(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-538118
(P2023-538118A)
(43)公表日　令和5年9月6日(2023.9.6)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*45/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/06		４Ｂ０６３
Ａ６１Ｋ	*35/76*	*(2015.01)*	Ａ６１Ｋ	35/76	ＺＮＡ	４Ｂ０６５
Ａ６１Ｋ	*9/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	9/06		４Ｃ０７６
Ａ６１Ｋ	*47/36*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/36		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*48/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	48/00		４Ｃ０８６

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全354頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-512389(P2023-512389)
(86)(22)出願日　令和3年8月20日(2021.8.20)
(85)翻訳文提出日　令和5年4月19日(2023.4.19)
(86)国際出願番号　PCT/US2021/046994
(87)国際公開番号　WO2022/040586
(87)国際公開日　令和4年2月24日(2022.2.24)
(31)優先権主張番号　63/068,876
(32)優先日　令和2年8月21日(2020.8.21)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/154,609
(32)優先日　令和3年2月26日(2021.2.26)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA
最終頁に続く

(71)出願人　504389991
ノバルティス アーゲー
スイス国 バーゼル リヒトシュトラーセ３５
(74)代理人　100106518
弁理士　松谷 道子
(74)代理人　100122301
弁理士　冨田 憲史
(72)発明者　コシー，サンディープ タリアン
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレイテッド
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＣＡＲ発現細胞のインビボ生成のための組成物及び方法

(57)【要約】
本開示の態様は、概して、ＣＡＲ発現細胞のインビボ生成のための生体材料の使用に関する。いくつかの実施形態では、生体材料は、細胞動員組成物、ウイルスベクター及び／又は細胞活性化剤の１つ以上を含む。

10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
生体材料及び細胞動員因子を含む第１の組成物と；
ウイルスベクターを含む第２の組成物と
を含む複数の組成物。
【請求項２】
生体材料及び細胞動員因子を含む第１の組成物であって、
前記生体材料は、ヒドロゲル、例えばクリオゲル（例えば、アルギン酸クリオゲル）又はヒアルロン酸ヒドロゲル（ＨＡヒドロゲル）を含み、
前記細胞動員因子は、配列番号７４１に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むが、但し、配列番号７４１の２６位のアミノ酸は、システイン（Ｃ）ではなく、任意選択により、配列番号７４１の２６位の前記アミノ酸は、アラニン（Ａ）である、第１の組成物。
【請求項３】
対象の細胞をインビボで形質導入するか、又は対象の疾患、障害若しくは状態を処置する方法であって、
生体材料及び細胞動員因子を前記対象における部位（例えば、高位皮下空間又は真皮に隣接する皮下空間）に投与することと、
導入遺伝子を含むウイルスベクター又は核酸を前記対象に投与することと
を含み、それにより前記対象の細胞を前記導入遺伝子で形質導入する、方法。
【請求項４】
前記生体材料及び前記細胞動員因子は、第１の組成物中に含まれ、及び前記ウイルスベクター又は核酸は、第２の組成物中に含まれる、請求項３に記載の方法。
【請求項５】
前記生体材料は、
（ｉ）ヒドロゲルを含み；
（ｉｉ）クリオゲル、例えばアルギン酸クリオゲルを含み；
（ｉｉｉ）ヒアルロン酸ヒドロゲル（ＨＡヒドロゲル）を含み；
（ｉｖ）ゼラチン、ヒアルロン酸、コラーゲン、アルギン酸塩、ラミニン、キトサン、絹フィブロイン、アガロース、ポリ（エチレングリコール）、ポリビニルアルコール及び／又はヒドロキシエチルメチルアクリレートを含み；
（ｖ）アルギン酸ヒドロゲルであって、任意選択によりノルボルネン及び／又はテトラジンを更に含み、任意選択により、前記ノルボルネン及び／又はテトラジンは、前記アルギン酸塩と共有結合されており、例えばそれに化学的に連結されているか、又はそれと非共有結合されており、例えばそれに吸着されている、アルギン酸ヒドロゲルを含み；及び／又は
（ｖｉ）約１０μｍ～約３００μｍ、例えば約５０μｍ～約３００μｍの直径の細孔を含むか又は細孔を含まず；及び／又は
（ｖｉｉ）化学的に架橋されている、請求項１に記載の複数の組成物又は請求項３若しくは４に記載の方法。
【請求項６】
前記生体材料を含む前記第１の組成物は、ラポナイトを更に含むか；又は前記生体材料は、ラポナイトを更に含む第１の組成物中に含まれ；任意選択により、前記ラポナイトは、約０．１５ｍｇ／ｍＬ～約０．３５ｍｇ／ｍＬ、例えば約０．２５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する、請求項１～５のいずれか一項に記載の複数の組成物、第１の組成物又は方法。
【請求項７】
前記細胞動員因子は、
（ｉ）前記生体材料と非共有結合されており、例えばそれに吸着されているか；又は
（ｉｉ）前記生体材料と共有結合されており、例えばそれにコンジュゲートされている

、請求項１～６のいずれか一項に記載の複数の組成物、第１の組成物又は方法。
【請求項８】
前記細胞動員因子は、
（ｉ）リンパ管新生を誘導し；
（ｉｉ）リンパ管内皮細胞の増殖を誘導し；及び／又は
（ｉｉｉ）免疫細胞を動員し、任意選択により、前記免疫細胞は、Ｔ細胞及び／又はＮＫ細胞を含む、請求項１～７のいずれか一項に記載の複数の組成物、第１の組成物又は方法。
【請求項９】
リンパ管新生の誘導は、
（ｉ）リンパ管内皮細胞（ＬＥＣ）（例えば、ＣＤ４５－ＣＤ３１＋ＰＤＰＮ＋細胞）のレベルの増加であって、任意選択により、前記ＬＥＣのレベルは、例えば、実施例Ｈ又はＩに記載されるようなアッセイ、例えばフローサイトメトリーアッセイによって測定された場合、参照レベル（例えば、前記複数の組成物又は前記第１の組成物の注射前の対象の部位におけるＬＥＣのレベル）と比較して少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、１００％又は２００％増加する、増加を含み；及び／又は
（ｉｉ）例えば、実施例Ｈ又はＩに記載されるようなアッセイ、例えばフローサイトメトリーアッセイによって測定された場合、組織１ミリグラム当たり少なくとも５０個のＬＥＣ（例えば、少なくとも７５、１００、１２５、１５０、２００、２２５又は２５０個のＬＥＣ）をもたらす、請求項８に記載の複数の組成物、第１の組成物又は方法。
【請求項１０】
前記細胞動員因子は、Ｔ細胞を動員し、任意選択により、前記Ｔ細胞は、ナイーブＴ細胞（例えば、ＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋Ｔ細胞又はＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋ＣＣＲ７＋ＣＤ２７＋ＣＤ９５＋Ｔ細胞）を含む、請求項１～９のいずれか一項に記載の複数の組成物、第１の組成物又は方法。
【請求項１１】
Ｔ細胞の動員は、Ｔ細胞のレベルの増加を含み、任意選択により、前記Ｔ細胞のレベルは、例えば、実施例Ｈ又はＩに記載されるようなアッセイ、例えばフローサイトメトリーアッセイによって測定された場合、参照レベル（例えば、前記複数の組成物又は前記第１の組成物の注射前の対象の部位におけるＴ細胞のレベル）と比較して少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、１００％、２００％又は３００％増加する、請求項１０に記載の複数の組成物、第１の組成物又は方法。
【請求項１２】
前記細胞動員因子は、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＸＣＬ１２、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０又はＣＸＣＬ１１から選択される、請求項１若しくは５～１１のいずれか一項に記載の複数の組成物又は請求項３～１１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３】
前記細胞動員因子は、ＶＥＧＦ－Ｃを含み、任意選択により、前記ＶＥＧＦ－Ｃは、
（ｉ）成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチド、任意選択によりマイナー若しくはメジャー成熟型又はその変異体を含み；
（ｉｉ）単量体又は二量体であり；及び／又は
（ｉｉｉ）有効量、任意選択により約１ｍｇ以下、約１０ｍｇ以下、約１０μｇ以上、約１μｇ以上、約１μｇ～１ｍｇ、約１０μｇ～１ｍｇ、約１μｇ～１０ｍｇ又は約１０μｇ～１０ｍｇの量で存在する、請求項１若しくは５～１２のいずれか一項に記載の複数の組成物又は請求項３～１２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４】

前記ＶＥＧＦ－Ｃは、
（ｉ）任意選択により、リンカー（例えば、グリシン－セリンリンカー）及び／又はｈｉｓタグを含むか又は含まない、表１８に提供される配列のいずれか１つのアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有する配列；及び／又は
（ｉｉ）配列番号７２５に従って番号付けされたＣ１３７Ａのアミノ酸置換
を含む、請求項１３に記載の複数の組成物又は方法。
【請求項１５】
前記細胞動員因子は、
（ｉ）配列番号７４１の２６位の前記アミノ酸がシステイン（Ｃ）ではなく、任意選択により、配列番号７４１の２６位の前記アミノ酸がアラニン（Ａ）であることを条件として、配列番号７４１に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列；
（ｉｉ）配列番号７４３に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列；
（ｉｉｉ）配列番号７４０に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列；
（ｉｖ）配列番号７３６に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列；
（ｖ）リンカーであって、例えばＧｌｙ－Ｓｅｒの配列を有し、任意選択により配列番号７４３又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有する配列のＣ末端であるリンカー；
（ｖｉ）配列番号７３５に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列；
（ｖｉｉ）配列番号７３４に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列；及び／又は
（ｖｉｉｉ）配列番号７３３に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列
を含む、請求項１若しくは５～１４のいずれか一項に記載の複数の組成物又は請求項３～１４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１６】
前記細胞動員因子は、ＶＥＧＦ－Ｃ若しくはその機能的変異体；ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））若しくはその機能的変異体；ＩＬ－７若しくはその機能的変異体；又はそれらの組み合わせを含む、請求項１若しくは５～１５のいずれか一項に記載の複数の組成物又は請求項３～１５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１７】
前記第２の組成物は、粒子を更に含む、請求項１若しくは５～１６のいずれか一項に記載の複数の組成物又は請求項４～１６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１８】
前記粒子は、メソポーラス粒子、シリカ粒子及び／又はメソポーラスシリカ粒子であり、任意選択により、前記メソポーラスシリカ粒子は、メソポーラスシリカロッドである、請求項１７に記載の複数の組成物又は方法。
【請求項１９】
メソポーラスシリカ粒子と；
ウイルスベクターと；
細胞活性化剤と
を含む第２の組成物。
【請求項２０】
前記メソポーラスシリカ粒子は、
（ｉ）表面修飾であって、任意選択により、

（ａ）任意選択によりＣ１～Ｃ２０アルキル又は（－Ｏ（ＣＨ２－ＣＨ２－）１～２５リンカーを用いる、－ＯＨ（ヒドロキシル）、アミン、カルボン酸、ホスホネート、ハロゲン化物、アジド、アルキン、エポキシド、スルフヒドリル、ポリエチレンイミン、疎水性部分又はその塩；
（ｂ）一級、二級、三級又は四級アミン；及び／又は
（ｃ）ゲル浸透クロマトグラフィー（ＧＰＣ）によって測定されて、約１０００～２０，０００Ｄａ、約１，２００～１５，０００Ｄａ、約１，５００～１２，０００Ｄａ、約２，０００Ｄａ、約３，０００Ｄａ、約４，０００Ｄａ、約５，０００Ｄａ、約６，０００Ｄａ、約７，０００Ｄａ、約８，０００Ｄａ、約９，０００Ｄａ又は約１０，０００Ｄａの平均分子量を有するポリエチレンイミン
を含む表面修飾を含み；
（ｉｉ）トリメチルアンモニウム官能化メソポーラスシリカ粒子、例えばＮ，Ｎ，Ｎ－トリメチルプロパン－１－アンモニウム官能化メソポーラスシリカ粒子であり；
（ｉｉｉ）任意選択により２～５０ｎｍの直径である複数の細孔を含み；及び／又は
（ｉｖ）少なくとも約１００ｍ^2／ｇの表面積を含む、請求項１８に記載の複数の組成物若しくは方法又は請求項１９に記載の第２の組成物。
【請求項２１】
（ｉ）前記ウイルスベクターは、前記メソポーラスシリカ粒子と非共有結合されており、例えば静電的に結合されているか、又は共有結合されており；及び／又は
（ｉｉ）前記細胞活性化剤は、前記メソポーラスシリカ粒子と非共有又は共有結合されている、請求項１、５～１８若しくは２０のいずれか一項に記載の複数の組成物、請求項１９若しくは２０に記載の第２の組成物又は請求項３～１８若しくは２０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２２】
対象の細胞をインビボで形質導入するか、又は対象の疾患、障害若しくは状態を処置する方法であって、
導入遺伝子を含むウイルスベクター又は核酸を前記対象における部位に投与することであって、前記対象は、リンパ管新生及び／又はＴ細胞の動員を誘導するのに十分な量の生体材料及び細胞動員因子を前記対象における前記部位に事前に投与されている、投与すること
を含み、それにより前記細胞を形質導入する、方法。
【請求項２３】
前記ウイルスベクターは、粒子、例えばメソポーラスシリカ粒子と非共有結合されており、例えば静電的に結合されているか、又は共有結合されている、請求項２２に記載の方法。
【請求項２４】
前記ウイルスベクターは、
（ｉ）レンチウイルス、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス又はヘルペスウイルス；及び／又は
（ｉｉ）発現されるヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含む発現ベクター
を含む、請求項１、５～１８又は２０若しくは２１のいずれか一項に記載の複数の組成物、請求項１９～２１のいずれか一項に記載の第２の組成物或いは請求項３～１８又は２０～２３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２５】
前記ヌクレオチド配列は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、操作されたＴＣＲ、サイトカイン、ケモカイン、ｓｈＲＮＡ又は腫瘍抗原を標的とするように操作されたポリペプチドをコードする、請求項２４に記載の複数の組成物、第２の組成物又は方法。
【請求項２６】
前記腫瘍抗原は、ＴＳＨＲ、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ１７１

、ＣＳ－１、ＣＬＬ－１、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ２、ＧＤ３、ＢＣＭＡ、Ｔｎ　Ａｇ、ＰＳＭＡ、ＲＯＲ１、ＦＬＴ３、ＦＡＰ、ＴＡＧ７２、ＣＤ３８、ＣＤ４４ｖ６、ＣＥＡ、ＥＰＣＡＭ、Ｂ７Ｈ３、ＫＩＴ、ＩＬ－１３Ｒａ２、メソテリン、ＩＬ－１１Ｒａ、ＰＳＣＡ、ＰＲＳＳ２１、ＶＥＧＦＲ２、ルイスＹ、ＣＤ２４、ＰＤＧＦＲ－ベータ、ＳＳＥＡ－４、ＣＤ２０、葉酸受容体アルファ、ＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）、ＭＵＣ１、ＥＧＦＲ、ＮＣＡＭ、プロスターゼ、ＰＡＰ、ＥＬＦ２Ｍ、エフリンＢ２、ＩＧＦ－Ｉ受容体、ＣＡＩＸ、ＬＭＰ２、ｇｐ１００、ｂｃｒ－ａｂｌ、チロシナーゼ、ＥｐｈＡ２、フコシルＧＭ１、ｓＬｅ、ＧＭ３、ＴＧＳ５、ＨＭＷＭＡＡ、ｏ－アセチル－ＧＤ２、葉酸受容体ベータ、ＴＥＭ１／ＣＤ２４８、ＴＥＭ７Ｒ、ＣＬＤＮ６、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＸＯＲＦ６１、ＣＤ９７、ＣＤ１７９ａ、ＡＬＫ、ポリシアル酸、ＰＬＡＣ１、ＧｌｏｂｏＨ、ＮＹ－ＢＲ－１、ＵＰＫ２、ＨＡＶＣＲ１、ＡＤＲＢ３、ＰＡＮＸ３、ＧＰＲ２０、ＬＹ６Ｋ、ＯＲ５１Ｅ２、ＴＡＲＰ、ＷＴ１、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＬＡＧＥ－１ａ、ＭＡＧＥ－Ａ１、レグマイン、ＨＰＶ　Ｅ６、Ｅ７、ＭＡＧＥ　Ａ１、ＥＴＶ６－ＡＭＬ、精子タンパク質１７、ＸＡＧＥ１、Ｔｉｅ　２、ＭＡＤ－ＣＴ－１、ＭＡＤ－ＣＴ－２、Ｆｏｓ関連抗原１、ｐ５３、ｐ５３変異体、プロステイン、サバイビン及びテロメラーゼ、ＰＣＴＡ－１／ガレクチン８、ＭｅｌａｎＡ／ＭＡＲＴ１、Ｒａｓ変異体、ｈＴＥＲＴ、肉腫転座切断点、ＭＬ－ＩＡＰ、ＥＲＧ（ＴＭＰＲＳＳ２　ＥＴＳ融合遺伝子）、ＮＡ１７、ＰＡＸ３、アンドロゲン受容体、サイクリンＢ１、ＭＹＣＮ、ＲｈｏＣ、ＴＲＰ－２、ＣＹＰ１Ｂ１、ＢＯＲＩＳ、ＳＡＲＴ３、ＰＡＸ５、ＯＹ－ＴＥＳ１、ＬＣＫ、ＡＫＡＰ－４、ＳＳＸ２、ＲＡＧＥ－１、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、ＲＵ１、ＲＵ２、腸カルボキシルエステラーゼ、ｍｕｔ　ｈｓｐ７０－２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ７２、ＬＡＩＲ１、ＦＣＡＲ、ＬＩＬＲＡ２、ＣＤ３００ＬＦ、ＣＬＥＣ１２Ａ、ＢＳＴ２、ＥＭＲ２、ＬＹ７５、ＧＰＣ３、ＦＣＲＬ５、ＩＧＬＬ１並びにそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、請求項２５に記載の複数の組成物、第２の組成物又は方法。

