

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成30年2月8日(2018.2.8)

【公表番号】特表2017-501702(P2017-501702A)

【公表日】平成29年1月19日(2017.1.19)

【年通号数】公開・登録公報2017-003

【出願番号】特願2016-540620(P2016-540620)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

A 6 1 K 35/76 (2015.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/17 (2015.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 31/04 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

A 6 1 K 35/12 (2015.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 A

C 0 7 K 19/00 Z N A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 0 7 K 16/46

C 1 2 Q 1/02

A 6 1 K 35/76

A 6 1 P 43/00 1 0 7

A 6 1 K 37/02

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 35/17 Z

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 31/04

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 29/00

A 6 1 P 37/02

A 6 1 K 35/12

【手続補正書】

【提出日】平成29年12月21日(2017.12.21)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

疎水性部分によって接続された細胞外成分および細胞内成分を含む単鎖融合タンパク質であって、ここで前記細胞外成分は、タグカセット、およびヒンジを含むコネクター領域を含み、そして前記細胞内成分は、エフェクタードメインを含み、前記タグカセットは、Streptタグ、またはストレプトアビジン、streptactinもしくはその両方から構成されるか、および/もしくは前記Streptタグに対して特異的な抗体によって認識される同系結合パートナーを有するタグを含む、単鎖融合タンパク質。

【請求項2】

前記コネクター領域は、リンカーモジュールをさらに含む、請求項1に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項3】

前記リンカーモジュールは、 $(Gly_xSer_y)_n$ であり、ここでnは、1～10の整数であり、xおよびyは、独立して0～10の整数であるが、ただしxおよびyは、両方が0ではない；あるいは

前記リンカーモジュールは、CH₂CH₃もしくはCH₃を含む、請求項2に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項4】

前記コネクター領域は、前記タグカセットのうちの1以上を含む；あるいは

前記コネクター領域は、前記タグカセットのうちの1以上を含み、ここで各タグカセットは、 $(Gly_xSer_y)_n$ を含む1もしくは2個のリンカーモジュールに接続され、ここでnは、1～10の整数であり、xおよびyは、独立して、0～10の整数であるが、ただしxおよびyは、両方が0ではない；

前記コネクター領域は、前記タグカセットのうちの1以上を含み、ここで各タグカセットは、アミノ酸配列 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (配列番号10)、 $(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)_2$ (配列番号11)、 $(Gly-Gly-Gly-Ser)_2$ 、Gly-Gly-Ser (配列番号12)、もしくはこれらの任意の組み合わせを有する1もしくは2個のリンカーモジュールに接続されている；あるいは

前記コネクター領域は、1～5個のタグカセットを含む；あるいは

前記コネクター領域は、1～5個のタグカセットを含み、ここで各タグカセットは、 $(Gly_xSer_y)_n$ を含む1もしくは2個のリンカーモジュールに接続され、ここでnは、1～10の整数であり、xおよびyは、独立して、0～10の整数であるが、ただしxおよびyは、両方が0ではない；あるいは

前記コネクター領域は、1～5個のタグカセットを含み、ここで各タグカセットは、アミノ酸配列 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (配列番号10)、 $(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)_2$ (配列番号11)、 $(Gly-Gly-Gly-Ser)_2$ 、Gly-Gly-Ser (配列番号12)、もしくはこれらの任意の組み合わせを有する1もしくは2個のリンカーモジュールに接続されている、請求項1に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項5】

前記タグカセットは、Streptタグを含む1個以上のタグカセットを含むか、および/またはHisタグ、Flagタグ、Xpressタグ、Aviタグ、カルモジュリンタグ、ポリグルタメートタグ、HAタグ、Mycタグ、Nusタグ、Sタグ、Xタグ、SBPタグ、Softタグ、V5タグ、CBP、GST、MBP、GFP、チオレドキシントグ

、もしくはこれらの任意の組み合わせをさらに含む、請求項 1 に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項 6】

前記 1 個以上のタグカセットは、Streptタグであるかまたはこれを含み、ここで前記 Streptタグが、アミノ酸配列 Trp - Ser - His - Pro - Gln - Phe - Glu - Lys (配列番号 1) もしくは Trp - Arg - His - Pro - Gln - Phe - Gly - Gly (配列番号 2) を有する、請求項 5 に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項 7】

前記疎水性部分は、膜貫通ドメインであり、前記膜貫通ドメインは、CD 4、CD 8、CD 28 もしくは CD 27 の膜貫通ドメインを含む、請求項 1 に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項 8】

前記エフェクタードメインもしくはそのエフェクター部分は、4 - 1BB (CD 137)、CD 3、CD 3、CD 3、CD 25、CD 27、CD 28、CD 79A、CD 79B、CARD 11、DAP 10、FcR、FcR、FcR、Fyn、HVEM、ICOS、Lck、LAG 3、LAT、LRP、NKG 2D、NOTCH 1、NOTCH 2、NOTCH 3、NOTCH 4、OX 40 (CD 134)、ROR 2、Ryk、SLAMF 1、Slp 76、pT、TCR、TCR、TRIM、Zap 70 および PTH 2 からなる群のうちの 1 個以上であるか、またはこれらのもののエフェクタードメインである、請求項 1 に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項 9】

前記エフェクタードメインもしくはそのエフェクター部分は、(a) CD 3 ならびに (b) 4 - 1BB (CD 137)、CD 27、CD 28 および OX 40 (CD 134) のうちの 1 以上を含むかまたはこれらのもののエフェクタードメインを含む、請求項 1 に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項 10】

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと以下を含む：

(a) 細胞外結合ドメイン、タグカセット、ヒンジを含むコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分；あるいは

(b) 細胞外結合ドメイン、第 1 のコネクター領域、タグカセット、ヒンジを含む第 2 のコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分；あるいは

(c) 細胞外結合ドメイン、第 1 のタグカセット、第 1 のコネクター領域、第 2 のタグカセット、ヒンジを含む第 2 のコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分；あるいは

(d) 細胞外結合ドメイン、第 1 のタグカセット、第 1 のコネクター領域、第 2 のタグカセット、第 2 のコネクター領域、第 3 のタグカセット、ヒンジを含む第 3 のコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分；あるいは

(e) タグカセット、細胞外結合ドメイン、ヒンジを含むコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分；あるいは

(f) 細胞外結合ドメイン、2 ~ 5 個のタグカセット、ヒンジを含むコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分；あるいは

(g) 前記可変領域の間に配置されかつタグカセットを含む可変領域リンカーを含む細胞外 scFv もしくは scTCR 結合ドメイン、ヒンジを含むコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分；あるいは

(h) 細胞外 scFv もしくは scTCR 結合ドメイン、タグカセット、IgG ヒンジを含むコネクター領域、膜貫通ドメイン、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分、ここで前記エフェクタードメインは、

(A) 4 - 1BB および CD 3 を含むかもしくはその各々のエフェクタードメインを含む、

(B) C D 2 7 および C D 3 を含むかもしくはその各々のエフェクタードメインを含む、

(C) C D 2 8 および C D 3 を含むかしくはその各々のエフェクタードメインを含む、

(D) O X 4 0 および C D 3 を含むかしくはその各々のエフェクタードメインを含む、

(E) C D 2 8、4 - 1 B B および C D 3 を含むかしくはその各々のエフェクタードメインを含む、

(F) O X 4 0、4 - 1 B B および C D 3 を含むかしくはその各々のエフェクタードメインを含む、または

(G) C D 2 8、O X 4 0 および C D 3 を含むかしくはその各々のエフェクタードメインを含む；あるいは

(i) レセプターエクトドメインを含む細胞外結合ドメイン、タグカセット、ヒンジを含むコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分、ここで前記エフェクタードメインは、4 - 1 B B、C D 2 7、C D 2 8、もしくは O X 4 0 を含むかまたはその各々のエフェクタードメインを含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項 1 1】

前記細胞外成分が、標的を特異的に結合する結合ドメインをさらに含む、請求項 1 に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項 1 2】

前記融合タンパク質が、標的を特異的に結合する結合ドメインと非共有結合的に会合している、請求項 1 に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項 1 3】

