ細胞集団5×10^{6}個を各動物に対して静脈内に移入した。これら動物における詳細な臨床観察を安楽死させるまで毎日記録した。死亡または安楽死まで、すべての動物に対して毎週体重測定を行った。被験物質及び対照物質の養子移入の３５日後にすべての動物を安楽死させた。本研究中、瀕死と思われたすべての動物は、獣医師と協議の上、本研究の責任者の判断で安楽死させた。

【０４７８】

未形質導入Ｔ細胞と比較して、抗ＣＤ１９－２８ζ　ＣＡＲ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＬＬ　ＴＦＰ、または抗ＣＤ１９－ＣＤ３γ　ＬＬ　ＴＦＰのいずれかで形質導入されたＴ細胞の養子移入は、Ｒａｊｉ（図２０Ａ）及びＮａｌｍ６（図２０Ｂ）の両方の担腫瘍

マウスの生存を延長させ、抗ＣＤ１９　ＣＡＲ及びＴＦＰで形質導入されたＴ細胞の両方がこれらマウスモデルにおける対応する生存の延長で、標的細胞の殺傷を媒介することが可能であることを示した。集合的に、これらのデータは、ＴＦＰが、インビトロ及びインビボで、第一世代のＣＡＲより優れた抗原特異的な殺傷を示すキメラ受容体を作り出すための代替的なプラットフォームを表すということを示している。

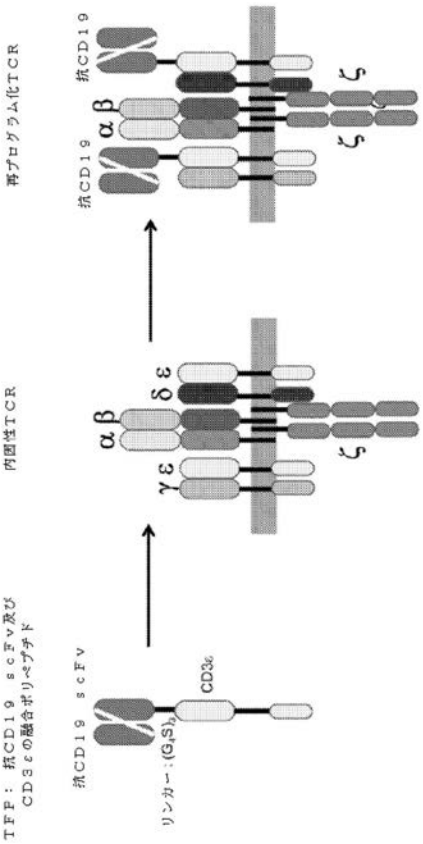
【０４７９】

同様の実験を、ＦＡＰ．ＴＦＰ及びＣＡＩＸ．ＴＦＰ構築物で行うことができる。

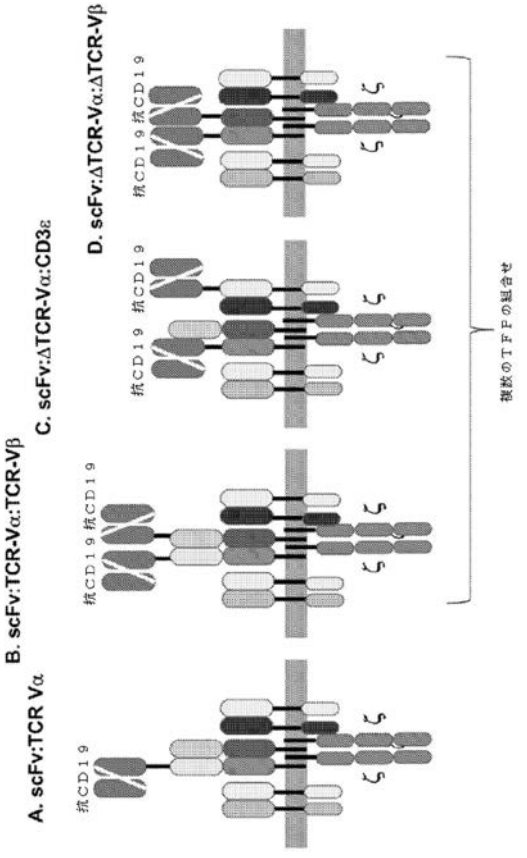
【０４８０】

本発明の好ましい実施形態を本明細書に示し説明してきたが、当業者には、かかる実施形態が例としてのみ提供されることが明らかであろう。多くの変形、変更、及び置換は、本発明から逸脱することなく当業者には直ちに想起されるであろう。本明細書に記載される本発明の実施形態に対する様々な代替が、本発明の実践において採用される場合があることを理解されたい。以下の特許請求の範囲は、本発明の範囲を決定すること、ならびにこれら特許請求の範囲内の方法及び構造ならびにそれらの同等物がその適用を受けていることが意図される。