【請求項２７】

前記ウイルスベクターは、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、共刺激シグナル伝達領域及びシグナル伝達ドメインを含むＣＡＲをコードし、

（ｉ）前記抗原結合ドメインは、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＣＤ２２、ＣＤ２０、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＢＣＭＡ、メソテリン、ＣＤ３３、ＣＬＬ－１及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される抗原に結合し；

（ｉｉ）前記膜貫通ドメインは、ＣＤ８ヒンジを含み；

（ｉｉｉ）前記共刺激シグナル伝達領域は、４－１ＢＢ又はＣＤ２８共刺激シグナル伝達ドメインから選択され；及び／又は

（ｉｖ）前記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含む、請求項１、５～１８、２０若しくは２１又は２４～２６のいずれか一項に記載の複数の組成物、請求項１９～２１又は２４～２６のいずれか一項に記載の第２の組成物或いは請求項３～１８又は２０～２６のいずれか一項に記載の方法。

【請求項２８】

前記第２の組成物は、細胞活性化剤を更に含む、請求項１、５～１８、２０若しくは２１又は２４～２７のいずれか一項に記載の複数の組成物或いは請求項４～１８又は２０～２７のいずれか一項に記載の方法。

【請求項２９】

前記細胞活性化剤は、

（ａ）ＣＤ３／ＴＣＲ複合体を刺激する薬剤並びに／又は共刺激分子及び／若しくは増殖因子受容体を刺激する薬剤を含み；

（ｂ）（ｉ）抗ＣＤ３結合ドメインと、（ｉｉ）共刺激分子結合ドメイン（例えば、抗ＣＤ２結合ドメイン又は抗ＣＤ２８結合ドメイン）とを含む多重特異性結合分子であり；

（ｃ）表２０に提供される任意の重鎖のアミノ酸配列若しくはそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列；及び／又は表２０に提供される任意の軽鎖の

アミノ酸配列若しくはそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列；及び／又は
（ｄ）前記粒子、例えばメソポーラスシリカ粒子にコンジュゲート又は吸着されている、請求項２８に記載の複数の組成物又は方法、請求項１９～２１又は２４～２７のいずれか一項に記載の第２の組成物。
【請求項３０】
（ｉ）前記抗ＣＤ３結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３　ｓｃＦｖは、前記共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２　Ｆａｂ又は抗ＣＤ２８　ＦａｂのＮ末端に位置するか；又は
（ｉｉ）前記抗ＣＤ３結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３　ｓｃＦｖは、前記共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２　Ｆａｂ又は抗ＣＤ２８　ＦａｂのＣ末端に位置し、任意選択により、
Ｆｃ領域は、前記抗ＣＤ３結合ドメインと前記共刺激分子結合ドメインとの間に位置するか；又は
前記多重特異性結合分子は、ＣＨ２を含み、及び前記抗ＣＤ３結合ドメインは、前記ＣＨ２のＮ末端に位置する、請求項２９に記載の複数の組成物、方法又は第２の組成物。
【請求項３１】
前記多重特異性結合分子は、
（ｉ）Ｎ末端からＣ末端に、前記抗ＣＤ３結合ドメインのＶＨ、前記抗ＣＤ３結合ドメインのＶＬ、前記共刺激分子結合ドメインのＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３を含む第１のポリペプチドと；
（ｉｉ）Ｎ末端からＣ末端に、前記共刺激分子結合ドメインのＶＬ及びＣＬを含む第２のポリペプチドと
を含む、請求項２９又は３０に記載の複数の組成物、方法又は第２の組成物。
【請求項３２】
前記多重特異性結合分子は、
（ｉ）Ｎ末端からＣ末端に、前記共刺激分子結合ドメインのＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２、ＣＨ３、前記抗ＣＤ３結合ドメインのＶＨ及び前記抗ＣＤ３結合ドメインのＶＬを含む第１のポリペプチドと；
（ｉｉ）Ｎ末端からＣ末端に、前記共刺激分子結合ドメインのＶＬ及びＣＬを含む第２のポリペプチドと
を含む、請求項２９又は３０に記載の複数の組成物、方法又は第２の組成物。
【請求項３３】
前記多重特異性結合分子は、
（ｉ）Ｎ末端からＣ末端に、前記共刺激分子結合ドメインのＶＨ、ＣＨ１、前記抗ＣＤ３結合ドメインのＶＨ、前記抗ＣＤ３結合ドメインのＶＬ、ＣＨ２及びＣＨ３を含む第１のポリペプチドと；
（ｉｉ）Ｎ末端からＣ末端に、前記共刺激分子結合ドメインのＶＬ及びＣＬを含む第２のポリペプチドと
を含む、請求項２９又は３０に記載の複数の組成物、方法又は第２の組成物。
【請求項３４】
前記多重特異性結合分子は、
（ｉ）Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｓ２６７Ｋ及びＰ３２９Ａ変異（ＬＡＬＡＳＫＰＡ）；
（ｉｉ）Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＰ３２９Ｇ変異（ＬＡＬＡＰＧ）；
（ｉｉｉ）Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＧ２３７Ａ、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ及びＳ２６７Ｋ変異（ＧＡＤＡＰＡＳＫ）；
（ｉｖ）Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＧ２３７Ａ変異（ＬＡＬＡＧＡ）；
（ｖ）Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＤ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ及び

Ｓ２６７Ｋ変異（ＤＡＰＡＳＫ）；
（ｖｉ）Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＧ２３７Ａ、Ｄ２６５Ａ及びＰ３２９Ａ変異（ＧＡＤＡＰＡ）；
（ｖｉｉ）Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＰ３２９Ａ変異（ＬＡＬＡＰＡ）；又は
（ｖｉｉｉ）表２０中のＦｃ領域のいずれかのアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列
を含むＦｃ領域を含む、請求項２９又は３０に記載の複数の組成物、方法又は第２の組成物。
【請求項３５】
前記多重特異性結合分子は、
（ｉ）配列番号７２６、８９３若しくは８９５のいずれかのアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖；及び／又は
（ｉｉ）配列番号７２８、７３０、８９２若しくは８９４のいずれかのアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖
を含む、請求項２９、３０又は３４のいずれか一項に記載の複数の組成物、方法又は第２の組成物。
【請求項３６】
前記多重特異性結合分子は、
（ｉ）配列番号７２６のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号７２８のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖；
（ｉｉ）配列番号７２６のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号７３０のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖；
（ｉｉｉ）配列番号１４１６のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号７２８のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖；
（ｉｖ）配列番号１４１６のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号７３０のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖；
（ｖ）配列番号８９３のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号８９２のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖；
（ｖｉ）配列番号１４１７のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号８９２のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖；又は
（ｖｉｉ）配列番号８９５のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号８９４のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖
を含む、請求項２９、３０又は３４若しくは３５のいずれか一項に記載の複数の組成物、方法又は第２の組成物。
【請求項３７】
前記第２の組成物は、粒子の第１の集団及び粒子の第２の集団、例えばメソポーラスシリカ粒子の第１の集団及びメソポーラスシリカ粒子の第２の集団を更に含み、前記第１の集団は、前記ウイルスベクターを含み、及び前記第２の集団は、細胞活性化剤を含み、例えば、前記ウイルスベクターは、前記第１の集団の粒子と非共有結合されており、及び前記細胞活性化剤は、前記第２の集団の粒子と非共有結合されている、請求項１、５～１８、２０若しくは２１又は２４～３６のいずれか一項に記載の複数の組成物或いは請求項４～１８又は２０～３６のいずれか一項に記載の方法。

【請求項３８】
前記第１又は第２の組成物は、注射用途に適している、請求項１、５～１８、２０若しくは２１又は２４～３７のいずれか一項に記載の複数の組成物、請求項２又は６～１１のいずれか一項に記載の第１の組成物或いは請求項１９～２１、２４～２７又は２９～３６のいずれか一項に記載の第２の組成物。
【請求項３９】
（ｉ）Ｔｅｔ２阻害剤であって、任意選択により、（１）Ｔｅｔ２をコードする遺伝子内の１つ以上の部位を標的とする遺伝子編集系若しくはその対応する調節エレメント；（２）Ｔｅｔ２の発現を阻害する核酸（例えば、ｓｉＲＮＡ若しくはｓｈＲＮＡ）；（３）タンパク質（例えば、ドミナントネガティブ、例えば触媒として不活性な）Ｔｅｔ２若しくはＴｅｔ２の結合パートナー（例えば、Ｔｅｔ２のドミナントネガティブ結合パートナー）；（４）Ｔｅｔ２の発現及び／若しくは機能を阻害する小分子；（５）（１）～（３）のいずれかをコードする核酸；又は（６）（１）～（５）の任意の組み合わせを含むＴｅｔ２阻害剤；及び／又は
（ｉｉ）ＺＢＴＢ３２阻害剤であって、任意選択により、（１）ＺＢＴＢ３２遺伝子を標的とする遺伝子編集系若しくはその１つ以上の成分；（２）前記遺伝子編集系の１つ以上の成分をコードする核酸；又は（３）（１）と（２）との組み合わせを含むＺＢＴＢ３２阻害剤
を更に含む、請求項１、５～１８、２０若しくは２１又は２４～３８のいずれか一項に記載の複数の組成物、請求項２、６～１１又は３８のいずれか一項に記載の第１の組成物或いは請求項１９～２１、２４～２７、２９～３６又は３８のいずれか一項に記載の第２の組成物。実施形態では、前記ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（１）前記ＺＢＴＢ３２遺伝子を標的とする遺伝子編集系又はその１つ以上の成分を含む。実施形態では、前記ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（２）前記遺伝子編集系の１つ以上の成分をコードする核酸を含む。実施形態では、前記ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（１）と（２）との組み合わせを含む。
【請求項４０】
前記対象に、
（ｉ）Ｔｅｔ２阻害剤であって、任意選択により、（１）Ｔｅｔ２をコードする遺伝子内の１つ以上の部位を標的とする遺伝子編集系若しくはその対応する調節エレメント；（２）Ｔｅｔ２の発現を阻害する核酸（例えば、ｓｉＲＮＡ若しくはｓｈＲＮＡ）；（３）タンパク質（例えば、ドミナントネガティブ、例えば触媒として不活性な）Ｔｅｔ２若しくはＴｅｔ２の結合パートナー（例えば、Ｔｅｔ２のドミナントネガティブ結合パートナー）；（４）Ｔｅｔ２の発現及び／若しくは機能を阻害する小分子；（５）（１）～（３）のいずれかをコードする核酸；又は（６）（１）～（５）の任意の組み合わせを含むＴｅｔ２阻害剤；及び／又は
（ｉｉ）ＺＢＴＢ３２阻害剤であって、任意選択により、（１）ＺＢＴＢ３２遺伝子を標的とする遺伝子編集系若しくはその１つ以上の成分；（２）前記遺伝子編集系の１つ以上の成分をコードする核酸；又は（３）（１）と（２）との組み合わせを含むＺＢＴＢ３２阻害剤
を投与することを更に含む、請求項３～１８又は２０～３７のいずれか一項に記載の方法。実施形態では、前記ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（１）前記ＺＢＴＢ３２遺伝子を標的とする遺伝子編集系又はその１つ以上の成分を含む。実施形態では、前記ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（２）前記遺伝子編集系の１つ以上の成分をコードする核酸を含む。実施形態では、前記ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（１）と（２）との組み合わせを含む。
【請求項４１】
対象の細胞をインビボで形質導入するか、又は対象の疾患、障害若しくは状態を処置する方法であって、請求項１、５～１８、２０若しくは２１又は２４～３９のいずれか一項に記載の複数の組成物の前記第１の組成物及び前記第２の組成物を投与することを含む方法。
【請求項４２】

対象の細胞をインビボで形質導入するか、又は対象の疾患、障害若しくは状態を処置する方法であって、請求項２、６～１１、３８又は３９のいずれか一項に記載の第１の組成物と、請求項１９～２１、２４～２７、２９～３６又は３８のいずれか一項に記載の第２の組成物とを投与することを含む方法。

【請求項４３】

前記第１の組成物及び前記第２の組成物は、連続的に投与される、請求項３～１８、２０若しくは２１、２４～３７又は４０～４２のいずれか一項に記載の方法。

【請求項４４】

前記第１の組成物は、前記第２の組成物の前記投与前に投与され、任意選択により、

（ｉ）前記第１の組成物は、前記第２の組成物の前記投与の約１～４週間、例えば約２週間前に投与されるか；又は

（ｉｉ）前記第１の組成物は、前記第２の組成物の前記投与の少なくとも２週間前に投与される、請求項３～１８、２０若しくは２１、２４～３７又は４０～４３のいずれか一項に記載の方法。

【請求項４５】

前記対象由来のサンプル（例えば、投与部位からの又はその近傍のサンプル）中のリンパ管新生を評価、例えば測定することを更に含み、リンパ管新生は、前記第１の組成物の前記投与後及び／又は前記第２の組成物の前記投与前に測定され、

任意選択により、リンパ管新生を測定することは、前記サンプル中のリンパ管内皮細胞（ＬＥＣ）（例えば、ＣＤ４５－ＣＤ３１＋ＰＤＰＮ＋細胞）のレベル及び／又は活性の値を取得することを含む、請求項３～１８、２０若しくは２１、２４～３７又は４０～４４のいずれか一項に記載の方法。

【請求項４６】

前記対象由来のサンプル（例えば、投与部位からの又はその近傍のサンプル）中のＴ細胞の動員を評価、例えば測定することを更に含み、前記Ｔ細胞の動員は、前記第１の組成物の前記投与後及び／又は前記第２の組成物の前記投与前に測定され、

任意選択により、前記Ｔ細胞の動員を測定することは、前記サンプル中のＴ細胞（例えば、ナイーブＴ細胞、例えばＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋Ｔ細胞及び／又はＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋ＣＣＲ７＋ＣＤ２７＋ＣＤ９５＋Ｔ細胞）のレベル及び／又は活性の値を取得することを含む、請求項３～１８、２０若しくは２１、２４～３７又は４０～４５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項４７】

対象の細胞をインビボで形質導入するか、又は対象の疾患、障害若しくは状態を処置する方法で使用するためのものである、請求項１、５～１８、２０若しくは２１又は２４～３９のいずれか一項に記載の複数の組成物。

【請求項４８】

対象の細胞をインビボで形質導入するか、又は対象の疾患、障害若しくは状態を処置する方法で使用するためのものである、請求項１９～２１、２４～２７、２９～３６又は３８のいずれか一項に記載の第２の組成物との組み合わせにおける、請求項２、６～１１、３８又は３９のいずれか一項に記載の第１の組成物。

【請求項４９】

対象の細胞をインビボで形質導入するか、又は対象の疾患、障害若しくは状態を処置する方法で使用するためのものである、請求項２、６～１１、３８又は３９のいずれか一項に記載の第１の組成物との組み合わせにおける、請求項１９～２１、２４～２７、２９～３６又は３８のいずれか一項に記載の第２の組成物。