前記非共有結合的に会合した結合ドメインが前記融合タンパク質の前記タグカセットのうちの 1 個以上と会合している；および / または

前記非共有結合的に会合した結合ドメインは、少なくとも第 1 の結合末端および第 2 の結合末端と多重特異的であり、必要に応じて二重特異的であり、ここで、(i) 前記第 1 の結合末端が、前記融合タンパク質の前記 1 個以上のタグカセットのうちの 1 個以上に特異的であり、前記第 2 の結合末端は、前記 1 個以上のタグカセット以外の標的である、前記標的に特異的であり、ならびに / あるいは (i i) 前記第 1 の結合末端および前記第 2 の結合末端は、前記 1 個以上のタグカセットのうちの 1 個以上に特異的である；ならびに / あるいは

前記非特異的に会合した結合ドメインは、前記タグカセットに結合する第 1 の末端および前記 1 個以上のタグカセット以外の 1 個以上の標的に特異的な 1 個以上のさらなる末端に多重特異的である、請求項 1 2 に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項 1 4】

前記結合ドメインは、s c F v、s c T C R、レセプターエクトドメイン、もしくはリガンドである、請求項 1 1 または 1 2 に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項 1 5】

前記標的は、C D 3、C E A C A M 6、c - M e t、E G F R、E G F R v I I I、E r b B 2、E r b B 3、E r b B 4、E p h A 2、I G F 1 R、G D 2、O - アセチル G D 2、O - アセチル G D 3、G H R H R、G H R、F L T 1、K D R、F L T 4、C D 4 4 v 6、C D 1 5 1、C A 1 2 5、C E A、C T L A - 4、G I T R、B T L A、T G F B R 2、T G F B R 1、I L 6 R、g p 1 3 0、L e w i s A、L e w i s Y、T N F R 1、T N F R 2、P D 1、P D - L 1、P D - L 2、H V E M、M A G E - A、メソセリン、N Y - E S O - 1、P S M A、R A N K、R O R 1、T N F R S F 4、C D 4 0、C D 1 3 7、T W E A K - R、H L A、H L A に結合される腫瘍もしくは病原体関連ペプチド、H L A に結合される h T E R T ペプチド、H L A に結合されるチロシナーゼペプチド、H L A に結合される W T - 1 ペプチド、L T R、L I F R、L R P 5、M U C

1、OSMR、TCR、TCR、CD19、CD20、CD22、CD25、CD28、CD30、CD33、CD52、CD56、CD80、CD81、CD86、CD123、CD171、CD276、B7H4、TLR7、TLR9、PTCH1、WT-1、Robo1、-フェトプロテイン(AFP)、Frizzled、OX40、もしくはCD79bを含む、請求項11または12に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項16】

前記結合ドメインは、以下を含む：

(a) 前記タグカセットのうちの1個以上；または
(b) 可変領域リンカーを含む、scFvもしくはscTCRであって、ここで、前記可変領域は、前記タグカセットのうちの1個以上を含む；または
(c) 前記タグカセットのうちの1個以上であって、ここで、前記1個以上のタグカセットは、前記結合ドメインに対してアミノ末端側に、前記結合ドメインに対してカルボキシ末端側に、もしくは両方に位置する、請求項11または12に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項17】

前記タグカセットは、1個のタグカセットを含む；あるいは前記タグカセットは、2～5個のタグカセットを含む；ならびに/あるいは

前記融合タンパク質は、さらに以下を含む：(i) $(Gly_xSer_y)_n$ を含む1個以上のリンカーモジュール、ここでnは、1～10の整数であり、xおよびyは、独立して0～10の整数であるが、ただしxおよびyは、両方が0ではない；(ii) 前記結合ドメインと1個以上のタグカセットを含む前記タグカセットとの間に配置された $(Gly_xSer)_n$ リンカーモジュール、ここでxは、2～4の整数であり、nは、1～3の整数である；(iii) 1個以上のタグカセットを含む前記タグカセットとエフェクタードメインを含む前記細胞内成分との間に配置された細胞外 $(Gly_xSer)_n$ リンカーモジュール、ここでxは、2～4の整数であり、nは、1～3の整数である；および/または(iv) 2個の細胞外 $(Gly_xSer)_n$ リンカーモジュール、ここでxは、2～4の整数であり、nは、1～3の整数であり、第1の前記リンカーモジュールは、1個以上のタグカセットを含む少なくとも1個のタグカセットに対してアミノ末端側にあり、第2の前記リンカーモジュールは、1個以上のタグカセットを含む少なくとも1個のタグカセットに対してカルボキシ末端側にある；ならびに/あるいは

前記タグカセットは、2個のタグカセットを含み、前記融合タンパク質は、2個の細胞外 $(Gly_xSer)_n$ リンカーモジュールをさらに含み、ここでxは、2～4の整数であり、nは、1～3の整数であり、ここで前記2個のタグカセットのうちの第1のタグカセットは、前記結合ドメインと第1の前記リンカーモジュールとの間に配置され、前記2個のタグカセットのうちの第2のタグカセットは、第1の前記リンカーモジュールと第2の前記リンカーモジュールとの間に配置され、第2の前記リンカーモジュールは、前記第2のタグカセットと前記エフェクタードメインとの間に配置され、必要に応じて前記融合タンパク質は、第3のタグカセットおよび第3の細胞外 $(Gly_xSer)_n$ リンカーモジュールをさらに含み、ここで前記第3のタグカセットは、第2の前記リンカーモジュールと第3の前記リンカーモジュールとの間に配置され、第3の前記リンカーモジュールは、前記第3のタグカセットと前記エフェクタードメインとの間に配置される、請求項1に記載の単鎖融合タンパク質。

【請求項18】

抗原に対して特異的に結合する細胞外結合ドメインとエフェクタードメインを含む細胞内成分との間に配置されかつこれらを接続する1個以上の細胞外タグカセットを有する融合タンパク質を含む、キメラ抗原レセプター分子であって、ここで、前記1個以上のタグカセットが、Streptタグまたはストレプトアビジン、streptactinもしくはその両方から構成されるか、および/またはStreptタグに対して特異的な抗体によって認識される同系結合パートナーを有するタグを含む、キメラ抗原レセプター分子。

【請求項19】

以下をさらに含む請求項 18 に記載のキメラ抗原レセプター分子：

細胞外ヒンジおよび細胞外 C H 2 C H 3 リンカーモジュールであって、ここで前記ヒンジは、前記結合ドメインに隣接し、前記 C H 2 C H 3 リンカーモジュールは、エフェクタードメインを含む前記細胞内成分に隣接し、前記 1 個以上のタグカセットのうちの少なくとも 1 個は、前記ヒンジと前記 C H 2 C H 3 リンカーモジュールとの間に配置される、細胞外ヒンジおよび細胞外 C H 2 C H 3 リンカーモジュール；ならびに / あるいは

細胞外ヒンジおよび細胞外 C H 3 リンカーモジュールであって、ここで前記ヒンジは、前記結合ドメインに隣接し、前記 C H 3 リンカーモジュールは、エフェクタードメインを含む前記細胞内成分に隣接し、前記 1 個以上のタグカセットのうちの少なくとも 1 個および / もしくは各々は、前記ヒンジと前記 C H 3 リンカーモジュールとの間に配置される、細胞外ヒンジおよび細胞外 C H 3 リンカーモジュール。

【請求項 20】

前記結合ドメインは、レセプターエクトドメインを含み、前記エフェクタードメインは、4 - 1 B B、C D 2 7、C D 2 8、もしくは O X 4 0 のエフェクタードメインを含み、必要に応じて、前記 1 個以上のタグカセットは、前記レセプターエクトドメインに対してカルボキシ末端側に位置する、請求項 18 または 19 に記載のキメラ抗原レセプター分子。

【請求項 21】

請求項 1 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の融合タンパク質あるいは請求項 18 ~ 20 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子をコードする核酸分子。

【請求項 22】

請求項 21 に記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項 23】

前記ベクターは、ウイルスベクターである、請求項 22 に記載のベクター。

【請求項 24】

前記ウイルスベクターは、レトロウイルスベクターもしくはレンチウイルスベクターである、請求項 23 に記載のベクター。

【請求項 25】

請求項 1 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の融合タンパク質もしくは請求項 18 ~ 20 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子をコードする核酸分子を含む宿主細胞。