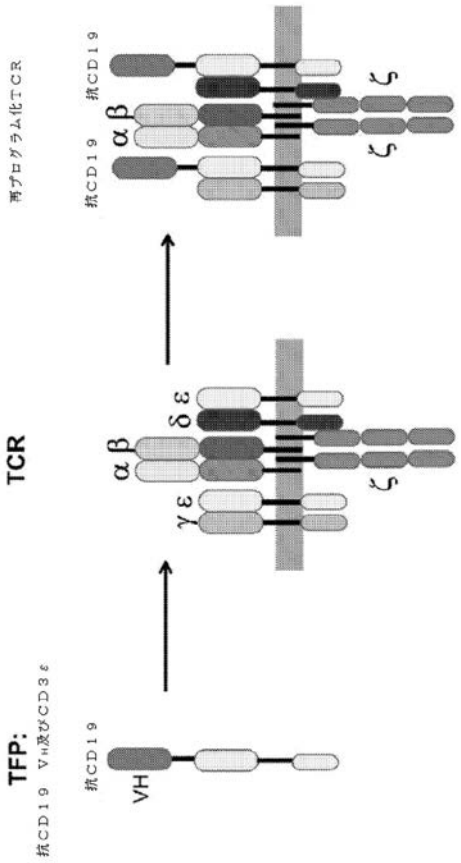
【図１】



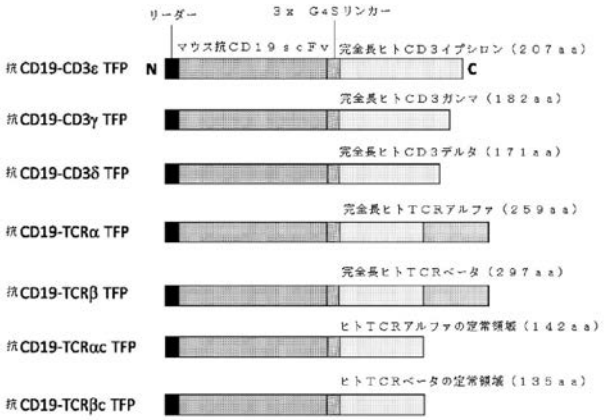
【図２】



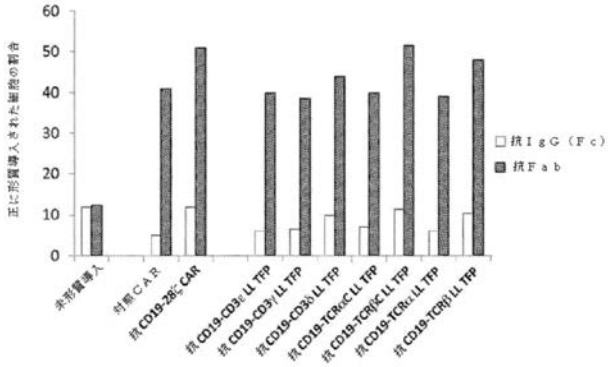
【図３】


再プログラム化TCR
抗CD19
抗CD19
TCR
TFP:
抗CD19 VH及びCD3ε
抗CD19
VH

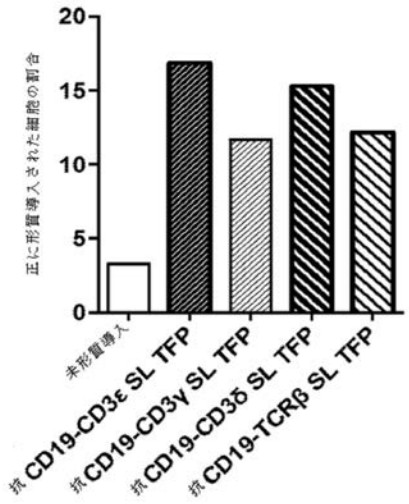
【図４】


リーダー
3x G4Sリンカー
マウス抗CD19 scFv
抗CD19-CD3ε TFP
N
C
完全長ヒトCD3イプシロン（207aa）
抗CD19-CD3γ TFP
完全長ヒトCD3ガンマ（182aa）
抗CD19-CD3δ TFP
完全長ヒトCD3デルタ（171aa）
抗CD19-TCRα TFP
完全長ヒトTCRアルファ（259aa）
抗CD19-TCRβ TFP
完全長ヒトTCRベータ（297aa）
抗CD19-TCRαc TFP
ヒトTCRアルファの定常領域（142aa）
抗CD19-TCRβc TFP
ヒトTCRベータの定常領域（135aa）

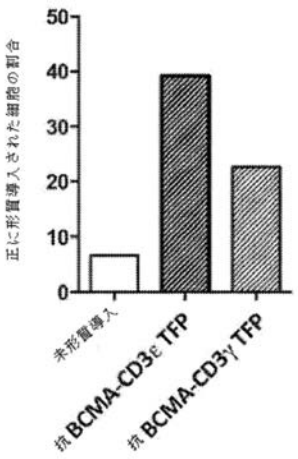
【図５】


正に形質導入された細胞の割合
60
50
40
30
20
10
0
抗IgG（Fc）
抗Fab
未形質導入
対照CAR
抗CD19-28ζ CAR
抗CD19-CD3ε LL TFP
抗CD19-CD3γ LL TFP
抗CD19-CD3δ LL TFP
抗CD19-TCRαc LL TFP
抗CD19-TCRβc LL TFP
抗CD19-TCRα LL TFP
抗CD19-TCRβ LL TFP

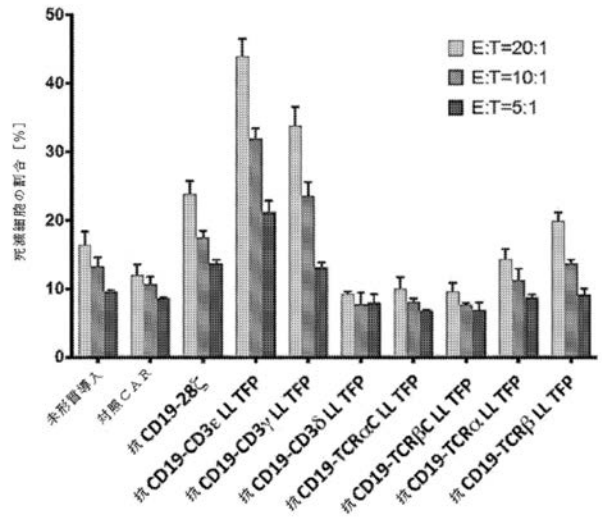
【図６】


正に形質導入された細胞の割合
20
15
10
5
0
未形質導入
抗CD19-CD3ε SL TFP
抗CD19-CD3γ SL TFP
抗CD19-CD3δ SL TFP
抗CD19-TCRβ SL TFP