【請求項５０】

（ｉ）前記対象は、疾患、障害又は状態を有するか又は有すると診断されており；及び／又は

（ｉｉ）前記対象は、ヒトである、請求項３～１８、２０～３７又は４０～４６のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５１】
前記疾患、障害又は状態は、
（ｉ）癌；
（ｉｉ）任意選択により白血病又はリンパ腫を含む血液癌；
（ｉｉｉ）慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、多発性骨髄腫、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、ホジキンリンパ腫、Ｂ細胞型急性リンパ性白血病（ＢＡＬＬ）、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（ＴＡＬＬ）、小リンパ球性白血病（ＳＬＬ）、Ｂ細胞前リンパ球性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞の新生物、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、慢性炎症に関連するＤＬＢＣＬ、慢性骨髄性白血病、骨髄増殖性腫瘍、濾胞性リンパ腫、小児濾胞性リンパ腫、有毛細胞白血病、小細胞型若しくは大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性のリンパ増殖状態、ＭＡＬＴリンパ腫（粘膜関連リンパ組織の節外辺縁帯リンパ腫）、辺縁帯リンパ腫、骨髄形成異常、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の新生物、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、脾辺縁帯リンパ腫、脾リンパ腫／白血病、脾びまん性赤脾髄小型Ｂ細胞リンパ腫、有毛細胞白血病変異型、リンパ形質細胞性リンパ腫、重鎖病、形質細胞骨髄腫、骨の孤立性形質細胞腫、骨外形質細胞腫、節性辺縁帯リンパ腫、小児節性辺縁帯リンパ腫、原発性皮膚濾胞中心リンパ腫、リンパ腫様肉芽腫症、原発性縦隔（胸腺）大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、血管内大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、ＡＬＫ＋大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、ＨＨＶ８関連多中心性キャッスルマン病において発生する大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、Ｂ細胞リンパ腫、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）又は分類不能型リンパ腫；
（ｉｖ）固形癌；又は
（ｖ）中皮腫、悪性胸膜中皮腫、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、扁平上皮肺癌、大細胞肺癌、膵臓癌、膵管腺癌、食道腺癌、乳癌、膠芽腫、卵巣癌、大腸癌、前立腺癌、子宮頸癌、皮膚癌、黒色腫、腎癌、肝臓癌、脳腫瘍、胸腺腫、肉腫、癌腫、子宮癌、腎臓癌、消化器癌、尿路上皮癌、咽頭癌、頭頸部癌、直腸癌、食道癌若しくは膀胱癌の１つ以上から選択される固形癌又はその転移；
（ｉｖ）自己免疫疾患
を含み、任意選択により、前記ウイルスベクター又は核酸は、Ｂ細胞抗原、例えばＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ１２３、ＦｃＲｎ５、ＦｃＲｎ２、ＢＣＭＡ、ＣＳ－１及びＣＤ１３８に結合するＣＡＲをコードする、請求項３～１８、２０～３７、４０～４６又は５０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５２】
請求項１、５～１８、２０若しくは２１又は２４～３９のいずれか一項に記載の複数の組成物の前記第１の組成物及び前記第２の組成物を含むキット。
【請求項５３】
前記ウイルスベクター又は核酸は、
（ｉ）Ｂ細胞抗原に結合する第１のＣＡＲ及び（ａ）固形腫瘍抗原、（ｂ）骨髄腫瘍抗原、又は（ｃ）Ｂ細胞系列のものではない血液腫瘍の抗原に結合する第２のＣＡＲ；又は
（２）Ｂ細胞抗原に結合する第１の結合ドメイン及び（ａ）固形腫瘍抗原、（ｂ）骨髄腫瘍抗原、又は（ｃ）Ｂ細胞系列のものではない血液腫瘍の抗原に結合する第２の結合ドメインを含むＣＡＲ
をコードする、請求項１、５～１８、２０若しくは２１又は２４～３９のいずれか一項に記載の複数の組成物、請求項３～１８、２０～３７、４０～４６又は５０若しくは５１のいずれか一項に記載の方法或いは請求項１９～２１、２４～２７、２９～３６又は３８のいずれか一項に記載の第２の組成物。
【請求項５４】
前記疾患、障害又は状態は、固形腫瘍である、請求項５３に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】

【０００１】
関連出願
本出願は、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる、２０２０年８月２１日に出願された米国仮特許出願第６３／０６８，８７６号明細書及び２０２１年２月２６日に出願された米国仮特許出願第６３／１５４，６０９号明細書に対する優先権を主張する。
【０００２】
配列表
本出願は、ＡＳＣＩＩ形式で電子的に提出された配列表を含み、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。２０２１年８月２０日に作成された前記ＡＳＣＩＩコピーは、Ｎ２０６７－７１７６ＷＯ＿ＳＬ．ｔｘｔという名称であり、サイズが９８７，０９５バイトである。
【０００３】
本開示の態様は、概して、ＣＡＲ発現細胞のインビボ生成のための生体材料の使用に関する。いくつかの実施形態では、生体材料は、細胞動員組成物、ウイルスベクター及び／又は細胞活性化剤の１つ以上を更に含む組成物中に含まれる。
【背景技術】
【０００４】
Ｔ細胞養子移入プロトコルは、ＣＡＲ　Ｔ細胞療法がＢ細胞悪性腫瘍の処置のために近年承認された、癌などの多くの処置用途における可能性を示している。ＣＡＲ－Ｔ細胞製造の既存の方法は、エクスビボで実施され、対象から細胞を採取し、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するようにそれを操作した後、癌などの疾患、障害又は状態の処置のためにその細胞を対象に再導入する。限定されないが、部位特異的送達及び／又はインビボ産生を可能にするものを含め、ＣＡＲ発現細胞の効率的な製造の必要性が当技術分野において依然として存在する。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００５】
いくつかの態様において、本開示は、生体材料及び細胞動員因子を含む第１の組成物と、ウイルスベクターを含む第２の組成物とを特徴とする。いくつかの態様において、本開示は、生体材料及び分子（例えば、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＸＣＬ１２、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０又はＣＸＣＬ１１）を含む第１の組成物と；ウイルスベクターを含む第２の組成物とを特徴とする。
【０００６】
いくつかの態様において、本開示は、生体材料及び細胞動員因子を含む第１の組成物を特徴とし、生体材料は、ヒドロゲル、例えばクリオゲル、例えばアルギン酸クリオゲルを含み、細胞動員因子は、配列番号７４１に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むが、但し、配列番号７４１の２６位のアミノ酸は、システイン（Ｃ）ではなく、任意選択により、配列番号７４１の２６位のアミノ酸は、アラニン（Ａ）である。
【０００７】
いくつかの態様において、本開示は、メソポーラスシリカ粒子と；ウイルスベクターと；細胞活性化剤とを含む第２の組成物を特徴とする。
【０００８】
いくつかの態様において、本開示は、対象の細胞をインビボで形質導入するか、又は対象の疾患、障害若しくは状態を処置する方法を特徴とする。この方法は、生体材料及び細胞動員因子を対象における部位（例えば、高位皮下空間又は真皮に隣接する皮下空間）に投与することと、導入遺伝子を含むウイルスベクター又は核酸を対象に投与することとを含み、それにより対象の細胞を導入遺伝子で形質導入する。いくつかの態様において、本

開示は、対象の細胞をインビボで形質導入するか、又は対象の疾患、障害若しくは状態を処置する方法を特徴とする。この方法は、生体材料及び分子（例えば、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＸＣＬ１２、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０又はＣＸＣＬ１１）を対象における部位（例えば、高位皮下空間又は真皮に隣接する皮下空間）に投与することと、導入遺伝子を含むウイルスベクター又は核酸を対象に投与することとを含み、それにより対象の細胞を導入遺伝子で形質導入する。

【０００９】

いくつかの実施形態において、生体材料及び細胞動員因子は、第１の組成物中に含まれ、及びウイルスベクター又は核酸は、第２の組成物中に含まれる。いくつかの実施形態において、生体材料及び分子（例えば、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＸＣＬ１２、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０又はＣＸＣＬ１１）は、第１の組成物中に含まれ、及びウイルスベクター又は核酸は、第２の組成物中に含まれる。

【００１０】

いくつかの態様では、本開示は、対象の細胞をインビボで形質導入するか、又は対象の疾患、障害若しくは状態を処置する方法を特徴とし、この方法は、導入遺伝子を含むウイルスベクター又は核酸を対象における部位に投与することであって、対象は、リンパ管新生及び／又はＴ細胞の動員を誘導するのに十分な量の生体材料及び細胞動員因子を対象における部位に事前に投与されている、投与することを含み、それにより細胞を形質導入する。いくつかの態様において、本開示は、対象の細胞をインビボで形質導入するか、又は対象における疾患、障害若しくは状態を処置する方法を特徴とし、この方法は、導入遺伝子を含むウイルスベクター又は核酸を対象における部位に投与することであって、対象は、Ｔ細胞のリンパ管新生及び／又は動員を誘導するのに十分な量の生体材料及び分子（例えば、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＸＣＬ１２、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０又はＣＸＣＬ１１）を対象における部位に事前に投与されている、投与することを含み、それにより細胞を形質導入する。

【００１１】

本明細書の任意の態様、例えば上記の組成物及び方法において、本明細書の任意の態様（例えば、以下）が適用され得る。

【００１２】

いくつかの実施形態において、生体材料は、（ｉ）ヒドロゲルを含み；（ｉｉ）クリオゲルを含み；（ｉｉｉ）ゼラチン、ヒアルロン酸、コラーゲン、アルギン酸塩、ラミニン、キトサン、絹フィブロイン、アガロース、ポリ（エチレングリコール）、ポリビニルアルコール及び／又はヒドロキシエチルメチルアクリレートを含み；（ｉｖ）アルギン酸ヒドロゲルであって、任意選択によりノルボルネン及び／又はテトラジンを更に含み、任意選択により、ノルボルネン及び／又はテトラジンは、アルギン酸塩と共有結合されており、例えばそれに化学的に結合されているか、又はそれと非共有結合されており、例えばそれに吸着されている、アルギン酸ヒドロゲルを含み；及び／又は（ｖ）約１０μｍ～約３００μｍ、例えば約５０μｍ～約３００μｍの直径の細孔を含むか又は細孔を含まず；及び／又は（ｖｉ）化学的に架橋されている。いくつかの実施形態では、生体材料を含む第１の組成物は、ラポナイトを更に含み、任意選択により、ラポナイトは、約０．１５ｍｇ／ｍＬ～約０．３５ｍｇ／ｍＬ、例えば約０．２５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、生体材料は、ラポナイトを更に含み、任意選択により、ラポナイトは、約０．１５ｍｇ／ｍＬ～約０．３５ｍｇ／ｍＬ、例えば約０．２５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する。

【００１３】

いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、（ｉ）生体材料と非共有結合されており、例えばそれに吸着されているか；又は（ｉｉ）生体材料と共有結合されており、例え

ばそれにコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、細胞動員因子は、（ｉ）リンパ管新生を誘導し；（ｉｉ）リンパ管内皮細胞の増殖を誘導し；及び／又は（ｉｉ）免疫細胞を動員し、任意選択により、免疫細胞は、Ｔ細胞及び／又はＮＫ細胞を含む。

【００１４】

いくつかの実施形態において、リンパ管新生の誘導は、（ｉ）リンパ管内皮細胞（ＬＥＣ）（例えば、ＣＤ４５－ＣＤ３１＋ＰＤＰＮ＋細胞）のレベルの増加であって、任意選択により、ＬＥＣのレベルは、例えば、実施例Ｈ又はＩに記載されるようなアッセイ、例えばフローサイトメトリーアッセイによって測定された場合、参照レベル（例えば、複数の組成物又は第１の組成物の注射前の対象の部位におけるＬＥＣのレベル）と比較して少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、１００％又は２００％増加する、増加を含み；及び／又は（ｉｉ）例えば、実施例Ｈ又はＩに記載されるようなアッセイ、例えばフローサイトメトリーアッセイによって測定された場合、組織１ミリグラム当たり少なくとも５０個のＬＥＣ（例えば、少なくとも７５、１００、１２５、１５０、２００、２２５又は２５０個のＬＥＣ）をもたらす。

【００１５】

いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、Ｔ細胞を動員し、任意選択により、Ｔ細胞は、ナイーブＴ細胞（例えば、ＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋Ｔ細胞又はＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋ＣＣＲ７＋ＣＤ２７＋ＣＤ９５＋Ｔ細胞）を含む。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞の動員は、Ｔ細胞のレベルの増加を含み、任意選択により、Ｔ細胞のレベルは、例えば、実施例Ｈ又はＩに記載されるようなアッセイ、例えばフローサイトメトリーアッセイによって測定された場合、参照レベル（例えば、複数の組成物又は第１の組成物の注射前の対象の部位におけるＴ細胞のレベル）と比較して少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、１００％、２００％又は３００％増加する。

【００１６】

いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＸＣＬ１２、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０又はＣＸＣＬ１１から選択される。いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、ＶＥＧＦ－Ｃ若しくはその機能的変異体；ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））若しくはその機能的変異体；ＩＬ－７若しくはその機能的変異体；又はそれらの組み合わせを含む。

【００１７】

いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、ＶＥＧＦ－Ｃを含み、任意選択により、ＶＥＧＦ－Ｃは、（ｉ）成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチド、任意選択によりマイナー若しくはメジャー成熟型又はその変異体を含み；（ｉｉ）単量体又は二量体であり；及び／又は（ｉｉｉ）有効量、任意選択により約１ｍｇ以下、約１０ｍｇ以下、約１０μｇ以上、約１μｇ以上、約１μｇ～１ｍｇ、約１０μｇ～１ｍｇ、約１μｇ～１０ｍｇ又は約１０μｇ～１０ｍｇの量で存在する。

【００１８】

いくつかの実施形態において、ＶＥＧＦ－Ｃは、（ｉ）任意選択により、リンカー（例えば、グリシン－セリンリンカー）及び／又はｈｉｓタグを含むか又は含まない、表１８に提供される配列のいずれか１つのアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有する配列；及び／又は（ｉｉ）配列番号７２５に従って番号付けされたＣ１３７Ａのアミノ酸置換を含む。

【００１９】

いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、（ｉ）配列番号７４１の２６位のアミノ酸がシステイン（Ｃ）ではなく、任意選択により、配列番号７４１の２６位のアミノ酸がアラニン（Ａ）であることを条件として、配列番号７４１に記載のアミノ酸配列又はそ

れに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列；（ｉｉ）配列番号７４３に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列；（ｉｉｉ）配列番号７４０に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列；（ｉｖ）配列番号７３６に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列；（ｖ）リンカーであって、例えばＧｌｙ－Ｓｅｒの配列を有し、任意選択により配列番号７４３又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有する配列のＣ末端であるリンカー；（ｖｉ）配列番号７３５に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列；（ｖｉｉ）配列番号７３４に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列；及び／又は（ｖｉｉｉ）配列番号７３３に記載のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００２０】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物のいずれか、例えば第１の組成物のいずれかは、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））又はその機能的変異体を更に含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物のいずれか、例えば第１の組成物のいずれかは、ＩＬ－７又はその機能的変異体を更に含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物のいずれか、例えば第１の組成物のいずれかは、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））又はその機能的変異体及びＩＬ－７又はその機能的変異体を更に含む。

【００２１】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の方法のいずれかは、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））又はその機能的変異体の投与を更に含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の方法のいずれかは、ＩＬ－７又はその機能的変異体の投与を更に含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の方法のいずれかは、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））及びその機能的変異体又はＩＬ－７若しくはその機能性変異体の投与を更に含む。

【００２２】

いくつかの実施形態において、第２の組成物は、粒子を更に含む。いくつかの実施形態では、粒子は、メソポーラス粒子、シリカ粒子及び／又はメソポーラスシリカ粒子であり、任意選択により、メソポーラスシリカ粒子は、メソポーラスシリカロッドである。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子は、表面修飾を含み、任意選択により、表面修飾は、（ａ）任意選択によりＣ１～Ｃ２０アルキル又は（Ｏ（ＣＨ２ＣＨ２）１～２５リンカーを用いる、－ＯＨ（ヒドロキシル）、アミン、カルボン酸、ホスホネート、ハロゲン化物、アジド、アルキン、エポキシド、スルフヒドリル、ポリエチレンイミン、疎水性部分又はその塩；（ｂ）一級、二級、三級又は四級アミン；及び／又は（ｃ）ゲル浸透クロマトグラフィー（ＧＰＣ）によって測定されて、約１０００～２０，０００Ｄａ、約１，２００～１５，０００Ｄａ、約１，５００～１２，０００Ｄａ、約２，０００Ｄａ、約３，０００Ｄａ、約４，０００Ｄａ、約５，０００Ｄａ、約６，０００Ｄａ、約７，０００Ｄａ、約８，０００Ｄａ、約９，０００Ｄａ又は約１０，０００Ｄａの平均分子量を有するポリエチレンイミンを含む。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子（ｉ）は、トリメチルアンモニウム官能化メソポーラスシリカ粒子、例えばＮ，Ｎ，Ｎ－トリメチルプロパン－１－アンモニウム官能化メソポーラスシリカ粒子であり；（ｉｉｉ）任意選択により２～５０ｎｍの直径である複数の細孔を含み；及び／又は（ｉｖ）少な