【請求項 26】

前記宿主細胞は、T 細胞である、請求項 25 に記載の宿主細胞。

【請求項 27】

細胞を活性化するためおよび / または細胞増殖を促進するための組成物であって、前記タグカセットに対して特異的な結合ドメインをさらにコードする請求項 21 に記載の核酸分子を含む、組成物。

【請求項 28】

前記細胞が、増殖因子サイトカインと、細胞増殖を可能にするために十分な時間にわたって接触される、請求項 27 に記載の組成物。

【請求項 29】

サンプル中もしくは被験体中の細胞もしくは細胞集団を同定するための組成物であって、請求項 25 もしくは 26 に記載の宿主細胞および / または請求項 21 に記載の核酸分子を含み、ここで、前記核酸分子は、前記タグカセットに対して特異的な結合ドメインをさらにコードし、ここで前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、検出可能な部分を含む、組成物。

【請求項 30】

サンプルにおいて細胞もしくはその集団を富化するかもしくは単離するための組成物であって、請求項 25 もしくは 26 に記載の宿主細胞を含み、ここで、前記核酸分子は、前記タグカセットに対して特異的な結合ドメインをさらにコードし、前記コードされる結合ドメインによって結合される細胞は、前記サンプルにおいて、前記コードされる結合ドメ

インによって結合されない他の細胞から富化もしくは単離される、組成物。

【請求項 3 1】

サンプルにおいて細胞を枯渇させるための組成物であって、請求項 2 5 もしくは 2 6 に記載の宿主細胞、または請求項 1 ~ 1 7 のいずれかに記載の融合タンパク質、または請求項 1 8 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子を含み、ここで、前記核酸は、前記タグカセットに対して特異的な結合ドメインをコードし、ここで前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインの結合は、前記融合タンパク質を発現する前記細胞の細胞死および / または枯渇をもたらす、組成物。

【請求項 3 2】

被験体における疾患を処置するための組成物であって、請求項 2 5 または 2 6 に記載の宿主細胞を含む、組成物。

【請求項 3 3】

前記結合分子は、前記融合タンパク質もしくは前記キメラ抗原レセプター分子内に含まれる前記タグカセットに特異的に結合し、前記組成物の投与の後に、前記被験体においてインビボで、または前記被験体から得られたサンプル中で、前記結合分子の存在が検出され、それによって前記被験体またはその組織もしくは体液中での前記細胞が検出される、請求項 2 9 に記載の組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 8】

本発明のこれらおよび他の局面は、以下の詳細な説明および添付の図面を参照すれば明らかになる。本明細書で開示される全ての参考文献は、各々が個々に援用されるかのように、それらの全体において参考として援用される。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目 1)

疎水性部分によって接続された細胞外成分および細胞内成分を含む単鎖融合タンパク質であって、ここで前記細胞外成分は、標的を特異的に結合する結合ドメイン、タグカセット、およびヒンジを含むコネクター領域を含み、そして前記細胞内成分は、エフェクタードメインを含む、単鎖融合タンパク質。

(項目 2)

前記結合ドメインは、s c F v、s c T C R、レセプターエクトドメイン、もしくはリガンドである、項目 1 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 3)

前記標的は、C D 3、C E A C A M 6、c - M e t、E G F R、E G F R v I I I、E r b B 2、E r b B 3、E r b B 4、E p h A 2、I G F 1 R、G D 2、O - アセチル G D 2、O - アセチル G D 3、G H R H R、G H R、F L T 1、K D R、F L T 4、C D 4 4 v 6、C D 1 5 1、C A 1 2 5、C E A、C T L A - 4、G I T R、B T L A、T G F B R 2、T G F B R 1、I L 6 R、g p 1 3 0、L e w i s A、L e w i s Y、T N F R 1、T N F R 2、P D 1、P D - L 1、P D - L 2、H V E M、M A G E - A、メソセリン、N Y - E S O - 1、P S M A、R A N K、R O R 1、T N F R S F 4、C D 4 0、C D 1 3 7、T W E A K - R、H L A、H L A に結合される腫瘍もしくは病原体関連ペプチド、H L A に結合される h T E R T ペプチド、H L A に結合されるチロシナーゼペプチド、H L A に結合される W T - 1 ペプチド、L T R、L I F R、L R P 5、M U C 1、O S M R、T C R、T C R、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 2 5、C D 2 8、C D 3 0、C D 3 3、C D 5 2、C D 5 6、C D 8 0、C D 8 1、C D 8 6、C D 1 2 3、C D 1 7 1、C D 2 7 6、B 7 H 4、T L R 7、T L R 9、P T C H 1、W T - 1、R o b o 1、- フェトプロテイン (A F P)、F r i z z l e d、O X 4 0、また

は C D 7 9 b を含む、項目 1 または 2 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 4)

前記コネクター領域は、リンカーモジュールをさらに含む、項目 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 5)

前記リンカーモジュールは、 $(Gly_x Ser_y)_n$ であり、ここで n は、1 ~ 10 の整数であり、 x および y は、独立して 0 ~ 10 の整数であるが、ただし x および y は、両方が 0 ではない、項目 4 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 6)

前記リンカーモジュールは、CH₂CH₃ もしくは CH₃ である、項目 4 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 7)

前記コネクター領域は、前記タグカセットのうちの 1 以上を含む、項目 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 8)

前記コネクター領域は、1 ~ 5 個のタグカセットを含む、項目 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 9)

前記コネクター領域は、1 ~ 5 個のタグカセットを含み、ここで各タグカセットは、 $(Gly_x Ser_y)_n$ を含む 1 もしくは 2 個のリンカーモジュールに接続され、ここで n は、1 ~ 10 の整数であり、 x および y は、独立して、0 ~ 10 の整数であるが、ただし x および y は、両方が 0 ではない、項目 7 または 8 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 10)

前記リンカーモジュールは、アミノ酸配列 Gly - Gly - Gly - Gly - Ser (配列番号 10)、 $(Gly - Gly - Gly - Gly - Ser)_2$ (配列番号 11)、 $(Gly - Gly - Gly - Ser)_2 - Gly - Gly - Ser$ (配列番号 12)、もしくはこれらの任意の組み合わせを有する、項目 9 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 11)

前記結合ドメインは、1 個以上のタグカセットを含む、項目 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 12)

前記タグカセットは、前記結合ドメインに対してアミノ末端側に、前記結合ドメインに対してカルボキシ末端側に、もしくは両方に位置する、項目 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 13)

前記結合ドメインは、可変領域リンカーを含む、scFv もしくは scTCR であり、ここで前記可変領域リンカーは、1 個以上のタグカセットを含む、項目 11 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 14)

前記タグカセットは、Streptタグ、Hisタグ、Flagタグ、Xpressタグ、Aviタグ、カルモジュリンタグ、ポリグルタメートタグ、HAタグ、Mycタグ、Nusタグ、Sタグ、Xタグ、SBPタグ、Softタグ、V5タグ、CBP、GST、MBP、GFP、チオレドキシントグ、もしくはこれらの任意の組み合わせであるかまたはこれらを含む、項目 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 15)

前記タグカセットは、アミノ酸配列 Trp - Ser - His - Pro - Gln - Phe - Glu - Lys (配列番号 1) もしくは Trp - Arg - His - Pro - Gln - Phe - Gly - Gly (配列番号 2) を有する Streptタグであるかまたはこれを含む、項目 14 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 16)

前記コネクター領域は、１個以上のタグカセットに隣接するリンカーモジュールをさらに含み、ここで前記リンカーモジュールおよび隣接するタグカセットはまとめて、アミノ酸配列

【化２】

(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys

(配列番号 20), Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂ (配列番号 21), (Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Gly-Gly-Ser-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (配列番号 22), Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Gly-Gly-Ser-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂ (配列番号 23), (Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Gly-Gly-Ser-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (配列番号 24) または Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Gly-Gly-Ser-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Ser)₂ (配列番号 25)

を有する、項目１～１５のいずれか１項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目１７)

前記疎水性部分は、膜貫通ドメインである、項目１～１６のいずれか１項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目１８)

前記膜貫通ドメインは、CD4、CD8、CD28もしくはCD27膜貫通ドメインである、項目１７に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目１９)