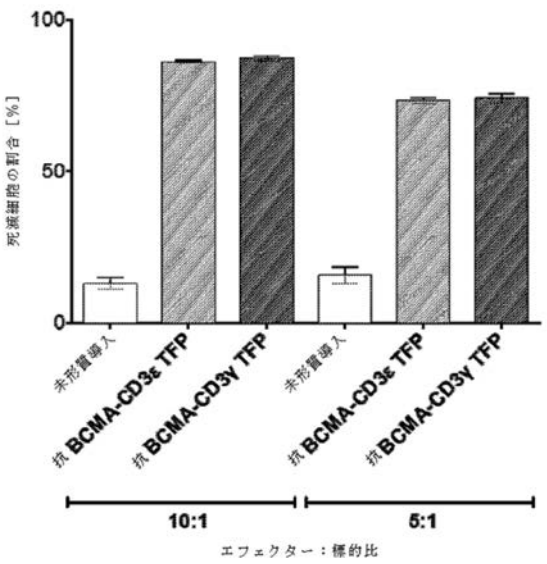
【図７】


正に形質導入された細胞の割合
50
40
30
20
10
0
未形質導入
抗BCMA-CD3ε TFP
抗BCMA-CD3γ TFP

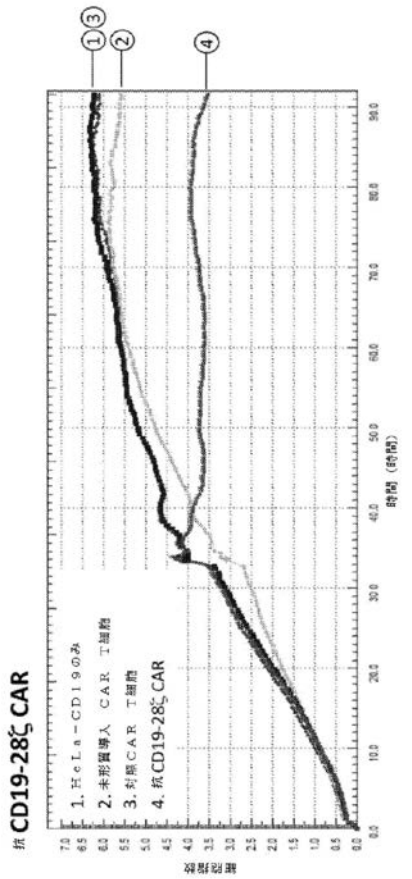
【図８】



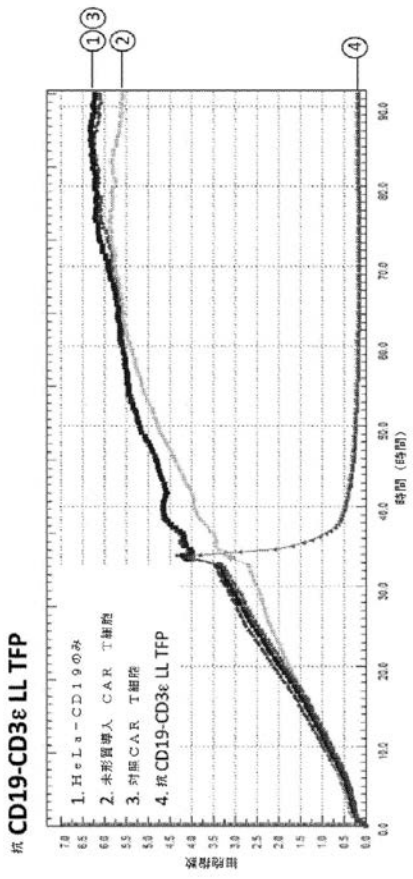
【図９】



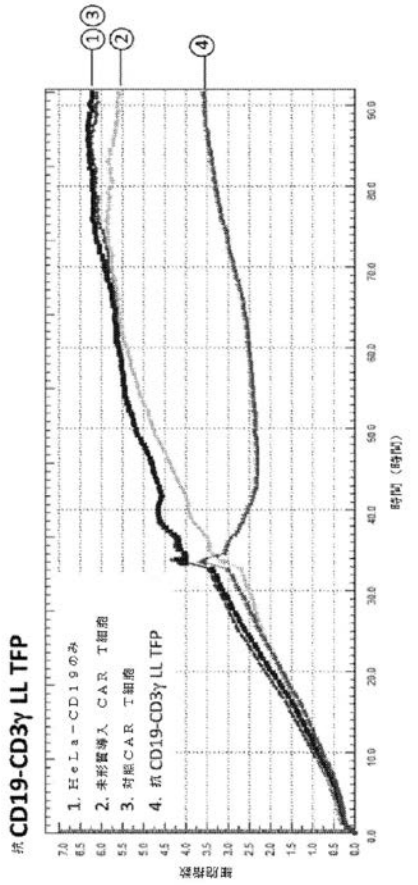
【図１０Ａ】



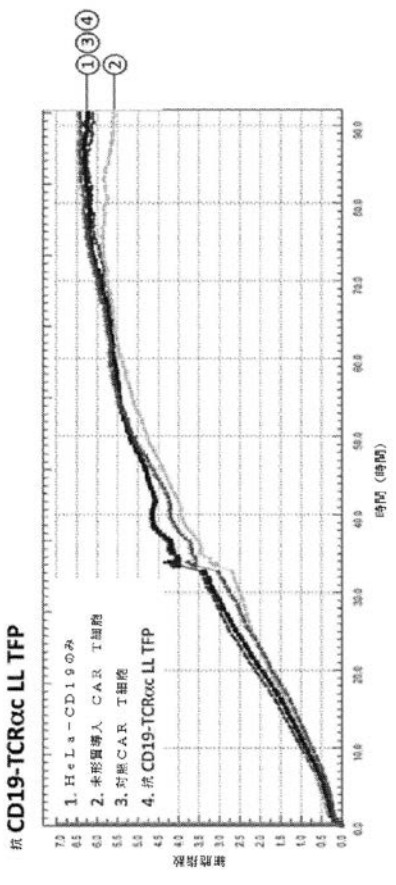
【図１０Ｂ】



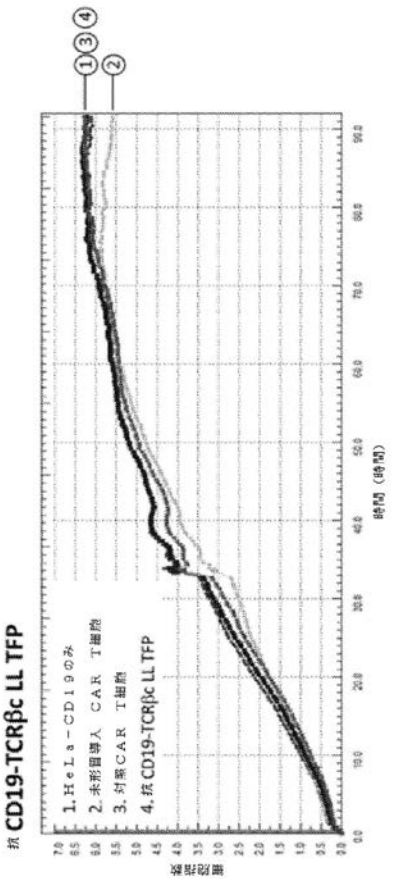
【図１０Ｃ】



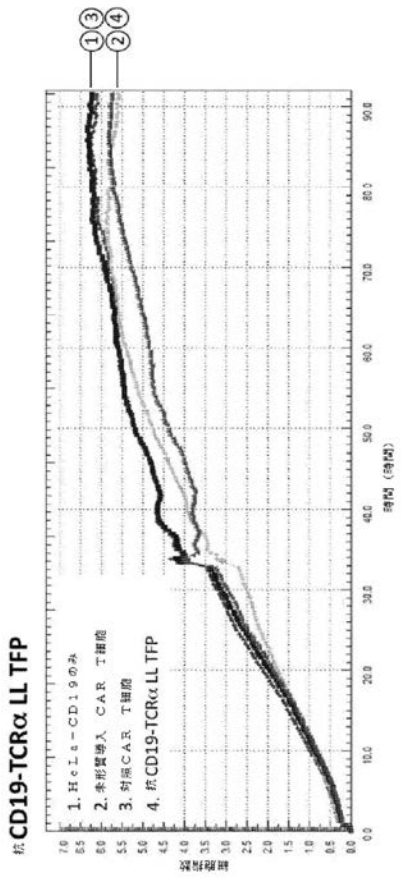
【図１０Ｄ】



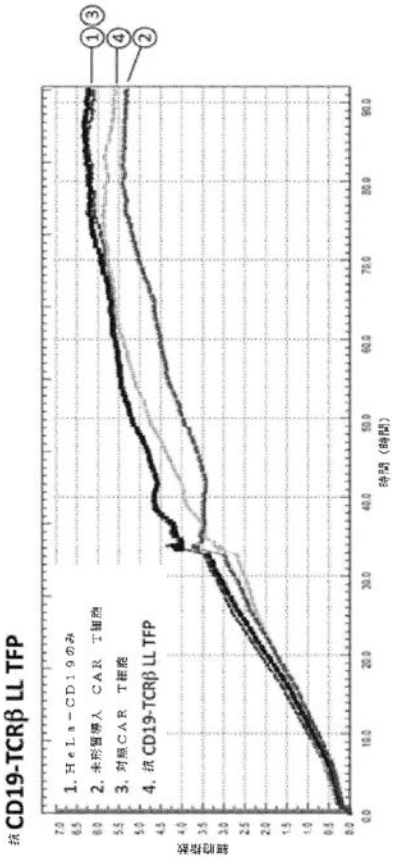
【図１０Ｅ】



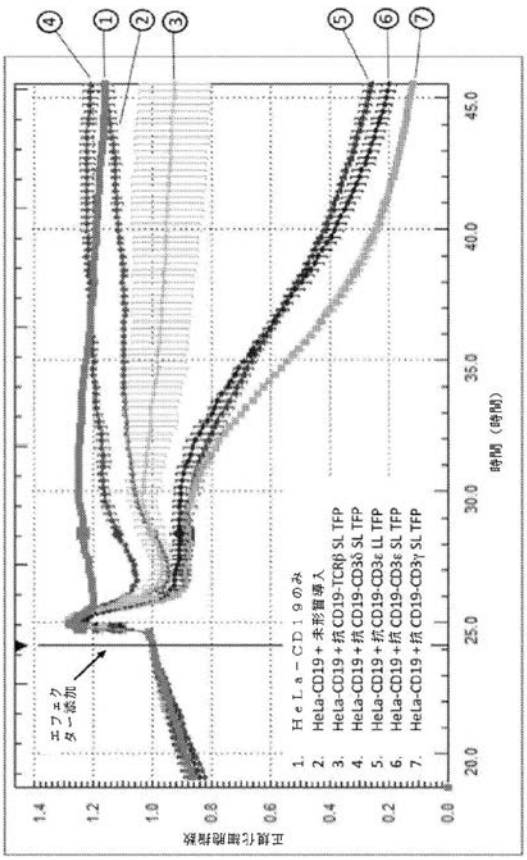
【図１０Ｆ】



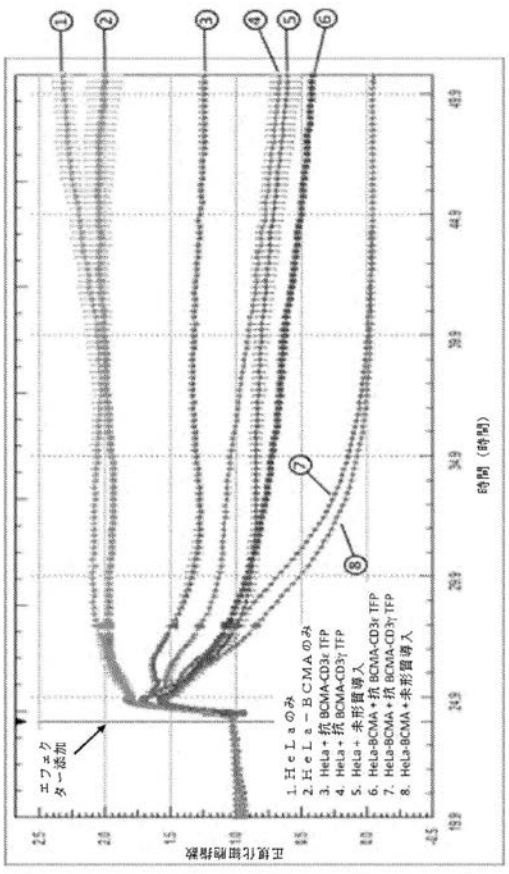
【図１０Ｇ】



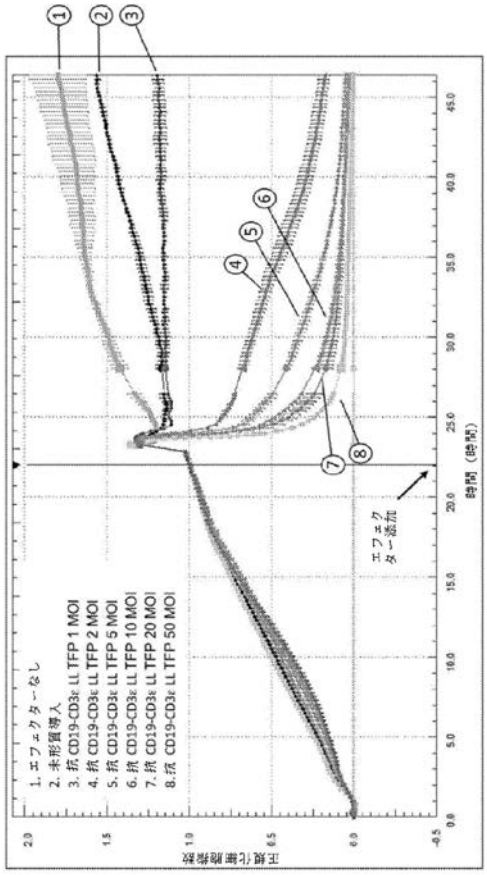
【図１１】



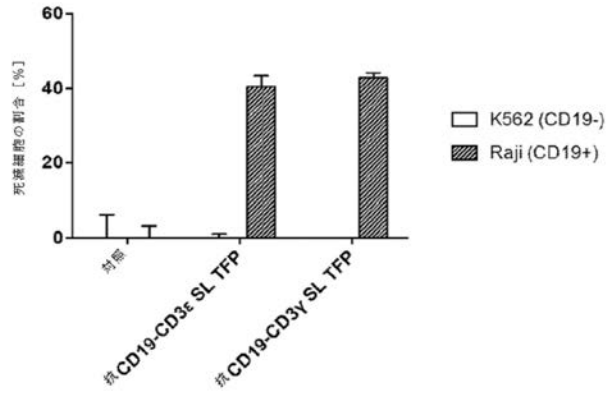
【図１２】



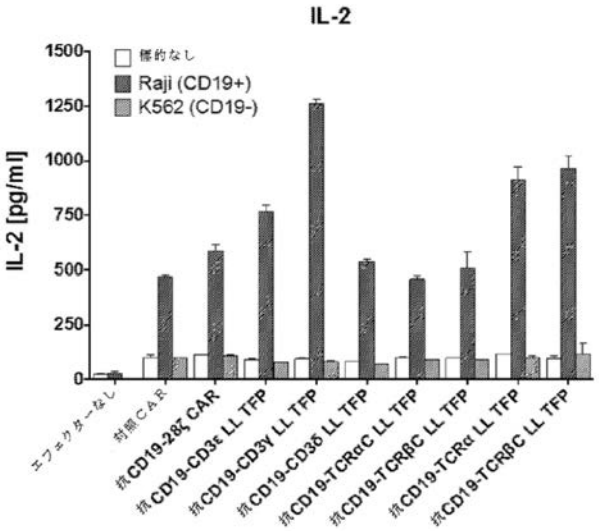
【図１３】



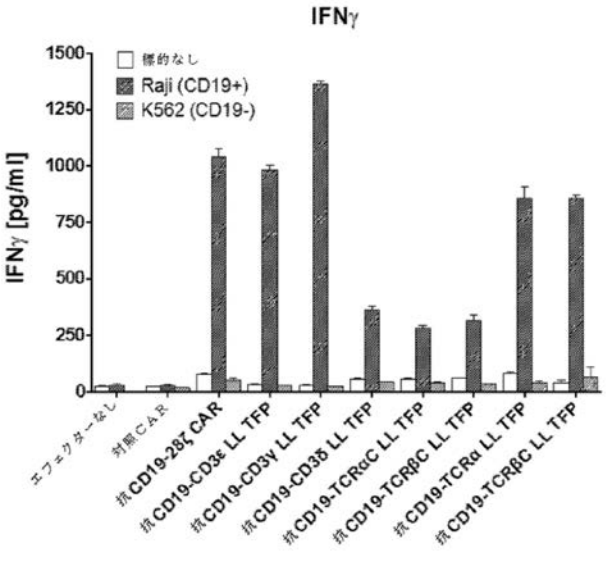
【図１４】



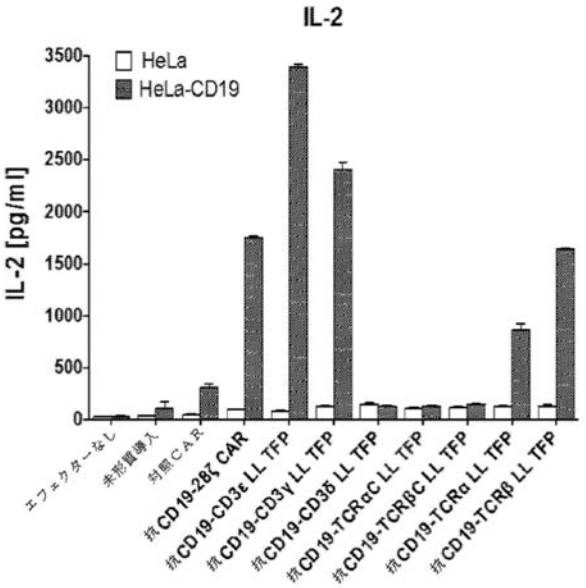
【図１５Ａ】



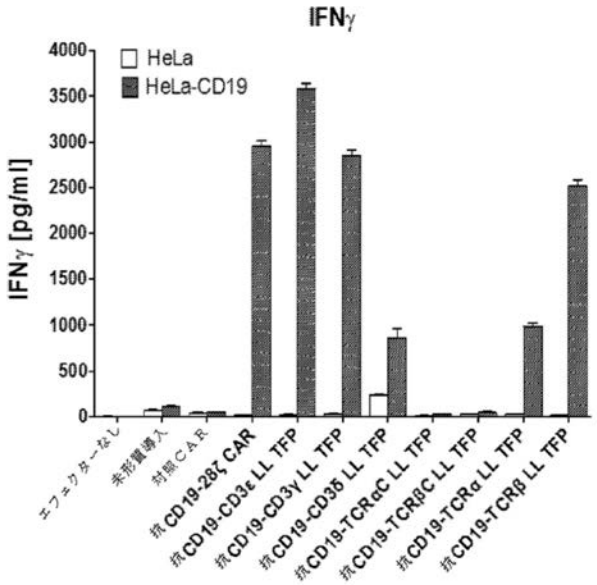
【図１５Ｂ】



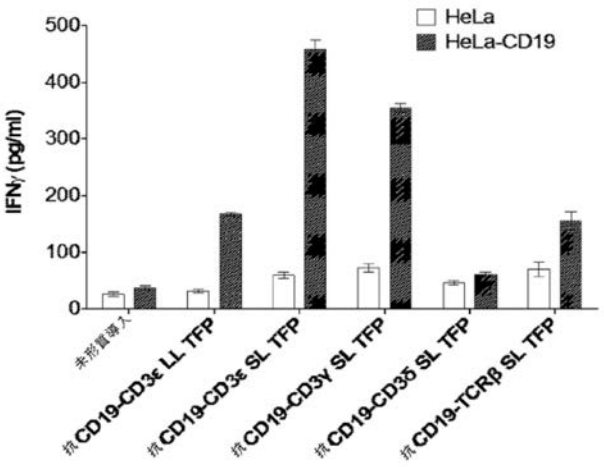
【図１５Ｃ】



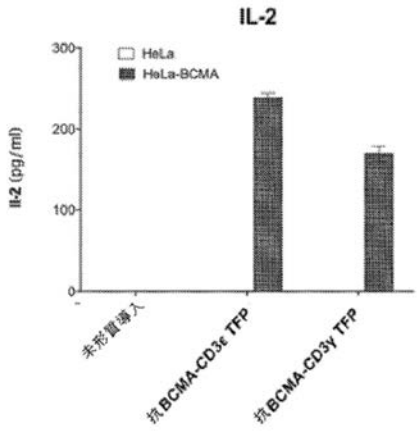
【図１５Ｄ】



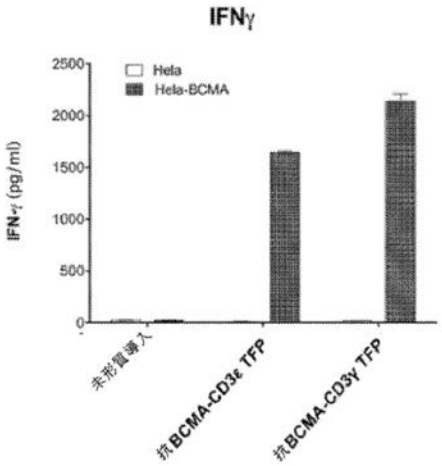
【図１６】



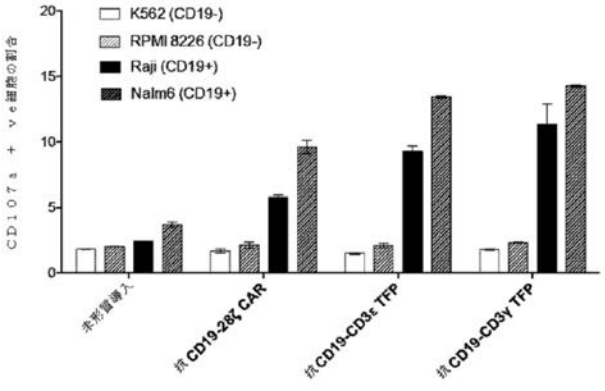
【図１７Ａ】



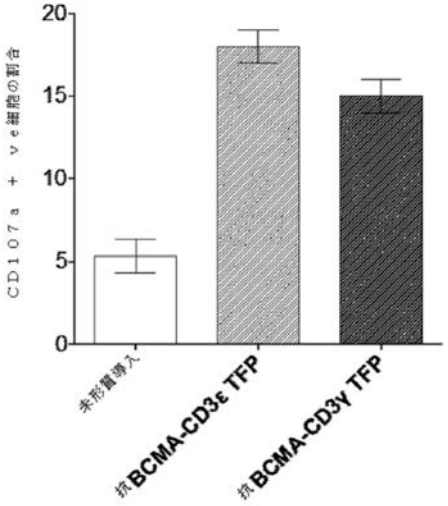
【図１７Ｂ】



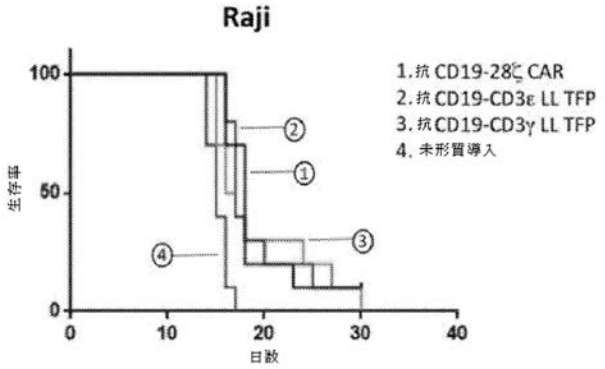
【図１８】



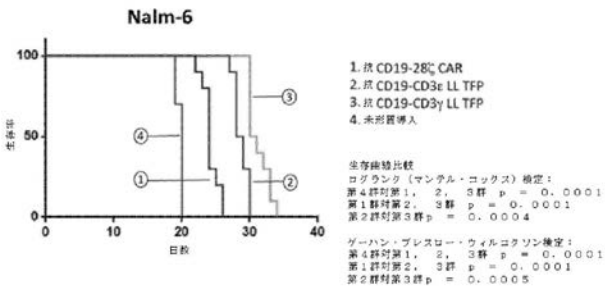
【図１９】



【図２０Ａ】



【図２０Ｂ】



【配列表】
2018515123000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 16/33146