くとも約１００ｍ２／ｇの表面積を含む。
【００２３】
いくつかの実施形態において、（ｉ）ウイルスベクターは、メソポーラスシリカ粒子と非共有結合されており、例えば静電的に結合されているか、又は共有結合されており；及び／又は（ｉｉ）細胞活性化剤は、メソポーラスシリカ粒子と非共有又は共有結合されている。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、（ｉ）レンチウイルス、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス又はヘルペスウイルス；及び／又は（ｉｉ）発現されるヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、ヌクレオチド配列は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、操作されたＴＣＲ、サイトカイン、ケモカイン、ｓｈＲＮＡ又は腫瘍抗原を標的とするように操作されたポリペプチドをコードする。
【００２４】
いくつかの実施形態において、腫瘍抗原は、ＴＳＨＲ、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ１７１、ＣＳ－１、ＣＬＬ－１、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ２、ＧＤ３、ＢＣＭＡ、Ｔｎ　Ａｇ、ＰＳＭＡ、ＲＯＲ１、ＦＬＴ３、ＦＡＰ、ＴＡＧ７２、ＣＤ３８、ＣＤ４４ｖ６、ＣＥＡ、ＥＰＣＡＭ、Ｂ７Ｈ３、ＫＩＴ、ＩＬ－１３Ｒａ２、メソテリン、ＩＬ－１１Ｒａ、ＰＳＣＡ、ＰＲＳＳ２１、ＶＥＧＦＲ２、ルイスＹ、ＣＤ２４、ＰＤＧＦＲ－ベータ、ＳＳＥＡ－４、ＣＤ２０、葉酸受容体アルファ、ＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）、ＭＵＣ１、ＥＧＦＲ、ＮＣＡＭ、プロスターゼ、ＰＡＰ、ＥＬＦ２Ｍ、エフリンＢ２、ＩＧＦ－Ｉ受容体、ＣＡＩＸ、ＬＭＰ２、ｇｐ１００、ｂｃｒ－ａｂｌ、チロシナーゼ、ＥｐｈＡ２、フコシルＧＭ１、ｓＬｅ、ＧＭ３、ＴＧＳ５、ＨＭＷＭＡＡ、ｏ－アセチル－ＧＤ２、葉酸受容体ベータ、ＴＥＭ１／ＣＤ２４８、ＴＥＭ７Ｒ、ＣＬＤＮ６、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＸＯＲＦ６１、ＣＤ９７、ＣＤ１７９ａ、ＡＬＫ、ポリシアル酸、ＰＬＡＣ１、ＧｌｏｂｏＨ、ＮＹ－ＢＲ－１、ＵＰＫ２、ＨＡＶＣＲ１、ＡＤＲＢ３、ＰＡＮＸ３、ＧＰＲ２０、ＬＹ６Ｋ、ＯＲ５１Ｅ２、ＴＡＲＰ、ＷＴ１、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＬＡＧＥ－１ａ、ＭＡＧＥ－Ａ１、レグマイン、ＨＰＶ　Ｅ６、Ｅ７、ＭＡＧＥ　Ａ１、ＥＴＶ６－ＡＭＬ、精子タンパク質１７、ＸＡＧＥ１、Ｔｉｅ　２、ＭＡＤ－ＣＴ－１、ＭＡＤ－ＣＴ－２、Ｆｏｓ関連抗原１、ｐ５３、ｐ５３変異体、プロステイン、サバイビン及びテロメラーゼ、ＰＣＴＡ－１／ガレクチン８、ＭｅｌａｎＡ／ＭＡＲＴ１、Ｒａｓ変異体、ｈＴＥＲＴ、肉腫転座切断点、ＭＬ－ＩＡＰ、ＥＲＧ（ＴＭＰＲＳＳ２　ＥＴＳ融合遺伝子）、ＮＡ１７、ＰＡＸ３、アンドロゲン受容体、サイクリンＢ１、ＭＹＣＮ、ＲｈｏＣ、ＴＲＰ－２、ＣＹＰ１Ｂ１、ＢＯＲＩＳ、ＳＡＲＴ３、ＰＡＸ５、ＯＹ－ＴＥＳ１、ＬＣＫ、ＡＫＡＰ－４、ＳＳＸ２、ＲＡＧＥ－１、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、ＲＵ１、ＲＵ２、腸カルボキシルエステラーゼ、ｍｕｔ　ｈｓｐ７０－２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ７２、ＬＡＩＲ１、ＦＣＡＲ、ＬＩＬＲＡ２、ＣＤ３００ＬＦ、ＣＬＥＣ１２Ａ、ＢＳＴ２、ＥＭＲ２、ＬＹ７５、ＧＰＣ３、ＦＣＲＬ５、ＩＧＬＬ１並びにそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。
【００２５】
いくつかの実施形態において、ウイルスベクターは、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、共刺激シグナル伝達領域及びシグナル伝達ドメインを含むＣＡＲをコードし、（ｉ）抗原結合ドメインは、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＣＤ２２、ＣＤ２０、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＢＣＭＡ、メソテリン、ＣＤ３３、ＣＬＬ－１及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される抗原に結合し；（ｉｉ）膜貫通ドメインは、ＣＤ８ヒンジを含み；（ｉｉｉ）共刺激シグナル伝達領域は、４－１ＢＢ又はＣＤ２８共刺激シグナル伝達ドメインから選択され；及び／又は（ｉｖ）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含む。
【００２６】
いくつかの実施形態において、第２の組成物は、細胞活性化剤を更に含む。いくつかの実施形態では、細胞活性化剤は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体を刺激する薬剤並びに／又は共刺激分子及び／又は増殖因子受容体を刺激する薬剤を含む。いくつかの実施形態では、細胞

活性化剤は、（Ａ）抗ＣＤ３結合ドメインと、（Ｂ）共刺激分子結合ドメイン（例えば、抗ＣＤ２結合ドメイン又は抗ＣＤ２８結合ドメイン）とを含む多重特異性結合分子を含む。

【００２７】

いくつかの実施形態において、抗ＣＤ３結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３　ｓｃＦｖは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２　Ｆａｂ又は抗ＣＤ２８　ＦａｂのＮ末端に位置するか；又は抗ＣＤ３結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３　ｓｃＦｖは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２　Ｆａｂ又は抗ＣＤ２８　ＦａｂのＣ末端に位置し、任意選択により、Ｆｃ領域は、抗ＣＤ３結合ドメインと共刺激分子結合ドメインとの間に位置するか；又は多重特異性結合分子は、ＣＨ２を含み、及び抗ＣＤ３結合ドメインは、ＣＨ２のＮ末端に位置する。

【００２８】

本明細書の第２の組成物及び方法のいくつかの実施形態において、多重特異性結合分子は、（ｉ）Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ３結合ドメインのＶＨ、抗ＣＤ３結合ドメインのＶＬ、共刺激分子結合ドメインのＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３を含む第１のポリペプチドと；（ｉｉ）Ｎ末端からＣ末端に、共刺激分子結合ドメインのＶＬ及びＣＬを含む第２のポリペプチドとを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は、（ｉ）Ｎ末端からＣ末端に、共刺激分子結合ドメインのＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２、ＣＨ３、抗ＣＤ３結合ドメインのＶＨ及び抗ＣＤ３結合ドメインのＶＬを含む第１のポリペプチドと；（ｉｉ）Ｎ末端からＣ末端に、共刺激分子結合ドメインのＶＬ及びＣＬを含む第２のポリペプチドとを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は、（ｉ）Ｎ末端からＣ末端に、共刺激分子結合ドメインのＶＨ、ＣＨ１、抗ＣＤ３結合ドメインのＶＨ、抗ＣＤ３結合ドメインのＶＬ、ＣＨ２及びＣＨ３を含む第１のポリペプチドと；（ｉｉ）Ｎ末端からＣ末端に、共刺激分子結合ドメインのＶＬ及びＣＬを含む第２のポリペプチドとを含む。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ３結合ドメインは、ｓｃＦｖを含み、及び共刺激分子結合ドメインは、Ｆａｂフラグメントの一部である。

【００２９】

いくつかの実施形態において、細胞活性化剤は、表２０に提供される任意の重鎖のアミノ酸配列若しくはそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列；及び／又は表２０に提供される任意の軽鎖のアミノ酸配列若しくはそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞活性化剤は、粒子、例えばメソポーラスシリカ粒子にコンジュゲート又は吸着されている。

【００３０】

いくつかの実施形態において、多重特異性結合分子は、（ｉ）Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｓ２６７Ｋ及びＰ３２９Ａ変異（ＬＡＬＡＳＫＰＡ）；（ｉｉ）Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＰ３２９Ｇ変異（ＬＡＬＡＰＧ）；（ｉｉｉ）Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＧ２３７Ａ、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ及びＳ２６７Ｋ変異（ＧＡＤＡＰＡＳＫ）；（ｉｖ）Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＧ２３７Ａ変異（ＬＡＬＡＧＡ）；（ｖ）Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＤ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ及びＳ２６７Ｋ変異（ＤＡＰＡＳＫ）；（ｖｉ）Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＧ２３７Ａ、Ｄ２６５Ａ及びＰ３２９Ａ変異（ＧＡＤＡＰＡ）；（ｖｉｉ）Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＰ３２９Ａ変異（ＬＡＬＡＰＡ）；又は（ｖｉｉｉ）表２０中のＦｃ領域のいずれかのアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を含むＦｃ領域を含む。

【００３１】

いくつかの実施形態において、多重特異性結合分子は、（ｉ）配列番号７２６、１４１６、８９３、１４１７若しくは８９５のいずれかのアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖；及び／又は（ｉｉ）配列番号

７２８、７３０、８９２若しくは８９４のいずれかのアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は、（ｉ）配列番号７２６のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号７２８のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖；（ｉｉ）配列番号７２６のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号７３０のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖；（ｉｉｉ）配列番号１４１６のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号７２８のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖；（ｉｖ）配列番号１４１６のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号７３０のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖；（ｖ）配列番号８９３のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号８９２のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖；（ｖｉ）配列番号１４１７のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号８９２のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖；又は（ｖｉｉ）配列番号８９５のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号８９４のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【００３２】

いくつかの実施形態において、第２の組成物は、粒子の第１の集団及び粒子の第２の集団、例えばメソポーラスシリカ粒子の第１の集団及びメソポーラスシリカ粒子の第２の集団を更に含み、第１の集団は、ウイルスベクターを含み、及び第２の集団は、細胞活性化剤を含み、例えば、ウイルスベクターは、第１の集団の粒子と非共有結合されており、及び細胞活性化剤は、第２の集団の粒子と非共有結合されている。

【００３３】

いくつかの実施形態において、組成物、例えば第１又は第２の組成物は、注射用途に適している。

【００３４】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物、例えば第１又は第２の組成物は、Ｔｅｔ２阻害剤及び／又はＺＢＴＢ３２阻害剤を更に含む。いくつかの実施形態では、Ｔｅｔ２阻害剤は、（１）Ｔｅｔ２をコードする遺伝子内の１つ以上の部位を標的とする遺伝子編集系若しくはその対応する調節エレメント；（２）Ｔｅｔ２の発現を阻害する核酸（例えば、ｓｉＲＮＡ若しくはｓｈＲＮＡ）；（３）タンパク質（例えば、ドミナントネガティブ、例えば触媒的に不活性な）Ｔｅｔ２若しくはＴｅｔ２の結合パートナー（例えば、Ｔｅｔ２のドミナントネガティブ結合パートナー）；（４）Ｔｅｔ２の発現及び／若しくは機能を阻害する小分子；（５）（１）～（３）のいずれかをコードする核酸；又は（６）（１）～（５）の任意の組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、ＺＢＴＢ３２遺伝子若しくはその１つ以上の成分；（２）遺伝子編集系の１つ以上の成分をコードする核酸；又は（３）（１）と（２）との組み合わせである。実施形態では、ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（１）ＺＢＴＢ３２遺伝子を標的とする遺伝子編集系又はその１つ以上の成分を含む。実施形態では、ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（２）遺伝子編集系の１つ以上の成分をコードする核酸を含む。実施形態では、ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（１）と（２）との組み合わせを含む。

【００３５】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の方法は、対象に、（ｉ）Ｔｅｔ２阻害剤であって、任意選択により、（１）Ｔｅｔ２をコードする遺伝子内の１つ以上の部位を

標的とする遺伝子編集系若しくはその対応する調節エレメント；（２）Ｔｅｔ２の発現を阻害する核酸（例えば、ｓｉＲＮＡ若しくはｓｈＲＮＡ）；（３）タンパク質（例えば、ドミナントネガティブ、例えば触媒として不活性な）Ｔｅｔ２若しくはＴｅｔ２の結合パートナー（例えば、Ｔｅｔ２のドミナントネガティブ結合パートナー）；（４）Ｔｅｔ２の発現及び／若しくは機能を阻害する小分子；（５）（１）～（３）のいずれかをコードする核酸；又は（６）（１）～（５）の任意の組み合わせを含むＴｅｔ２阻害剤；及び／又は（ｉｉ）ＺＢＴＢ３２阻害剤であって、任意選択により、（１）ＺＢＴＢ３２遺伝子を標的とする遺伝子編集系若しくはその１つ以上の成分；（２）遺伝子編集系の１つ以上の成分をコードする核酸；又は（３）（１）と（２）との組み合わせを含むＺＢＴＢ３２阻害剤を投与することを更に含む。実施形態では、ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（１）ＺＢＴＢ３２遺伝子を標的とする遺伝子編集系又はその１つ以上の成分を含む。実施形態では、ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（２）遺伝子編集系の１つ以上の成分をコードする核酸を含む。実施形態では、ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（１）と（２）との組み合わせを含む。

【００３６】

いくつかの実施形態において、第１の組成物は、第２の組成物の投与前に投与され、任意選択により、（ｉ）第１の組成物は、第２の組成物の投与の約１～４週間、例えば約２週間前に投与されるか；又は（ｉｉ）第１の組成物は、第２の組成物の投与の少なくとも２週間前に投与される。

【００３７】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の方法のいずれかは、対象由来のサンプル（例えば、投与部位からの又はその近傍のサンプル）中のリンパ管新生を評価、例えば測定することを更に含み、リンパ管新生は、第１の組成物の投与後及び／又は第２の組成物の投与前に測定され、任意選択により、リンパ管新生を測定することは、サンプル中のリンパ管内皮細胞（ＬＥＣ）（例えば、ＣＤ４５－ＣＤ３１＋ＰＤＰＮ＋細胞）のレベル及び／又は活性の値を取得することを含む。

【００３８】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の方法のいずれかは、対象由来のサンプル（例えば、投与部位からの又はその近傍のサンプル）中のＴ細胞の動員を評価、例えば測定することを更に含み、Ｔ細胞の動員は、第１の組成物の投与後及び／又は第２の組成物の投与前に測定され、任意選択により、Ｔ細胞の動員を測定することは、サンプル中のＴ細胞（例えば、ナイーブＴ細胞、例えばＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋Ｔ細胞及び／又はＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋ＣＣＲ７＋ＣＤ２７＋ＣＤ９５＋Ｔ細胞）のレベル及び／又は活性の値を取得することを含む。

【００３９】

いくつかの実施形態では、対象は、疾患、障害又は状態を有するか又は有すると診断されており；及び／又は対象は、ヒトである。

【００４０】

いくつかの実施形態において、疾患、障害又は状態は、（ｉ）癌；（ｉｉ）任意選択により白血病又はリンパ腫を含む血液癌；（ｉｉｉ）慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、多発性骨髄腫、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、ホジキンリンパ腫、Ｂ細胞型急性リンパ性白血病（ＢＡＬＬ）、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（ＴＡＬＬ）、小リンパ球性白血病（ＳＬＬ）、Ｂ細胞前リンパ球性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞の新生物、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、慢性炎症に関連するＤＬＢＣＬ、慢性骨髄性白血病、骨髄増殖性腫瘍、濾胞性リンパ腫、小児濾胞性リンパ腫、有毛細胞白血病、小細胞型若しくは大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性のリンパ増殖状態、ＭＡＬＴリンパ腫（粘膜関連リンパ組織の節外辺縁帯リンパ腫）、辺縁帯リンパ腫、骨髄形成異常、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の新生物、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、脾辺縁帯リンパ腫、脾リンパ腫／白血病、脾びまん性赤脾髄小型Ｂ細胞リンパ腫、有毛細胞白血病変異型、リンパ形質細胞性リンパ腫、重鎖病、形質細胞骨髄腫、骨の孤立性形