前記エフェクタードメインもしくはそのエフェクター部分は、4-1BB (CD137)、CD3、CD3、CD3、CD25、CD27、CD28、CD79A、CD79B、CARD11、DAP10、FcR、FcR、FcR、Fyn、HVE、ICOS、Lck、LAG3、LAT、LRP、NKG2D、NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3、NOTCH4、OX40 (CD134)、ROR2、Ryk、SLAMF1、Slp76、pT、TCR、TCR、TRIM、Zap70、PTCH2、もしくはこれらの任意の組み合わせである、項目１～１８のいずれか１項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目２０)

前記エフェクタードメインもしくはそのエフェクター部分は、CD3ならびに4-1BB (CD137)、CD27、CD28およびOX40 (CD134)のうちの１以上を含む、項目１～１９のいずれか１項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目２１)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：細胞外結合ドメイン、タグカセット、ヒンジを含むコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分を含む、項目１～２０のいずれか１項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目２２)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：細胞外結合ドメイン、第１のコネクター領域、タグカセット、ヒンジを含む第２のコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分を含む、項目１～２０のいずれか１項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目２３)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：細胞外結合ドメイン、第

1 のタグカセット、第 1 のコネクタ領域、第 2 のタグカセット、ヒンジを含む第 2 のコネクタ領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分を含む、項目 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 24)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：細胞外結合ドメイン、第 1 のタグカセット、第 1 のコネクタ領域、第 2 のタグカセット、第 2 のコネクタ領域、第 3 のタグカセット、ヒンジを含む第 3 のコネクタ領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分を含む、項目 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 25)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：タグカセット、細胞外結合ドメイン、ヒンジを含むコネクタ領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分を含む、項目 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 26)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：細胞外結合ドメイン、2 ~ 5 個のタグカセット、ヒンジを含むコネクタ領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分を含む、項目 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 27)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：前記可変領域の間に配置されかつタグカセットを含む可変領域リンカーを含む細胞外 s c F v もしくは s c T C R 結合ドメイン、ヒンジを含むコネクタ領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分を含む、項目 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 28)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：細胞外 s c F v もしくは s c T C R 結合ドメイン、タグカセット、I g G ヒンジを含むコネクタ領域、膜貫通ドメイン、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分を含み、ここで前記エフェクタードメインは、4 - 1 B B および C D 3 、C D 2 7 および C D 3 、C D 2 8 および C D 3 、O X 4 0 および C D 3 、C D 2 8、4 - 1 B B および C D 3 、O X 4 0、4 - 1 B B および C D 3 、または C D 2 8、O X 4 0 および C D 3 を含む、項目 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 29)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：レセプターエクトドメインを含む細胞外結合ドメイン、タグカセット、ヒンジを含むコネクタ領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分を含み、ここで前記エフェクタードメインは、4 - 1 B B、C D 2 7、C D 2 8、もしくは O X 4 0 を含む、項目 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 30)

抗原に対して特異的に結合する細胞外結合ドメインとエフェクタードメインを含む細胞内成分との間に配置されかつこれらを接続する 1 個以上の細胞外タグカセットを有する融合タンパク質を含む、キメラ抗原レセプター分子。

(項目 31)

前記 1 個以上のタグカセットは、1 個のタグカセットを含む、項目 30 に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 32)

前記 1 個以上のタグカセットは、2 ~ 5 個のタグカセットを含む、項目 30 に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 33)

前記キメラ抗原レセプター分子は、 $(G l y _ x S e r _ y) _ n$ を含む 1 個以上のリンカーモジュールをさらに含み、ここで n は、1 ~ 10 の整数であり、x および y は、独立して

0 ~ 10 の整数であるが、ただし x および y は、両方が 0 ではない、項目 30 ~ 32 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 34)

前記融合タンパク質は、前記結合ドメインと前記 1 個以上のタグカセットとの間に配置された $(Gly_xSer)_n$ リンカーモジュールをさらに含み、ここで x は、2 ~ 4 の整数であり、n は、1 ~ 3 の整数である、項目 30 ~ 32 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 35)

前記融合タンパク質は、前記 1 個以上のタグカセットとエフェクタードメインを含む前記細胞内成分との間に配置された細胞外 $(Gly_xSer)_n$ リンカーモジュールをさらに含み、ここで x は、2 ~ 4 の整数であり、n は、1 ~ 3 の整数である、項目 30 ~ 32 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 36)

前記融合タンパク質は、2 個の細胞外 $(Gly_xSer)_n$ リンカーモジュールをさらに含み、ここで x は、2 ~ 4 の整数であり、n は、1 ~ 3 の整数であり、第 1 の前記リンカーモジュールは、前記 1 個以上のタグカセットのうちの少なくとも 1 個に対してアミノ末端側にあり、第 2 の前記リンカーモジュールは、前記 1 個以上のタグカセットのうちの少なくとも 1 個に対してカルボキシ末端側にある、項目 30 ~ 32 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 37)

前記 1 個以上のタグカセットは、2 個のタグカセットを含み、前記分子は、2 個の細胞外 $(Gly_xSer)_n$ リンカーモジュールをさらに含み、ここで x は、2 ~ 4 の整数であり、n は、1 ~ 3 の整数であり、ここで第 1 のタグカセットは、前記結合ドメインと第 1 の前記リンカーモジュールとの間に配置され、第 2 のタグカセットは、第 1 の前記リンカーモジュールと第 2 の前記リンカーモジュールとの間に配置され、第 2 の前記リンカーモジュールは、前記第 2 のタグカセットと前記エフェクタードメインとの間に配置される、項目 30 に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 38)

前記融合タンパク質は、第 3 のタグカセットおよび第 3 の細胞外 $(Gly_xSer)_n$ リンカーモジュールをさらに含み、ここで前記第 3 のタグカセットは、第 2 の前記リンカーモジュールと第 3 の前記リンカーモジュールとの間に配置され、第 3 の前記リンカーモジュールは、前記第 3 のタグカセットと前記エフェクタードメインとの間に配置される、項目 37 に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 39)

前記融合タンパク質は、細胞外ヒンジおよび細胞外 CH₂CH₃ リンカーモジュールをさらに含み、ここで前記ヒンジは、前記結合ドメインに隣接し、前記 CH₂CH₃ リンカーモジュールは、エフェクタードメインを含む前記細胞内成分に隣接し、前記 1 個以上のタグカセットのうちの少なくとも 1 個は、前記ヒンジと前記 CH₂CH₃ リンカーモジュールとの間に配置される、項目 30 ~ 38 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 40)

前記融合タンパク質は、細胞外ヒンジおよび細胞外 CH₃ リンカーモジュールをさらに含み、ここで前記ヒンジは、前記結合ドメインに隣接し、前記 CH₃ リンカーモジュールは、エフェクタードメインを含む前記細胞内成分に隣接し、前記 1 個以上のタグカセットのうちの少なくとも 1 個および / もしくは各々は、前記ヒンジと前記 CH₃ リンカーモジュールとの間に配置される、項目 30 ~ 38 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 41)

前記 1 個以上のタグカセットのうちの少なくとも 1 個は、Strept タグ、His タグ、Flag (登録商標) タグ、Express (登録商標) タグ、Avi タグ、カルモジュ

リンタグ、ポリグルタメートタグ、H A タグ、M y c タグ、N u s タグ、S タグ、X タグ、S B P タグ、S o f t a g、V 5 タグ、C B P、G S T、M B P、G F P、チオレドキシンタグ、もしくはこれらの任意の組み合わせであるかまたはこれらを含む、項目 3 0 ~ 4 0 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 4 2)

前記 1 個以上のタグカセットのうちの少なくとも 1 個は、アミノ酸配列 T r p - S e r - H i s - P r o - G l n - P h e - G l u - L y s (配列番号 1) もしくは T r p - A r g - H i s - P r o - G l n - P h e - G l y - G l y (配列番号 2) を有する S t r e p タグであるかまたはこれを含む、項目 4 1 に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 4 3)

前記結合ドメインは、s c F v、s c T C R、レセプターエクトドメイン、もしくはリガンドである、項目 3 0 ~ 4 0 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 4 4)