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:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (1)) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 16/33148

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.: 9-39, 45-50, 56-83, 89, 94-95, 97-112
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:

------please see extra sheet-------

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.:
1 and 6 limited to CD3 epsilon and anti-CD19 binding domain

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 16/33146

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - C07K 14/705, C07K 14/725, C07K 19/00 (2016.01)
CPC - C07K 14/7051, A61K 38/00, C07K 2319/33
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)
IPC(8) - C07K 14/705, C07K 14/725, C07K 19/00 (2016.01)
CPC - C07K 14/7051, A61K 38/00, C07K 2319/33

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched (keyword limited; terms below)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
PatBase, Google Patents, Google Scholar
Search terms: T-cell receptor, T cell receptor, T lymphocyte receptor, TCR, fusion, CD3, CD3-epsilon, CD3.epsilon., CD3 epsilon, CD19, antibody, antigen, B-cell maturation antigen, BCMA, intracellular, extracelluar, cytoplasmic, human, tumor, cancer, malignancy

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2011/0189141 A1 (Kieback et al.) 4 August 2011 (04.08.2011) para [0002], [0010], [0023], [0024], [0040], [0056], [0068], [0075]	1, 6
Y	US 2013/0323247 A1 (Zugmaier et al.) 5 December 2013 (05.12.2013) para [0022], [0035]	1, 6

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"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	Date of mailing of the international search report
12 October 2016	20 OCT 2016
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 16/33146

Continuation of: Box No III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I+: Claims 1-8, drawn to an isolated recombinant nucleic acid molecule encoding a T-cell receptor (TCR) fusion protein (TFP). The nucleic acid molecule encoding a TFP will be searched to the extent that the TCR intracellular domain comprises a stimulatory domain from an intracellular signaling domain of CD3 epsilon (claim 1), and the human or humanized antibody domain comprises an anti -CD19 binding domain (claim 6). It is believed that claims 1 and 6 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass a stimulatory domain from an intracellular signaling domain of CD3 epsilon, and a human or humanized antibody domain comprises an anti-CD19 binding domain. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected a nucleic acid molecule encoding a TFP. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be an isolated recombinant nucleic acid molecule encoding a TFP, to the extent that: the TCR intracellular domain comprises a stimulatory domain from an intracellular signaling domain of CD3 delta (claim 2), and the human or humanized antibody domain comprises an anti-B-cell maturation antigen (BCMA) binding domain (claim 7), i.e. claims 2 and 7.

Group II+: Claims 40-44, 51-55, 85-88, 90-93, drawn to an isolated recombinant TFP molecule or protein complex comprising a TFP molecule, wherein the TFP comprises a TCR subunit and a human or humanized antibody domain comprising an antigen binding domain. Group II+ will be searched upon payment of additional fees. The TFP molecule or protein complex may be searched for an additional fee and election as such, for example, to the extent that the antigen binding domain encompasses an anti-CD19 binding domain, i.e. claims 40-44, 85-88. Additional isolated recombinant TFP molecule will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected isolated recombinant TFP molecule(s). Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. Another exemplary election would be a TFP molecule or protein complex wherein the antigen binding domain encompasses an anti-B-cell maturation antigen (BCMA) binding domain, i.e. claims 51-55, 90-93.