質細胞腫、骨外形質細胞腫、節性辺縁帯リンパ腫、小児節性辺縁帯リンパ腫、原発性皮膚濾胞中心リンパ腫、リンパ腫様肉芽腫症、原発性縦隔（胸腺）大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、血管内大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、ＡＬＫ＋大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、ＨＨＶ８関連多中心性キャッスルマン病において発生する大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、Ｂ細胞リンパ腫、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）又は分類不能型リンパ腫；（ｉｖ）固形癌；（ｖ）中皮腫、悪性胸膜中皮腫、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、扁平上皮肺癌、大細胞肺癌、膵臓癌、膵管腺癌、食道腺癌、乳癌、膠芽腫、卵巣癌、大腸癌、前立腺癌、子宮頸癌、皮膚癌、黒色腫、腎癌、肝臓癌、脳腫瘍、胸腺腫、肉腫、癌腫、子宮癌、腎臓癌、消化器癌、尿路上皮癌、咽頭癌、頭頸部癌、直腸癌、食道癌若しくは膀胱癌の１つ以上から選択される固形癌又はその転移；又は（ｉｖ）自己免疫疾患、炎症性疾患又は移植を含む。いくつかの実施形態では、疾患、障害又は状態は、自己免疫疾患、炎症性疾患又は移植であり、発現されるＣＡＲは、Ｂ細胞抗原、例えばＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ１２３、ＦｃＲｎ５、ＦｃＲｎ２、ＢＣＭＡ、ＣＳ－１及びＣＤ１３８に結合する。

【００４１】

いくつかの実施形態において、疾患、障害又は状態は、固形腫瘍を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法を用いて製造されたＣＡＲ発現細胞で固形腫瘍を処置する場合、細胞は、２つのＣＡＲを発現し、第１のＣＡＲは、Ｂ細胞抗原に結合し、及び第２のＣＡＲは、固形腫瘍抗原に結合する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法を用いて製造されたＣＡＲ発現細胞で固形腫瘍を処置する場合、細胞は、Ｂ細胞抗原に結合する第１の結合ドメイン及び固形腫瘍抗原に結合する第２の結合ドメインを含む多重特異的ＣＡＲを発現する。理論に拘束されることを望まないが、そのような細胞において、Ｂ細胞抗原に結合するＣＡＲを発現することは、ＣＡＲ発現細胞の増殖及び／又は生存を改善するうえで役立ち得る。Ｂ細胞抗原（例えば、正常Ｂ細胞上のＣＤ１９）は、腫瘍抗原のレベルが低い場合（例えば、腫瘍細胞の数が少ない場合又は本明細書に記載の方法を用いて製造されたＣＡＲ発現細胞が固形腫瘍細胞に遭遇する前）でも、そうしたＣＡＲ発現細胞の増殖及び／又は生存を改善し得る。

【００４２】

いくつかの実施形態において、疾患、障害又は状態は、骨髄腫瘍を含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の方法を用いて製造されたＣＡＲ発現細胞で骨髄腫瘍を処置する場合、細胞は、２つのＣＡＲを発現し、第１のＣＡＲは、Ｂ細胞抗原に結合し、及び第２のＣＡＲは、骨髄腫瘍抗原に結合する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法を用いて製造されたＣＡＲ発現細胞で骨髄腫瘍を処置する場合、細胞は、Ｂ細胞抗原に結合する第１の結合ドメイン及び骨髄腫瘍抗原に結合する第２の結合ドメインを含む多重特異性ＣＡＲを発現する。理論に拘束されることを望まないが、そのような細胞において、Ｂ細胞抗原に結合するＣＡＲを発現することは、ＣＡＲ発現細胞の増殖及び／又は生存を改善するうえで役立ち得る。Ｂ細胞抗原（例えば、正常Ｂ細胞上のＣＤ１９）は、腫瘍抗原のレベルが低い場合（例えば、腫瘍細胞の数が少ない場合又は本明細書に記載の方法を用いて製造されたＣＡＲ発現細胞が骨髄腫瘍細胞に遭遇する前）でも、そうしたＣＡＲ発現細胞の増殖及び／又は生存を改善し得る。

【００４３】

本明細書に記載の方法又は第２の組成物のいくつかの実施形態において、ウイルスベクター又は核酸は、

（ｉ）Ｂ細胞抗原（例えば、ＣＤ１９）に結合する第１のＣＡＲ及び（ａ）固形腫瘍抗原（例えば、ＥＧＦＲｖＩＩＩ）、（ｂ）骨髄腫瘍抗原、又は（ｃ）Ｂ細胞系列のものではない血液腫瘍の抗原に結合する第２のＣＡＲ；又は

（２）Ｂ細胞抗原（例えば、ＣＤ１９）に結合する第１の結合ドメイン及び（ａ）固形腫瘍抗原（例えば、ＥＧＦＲｖＩＩＩ）、（ｂ）骨髄腫瘍抗原、又は（ｃ）Ｂ細胞系列のものではない血液腫瘍の抗原に結合する第２の結合ドメインを含むＣＡＲ

をコードする。

【００４４】

いくつかの実施形態において、Ｂ細胞抗原は、ＣＤ５、ＣＤ１０、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２１、ＣＤ２２、ＣＤ２３、ＣＤ２４、ＣＤ２５、ＣＤ２７、ＣＤ３０、ＣＤ３４、ＣＤ３７、ＣＤ３８、ＣＤ４０、ＣＤ５３、ＣＤ６９、ＣＤ７２、ＣＤ７３、ＣＤ７４、ＣＤ７５、ＣＤ７７、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ８０、ＣＤ８１、ＣＤ８２、ＣＤ８３、ＣＤ８４、ＣＤ８５、ＣＤ８６、ＣＤ１２３、ＣＤ１３５、ＣＤ１３８、ＣＤ１７９、ＣＤ２６９、Ｆｌｔ３、ＲＯＲ１、ＢＣＭＡ、ＦｃＲｎ５、ＦｃＲｎ２、ＣＳ－１、ＣＸＣＲ４、５、７、ＩＬ－７／３Ｒ、ＩＬ７／４／３Ｒ又はＩＬ４Ｒである。いくつかの実施形態では、Ｂ細胞抗原は、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ１２３、ＦｃＲｎ５、ＦｃＲｎ２、ＢＣＭＡ、ＣＳ－１又はＣＤ１３８である。

【００４５】

いくつかの実施形態では、固形腫瘍抗原は、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、メソテリン、ＧＤ２、Ｔｎ　Ａｇ、ＰＳＭＡ、ＴＡＧ７２、ＣＤ４４ｖ６、ＣＥＡ、ＥＰＣＡＭ、ＫＩＴ、ＩＬ－１３Ｒａ２、レグマン、ＧＤ３、ＣＤ１７１、ＩＬ－１１Ｒａ、ＰＳＣＡ、ＭＡＤ－ＣＴ－１、ＭＡＤ－ＣＴ－２、ＶＥＧＦＲ２、ルイスＹ、ＣＤ２４、ＰＤＧＦＲ－β、ＳＳＥＡ－４、葉酸受容体アルファ、ＥＲＢＢ（例えば、ＥＲＢＢ２）、Ｈｅｒ２／ｎｅｕ、ＭＵＣ１、ＥＧＦＲ、ＮＣＡＭ、エフリンＢ２、ＣＡＩＸ、ＬＭＰ２、ｓＬｅ、ＨＭＷＭＡＡ、ｏ－アセチル－ＧＤ２、葉酸受容体ベータ、ＴＥＭ１／ＣＤ２４８、ＴＥＭ７Ｒ、ＦＡＰ、レグマイン、ＨＰＶ　Ｅ６若しくはＥ７、ＭＬ－ＩＡＰ、ＣＬＤＮ６、ＴＳＨＲ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＡＬＫ、ポリシアル酸、Ｆｏｓ関連抗原、好中球エラスターゼ、ＴＲＰ－２、ＣＹＰ１Ｂ１、精子タンパク質１７、βヒト絨毛性ゴナドトロピン、ＡＦＰ、チログロブリン、ＰＬＡＣ１、ｇｌｏｂｏＨ、ＲＡＧＥ１、ＭＮ－ＣＡ　ＩＸ、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、腸カルボキシルエステラーゼ、ｍｕｔ　ｈｓｐ　７０－２、ＮＡ－１７、ＮＹ－ＢＲ－１、ＵＰＫ２、ＨＡＶＣＲ１、ＡＤＲＢ３、ＰＡＮＸ３、ＧＰＲ２０、Ｌｙ６ｋ、ＯＲ５１Ｅ２、ＴＡＲＰ、ＧＦＲα４又はＭＨＣ上に提示される、これらの抗原のいずれかのペプチドである。

【００４６】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される第１の組成物及び本明細書に記載される第２の組成物を含むキットも本明細書で企図される。

【００４７】

いくつかの態様において、本開示は、対象の疾患、障害又は状態を処置する方法を特徴とし、この方法は、対象における部位に、その部位でリンパ管新生を経るように誘導された導入遺伝子を含むウイルスベクター又は核酸を投与することを含み、それにより細胞を形質導入する。

【００４８】

いくつかの態様において、本開示は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードするウイルスベクターを受けるように対象の準備をする方法を特徴とし、これは、生体材料及び細胞動員因子を対象に投与することを含み、それによりＣＡＲをコードするウイルスベクターを受けるように対象の準備をする。いくつかの態様では、本開示は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードするウイルスベクターを受けるように対象の準備をする方法を特徴とし、これは、生体材料及び分子（例えば、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＸＣＬ１２、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０又はＣＸＣＬ１１）を対象に投与することを含み、それによりＣＡＲをコードするウイルスベクターを受けるように対象の準備をする。

【００４９】

いくつかの実施形態において、準備は、リンパ管新生の誘導及び／又はＴ細胞（例えば、例としてＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋Ｔ細胞及び／又はＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋ＣＣＲ７＋ＣＤ２７＋ＣＤ９５＋Ｔ細胞）の動員を含む。いくつかの実施形態では、本方法は、ＣＡＲをコードするウイルスベクターを投与することを更に含み、任意選択により、ウイルスベクターは、粒子（例えば、細胞活性化剤を含むか又は含まないメソポーラスシ

リカ粒子）にコンジュゲートされている。

【００５０】

細胞動員因子を含有する生体材料と；メソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；ウイルスベクターと；任意選択により細胞活性化剤とを含む組成物も本明細書で企図される。更に、生体材料及び細胞動員因子と；メソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；ウイルスベクターと；任意選択により細胞活性化剤とを含む組成物も本明細書で企図される。

【００５１】

いくつかの実施形態において、生体材料は、ヒドロゲル、任意選択によりクリオゲルを含む。いくつかの実施形態では、クリオゲルは、ゼラチン、ヒアルロン酸、コラーゲン、アルギン酸塩、ラミニン、キトサン、絹フィブロイン、アガロース、ポリ（エチレングリコール）、ポリビニルアルコール及び／又はヒドロキシエチルメチルアクリレートを含む。いくつかの実施形態では、クリオゲルを含む組成物は、ラポナイトを更に含む。いくつかの実施形態では、クリオゲルは、約１０～３００μｍ、任意選択により約５０～３００μｍの直径の細孔を含む。いくつかの実施形態では、クリオゲルは、化学的に架橋されている。

【００５２】

いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、免疫細胞、任意選択によりＴ細胞及び／又はＮＫ細胞を選択的に動員する。いくつかの実施形態では、細胞動員因子は、ＣＣＬ１９、ＣＸＣＬ９、ＣＸＣＬ１０、ＸＣＬ１、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＣＣＬ２１、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＣＬ１７、ＣＣＬ２２、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ２７、ＩＬ－１５、リンホトキシンアルファ、リンホトキシンベータ、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＦＬＴ３Ｌ、Ｇ－ＣＳＦ、ＰＤＧＦ、Ｓ１００Ａ８／Ａ９、ＣＳＦ－１、ＣＸＣＬ８、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ１７、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＬ２、ＶＥＧＦ、アンジオポエチン－２、ＰＧＥ２、ＬＴＢ４、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０、ＣＸＣＬ１１及び／又はＣＸＣＬ１２からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、未成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチド又は成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、マイナー成熟型又はメジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、野生型マイナー成熟型又は野生型メジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、修飾マイナー成熟型又は修飾メジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、システイン１３７に変異（例えば、Ｃ１３７Ａ）を含む修飾マイナー成熟型又はシステイン１３７に変異（例えば、Ｃ１３７Ａ）を含む修飾メジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、Ｃ１３７Ａ変異を含む修飾マイナー成熟型又はＣ１３７Ａ変異を含む修飾メジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、二量体又は単量体として存在する。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、各単量体中にＣ１３７Ａ変異を更に含むメジャー成熟型の二量体である。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、各単量体中にＣ１３７Ａ変異を更に含むマイナー成熟型の二量体である。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、表１８に提供される配列から選択され、任意選択により、ｈｉｓタグは、配列に含まれない。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、有効量、任意選択により約１ｍｇ以下、約１０ｍｇ以下、約１０μｇ以上、約１μｇ以上、約１μｇ～１ｍｇ、約１０μｇ～１ｍｇ、約１μｇ～１０ｍｇ又は約１０μｇ～１０ｍｇの量で存在する。

【００５３】

いくつかの実施形態において、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団は、表面修飾されている。いくつかの実施形態において、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団への表面修飾は、任意選択によりC_1～C_{20}アルキル又は（－Ｏ（ＣＨ２－ＣＨ$_2$－）$_{1～25}$リンカーを用いる、－ＯＨ（ヒドロキシル）、アミン、カルボン酸、ホスホネート、ハロゲン化物、アジド、アルキン、エポキシド、スルフヒドリル、ポリエチレンイミン、疎水性部分又はその塩である。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団への表面修飾は、一級、二級、三級又は四級アミンである。いくつかの実施形態では、メソ

ポーラスシリカ粒子の第１の集団への表面修飾は、ゲル浸透クロマトグラフィー（ＧＰＣ）によって測定されて、約１０００～２０，０００Ｄａ、約１，２００～１５，０００Ｄａ、約１，５００～１２，０００Ｄａ、約２，０００Ｄａ、約３，０００Ｄａ、約４，０００Ｄａ、約５，０００Ｄａ、約６，０００Ｄａ、約７，０００Ｄａ、約８，０００Ｄａ、約９，０００Ｄａ又は約１０，０００Ｄａの平均分子量を有するポリエチレンイミンである。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子は、２～５０ｎｍの直径の細孔を含む。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子は、少なくとも約１００m^2／ｇの表面積を有する。いくつかの実施形態では、組成物は、注射用途に適している。いくつかの実施形態において、メソポーラスシリカ粒子は、メソポーラスシリカロッドの形態である。