前記抗原は、C D 3、C E A C A M 6、c - M e t、E G F R、E G F R v I I I、E r b B 2、E r b B 3、E r b B 4、E p h A 2、I G F 1 R、G D 2、O - アセチル G D 2、O - アセチル G D 3、G H R H R、G H R、F L T 1、K D R、F L T 4、C D 4 4 v 6、C D 1 5 1、C A 1 2 5、C E A、C T L A - 4、G I T R、B T L A、T G F B R 2、T G F B R 1、I L 6 R、g p 1 3 0、L e w i s A、L e w i s Y、T N F R 1、T N F R 2、P D 1、P D - L 1、P D - L 2、H V E M、M A G E - A、メソセリン、N Y - E S O - 1、P S M A、R A N K、R O R 1、T N F R S F 4、C D 4 0、C D 1 3 7、T W E A K - R、H L A、H L A に結合される腫瘍もしくは病原体関連ペプチド、H L A に結合される h T E R T ペプチド、H L A に結合されるチロシナーゼペプチド、H L A に結合される W T - 1 ペプチド、L T R、L I F R、L R P 5、M U C 1、O S M R、T C R、T C R、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 2 5、C D 2 8、C D 3 0、C D 3 3、C D 5 2、C D 5 6、C D 8 0、C D 8 1、C D 8 6、C D 1 2 3、C D 1 7 1、C D 2 7 6、B 7 H 4、T L R 7、T L R 9、P T C H 1、W T - 1、R o b o 1、- フェトプロテイン (A F P)、F r i z z l e d、O X 4 0、もしくは C D 7 9 b であるかまたはこれを含む、項目 3 0 ~ 4 3 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 4 5)

前記エフェクタードメインは、4 - 1 B B、C D 3、C D 3、C D 3、C D 2 7、C D 2 8、C D 7 9 A、C D 7 9 B、C A R D 1 1、D A P 1 0、F c R、F c R、F c R、F y n、H V E M、I C O S、L c k、L A G 3、L A T、N K G 2 D、O X 4 0、S L A M F 1、S l p 7 6、p T、T C R、T C R、T R I M、Z a p 7 0、P T C H 2、もしくはこれらの任意の組み合わせである、項目 3 0 ~ 4 4 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 4 6)

前記エフェクタードメインは、C D 3 ならびに 4 - 1 B B、C D 2 7、C D 2 8、および O X 4 0 のうちの 1 種以上を含む、項目 3 0 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 4 7)

前記エフェクタードメインは、4 - 1 B B および C D 3、C D 2 7 および C D 3、C D 2 8 および C D 3、または C D 2 8、4 - 1 B B および C D 3 を含む、項目 3 0 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 4 8)

前記結合ドメインは、レセプターエクトドメインを含み、前記エフェクタードメインは、4 - 1 B B、C D 2 7、C D 2 8、もしくは O X 4 0 を含む、項目 3 0 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 4 9)

前記タグカセットは、前記レセプターエクトドメインに対してカルボキシ末端側に位置

する、項目 48 に記載のキメラ抗原レセプター分子。

(項目 50)

細胞外成分と細胞内成分との間に配置された疎水性部分を含む単鎖融合タンパク質であって、ここで前記細胞外成分は、タグカセットとヒンジを含むコネクター領域とを含み、前記細胞内成分は、エフェクタードメインを含む、単鎖融合タンパク質。

(項目 51)

前記コネクター領域は、リンカーモジュールをさらに含む、項目 50 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 52)

前記リンカーモジュールは、 $(Gly_x Ser)_n$ であり、ここで x は、1 ~ 5 の整数であり、 n は、1 ~ 10 の整数である、項目 51 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 53)

前記リンカーモジュールは、 CH_2CH_3 もしくは CH_3 である、項目 51 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 54)

1 個以上のタグカセットは、前記コネクター領域に対してアミノ末端側にある、項目 50 ~ 53 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 55)

前記融合タンパク質は、1 ~ 5 個のタグカセットを含む、項目 50 ~ 54 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 56)

各タグカセットは、 $(Gly_x Ser_y)_n$ を含む 1 もしくは 2 個のリンカーモジュールに接続され、ここで n は、1 ~ 10 の整数であり、 x および y は、独立して 0 ~ 10 の整数であるが、ただし x および y は、両方が 0 ではない、項目 55 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 57)

前記リンカーモジュールは、アミノ酸配列 $Gly - Gly - Gly - Gly - Ser$ (配列番号 10)、 $(Gly - Gly - Gly - Gly - Ser)_2$ (配列番号 11)、 $(Gly - Gly - Gly - Ser)_2 - Gly - Gly - Ser$ (配列番号 12)、もしくはこれらの任意の組み合わせを有する、項目 56 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 58)

1 個以上のタグカセットは、リンカーモジュールによって前記コネクター領域に連結される、項目 50 ~ 57 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 59)

前記リンカーモジュールは、 $(Gly_x Ser)_n$ であるかまたはこれを含み、ここで x は、1 ~ 5 の整数であり、 n は、1 ~ 10 の整数である、項目 58 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 60)

前記リンカーモジュールは、 $(Gly - Gly - Gly - Gly - Ser)_2$ (配列番号 11) であるかまたはこれを含む、項目 58 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 61)

1 個以上のタグカセットは、Strep タグ、His タグ、Flag (登録商標) タグ、Xpress (登録商標) タグ、Avi タグ、カルモジュリンタグ、ポリグルタメータグ、HA タグ、Myc タグ、Nus タグ、S タグ、X タグ、SBP タグ、Softag、V5 タグ、CBP、GST、MBP、GFP、チオレドキシントグ、もしくはこれらの任意の組み合わせであるかまたはこれらを含む、項目 50 ~ 60 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 62)

1 個以上のタグカセットは、アミノ酸配列 $Trp - Ser - His - Pro - Gln - Phe - Glu - Lys$ (配列番号 1) もしくは $Trp - Arg - His - Pro - G$

l n - P h e - G l y - G l y (配列番号 2) を有する S t r e p タグであるかまたはこれを含む、項目 6 1 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 6 3)

前記融合タンパク質は、1 個以上のタグカセットに隣接するリンカーモジュールをさらに含み、ここで前記リンカーモジュールおよび隣接する前記タグカセットは、アミノ酸配列

【化 3】

(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (配列番号 20), Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂ (配列番号 21), (Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Gly-Gly-Ser-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (配列番号 22), Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Gly-Gly-Ser-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂ (配列番号 23), (Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Gly-Gly-Ser-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (配列番号 24) または Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Ser)₂-Gly-Gly-Ser-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(Gly-Gly-Gly-Ser)₂ (配列番号 25)

を有する、項目 5 0 ~ 6 2 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 6 4)

前記疎水性部分は、膜貫通ドメインである、項目 5 0 ~ 6 3 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 6 5)

前記膜貫通ドメインは、C D 4、C D 8、C D 2 8 もしくは C D 2 7 膜貫通ドメインである、項目 6 4 に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 6 6)

前記エフェクタードメインは、C D 3、C D 3、C D 3、C D 2 7、C D 2 8、C D 7 9 A、C D 7 9 B、C D 1 3 4、C D 1 3 7、C A R D 1 1、D A P 1 0、F c R、F c R、F c R、F y n、H V E M、I C O S、L c k、L A G 3、L A T、L R P、N K G 2 D、N O T C H 1、N O T C H 2、N O T C H 3、N O T C H 4、R O R 2、R y k、S L A M F 1、S l p 7 6、p T、T C R、T C R、T R I M、Z a p 7 0、P T C H 2、もしくはこれらの任意の組み合わせである、項目 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 6 7)

前記エフェクタードメインは、C D 3、ならびに 4 - 1 B B (C D 1 3 7)、C D 2 7、C D 2 8、および O X 4 0 (C D 1 3 4) のうちの 1 種以上を含む、項目 5 0 ~ 6 6 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 6 8)