Group III: Claims 84, 96, drawn to a human CD8+ or CD4+ T-cell, or population of said cells, the cells comprising at least two TFP molecules, the TFP molecules comprising a human or humanized anti-CD19 or anti-BCMA binding domain, a TCR extracellular domain, a transmembrane domain, and an intracellular domain, wherein the TFP molecule is capable of functionally interacting with an endogenous TCR complex and/or at least one endogenous TCR polypeptide in, at and/or on the surface of the human CD8+ or CD4+ T-cell.

The inventions listed as Groups I+, II+, and III do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features

Group I+ requires a nucleic acid composition, not required by Groups II+ and III. The technical feature of each of the inventions listed as Group I+ is the specific nucleic acid encoding a TFP comprising a specific intracellular signaling domain and antigen binding domain recited therein. Each invention requires a specific nucleic acid encoding a TFP, not required by any of the other inventions.

Group II+ requires a protein or protein complex composition, not required by Groups I+ and III. The technical feature of each of the inventions listed as Group II+ is the specific TFP protein or complex recited therein. Each invention requires a TFP protein or complex, not required by any of the other inventions

Group III requires a composition comprising human CD8+ or CD4+ T-cell, or population of said cells, not required by Groups I+ and II+.

Common Technical Features

A feature shared by Groups I+, II+, and III is a T-cell receptor (TCR) fusion protein (TFP) comprising a human or humanized antigen binding domain, a TCR extracellular domain, a transmembrane domain, and an intracellular domain. This same feature is also the shared feature of the inventions listed as Group II+.

The feature shared by Groups I+ is an isolated recombinant nucleic acid molecule encoding a T-cell receptor (TCR) fusion protein (TFP) comprising
(a) a TCR subunit comprising
(i) at least a portion of a TCR extracellular domain, and
(ii) a TCR intracellular domain comprising a stimulatory domain from an intracellular signaling domain; and
(b) a human or humanized antibody domain comprising an antigen binding domain;
wherein the TCR subunit and the antibody domain are operatively linked, and
wherein the TFP incorporates into a TCR when expressed in a T -cell.

-------please see continuation on next extra sheet------

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 16/33146

Continuation of: Box No III Observations where unity of invention is lacking

However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art, because the shared technical features are taught by US 2011/0189141 A1 to Kieback et al. (hereinafter 'Kieback').

Kieback discloses a T-cell receptor (TCR) fusion protein (TFP) (para [0002] "The present invention is directed to a functional T cell receptor (TCR) fusion protein (TFP)") comprising
an antigen binding domain (para [0023] "the present invention provides a functional TCR alpha and/or beta chain fusion protein ... containing at least one amino acid (or peptide) sequence recognizing and binding an antigen"; para [0040] "In a preferred embodiment, the one or more antigen binding amino acid (peptide) sequences are added to the N-terminus of the alpha and/or beta chain"),
a TCR extracellular domain (para [0023] "A TCR of the present invention may comprise only one of the alpha-chain or beta-chain sequences as defined herein (in combination with a further alpha-chain or beta-chain, respectively) or may comprise both chains"; para [0003] "TCR's ... usually consist of two subunits, namely the alpha- and beta-subunits. These possess ... a short cytoplasmic tail at the C -terminal end."),
a transmembrane domain (para [0023]; para [0003] "a transmembrane/cell membrane-spanning region"), and
an intracellular domain (para [0023]; para [0003] "one N-terminal immunoglobulin (Ig)-variable (V) domain, one Ig-constant (C) domain").
Kieback does not specifically teach that the antigen binding domain is human or humanized. However, Kieback does teach that the composition can be used in pharmaceutical compositions intended for use in treating a patient (para [0075]). Given that the composition is intended for use in a patient, which is usually a human, one of ordinary skill in the art would have found it obvious to use human or humanized antigen binding domains so that the composition may be used safely in a human patient.

Kieback discloses an isolated recombinant nucleic acid molecule encoding a T-cell receptor (TCR) fusion protein (TFP) (para [0002] "The present invention is directed to a functional T cell receptor (TCR) fusion protein (TFP) .... an isolated nucleic acid molecule encoding the same"; para [0056]-[0059]) comprising
(a) a TCR subunit (para [0023] "A TCR of the present invention may comprise only one of the alpha-chain or beta-chain sequences as defined herein (in combination with a further alpha-chain or beta-chain, respectively) or may comprise both chains") comprising
(i) at least a portion of a TCR extracellular domain (para [0023] "A TCR of the present invention may comprise only one of the alpha-chain or beta-chain sequences as defined herein (in combination with a further a-chain or beta-chain, respectively) or may comprise both chains"; para [0003] "TCR's ... usually consist of two subunits, namely the alpha- and beta-subunits. These possess ... a short cytoplasmic tail at the C-terminal end."), and
(ii) a TCR intracellular domain comprising a stimulatory domain from an intracellular signaling domain of TCR alpha and/or TCR beta (para [0023] "A TCR of the present invention may comprise only one of the alpha-chain or beta-chain sequences as defined herein (in combination with a further alpha-chain or beta-chain, respectively) or may comprise both chains"; para [0003] "one N-terminal immunoglobulin (Ig)-variable (V) domain, one Ig-constant (C) domain"; para [0024] "In the context of the present invention, a "functional" T-cell receptor (TCR) .alpha.- and/or .beta.-chain fusion protein shall mean an .alpha.- and/or .beta.-chain fusion protein that, ... maintains at least substantial biological activity in the fusion protein. ... both chains remain able to form a T-cell receptor .... which exerts its biological function ... and/or functional signal transduction upon peptide activation", ability to have signal transduction activity indicates intracellular signaling domains of the TCR are included and are functional); and
(b) a domain comprising an antigen binding domain (para [0023] "the present invention provides a functional TCR alpha and/or beta chain fusion protein ... containing at least one amino acid (or peptide) sequence recognizing and binding an antigen"; para [0040] "In a preferred embodiment, the one or more antigen binding amino acid (peptide) sequences are added to the N-terminus of the alpha and/or beta chain");
wherein the TCR subunit and the antigen binding domain are operatively linked (para [0040] "In a preferred embodiment, the one or more antigen binding amino acid (peptide) sequences are added to the N-terminus of the alpha and/or beta chain [of the TCR subunit]"), and
wherein the TFP incorporates into a TCR when expressed in a T -cell (para [0068] "expressing a nucleic acid molecule encoding a fusion protein according to the present invention in a host cell of the invention, and purifying said fusion protein or said TCR from said host cell"; para [0060] "a host cell transfected with a vector or a nucleic acid as defined above"; para [0061] "The host cell preferably is a T-cell ... The step of cloning the T cell receptor (TCR) of the isolated T cells and/or expressing the TCR transgenes in PBMC can be done according to established method"; para [0070] "Such expression is particularly appropriate where native assembly and export of the inventive fusion protein is desirable, since the activity of TCRs is influenced by native dimerization (folding and assembly) and presentation on the cell"; para [0024] "In the context of the present invention, a "functional" T-cell receptor (TCR) .alpha.- and/or .beta.-chain fusion protein shall mean an .alpha.- and/or .beta.-chain fusion protein that, although the chain includes a (foreign) amino acid sequence or peptide, maintains at least substantial biological activity in the fusion protein. In the case of the .alpha.- and/or .beta.-chain of a TCR, this shall mean that both chains remain able to form a T-cell receptor").
Kieback does not specifically teach that the antigen binding domain is a human or humanized antibody domain. However, Kieback does teach that the composition can be used in pharmaceutical compositions intended for use in treating a patient (para [0075]) and further teaches that antibodies have been used along with TCRs to recognize and treat cancer (para [0010] "Several tumor-recognising antibodies and TCRs were recently isolated and used in experimental studies and in clinical trials"). Given that the composition of Kelback is intended for use in a patient, which is usually a human, one of ordinary skill in the art would have found it obvious to use human or humanized antigen binding domains so that the composition may be used safely in a human patient. Furthermore, since antibodies are commonly recognized and used as antigen binding domains, one of ordinary skill in the art would have found it obvious to use human or humanized antibody binding domains.