【００５４】

いくつかの実施形態において、ウイルスベクターは、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団にコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団に静電的又は共有結合的にコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス又はレンチウイルスである。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、発現されるヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を有する組換えポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、ヌクレオチド配列は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、操作されたＴＣＲ、１つ以上のサイトカイン、１つ以上のケモカイン、阻害分子を遮断するためのｓｈＲＮＡをコードするか、又はヌクレオチド配列は、タンパク質の発現を誘導するためのｍＲＮＡを含む。いくつかの実施形態では、ヌクレオチド配列は、腫瘍抗原を標的とするように操作されたポリペプチドをコードする。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、ＴＳＨＲ、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ１７１、ＣＳ－１、ＣＬＬ－１、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ２、ＧＤ３、ＢＣＭＡ、Ｔｎ　Ａｇ、ＰＳＭＡ、ＲＯＲ１、ＦＬＴ３、ＦＡＰ、ＴＡＧ７２、ＣＤ３８、ＣＤ４４ｖ６、ＣＥＡ、ＥＰＣＡＭ、Ｂ７Ｈ３、ＫＩＴ、ＩＬ－１３Ｒａ２、メソテリン、ＩＬ－１１Ｒａ、ＰＳＣＡ、ＰＲＳＳ２１、ＶＥＧＦＲ２、ルイスＹ、ＣＤ２４、ＰＤＧＦＲ－ベータ、ＳＳＥＡ－４、ＣＤ２０、葉酸受容体アルファ、ＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）、ＭＵＣ１、ＥＧＦＲ、ＮＣＡＭ、プロスターゼ、ＰＡＰ、ＥＬＦ２Ｍ、エフリンＢ２、ＩＧＦ－Ｉ受容体、ＣＡＩＸ、ＬＭＰ２、ｇｐ１００、ｂｃｒ－ａｂｌ、チロシナーゼ、ＥｐｈＡ２、フコシルＧＭ１、ｓＬｅ、ＧＭ３、ＴＧＳ５、ＨＭＷＭＡＡ、ｏ－アセチル－ＧＤ２、葉酸受容体ベータ、ＴＥＭ１／ＣＤ２４８、ＴＥＭ７Ｒ、ＣＬＤＮ６、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＸＯＲＦ６１、ＣＤ９７、ＣＤ１７９ａ、ＡＬＫ、ポリシアル酸、ＰＬＡＣ１、ＧｌｏｂｏＨ、ＮＹ－ＢＲ－１、ＵＰＫ２、ＨＡＶＣＲ１、ＡＤＲＢ３、ＰＡＮＸ３、ＧＰＲ２０、ＬＹ６Ｋ、ＯＲ５１Ｅ２、ＴＡＲＰ、ＷＴ１、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＬＡＧＥ－１ａ、ＭＡＧＥ－Ａ１、レグマイン、ＨＰＶ　Ｅ６、Ｅ７、ＭＡＧＥ　Ａ１、ＥＴＶ６－ＡＭＬ、精子タンパク質１７、ＸＡＧＥ１、Ｔｉｅ　２、ＭＡＤ－ＣＴ－１、ＭＡＤ－ＣＴ－２、Ｆｏｓ関連抗原１、ｐ５３、ｐ５３変異体、プロステイン、サバイビン及びテロメラーゼ、ＰＣＴＡ－１／ガレクチン８、ＭｅｌａｎＡ／ＭＡＲＴ１、Ｒａｓ変異体、ｈＴＥＲＴ、肉腫転座切断点、ＭＬ－ＩＡＰ、ＥＲＧ（ＴＭＰＲＳＳ２　ＥＴＳ融合遺伝子）、ＮＡ１７、ＰＡＸ３、アンドロゲン受容体、サイクリンＢ１、ＭＹＣＮ、ＲｈｏＣ、ＴＲＰ－２、ＣＹＰ１Ｂ１、ＢＯＲＩＳ、ＳＡＲＴ３、ＰＡＸ５、ＯＹ－ＴＥＳ１、ＬＣＫ、ＡＫＡＰ－４、ＳＳＸ２、ＲＡＧＥ－１、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、ＲＵ１、ＲＵ２、腸カルボキシルエステラーゼ、ｍｕｔ　ｈｓｐ７０－２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ７２、ＬＡＩＲ１、ＦＣＡＲ、ＬＩＬＲＡ２、ＣＤ３００ＬＦ、ＣＬＥＣ１２Ａ、ＢＳＴ２、ＥＭＲ２、ＬＹ７５、ＧＰＣ３、ＦＣＲＬ５、ＩＧＬＬ１並びにそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される腫瘍抗原を標的とする。いくつかの実施形態では、タンパク質は、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、共刺激シグナル伝達領域及びシグナル伝達ドメインを含むＣＡＲである。いくつかの実施形態では、シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメイ

ンである。いくつかの実施形態では、共刺激シグナル伝達領域は、４１ＢＢ（即ちＣＤ１３７）、ＣＤ２７、ＩＣＯＳ及び／又はＣＤ２８から選択される。

【００５５】

いくつかの実施形態において、細胞活性化剤は、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団又はメソポーラスシリカ粒子の第２の集団にコンジュゲート又は吸収されている。いくつかの実施形態では、細胞活性化剤は、Ｔ細胞刺激化合物、ＣＡＲ抗原結合ドメインに対する抗イディオタイプ抗体及び／又は腫瘍抗原である。いくつかの実施形態において、Ｔ細胞刺激化合物は、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、抗ＣＤ２　ｍＡｂ、抗ＣＤ３　ｍＡｂ、抗ＣＤ２８　ｍＡｂ、ネオ抗原ペプチド、ＴＲＰ２などの共有抗原由来のペプチド、ｇｐ１００、腫瘍細胞溶解物、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＲＯＲ１、メソテリン、ＣＤ３３／ＩＬ３Ｒａ、ｃ－Ｍｅｔ、ＰＳＭＡ、糖脂質Ｆ７７、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ－２、ＮＹ－ＥＳＯ－１　ＴＣＲ及び／又はＭＡＧＥ　Ａ３　ＴＣＲである。いくつかの実施形態において、細胞活性化剤は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体並びに／又は共刺激分子及び／若しくは増殖因子受容体を刺激する薬剤を含み、任意選択により、細胞活性化剤は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体を刺激する薬剤と、共刺激分子及び／又は増殖因子受容体を刺激する薬剤とを含む多重特異性結合分子である。いくつかの実施形態では、細胞活性化は、表２０に提供される配列から選択される。いくつかの実施形態では、細胞活性化剤は、メソポーラスシリカ粒子の第２の集団又はメソポーラスシリカ粒子の第２の集団の表面上の脂質エンベロープにコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、組成物は、サイトカインを更に含む。いくつかの実施形態では、サイトカインは、メソポーラスシリカ粒子の第１又は第２の集団にコンジュゲート又は吸着されている。いくつかの実施形態では、サイトカインは、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－７、ＩＬ－１０、ＩＬ－１２、ＩＬ－１５、ＩＬ－１７、ＩＬ－２１若しくはトランスフォーミング増殖因子ベータ（ＴＧＦ－β）又はそのアゴニスト、その模倣物、その変異体、その機能的フラグメント或いはそれらの組み合わせである。

【００５６】

細胞をインビボで細胞形質導入する方法であって、細胞動員因子を含む生体材料と；メソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；ウイルスベクターと；任意選択により細胞活性化剤とを対象に投与することを含む方法も本明細書で企図される。いくつかの実施形態では、成分は、同時に又は連続して投与される。いくつかの実施形態では、細胞動員因子を含む生体材料が最初に投与される。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカロッドの第１の集団、ウイルスベクター及び任意選択により細胞活性化剤は、同時に且つ任意選択により生体材料の後に投与する。

【００５７】

細胞をインビボで細胞形質導入する方法であって、生体材料及び細胞動員因子と；メソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；ウイルスベクターと；任意選択により細胞活性化剤とを対象に投与することを含む方法も本明細書で企図される。いくつかの実施形態では、成分は、同時に又は連続して投与される。いくつかの実施形態では、生体材料及び細胞動員因子が最初に投与される。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカロッドの第１の集団、ウイルスベクター及び任意選択により細胞活性化剤は、同時に且つ任意選択により生体材料及び細胞動員因子の後に投与される。

【００５８】

更に、細胞をインビボで細胞形質導入する方法であって、生体材料及び分子（例えば、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＸＣＬ１２、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０又はＣＸＣＬ１１）と；メソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；ウイルスベクターと；任意選択により細胞活性化剤とを対象に投与することを含む方法も本明細書で企図される。いくつかの実施形態では、成分は、同時に又は連続して投与される。いくつかの実施形態では、生体材料及び分子が最初に投与される。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカロッドの第１の集団、ウイルスベクター及び任意選択によ

り細胞活性化剤は、同時に且つ任意選択により生体材料及び分子の後に投与される

【００５９】

いくつかの実施形態において、生体材料は、ヒドロゲル、任意選択によりクリオゲルを含む。いくつかの実施形態では、クリオゲルは、ゼラチン、ヒアルロン酸、コラーゲン、アルギン酸塩、ラミニン、キトサン、絹フィブロイン、アガロース、ポリ（エチレングリコール）、ポリビニルアルコール及び／又はヒドロキシエチルメチルアクリレートを含む。いくつかの実施形態では、クリオゲルを含む組成物は、ラポナイトを更に含む。いくつかの実施形態において、クリオゲルは、約１０～３００μｍ、任意選択により約５０～３００μｍの直径の細孔を含む。いくつかの実施形態では、クリオゲルは、化学的に架橋されている。

【００６０】

いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、免疫細胞、任意選択によりＴ細胞及び／又はＮＫ細胞を選択的に動員する。いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、ＣＣＬ１９、ＣＸＣＬ９、ＣＸＣＬ１０、ＸＣＬ１、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＣＣＬ２１、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＣＬ１７、ＣＣＬ２２、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ２７、ＩＬ－１５、リンホトキシンアルファ、リンホトキシンベータ、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＦＬＴ３Ｌ、Ｇ－ＣＳＦ、ＰＤＧＦ、Ｓ１００Ａ８／Ａ９、ＣＳＦ－１、ＣＸＣＬ８、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ１７、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＬ２、ＶＥＧＦ、アンジオポエチン－２、ＰＧＥ２、ＬＴＢ４、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０、ＣＸＣＬ１１及び／又はＣＸＣＬ１２からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、未成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチド又は成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、マイナー成熟型又はメジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、野生型マイナー成熟型又は野生型メジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、修飾マイナー成熟型又は修飾メジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、システイン１３７に変異（例えば、Ｃ１３７Ａ）を含む修飾マイナー成熟型又はシステイン１３７に変異（例えば、Ｃ１３７Ａ）を含む修飾メジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、Ｃ１３７Ａ変異を含む修飾マイナー成熟型又はＣ１３７Ａ変異を含む修飾メジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、二量体又は単量体として存在する。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、各単量体中にＣ１３７Ａ変異を更に含むメジャー成熟型の二量体である。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、各単量体中にＣ１３７Ａ変異を更に含むマイナー成熟型の二量体である。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、表１８から選択され、任意選択により、ｈｉｓタグは、配列に含まれない。いくつかの実施形態において、ＶＥＧＦ－Ｃは、有効量、任意選択により約１ｍｇ以下、約１０ｍｇ以下、約１０μｇ以上、約１μｇ以上、約１μｇ～１ｍｇ、約１０μｇ～１ｍｇ、約１μｇ～１０ｍｇ又は約１０μｇ～１０ｍｇの量で存在する。

【００６１】

いくつかの実施形態において、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団は、表面修飾されている。いくつかの実施形態において、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団への表面修飾は、任意選択によりC_1～C_{20}アルキル又は（－Ｏ（ＣＨ２－ＣＨ$_2$－）$_{1～25}$リンカーを用いる、－ＯＨ（ヒドロキシル）、アミン、カルボン酸、ホスホネート、ハロゲン化物、アジド、アルキン、エポキシド、スルフヒドリル、ポリエチレンイミン、疎水性部分又はその塩である。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団への表面修飾は、一級、二級、三級又は四級アミンである。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団への表面修飾は、ゲル浸透クロマトグラフィー（ＧＰＣ）によって測定されて、約１０００～２０，０００Ｄａ、約１，２００～１５，０００Ｄａ、約１，５００～１２，０００Ｄａ、約２，０００Ｄａ、約３，０００Ｄａ、約４，０００Ｄａ、約５，０００Ｄａ、約６，０００Ｄａ、約７，０００Ｄａ、約８，０００Ｄａ、約９，０００Ｄａ又は約１０，０００Ｄａの平均分子量を有するポリエチレンイミンで

ある。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子は、２～５０ｎｍの直径の細孔を含む。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子は、少なくとも約１００m^2／ｇの表面積を有する。いくつかの実施形態では、組成物は、注射用途に適している。いくつかの実施形態において、メソポーラスシリカ粒子は、メソポーラスシリカロッドの形態である。

【００６２】

いくつかの実施形態において、ウイルスベクターは、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団にコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団に静電的又は共有結合的にコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス又はレンチウイルスである。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、発現されるヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を有する組換えポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、ヌクレオチド配列は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、操作されたＴＣＲ、１つ以上のサイトカイン、１つ以上のケモカイン、阻害分子を遮断するためのｓｈＲＮＡをコードするか、又はヌクレオチド配列は、タンパク質の発現を誘導するためのｍＲＮＡを含む。いくつかの実施形態では、ヌクレオチド配列は、腫瘍抗原を標的とするように操作されたポリペプチドをコードする。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、ＴＳＨＲ、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ１７１、ＣＳ－１、ＣＬＬ－１、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ２、ＧＤ３、ＢＣＭＡ、Ｔｎ　Ａｇ、ＰＳＭＡ、ＲＯＲ１、ＦＬＴ３、ＦＡＰ、ＴＡＧ７２、ＣＤ３８、ＣＤ４４ｖ６、ＣＥＡ、ＥＰＣＡＭ、Ｂ７Ｈ３、ＫＩＴ、ＩＬ－１３Ｒａ２、メソテリン、ＩＬ－１１Ｒａ、ＰＳＣＡ、ＰＲＳＳ２１、ＶＥＧＦＲ２、ルイスＹ、ＣＤ２４、ＰＤＧＦＲ－ベータ、ＳＳＥＡ－４、ＣＤ２０、葉酸受容体アルファ、ＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）、ＭＵＣ１、ＥＧＦＲ、ＮＣＡＭ、プロスターゼ、ＰＡＰ、ＥＬＦ２Ｍ、エフリンＢ２、ＩＧＦ－Ｉ受容体、ＣＡＩＸ、ＬＭＰ２、ｇｐ１００、ｂｃｒ－ａｂｌ、チロシナーゼ、ＥｐｈＡ２、フコシルＧＭ１、ｓＬｅ、ＧＭ３、ＴＧＳ５、ＨＭＷＭＡＡ、ｏ－アセチル－ＧＤ２、葉酸受容体ベータ、ＴＥＭ１／ＣＤ２４８、ＴＥＭ７Ｒ、ＣＬＤＮ６、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＸＯＲＦ６１、ＣＤ９７、ＣＤ１７９ａ、ＡＬＫ、ポリシアル酸、ＰＬＡＣ１、ＧｌｏｂｏＨ、ＮＹ－ＢＲ－１、ＵＰＫ２、ＨＡＶＣＲ１、ＡＤＲＢ３、ＰＡＮＸ３、ＧＰＲ２０、ＬＹ６Ｋ、ＯＲ５１Ｅ２、ＴＡＲＰ、ＷＴ１、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＬＡＧＥ－１ａ、ＭＡＧＥ－Ａ１、レグマイン、ＨＰＶ　Ｅ６、Ｅ７、ＭＡＧＥ　Ａ１、ＥＴＶ６－ＡＭＬ、精子タンパク質１７、ＸＡＧＥ１、Ｔｉｅ　２、ＭＡＤ－ＣＴ－１、ＭＡＤ－ＣＴ－２、Ｆｏｓ関連抗原１、ｐ５３、ｐ５３変異体、プロステイン、サバイビン及びテロメラーゼ、ＰＣＴＡ－１／ガレクチン８、ＭｅｌａｎＡ／ＭＡＲＴ１、Ｒａｓ変異体、ｈＴＥＲＴ、肉腫転座切断点、ＭＬ－ＩＡＰ、ＥＲＧ（ＴＭＰＲＳＳ２　ＥＴＳ融合遺伝子）、ＮＡ１７、ＰＡＸ３、アンドロゲン受容体、サイクリンＢ１、ＭＹＣＮ、ＲｈｏＣ、ＴＲＰ－２、ＣＹＰ１Ｂ１、ＢＯＲＩＳ、ＳＡＲＴ３、ＰＡＸ５、ＯＹ－ＴＥＳ１、ＬＣＫ、ＡＫＡＰ－４、ＳＳＸ２、ＲＡＧＥ－１、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、ＲＵ１、ＲＵ２、腸カルボキシルエステラーゼ、ｍｕｔ　ｈｓｐ７０－２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ７２、ＬＡＩＲ１、ＦＣＡＲ、ＬＩＬＲＡ２、ＣＤ３００ＬＦ、ＣＬＥＣ１２Ａ、ＢＳＴ２、ＥＭＲ２、ＬＹ７５、ＧＰＣ３、ＦＣＲＬ５、ＩＧＬＬ１並びにそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される腫瘍抗原を標的とする。いくつかの実施形態では、タンパク質は、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、共刺激シグナル伝達領域及びシグナル伝達ドメインを含むＣＡＲである。いくつかの実施形態では、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である。いくつかの実施形態では、共刺激シグナル伝達領域は、４１ＢＢ（即ちＣＤ１３７）、ＣＤ２７、ＩＣＯＳ及び／又はＣＤ２８から選択される。