前記エフェクタードメインは、L R P、N O T C H 1、N O T C H 2、N O T C H 3、N O T C H 4、R O R 2、もしくは R y k を含む、項目 5 0 ~ 6 6 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 6 9)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：タグカセット、ヒンジを含むコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分を含む、項目 5 0 ~ 6 8 のいずれか 1 項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目 7 0)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：第1のコネクター領域、タグカセット、ヒンジを含む第2のコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分を含む、項目50～68のいずれか1項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目71)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：第1のタグカセット、第1のコネクター領域、第2のタグカセット、ヒンジを含む第2のコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分を含む、項目50～68のいずれか1項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目72)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：第1のタグカセット、第1のコネクター領域、第2のタグカセット、第2のコネクター領域、第3のタグカセット、ヒンジを含む第3のコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分を含む、項目50～68のいずれか1項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目73)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：2～5個のタグカセット、ヒンジを含むコネクター領域、疎水性部分、およびエフェクタードメインを含む細胞内成分を含む、項目50～68のいずれか1項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目74)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：タグカセット、IgGヒンジを含むコネクター領域、膜貫通ドメイン、ならびに4-1BBおよびCD3、CD27およびCD3、CD28およびCD3、またはCD28、4-1BBおよびCD3を含むエフェクタードメインを含む細胞内成分を含む、項目50～68のいずれか1項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目75)

前記融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端へと：タグカセット、ヒンジを含むコネクター領域、疎水性部分、およびLRP、NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3、NOTCH4、ROR2、もしくはRykを含むエフェクタードメインを含む細胞内成分を含む、項目50～68のいずれか1項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目76)

前記融合タンパク質は、非共有結合的に会合した結合ドメインをさらに含む、項目50～75のいずれか1項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目77)

前記非共有結合的に会合した結合ドメインは、タグカセットと会合する、項目76に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目78)

前記非共有結合的に会合した結合ドメインは、scFv、scTCR、レセプターエクストドメイン、もしくはリガンドである、項目76または77に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目79)

前記非共有結合的に会合した結合ドメインは、二重特異的であり、ここでその第1の結合末端は、前記タグカセットに対して特異的であり、その第2の結合末端は、前記タグカセット以外の標的に対して特異的である、項目76～78のいずれか1項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目80)

前記非共有結合的に会合した結合ドメインは、CD3、CEACAM6、c-Met、EGFR、EGFRvIII、Erbb2、Erbb3、Erbb4、EphA2、IGF1R、GD2、O-アセチルGD2、O-アセチルGD3、GHRHR、GHR、FLT1、KDR、FLT4、CD44v6、CD151、CA125、CEA、CTLA-4、GITR、BTLA、TGFB2、TGFB1、IL6R、gp130、Lew

i s A、Lewis Y、TNFR1、TNFR2、PD1、PD-L1、PD-L2、HVEM、MAGE-A、メソセリン、NY-ESO-1、PSMA、RANK、ROR1、TNFRSF4、CD40、CD137、TWEAK-R、HLA、HLAに結合される腫瘍もしくは病原体関連ペプチド、HLAに結合されるhTERTペプチド、HLAに結合されるチロシナーゼペプチド、HLAに結合されるWT-1ペプチド、LT R、LIFR、LRP5、MUC1、OSMR、TCR、TCR、CD19、CD20、CD22、CD25、CD28、CD30、CD33、CD52、CD56、CD80、CD81、CD86、CD123、CD171、CD276、B7H4、TLR7、TLR9、PTCH1、WT-1、Robo1、-フェトプロテイン(AFP)、Frizzled、OX40、もしくはCD79bに対して特異的である、項目79に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目81)

前記結合ドメインは、二重特異的であり、ここでその第1の結合末端および第2の結合末端は、前記タグカセットに対して特異的である、項目76～78のいずれか1項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目82)

前記結合ドメインは、多重特異的であり、ここで第1の末端は、前記タグカセットに結合し、第2の末端は、前記タグカセット以外の1個以上の標的に対して特異的である、項目76～78のいずれか1項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目83)

少なくとも1個の結合ドメインは、CD3、CEACAM6、c-Met、EGFR、EGFRvIII、ErbB2、ErbB3、ErbB4、EphA2、IGF1R、GD2、O-アセチルGD2、O-アセチルGD3、GHRHR、GHR、FLT1、KDR、FLT4、CD44v6、CD151、CA125、CEA、CTLA-4、GITR、BTLA、TGFB2、TGFB1、IL6R、gp130、Lewis A、Lewis Y、TNFR1、TNFR2、PD1、PD-L1、PD-L2、HVEM、MAGE-A、メソセリン、NY-ESO-1、PSMA、RANK、ROR1、TNFRSF4、CD40、CD137、TWEAK-R、HLA、HLAに結合される腫瘍もしくは病原体関連ペプチド、HLAに結合されるhTERTペプチド、HLAに結合されるチロシナーゼペプチド、HLAに結合されるWT-1ペプチド、LT R、LIFR、LRP5、MUC1、OSMR、TCR、TCR、CD19、CD20、CD22、CD25、CD28、CD30、CD33、CD52、CD56、CD80、CD81、CD86、CD123、CD171、CD276、B7H4、TLR7、TLR9、PTCH1、WT-1、Robo1、-フェトプロテイン(AFP)、Frizzled、OX40、もしくはCD79bに対して特異的である、項目82に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目84)

前記結合ドメインは、抗体である、項目76に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目85)

前記タグカセットは、アミノ酸配列 Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys(配列番号1)もしくはTrp-Arg-His-Pro-Gln-Phe-Gly-Gly(配列番号2)を有するStreptタグであり、前記会合した結合ドメインは、ビオチン結合タンパク質である、項目76に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目86)

前記結合ドメインは、細胞傷害性薬剤、放射性同位体、放射性金属、もしくは検出可能な因子をさらに含む、項目76～85のいずれか1項に記載の単鎖融合タンパク質。

(項目87)

前記融合タンパク質は、細胞傷害性薬剤、放射性同位体、放射性金属、もしくは検出可能な因子をさらに含む、項目1～85のいずれか1項に記載の融合タンパク質。

(項目88)

項目 1 ~ 8 5 または 5 0 ~ 8 7 のいずれか 1 項に記載の融合タンパク質あるいは項目 3 0 ~ 4 9 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原レセプターをコードする核酸分子。

(項目 8 9)

項目 8 8 に記載の核酸分子を含むベクター。

(項目 9 0)

前記ベクターは、ウイルスベクターである、項目 8 9 に記載のベクター。

(項目 9 1)

前記ウイルスベクターは、レトロウイルスベクターもしくはレンチウイルスベクターである、項目 9 0 に記載のベクター。

(項目 9 2)

項目 1 ~ 8 5 のいずれか 1 項に記載の融合タンパク質もしくはキメラ抗原レセプターをコードする核酸分子を含む宿主細胞。

(項目 9 3)

前記宿主細胞は、T 細胞である、項目 9 2 に記載の宿主細胞。

(項目 9 4)

細胞を活性化するための方法であって、前記方法は、項目 1 ~ 8 5 のいずれか 1 項に記載の融合タンパク質もしくはキメラ抗原レセプターおよび / または項目 8 8 に記載の核酸分子を含む細胞と、タグカセットに対して特異的な結合ドメインとを接触させる工程を包含する、方法。

(項目 9 5)

前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、固体表面に結合され、そして / または前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、同系レセプター、抗タグ抗体、および / もしくは抗 Tag s c F v である、項目 9 4 に記載の方法。

(項目 9 6)

前記タグカセットは、アミノ酸配列 Trp - Ser - His - Pro - Gln - Phe - Glu - Lys (配列番号 1) もしくは Trp - Arg - His - Pro - Gln - Phe - Gly - Gly (配列番号 2) を有する Strept タグである、項目 9 4 または 9 5 に記載の方法。

(項目 9 7)

前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、ビオチン結合タンパク質もしくは抗 Strept タグ抗体である、項目 9 4 ~ 9 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9 8)

前記結合ドメインは、平らな表面、アガロース、樹脂、3Dファブリックマトリクス、もしくはビーズに結合される、項目 9 4 ~ 9 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9 9)

前記結合ドメインは、マイクロビーズもしくはナノビーズに結合される、項目 9 4 ~ 9 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 0 0)

前記活性化は、インピボもしくはエキソピボで行われる、項目 9 4 ~ 9 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 0 1)

前記細胞は、T 細胞であり、そして / またはヒト T 細胞である、項目 9 4 ~ 1 0 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 0 2)