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

------please see continuation on next extra sheet-------

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 16/33146

Continuation of: Box No III Observations where unity of invention is lacking

Another feature shared by Groups I+, II+, and III is wherein the antigen binding domain is an anti-CD19 binding domain or an anti-B-cell maturation antigen (BCMA) binding domain.

However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is taught by Kieback in view of WO 2015/057852 A1 to California Inst for Biomedical Research et al. (hereinafter 'CIBR').

Kieback discloses the T-cell receptor (TCR) fusion protein (TFP) (para [0002]) that comprises an antigen binding domain (para [0023]), but does not teach that the antigen binding domain is an anti-CD19 binding domain or an anti-B-cell maturation antigen (BCMA) binding domain. However, CIBR discloses a construct comprising an antigen binding domain, that comprises an anti-CD19 binding domain or an anti-B-cell maturation antigen (BCMA) binding domain (para [091] "Generally, a switch may comprise ... (b) a target interacting domain (TID)"; para [0331] "a target interacting domain (TID) that interacts with a surface molecule on a target for the treatment of a disease or a condition in a subject. The TID may comprise a polypeptide. The polypeptide may be based on or derived from an antibody or antibody fragment. The antibody may be selected from the group consisting of an anti-CD 19 antibody ... an anti-BCMA antibody").

Given that Kieback teaches that the antigen binding domain of the TFP may target a tumor cell antigen (claim 1 "A functional TCR .alpha. and/or .beta. chain fusion protein ... containing at least one amino acid sequence recognizing and binding an antigen"; claim 2 "wherein ... the antigen is a tumor cell antigen"; para [0026] "In a preferred embodiment, the epitope is a tumor cell epitope and the antigen is a tumor cell antigen. Such a tumor cell epitope may be derived from a wide variety of tumor antigens such as antigens from tumors resulting from mutations, shared tumor specific antigens, differentiation antigens, and antigens overexpressed in tumors"), and CIBR further teaches that CD19 and BCMA are antigens associated with cancer (para [0303] "The target may comprise a cancerous cell. ... The cancerous cell be derived from a CD19-positive B lymphocyte"; para [0304] "The target may be a CD19-positive cell. The target may be a CD19-positive B lymphocyte. ... The target may be a BCMA-positive cell. The target may be a BCMA-positive multiple myeloma cell"), one of ordinary skill in the art would have found it obvious that the TFP of Keiback can comprise the anti-CD19 and anti-BCMA binding domains of CIBR.

As the technical feature was known in the art at the time of the invention, it cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Groups I+, II+, and III therefore lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Item 4 (continued)

Claims 9-39, 45-50, 56-83, 89, 94-95, 97-112 are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI		テーマコード（参考）
C07K 14/705	*(2006.01)*	C07K	14/705	
C07K 16/18	*(2006.01)*	C07K	16/18	
A61P 35/00	*(2006.01)*	A61P	35/00	
A61P 35/02	*(2006.01)*	A61P	35/02	
A61P 43/00	*(2006.01)*	A61P	43/00	105
A61K 48/00	*(2006.01)*	A61K	48/00	
A61K 45/00	*(2006.01)*	A61P	43/00	121
A61K 38/00	*(2006.01)*	A61K	45/00	
A61K 38/16	*(2006.01)*	A61P	43/00	111
A61K 31/7088	*(2006.01)*	A61K	38/00	
A61K 31/7105	*(2006.01)*	A61K	38/16	
A61K 31/711	*(2006.01)*	A61K	31/7088	
A61K 35/12	*(2015.01)*	A61K	31/7105	
A61K 35/17	*(2015.01)*	A61K	31/711	
A61K 35/76	*(2015.01)*	A61K	35/12	
		A61K	35/17	Z
		A61K	35/76	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,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,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,NE,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,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,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,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(72)発明者 シェクズキーヴィッチ, グレゴリー
アメリカ合衆国 ０２１４２ マサチューセッツ州 ケンブリッジ ウェスト・ケンドール・ストリート ６７５ スイート１
(72)発明者 ホフマイスター, ロバート
アメリカ合衆国 ０２０６６ マサチューセッツ州 ジェイソンズ・レーン・シチュエート ４

Fターム(参考) 4B065 AA87X AA87Y AA90X AA90Y AA93X AA93Y AB01 AC14 BA01 CA24 CA25 CA44
4C084 AA01 AA02 AA13 AA19 BA01 BA02 BA41 BA44 CA53 MA02 NA05 NA06 NA14 ZB21 ZB261 ZB271 ZC41 ZC75
4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA02 MA04 NA05 NA06 NA14 ZB21 ZB26 ZB27 ZC41 ZC75
4C087 AA01 AA02 AA03 BB37 BB65 BC83 MA02 NA05 NA06 NA14 ZB21 ZB26 ZB27 ZC41 ZC75
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA50 DA75 DA76 EA20 FA74