【００６３】

いくつかの実施形態において、細胞活性化剤は、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団又はメソポーラスシリカ粒子の第２の集団にコンジュゲート又は吸収されている。いくつ

かの実施形態では、細胞活性化剤は、Ｔ細胞刺激化合物、ＣＡＲ抗原結合ドメインに対する抗イディオタイプ抗体及び／又は腫瘍抗原である。いくつかの実施形態において、Ｔ細胞刺激化合物は、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、抗ＣＤ２　ｍＡｂ、抗ＣＤ３　ｍＡｂ、抗ＣＤ２８　ｍＡｂ、ネオ抗原ペプチド、ＴＲＰ２などの共有抗原由来のペプチド、ｇｐ１００、腫瘍細胞溶解物、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＲＯＲ１、メソテリン、ＣＤ３３／ＩＬ３Ｒａ、ｃ－Ｍｅｔ、ＰＳＭＡ、糖脂質Ｆ７７、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ－２、ＮＹ－ＥＳＯ－１　ＴＣＲ及び／又はＭＡＧＥ　Ａ３　ＴＣＲである。いくつかの実施形態において、細胞活性化剤は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体並びに／又は共刺激分子及び／若しくは増殖因子受容体を刺激する薬剤を含み、任意選択により、細胞活性化剤は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体を刺激する薬剤と、共刺激分子及び／又は増殖因子受容体を刺激する薬剤とを含む多重特異性結合分子である。いくつかの実施形態では、細胞活性化は、表２０に提供される配列から選択される。いくつかの実施形態では、細胞活性化剤は、メソポーラスシリカ粒子の第２の集団又はメソポーラスシリカ粒子の第２の集団の表面上の脂質エンベロープにコンジュゲートされている。いくつかの実施形態において、組成物は、サイトカインを更に含む。いくつかの実施形態では、サイトカインは、メソポーラスシリカ粒子の第１又は第２の集団にコンジュゲート又は吸着されている。いくつかの実施形態では、サイトカインは、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－７、ＩＬ－１０、ＩＬ－１２、ＩＬ－１５、ＩＬ－１７、ＩＬ－２１若しくはトランスフォーミング増殖因子ベータ（ＴＧＦ－β）又はそのアゴニスト、その模倣物、その変異体、その機能的フラグメント或いはそれらの組み合わせである。

【００６４】

疾患、障害又は状態を有する対象を処置する方法であって、細胞動員因子を含む生体材料と；メソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；ウイルスベクターと；任意選択により細胞活性化剤とを対象に投与することを含む方法も本明細書で企図される。いくつかの実施形態では、成分は、同時に又は連続して投与される。いくつかの実施形態では、細胞動員因子を含む生体材料が最初に投与される。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカロッドの第１の集団、ウイルスベクター及び任意選択により細胞活性化剤は、同時に且つ任意選択により生体材料の後に投与する。

【００６５】

疾患、障害又は状態を有する対象を処置する方法であって、生体材料及び細胞動員因子と；メソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；ウイルスベクターと；任意選択により細胞活性化剤とを対象に投与することを含む方法も本明細書で企図される。いくつかの実施形態では、成分は、同時に又は連続して投与される。いくつかの実施形態では、生体材料及び細胞動員因子が最初に投与される。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカロッドの第１の集団、ウイルスベクター及び任意選択により細胞活性化剤は、同時に且つ任意選択により生体材料及び細胞動員因子の後に投与される。

【００６６】

更に、疾患、障害又は状態を有する対象を処置する方法であって、生体材料及び分子（例えば、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＸＣＬ１２、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０又はＣＸＣＬ１１）と；メソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；ウイルスベクターと；任意選択により細胞活性化剤とを対象に投与することを含む方法も本明細書で企図される。いくつかの実施形態では、成分は、同時に又は連続して投与される。いくつかの実施形態では、生体材料及び分子が最初に投与される。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカロッドの第１の集団、ウイルスベクター及び任意選択により細胞活性化剤は、同時に且つ任意選択により生体材料及び分子の後に投与される

【００６７】

いくつかの実施形態では、対象は、癌を有する。いくつかの実施形態では、対象は、ＴＳＨＲ、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ１７１、ＣＳ－１、ＣＬＬ－

１、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ２、ＧＤ３、ＢＣＭＡ、Ｔｎ　Ａｇ、ＰＳＭＡ、ＲＯＲ１、ＦＬＴ３、ＦＡＰ、ＴＡＧ７２、ＣＤ３８、ＣＤ４４ｖ６、ＣＥＡ、ＥＰＣＡＭ、Ｂ７Ｈ３、ＫＩＴ、ＩＬ－１３Ｒａ２、メソテリン、ＩＬ－１１Ｒａ、ＰＳＣＡ、ＰＲＳＳ２１、ＶＥＧＦＲ２、ルイスＹ、ＣＤ２４、ＰＤＧＦＲ－ベータ、ＳＳＥＡ－４、ＣＤ２０、葉酸受容体アルファ、ＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）、ＭＵＣ１、ＥＧＦＲ、ＮＣＡＭ、プロスターゼ、ＰＡＰ、ＥＬＦ２Ｍ、エフリンＢ２、ＩＧＦ－Ｉ受容体、ＣＡＩＸ、ＬＭＰ２、ｇｐ１００、ｂｃｒ－ａｂｌ、チロシナーゼ、ＥｐｈＡ２、フコシルＧＭ１、ｓＬｅ、ＧＭ３、ＴＧＳ５、ＨＭＷＭＡＡ、ｏ－アセチル－ＧＤ２、葉酸受容体ベータ、ＴＥＭ１／ＣＤ２４８、ＴＥＭ７Ｒ、ＣＬＤＮ６、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＸＯＲＦ６１、ＣＤ９７、ＣＤ１７９ａ、ＡＬＫ、ポリシアル酸、ＰＬＡＣ１、ＧｌｏｂｏＨ、ＮＹ－ＢＲ－１、ＵＰＫ２、ＨＡＶＣＲ１、ＡＤＲＢ３、ＰＡＮＸ３、ＧＰＲ２０、ＬＹ６Ｋ、ＯＲ５１Ｅ２、ＴＡＲＰ、ＷＴ１、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＬＡＧＥ－１ａ、ＭＡＧＥ－Ａ１、レグマイン、ＨＰＶ　Ｅ６、Ｅ７、ＭＡＧＥ　Ａ１、ＥＴＶ６－ＡＭＬ、精子タンパク質１７、ＸＡＧＥ１、Ｔｉｅ　２、ＭＡＤ－ＣＴ－１、ＭＡＤ－ＣＴ－２、Ｆｏｓ関連抗原１、ｐ５３、ｐ５３変異体、プロステイン、サバイビン及びテロメラーゼ、ＰＣＴＡ－１／ガレクチン８、ＭｅｌａｎＡ／ＭＡＲＴ１、Ｒａｓ変異体、ｈＴＥＲＴ、肉腫転座切断点、ＭＬ－ＩＡＰ、ＥＲＧ（ＴＭＰＲＳＳ２　ＥＴＳ融合遺伝子）、ＮＡ１７、ＰＡＸ３、アンドロゲン受容体、サイクリンＢ１、ＭＹＣＮ、ＲｈｏＣ、ＴＲＰ－２、ＣＹＰ１Ｂ１、ＢＯＲＩＳ、ＳＡＲＴ３、ＰＡＸ５、ＯＹ－ＴＥＳ１、ＬＣＫ、ＡＫＡＰ－４、ＳＳＸ２、ＲＡＧＥ－１、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、ＲＵ１、ＲＵ２、腸カルボキシルエステラーゼ、ｍｕｔ　ｈｓｐ７０－２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ７２、ＬＡＩＲ１、ＦＣＡＲ、ＬＩＬＲＡ２、ＣＤ３００ＬＦ、ＣＬＥＣ１２Ａ、ＢＳＴ２、ＥＭＲ２、ＬＹ７５、ＧＰＣ３、ＦＣＲＬ５、ＩＧＬＬ１並びにそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される１つ以上の腫瘍抗原を発現する癌を有する。

【００６８】

いくつかの実施形態において、生体材料は、ヒドロゲル、任意選択によりクリオゲルを含む。いくつかの実施形態では、クリオゲルは、ゼラチン、ヒアルロン酸、コラーゲン、アルギン酸塩、ラミニン、キトサン、絹フィブロイン、アガロース、ポリ（エチレングリコール）、ポリビニルアルコール及び／又はヒドロキシエチルメチルアクリレートを含む。いくつかの実施形態では、クリオゲルを含む組成物は、ラポナイトを更に含む。いくつかの実施形態において、クリオゲルは、約１０～３００μｍ、任意選択により約５０～３００μｍの直径の細孔を含む。いくつかの実施形態では、クリオゲルは、化学的に架橋されている。

【００６９】

いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、免疫細胞、任意選択によりＴ細胞及び／又はＮＫ細胞を選択的に動員する。いくつかの実施形態では、細胞動員因子は、ＣＣＬ１９、ＣＸＣＬ９、ＣＸＣＬ１０、ＸＣＬ１、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＣＣＬ２１、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＣＬ１７、ＣＣＬ２２、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ２７、ＩＬ－１５、リンホトキシンアルファ、リンホトキシンベータ、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＦＬＴ３Ｌ、Ｇ－ＣＳＦ、ＰＤＧＦ、Ｓ１００Ａ８／Ａ９、ＣＳＦ－１、ＣＸＣＬ８、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ１７、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＬ２、ＶＥＧＦ、アンジオポエチン－２、ＰＧＥ２、ＬＴＢ４、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０、ＣＸＣＬ１１及び／又はＣＸＣＬ１２からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、未成熟ＶＥＧＦ－ＣペプチドまたはＶＥＧＦ－Ｃペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、マイナー成熟型又はメジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、野生型マイナー成熟型又は野生型メジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、修飾マイナー成熟型又は修飾メジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、システイン１３７に変異（例えば、Ｃ１３７Ａ）を含む修飾マイナー成熟型又はシステイン１３７に変異（例えば、Ｃ１３７Ａ）を含む修飾メジャー成熟型である。

いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、Ｃ１３７Ａ変異を含む修飾マイナー成熟型又はＣ１３７Ａ変異を含む修飾メジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、二量体又は単量体として存在する。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、各単量体中にＣ１３７Ａ変異を更に含むメジャー成熟型の二量体である。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、各単量体中にＣ１３７Ａ変異を更に含むマイナー成熟型の二量体である。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、表１８から選択され、任意選択により、ｈｉｓタグは、配列に含まれない。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、有効量、任意選択により約１ｍｇ以下、約１０ｍｇ以下、約１０μｇ以上、約１μｇ以上、約１μｇ～１ｍｇ、約１０μｇ～１ｍｇ、約１μｇ～１０ｍｇ又は約１０μｇ～１０ｍｇの量で存在する。

【００７０】

いくつかの実施形態において、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団は、表面修飾されている。いくつかの実施形態において、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団への表面修飾は、任意選択によりＣ$_{1}$～Ｃ$_{20}$アルキル又は（－Ｏ（ＣＨ２－ＣＨ$_{2}$－）$_{1～25}$リンカー用いる、－ＯＨ（ヒドロキシル）、アミン、カルボン酸、ホスホネート、ハロゲン化物、アジド、アルキン、エポキシド、スルフヒドリル、ポリエチレンイミン、疎水性部分又はその塩である。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団への表面修飾は、一級、二級、三級又は四級アミンである。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団への表面修飾は、ゲル浸透クロマトグラフィー（ＧＰＣ）によって測定されて、約１０００～２０，０００Ｄａ、約１，２００～１５，０００Ｄａ、約１，５００～１２，０００Ｄａ、約２，０００Ｄａ、約３，０００Ｄａ、約４，０００Ｄａ、約５，０００Ｄａ、約６，０００Ｄａ、約７，０００Ｄａ、約８，０００Ｄａ、約９，０００Ｄａ又は約１０，０００Ｄａの平均分子量を有するポリエチレンイミンである。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子は、２～５０ｎｍの直径の細孔を含む。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子は、少なくとも約１００ｍ^{2}／ｇの表面積を有する。いくつかの実施形態では、組成物は、注射用途に適している。いくつかの実施形態において、メソポーラスシリカ粒子は、メソポーラスシリカロッドの形態である。

【００７１】

いくつかの実施形態において、ウイルスベクターは、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団にコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団に静電的又は共有結合的にコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス又はレンチウイルスである。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、発現されるヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を有する組換えポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、ヌクレオチド配列は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、操作されたＴＣＲ、１つ以上のサイトカイン、１つ以上のケモカイン、阻害分子を遮断するためのｓｈＲＮＡをコードするか、又はヌクレオチド配列は、タンパク質の発現を誘導するためのｍＲＮＡを含む。いくつかの実施形態では、ヌクレオチド配列は、腫瘍抗原を標的とするように操作されたポリペプチドをコードする。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、ＴＳＨＲ、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ１７１、ＣＳ－１、ＣＬＬ－１、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ２、ＧＤ３、ＢＣＭＡ、Ｔｎ　Ａｇ、ＰＳＭＡ、ＲＯＲ１、ＦＬＴ３、ＦＡＰ、ＴＡＧ７２、ＣＤ３８、ＣＤ４４ｖ６、ＣＥＡ、ＥＰＣＡＭ、Ｂ７Ｈ３、ＫＩＴ、ＩＬ－１３Ｒａ２、メソテリン、ＩＬ－１１Ｒａ、ＰＳＣＡ、ＰＲＳＳ２１、ＶＥＧＦＲ２、ルイスＹ、ＣＤ２４、ＰＤＧＦＲ－ベータ、ＳＳＥＡ－４、ＣＤ２０、葉酸受容体アルファ、ＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）、ＭＵＣ１、ＥＧＦＲ、ＮＣＡＭ、プロスターゼ、ＰＡＰ、ＥＬＦ２Ｍ、エフリンＢ２、ＩＧＦ－Ｉ受容体、ＣＡＩＸ、ＬＭＰ２、ｇｐ１００、ｂｃｒ－ａｂｌ、チロシナーゼ、ＥｐｈＡ２、フコシルＧＭ１、ｓＬｅ、ＧＭ３、ＴＧＳ５、ＨＭＷＭＡＡ、ｏ－アセチル－ＧＤ２、葉酸受容体ベータ、ＴＥＭ１

／ＣＤ２４８、ＴＥＭ７Ｒ、ＣＬＤＮ６、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＸＯＲＦ６１、ＣＤ９７、ＣＤ１７９ａ、ＡＬＫ、ポリシアル酸、ＰＬＡＣ１、ＧｌｏｂｏＨ、ＮＹ－ＢＲ－１、ＵＰＫ２、ＨＡＶＣＲ１、ＡＤＲＢ３、ＰＡＮＸ３、ＧＰＲ２０、ＬＹ６Ｋ、ＯＲ５１Ｅ２、ＴＡＲＰ、ＷＴ１、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＬＡＧＥ－１ａ、ＭＡＧＥ－Ａ１、レグマイン、ＨＰＶ　Ｅ６、Ｅ７、ＭＡＧＥ　Ａ１、ＥＴＶ６－ＡＭＬ、精子タンパク質１７、ＸＡＧＥ１、Ｔｉｅ　２、ＭＡＤ－ＣＴ－１、ＭＡＤ－ＣＴ－２、Ｆｏｓ関連抗原１、ｐ５３、ｐ５３変異体、プロステイン、サバイビン及びテロメラーゼ、ＰＣＴＡ－１／ガレクチン８、ＭｅｌａｎＡ／ＭＡＲＴ１、Ｒａｓ変異体、ｈＴＥＲＴ、肉腫転座切断点、ＭＬ－ＩＡＰ、ＥＲＧ（ＴＭＰＲＳＳ２　ＥＴＳ融合遺伝子）、ＮＡ１７、ＰＡＸ３、アンドロゲン受容体、サイクリンＢ１、ＭＹＣＮ、ＲｈｏＣ、ＴＲＰ－２、ＣＹＰ１Ｂ１、ＢＯＲＩＳ、ＳＡＲＴ３、ＰＡＸ５、ＯＹ－ＴＥＳ１、ＬＣＫ、ＡＫＡＰ－４、ＳＳＸ２、ＲＡＧＥ－１、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、ＲＵ１、ＲＵ２、腸カルボキシルエステラーゼ、ｍｕｔ　ｈｓｐ７０－２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ７２、ＬＡＩＲ１、ＦＣＡＲ、ＬＩＬＲＡ２、ＣＤ３００ＬＦ、ＣＬＥＣ１２Ａ、ＢＳＴ２、ＥＭＲ２、ＬＹ７５、ＧＰＣ３、ＦＣＲＬ５、ＩＧＬＬ１並びにそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される腫瘍抗原を標的とする。いくつかの実施形態では、タンパク質は、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、共刺激シグナル伝達領域及びシグナル伝達ドメインを含むＣＡＲである。いくつかの実施形態では、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である。いくつかの実施形態では、共刺激シグナル伝達領域は、４１ＢＢ（即ちＣＤ１３７）、ＣＤ２７、ＩＣＯＳ及び／又はＣＤ２８から選択される。