細胞増殖を促進するための方法であって、前記方法は、項目 1 ~ 8 5 のいずれか 1 項に記載の融合タンパク質もしくはキメラ抗原レセプターおよび / または項目 8 8 に記載の核酸分子を含む非天然の細胞と、タグカセットに対して特異的な結合ドメインおよび増殖因子サイトカインとを、細胞増殖を可能にするために十分な時間にわたって接触させる工程を包含する、方法。

(項目 1 0 3)

前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、固体表面に結合され、そして / または前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、同系レセプター、抗タグ抗体、もしくは抗タグ s c F v である、項目 1 0 2 に記載の方法。

(項目 1 0 4)

前記タグカセットは、アミノ酸配列 Trp - Ser - His - Pro - Gln - Phe - Glu - Lys (配列番号 1) もしくは Trp - Arg - His - Pro - Gln - Phe - Gly - Gly (配列番号 2) を有する Streptag である、項目 1 0 2 または 1 0 3 に記載の方法。

(項目 1 0 5)

前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、ビオチン結合タンパク質もしくは抗 Streptag 抗体である、項目 1 0 2 ~ 1 0 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 0 6)

前記結合ドメインは、平らな表面、アガロース、樹脂、3Dファブリックマトリクス、もしくはビーズに結合される、項目 1 0 2 ~ 1 0 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 0 7)

前記結合ドメインは、マイクロビーズもしくはナノビーズに結合される、項目 1 0 2 ~ 1 0 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 0 8)

前記増殖因子サイトカインは、IL2、IL15、もしくは両方である、項目 1 0 2 ~ 1 0 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 0 9)

前記方法は、前記細胞を、抗 CD 2 7 結合ドメイン、抗 CD 2 8 結合ドメイン、抗 CD 1 3 7 結合ドメイン、抗 OX 4 0 結合ドメインもしくはこれらの任意の組み合わせとともにインキュベートする工程をさらに包含し、ここで前記結合ドメインは、固体表面に結合されている、項目 1 0 2 ~ 1 0 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 1 0)

前記抗 CD 2 7 結合ドメイン、前記抗 CD 2 8 結合ドメイン、前記抗 CD 1 3 7 結合ドメイン、前記抗 OX 4 0 結合ドメインもしくはこれらの任意の組み合わせは、平らな表面、アガロース、樹脂、3Dファブリックマトリクス、もしくはビーズに結合されている、項目 1 0 9 に記載の方法。

(項目 1 1 1)

前記増殖は、インビボもしくはエキソビボで誘発される、項目 1 0 2 ~ 1 1 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 1 2)

前記細胞は、T細胞であり、そして / または前記細胞は、ヒトT細胞である、項目 1 0 2 ~ 1 1 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 1 3)

前記T細胞は、機能的T細胞である、項目 1 1 2 に記載の方法。

(項目 1 1 4)

前記機能的T細胞は、ウイルス特異的T細胞、腫瘍抗原特異的細胞傷害性T細胞、メモリーステムT細胞、セントラルメモリーT細胞、もしくはCD4 + CD25 + 調節性T細胞である、項目 1 1 3 に記載の方法。

(項目 1 1 5)

前記増殖は、項目 1 ~ 8 5 のいずれか 1 項に記載の融合タンパク質もしくはキメラ抗原レセプターの結合ドメインが標的細胞リガンドを結合する場合にインビボで誘発される、項目 1 0 2 ~ 1 1 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 1 6)

前記標的細胞リガンドは、T細胞サプレッサー細胞リガンドである、項目 1 1 5 に記載の方法。

(項目 1 1 7)

前記 T 細胞 サプレッサー 細胞 リガンド は、 P D - L 1 もしくは P D - L 2 である、項目 1 1 6 に記載の方法。

(項目 1 1 8)

細胞を同定するための方法であって、前記方法は、

項目 1 ~ 8 5 のいずれか 1 項に記載の融合タンパク質もしくはキメラ抗原レセプターおよび / または項目 8 8 に記載の核酸分子を含む細胞を含むサンプルと、タグカセットに対して特異的な結合ドメインとを接触させる工程であって、ここで前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、検出可能な部分を含む、工程、ならびに

前記サンプル中の細胞の存在を検出する工程、
を包含する、方法。

(項目 1 1 9)

細胞もしくは細胞集団をソートもしくは選択するための方法であって、前記方法は、

項目 1 ~ 8 5 のいずれか 1 項に記載の融合タンパク質もしくはキメラ抗原レセプターおよび / または項目 8 8 に記載の核酸分子を含む T 細胞を含むサンプルと、タグカセットに対して特異的な結合ドメインとを接触させる工程、ならびに

前記結合ドメインによって特異的に結合される細胞を、他の細胞から選択もしくはソートし、それによって、前記細胞もしくは前記細胞集団を他の細胞から選択もしくはソートする工程、
を包含する、方法。

(項目 1 2 0)

前記結合ドメインは、検出可能な部分を含み、前記部分は、蛍光マーカーである、項目 1 1 8 または 1 1 9 に記載の方法。

(項目 1 2 1)

前記結合ドメインは、検出可能な部分を含み、前記部分は、A P C もしくは F I T C である、項目 1 1 8 ~ 1 2 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 2 2)

前記サンプルは血液である、項目 1 1 8 ~ 1 2 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 2 3)

前記細胞は、フローサイトメトリーを使用して検出もしくはソートされる、項目 1 1 8 ~ 1 2 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 2 4)

前記細胞は、非天然の細胞であるか、T 細胞であるか、そして / またはヒト T 細胞である、項目 1 1 8 ~ 1 2 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 2 5)

細胞もしくはその集団を富化するかもしくは単離するための方法であって、前記方法は、

項目 8 8 に記載の核酸分子および / または項目 1 ~ 8 5 のいずれか 1 項に記載のタンパク質もしくはレセプターを含む前記細胞を含むサンプルと、タグカセットに対して特異的な結合ドメインとを接触させる工程、ならびに

前記サンプルにおいて、前記細胞を、前記融合タンパク質もしくは前記レセプターを発現しない他の細胞から富化もしくは単離する工程、
を包含する、方法。

(項目 1 2 6)

前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、同系レセプター、抗タグ抗体、もしくは抗タグ s c F v である、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 2 7)

前記タグカセットは、アミノ酸配列 Trp - Ser - His - Pro - Gln - Phe - Glu - Lys (配列番号 1) もしくは Trp - Arg - His - Pro - Gln - Phe - Gly - Gly (配列番号 2) を有する Strept タグである、項目 1 2 5 または 1 2 6 に記載の方法。

(項目 1 2 8)

前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、ビオチン結合タンパク質もしくは抗 S t r e p タグ抗体である、項目 1 2 5 ~ 1 2 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 2 9)

前記結合ドメインは、平らな表面、アガロース、樹脂、3Dファブリックマトリクス、もしくはビーズに結合される、項目 1 2 5 ~ 1 2 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 3 0)

前記結合ドメインは、マイクロビーズもしくはナノビーズに結合される、項目 1 2 5 ~ 1 2 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 3 1)

活性化は、エキソピボで行われる、項目 1 2 5 ~ 1 3 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 3 2)

富化もしくは単離の前に、項目 1 0 2 ~ 1 1 7 のいずれか 1 項に記載のサンプルにおいて前記細胞集団を増殖させる工程をさらに包含する、項目 1 2 5 ~ 1 3 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 3 3)

前記細胞は、非天然の細胞であり、T細胞であり、そして/またはヒトT細胞である、項目 1 2 5 ~ 1 3 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 3 4)

前記細胞は、前記サンプルの他の成分から、磁性カラムクロマトグラフィーによって富化もしくは単離される、項目 1 2 5 ~ 1 3 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 3 5)

富化もしくは単離された前記細胞もしくは前記細胞集団を同定する工程をさらに包含し、ここで前記同定する工程は、前記細胞と、前記タグカセットに対して特異的であり、かつ検出可能な部分を有する結合ドメインとを接触させることを包含する、項目 1 2 5 ~ 1 3 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 3 6)

前記検出可能な部分は、蛍光マーカーである、項目 1 3 5 に記載の方法。

(項目 1 3 7)

前記検出可能な部分は、A P C、P E、パシフィックブルー、A l e x f l u o r、もしくはF I T Cである、項目 1 3 5 または 1 3 6 に記載の方法。

(項目 1 3 8)

細胞もしくは集団は、フローサイトメトリーを使用して検出される、項目 1 3 5 ~ 1 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 3 9)

前記サンプルは、血液もしくは血液由来サンプルである、項目 1 2 5 ~ 1 3 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 4 0)

細胞を枯渇させるための方法であって、前記方法は、

項目 8 8 に記載の核酸分子または項目 1 ~ 8 5 のいずれか 1 項に記載のタンパク質もしくはレセプターを含む細胞と、タグカセットに対して特異的な結合ドメインとを接触させる工程であって、ここで前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインの結合は、前記融合タンパク質もしくは前記キメラレセプターを発現する前記細胞の細胞死をもたらす、工程、
を包含する、方法。

(項目 1 4 1)

前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、同系レセプター、抗タグ抗体、抗タグ s c F v、または抗タグ結合ドメインをその細胞表面に有する細胞である、項目 1 4 0 に記載の方法。

(項目 1 4 2)

前記タグカセットは、アミノ酸配列 Trp - Ser - His - Pro - Gln - Phe - Glu - Lys (配列番号 1) もしくは Trp - Arg - His - Pro - Gln - Phe - Gly - Gly (配列番号 2) を有する Strept タグである、項目 140 または 141 に記載の方法。

(項目 143)

前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、ビオチン結合タンパク質、抗 Strept タグ抗体、または抗 Strept タグ結合ドメインをその細胞表面に発現する細胞である、項目 140 ~ 142 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 144)

前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、二重特異的結合ドメインであり、ここで第 1 の結合ドメインは、前記タグカセットに対して特異的であり、その第 2 の結合ドメインは、CD3 に対して特異的である。項目 140 ~ 143 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 145)

前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、細胞傷害性薬剤、放射性同位体、放射性金属、もしくは検出可能な因子をさらに含む、項目 140 ~ 143 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 146)

非天然の T 細胞をインビボで追跡する工程をさらに包含し、ここで前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、検出可能な因子を含む、項目 145 に記載の方法。

(項目 147)

タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、被験体に投与される、項目 140 ~ 146 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 148)

前記被験体はヒトである、項目 147 に記載の方法。

(項目 149)

前記方法は、前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインを投与した後に、前記被験体におけるサイトカインレベルをモニターする工程をさらに包含する、項目 147 または 148 に記載の方法。

(項目 150)

前記方法は、前記被験体において前記細胞を追跡する工程をさらに包含する、項目 147 ~ 149 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 151)

前記インビボで追跡する工程は、磁性粒子、超常磁性酸化鉄 (SPIO)、フルオロデオキシグルコース (18F)、蛍光化合物、またはこれらの任意の組み合わせに結合体化した前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインの使用を含む、項目 150 に記載の方法。

(項目 152)

前記インビボで追跡する工程は、MRI、PET、もしくは近赤外線画像化の使用を含む、項目 150 または 151 に記載の方法。

(項目 153)

望ましい細胞集団を生成するための方法であって、前記方法は、非天然の前駆細胞を含むサンプルと、タグカセットに対して特異的な結合ドメインおよび増殖因子とを、細胞増殖および分化を可能にするために十分な時間にわたって接触させる工程であって、ここで前記非天然の前駆細胞は、項目 50 ~ 85 のいずれか 1 項に記載の融合タンパク質をコードする核酸分子を含み、前記タグカセットに対して特異的な前記結合ドメインは、固体表面に結合される、工程を包含する、方法。

(項目 154)

前記前駆細胞は、幹細胞である、項目 153 に記載の方法。

(項目 155)

増殖させた前記前駆細胞集団は、項目 1 2 5 ~ 1 3 9 のいずれか 1 項に記載の方法を使用してさらに単離もしくは富化される、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 5 6)

被験体における疾患を処置する方法であって、前記方法は、項目 9 2 または 9 3 に記載の宿主細胞を被験体に投与する工程を包含する、方法。

(項目 1 5 7)

前記疾患は、ウイルス疾患、細菌疾患、癌、炎症性疾患、免疫疾患、もしくは加齢関連疾患である、項目 1 5 6 に記載の方法。

(項目 1 5 8)

前記被験体はヒトである、項目 1 5 6 または 1 5 7 に記載の方法。

(項目 1 5 9)

前記宿主細胞は、T 細胞もしくは自己由来 T 細胞である、項目 1 5 6 ~ 1 5 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 6 0)

前記 T 細胞は、調節性 T 細胞である、項目 1 5 9 に記載の方法。

(項目 1 6 1)

前記 T 細胞は、CD 8⁺ T 細胞もしくは CD 4⁺ T 細胞である、項目 1 5 9 に記載の方法。

(項目 1 6 2)

前記宿主細胞は、幹細胞である、項目 1 5 6 ~ 1 5 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 6 3)

免疫細胞の局所活性化のためのインビボでの方法であって、前記方法は、被験体に、タグカセットに対する結合ドメインおよび共刺激分子に対する結合ドメインを含むマトリクス組成物を投与する工程、ならびに項目 9 2 に記載の宿主細胞を投与する工程を包含し、ここで前記マトリクス組成物中の前記結合ドメインと、前記宿主細胞との会合は、前記宿主細胞を活性化する、方法。

(項目 1 6 4)

局所活性化のためのインビボでの方法であって、ここでマトリクス組成物は、アルギネート、基底膜マトリクス、もしくはバイオポリマーを含む、方法。

(項目 1 6 5)

局所活性化のためのインビボでの方法であって、ここで免疫細胞は T 細胞である、方法。

(項目 1 6 6)

免疫細胞の局所活性化のためのインビボでの方法であって、前記方法は、被験体に、タグカセットに対する結合ドメインおよび共刺激分子に対する結合ドメインを含むデバイスを投与する工程、ならびに項目 9 2 に記載の宿主細胞を投与する工程を包含し、ここでマトリクス組成物中の前記結合ドメインと、前記宿主細胞との会合は、前記宿主細胞を活性化する、方法。

(項目 1 6 7)

局所活性化のためのインビボでの方法であって、ここでデバイスは、平らな表面、アガロースビーズ、樹脂、3Dファブリックマトリクス、もしくはビーズを含む、方法。

(項目 1 6 8)

局所活性化のためのインビボでの方法であって、ここで免疫細胞は、T 細胞である、方法。

(項目 1 6 9)

細胞を追跡する方法であって、前記方法は、被験体に、検出可能な部分を含む結合分子を投与する工程であって、ここで前記被験体は、項目 9 2 もしくは 9 3 に記載の細胞を投与されたか、または前記方法は、項目 9 2 もしくは 9 3 に記載の細胞の投与をさらに包含し、前記結合分子は、融合タンパク質もしくはキメラレセプター内に含まれるタグカセットに特異的に結合する、工程、ならびに前記投与の後に、前記被験体においてインビボで

、または前記被験体から得られたサンプル中で、前記分子の存在を検出し、それによって前記被験体またはその組織もしくは体液中で前記細胞を検出する工程を包含する、方法。

(項目 170)

前記方法は、前記細胞の前記投与をさらに含み、ここで前記細胞および前記結合分子は、同時に投与される、項目 169 に記載の方法。

(項目 171)

前記結合分子および前記細胞は、複合体として投与される、項目 170 に記載の方法。

(項目 172)

前記結合分子は、磁性粒子、超常磁性酸化鉄 (SPIO)、フルオロデオキシグルコース (18F)、蛍光化合物、もしくはこれらの任意の組み合わせに結合体化される、項目 150 に記載の方法。

(項目 173)

前記追跡する工程は、インビボで実行され、MRI、PET、もしくは近赤外線画像化の使用を含む、項目 150 または 151 に記載の方法。

(項目 174)

タグカセットに対する結合ドメインおよび免疫細胞共刺激分子に対する結合ドメインを含む、マトリクス組成物。

(項目 175)

アルギネート、基底膜マトリクス、もしくはバイオポリマーをさらに含む、項目 174 に記載のマトリクス組成物。

(項目 176)

タグカセットに対する結合ドメインおよび免疫細胞共刺激分子に対する結合ドメインを含む、デバイス。

(項目 177)

前記結合ドメインのうち的一方もしくは両方は、表面、アガロースビーズ、樹脂、3D ファブリックマトリクス、もしくはビーズに配置される、項目 176 に記載のデバイス。