【００７２】

いくつかの実施形態において、細胞活性化剤は、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団又はメソポーラスシリカ粒子の第２の集団にコンジュゲート又は吸収されている。いくつかの実施形態では、細胞活性化剤は、Ｔ細胞刺激化合物、ＣＡＲ抗原結合ドメインに対する抗イディオタイプ抗体及び／又は腫瘍抗原である。いくつかの実施形態において、Ｔ細胞刺激化合物は、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、抗ＣＤ２　ｍＡｂ、抗ＣＤ３　ｍＡｂ、抗ＣＤ２８　ｍＡｂ、ネオ抗原ペプチド、ＴＲＰ２などの共有抗原由来のペプチド、ｇｐ１００、腫瘍細胞溶解物、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＲＯＲ１、メソテリン、ＣＤ３３／ＩＬ３Ｒａ、ｃ－Ｍｅｔ、ＰＳＭＡ、糖脂質Ｆ７７、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ－２、ＮＹ－ＥＳＯ－１　ＴＣＲ及び／又はＭＡＧＥ　Ａ３　ＴＣＲである。いくつかの実施形態において、細胞活性化剤は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体並びに／又は共刺激分子及び／若しくは増殖因子受容体を刺激する薬剤を含み、任意選択により、細胞活性化剤は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体を刺激する薬剤と、共刺激分子及び／又は増殖因子受容体を刺激する薬剤とを含む多重特異性結合分子である。いくつかの実施形態では、細胞活性化は、表２０に提供される配列から選択される。いくつかの実施形態では、細胞活性化剤は、メソポーラスシリカ粒子の第２の集団又はメソポーラスシリカ粒子の第２の集団の表面上の脂質エンベロープにコンジュゲートされている。いくつかの実施形態において、組成物は、サイトカインを更に含む。いくつかの実施形態では、サイトカインは、メソポーラスシリカ粒子の第１又は第２の集団にコンジュゲート又は吸着されている。いくつかの実施形態では、サイトカインは、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－７、ＩＬ－１０、ＩＬ－１２、ＩＬ－１５、ＩＬ－１７、ＩＬ－２１若しくはトランスフォーミング増殖因子ベータ（ＴＧＦ－β）又はそのアゴニスト、その模倣物、その変異体、その機能的フラグメント或いはそれらの組み合わせである。

【００７３】

当業者は、常用的な実験を用いるのみで、本明細書に記載される本発明の具体的な実施形態に対する多くの均等物を認識又は確認することができるであろう。このような均等物は、以下の実施形態の列挙に包含されることが意図される。

【００７４】

実施形態の列挙

１．（ａ）細胞動員因子を含む生体材料と；

（ｂ）メソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；
（ｃ）ウイルスベクターと；
（ｄ）任意選択により、細胞活性化剤と
を含む組成物。
２．生体材料は、ヒドロゲル、任意選択によりクリオゲルを含む、実施形態１に記載の組成物。
３．クリオゲルは、
（ａ）ゼラチン、ヒアルロン酸、コラーゲン、アルギン酸塩、ラミニン、キトサン、絹フィブロイン、アガロース、ポリ（エチレングリコール）、ポリビニルアルコール及び／又はヒドロキシエチルメチルアクリレートを含み、任意選択によりラポナイトを更に含み；
（ｂ）約１０μｍ～約３００μｍ、任意選択により約５０μｍ～約３００μｍの直径の細孔を含み；及び／又は
（ｃ）化学的に架橋されている、実施形態２に記載の組成物。
４．細胞動員因子は、ＣＣＬ１９、ＣＸＣＬ９、ＣＸＣＬ１０、ＸＣＬ１、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＣＣＬ２１、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＣＬ１７、ＣＣＬ２２、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ２７、ＩＬ－１５、リンホトキシンアルファ、リンホトキシンベータ、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＦＬＴ３Ｌ、Ｇ－ＣＳＦ、ＰＤＧＦ、Ｓ１００Ａ８／Ａ９、ＣＳＦ－１、ＣＸＣＬ８、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ１７、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＬ２、ＶＥＧＦ、アンジオポエチン－２、ＰＧＥ２、ＬＴＢ４、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０、ＣＸＣＬ１１及び／又はＣＸＣＬ１２からなる群から選択される、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。
５．細胞動員因子は、免疫細胞、任意選択によりＴ細胞及び／又はＮＫ細胞を動員する、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。
６．細胞動員因子は、
（ａ）Ｔ細胞の動員のためのＩＬ－２、ＩＬ－７、ＣＣＬ２１、ＩＬ－１５、ＧＭ－ＣＳＦ及び／又はＶＥＧＦ－Ｃ；及び／又は
（ｂ）ＮＫ細胞の動員のためのＣＸＣＬ１２、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０及び／又はＣＸＣＬ１１
からなる群から選択される、実施形態５に記載の組成物。
７．細胞動員因子は、任意選択により単量体又は二量体としてのＶＥＧＦ－Ｃである、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。
８．ＶＥＧＦ－Ｃは、ＶＥＧＦ－Ｃペプチド、任意選択によりマイナー成熟型若しくはメジャー成熟型又はその各々の変異体である、実施形態７に記載の組成物。
９．成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、Ｃ１３７Ａ変異を含む、実施形態８に記載の組成物。
１０．ＶＥＧＦ－Ｃは、表１８に提供される配列を含み、任意選択により、ｈｉｓタグは、配列に含まれない、実施形態７～９のいずれか１つに記載の組成物。
１１．ＶＥＧＦ－Ｃは、表１８に提供される配列の１つ以上を含み、任意選択により、ｈｉｓタグは、配列に含まれない、実施形態１０に記載の組成物。
１２．ＶＥＧＦ－Ｃは、有効量、任意選択により約１ｍｇ以下、約１０ｍｇ以下、約１０μｇ以上、約１μｇ以上、約１μｇ～１ｍｇ、約１０μｇ～１ｍｇ、約１μｇ～１０ｍｇ又は約１０μｇ～１０ｍｇの量で存在する、実施形態７～１０のいずれか１つに記載の組成物。
１３．ウイルスベクターは、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団にコンジュゲートされている、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。
１４．ウイルスベクターは、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団に静電気的又は共有結合的にコンジュゲートされている、実施形態１３に記載の組成物。
１５．メソポーラスシリカ粒子の第１の集団は、表面修飾されている、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。

１６．メソポーラスシリカ粒子の第１の集団への表面修飾は、任意選択によりＣ$_{1}$～Ｃ$_{20}$アルキル又は（－Ｏ（ＣＨ２－ＣＨ$_{2}$－）$_{1～25}$リンカーを用いる、－ＯＨ（ヒドロキシル）、アミン、カルボン酸、ホスホネート、ハロゲン化物、アジド、アルキン、エポキシド、スルフヒドリル、ポリエチレンイミン、疎水性部分又はその塩である、実施形態１５に記載の組成物。

１７．メソポーラスシリカ粒子の第１の集団への表面修飾は、一級、二級、三級又は四級アミンである、実施形態１５に記載の組成物。

１８．メソポーラスシリカ粒子の第１の集団への表面修飾は、ゲル浸透クロマトグラフィー（ＧＰＣ）によって測定されて、約１０００～２０，０００Ｄａ、約１，２００～１５，０００Ｄａ、約１，５００～１２，０００Ｄａ、約２，０００Ｄａ、約３，０００Ｄａ、約４，０００Ｄａ、約５，０００Ｄａ、約６，０００Ｄａ、約７，０００Ｄａ、約８，０００Ｄａ、約９，０００Ｄａ又は約１０，０００Ｄａの平均分子量を有するポリエチレンイミンである、実施形態１５に記載の組成物。

１９．ウイルスベクターは、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス又はレンチウイルスである、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。

２０．ウイルスベクターは、発現されるヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を有する組換えポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。

２１．ヌクレオチド配列は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、操作されたＴＣＲ、１つ以上のサイトカイン、１つ以上のケモカイン、阻害分子を遮断するためのｓｈＲＮＡをコードするか、又はヌクレオチド配列は、タンパク質の発現を誘導するためのｍＲＮＡを含む、実施形態２０に記載の組成物。

２２．ヌクレオチド配列は、腫瘍抗原を標的とするように操作されたポリペプチドをコードする、実施形態２１に記載の組成物。

２３．腫瘍抗原は、ＴＳＨＲ、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ１７１、ＣＳ－１、ＣＬＬ－１、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ２、ＧＤ３、ＢＣＭＡ、Ｔｎ　Ａｇ、ＰＳＭＡ、ＲＯＲ１、ＦＬＴ３、ＦＡＰ、ＴＡＧ７２、ＣＤ３８、ＣＤ４４ｖ６、ＣＥＡ、ＥＰＣＡＭ、Ｂ７Ｈ３、ＫＩＴ、ＩＬ－１３Ｒａ２、メソテリン、ＩＬ－１１Ｒａ、ＰＳＣＡ、ＰＲＳＳ２１、ＶＥＧＦＲ２、ルイスＹ、ＣＤ２４、ＰＤＧＦＲ－ベータ、ＳＳＥＡ－４、ＣＤ２０、葉酸受容体アルファ、ＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）、ＭＵＣ１、ＥＧＦＲ、ＮＣＡＭ、プロスターゼ、ＰＡＰ、ＥＬＦ２Ｍ、エフリンＢ２、ＩＧＦ－Ｉ受容体、ＣＡＩＸ、ＬＭＰ２、ｇｐ１００、ｂｃｒ－ａｂｌ、チロシナーゼ、ＥｐｈＡ２、フコシルＧＭ１、ｓＬｅ、ＧＭ３、ＴＧＳ５、ＨＭＷＭＡＡ、ｏ－アセチル－ＧＤ２、葉酸受容体ベータ、ＴＥＭ１／ＣＤ２４８、ＴＥＭ７Ｒ、ＣＬＤＮ６、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＸＯＲＦ６１、ＣＤ９７、ＣＤ１７９ａ、ＡＬＫ、ポリシアル酸、ＰＬＡＣ１、ＧｌｏｂｏＨ、ＮＹ－ＢＲ－１、ＵＰＫ２、ＨＡＶＣＲ１、ＡＤＲＢ３、ＰＡＮＸ３、ＧＰＲ２０、ＬＹ６Ｋ、ＯＲ５１Ｅ２、ＴＡＲＰ、ＷＴ１、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＬＡＧＥ－１ａ、ＭＡＧＥ－Ａ１、レグマイン、ＨＰＶ　Ｅ６、Ｅ７、ＭＡＧＥ　Ａ１、ＥＴＶ６－ＡＭＬ、精子タンパク質１７、ＸＡＧＥ１、Ｔｉｅ　２、ＭＡＤ－ＣＴ－１、ＭＡＤ－ＣＴ－２、Ｆｏｓ関連抗原１、ｐ５３、ｐ５３変異体、プロステイン、サバイビン及びテロメラーゼ、ＰＣＴＡ－１／ガレクチン８、ＭｅｌａｎＡ／ＭＡＲＴ１、Ｒａｓ変異体、ｈＴＥＲＴ、肉腫転座切断点、ＭＬ－ＩＡＰ、ＥＲＧ（ＴＭＰＲＳＳ２　ＥＴＳ融合遺伝子）、ＮＡ１７、ＰＡＸ３、アンドロゲン受容体、サイクリンＢ１、ＭＹＣＮ、ＲｈｏＣ、ＴＲＰ－２、ＣＹＰ１Ｂ１、ＢＯＲＩＳ、ＳＡＲＴ３、ＰＡＸ５、ＯＹ－ＴＥＳ１、ＬＣＫ、ＡＫＡＰ－４、ＳＳＸ２、ＲＡＧＥ－１、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、ＲＵ１、ＲＵ２、腸カルボキシルエステラーゼ、ｍｕｔ　ｈｓｐ７０－２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ７２、ＬＡＩＲ１、ＦＣＡＲ、ＬＩＬＲＡ２、ＣＤ３００ＬＦ、ＣＬＥＣ１２Ａ、ＢＳＴ２、ＥＭＲ２、ＬＹ７５、ＧＰＣ３、ＦＣＲＬ５、ＩＧＬＬ１並びにそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、実施形態２２に記載の組成物。

２４．ベクターは、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、共刺激シグナル伝達領域及びシグナル伝達ドメインを含むＣＡＲをコードする、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。

２５．（ａ）抗原結合ドメインは、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＣＤ２２、ＣＤ２０、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＢＣＭＡ、メソテリン、ＣＤ３３、ＣＬＬ－１及びそれらの任意の組み合わせから選択される抗原に結合し；

（ｂ）膜貫通ドメイは、ＣＤ８ヒンジを含み；

（ｃ）共刺激シグナル伝達領域は、４－１ＢＢ又はＣＤ２８共刺激シグナル伝達ドメインから選択され；及び／又は

（ｄ）シグナル伝達領域は、ＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメインを含む、実施形態２４に記載の組成物。

２６．細胞活性化剤は、Ｔ細胞刺激化合物、ＣＡＲ抗原結合ドメインに対する抗イディオタイプ抗体又は腫瘍抗原である、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。

２７．細胞活性化剤は、

（ａ）ＣＤ３／ＴＣＲ複合体並びに／又は共刺激分子及び／若しくは増殖因子受容体を刺激する薬剤を含み；

（ｂ）ＣＤ３／ＴＣＲ複合体を刺激する薬剤と、共刺激分子及び／又は増殖因子受容体を刺激する薬剤とを含む多重特異性結合分子であり；及び／又は

（ｃ）表２０に提供され、且つ／又は図３７に従う１つ以上のフォーマットで提供される配列を含む、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。

２８．細胞活性化剤は、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団、メソポーラスシリカ粒子の第２の集団又はメソポーラスシリカ粒子の第２の集団の表面上の脂質エンベロープにコンジュゲート又は吸着されている、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。

２９．メソポーラスシリカ粒子は、メソポーラスシリカロッドである、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。

３０．メソポーラスシリカ粒子は、２～５０ｎｍの直径の細孔を含む、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。

３１．メソポーラスシリカ粒子は、少なくとも約１００m^2／ｇの表面積を有する、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。

３２．組成物は、注射用途に適している、先行する実施形態のいずれか１つに記載の組成物。

３３．インビボで細胞を形質導入する方法であって、実施形態１～３２のいずれか１つに記載の組成物を投与することを含み、各成分は、同時又は連続的に投与される、方法。

３４．疾患、障害又は状態を処置する方法であって、実施形態１～３２のいずれか１つに記載の組成物を投与することを含み、各成分は、同時又は連続的に投与される、方法。

３５．疾患、障害又は状態は、癌である、実施形態３４に記載の方法。

【図面の簡単な説明】

【００７５】

【図１】メソポーラスシリカ粒子の一連の表面修飾を示す。

【図２】ＶＳＶ－Ｇ疑似型レンチウイルスをＭＳＲに吸着させた後の、ＭＳＲ表面上のウイルスエンベロープタンパク質（ＶＳＶ－Ｇ）の染色からの結果を示す。対照ＭＳＲは、上のパネルに表示され、ウイルスでインキュベートされたロッドは、下のパネルに示される。

【図３】ＭＳＲへのウイルス吸着及びＴ細胞の形質導入の概略図である。

【図４】遊離レンチウイルス又はＭＳＲ結合レンチウイルスとインキュベートしたＴ細胞によるＧＦＰ発現の結果を提供する。ウイルスでコーティングされたＭＳＲの４０μｇ／ｍｌ開始濃度からの希釈は、示されるとおりである。「１×レンチ」条件は、ＭＳＲ条件でインキュベートされたウイルスの量に相当する。「２×レンチ」条件は、ＭＳＲ条件をコーティングするために使用される量の２倍に相当する。

【図５】ＭＳＲ表面でのリガンド提示のための全体的な戦略の概略図を提供する。リポソ

ームをＭＳＲとインキュベートして、支持された脂質二重層を形成する。ストレプトアビジン－ビオチン相互作用を使用して、リガンドをＭＳＲ－脂質二重層に結合させることができる。

【図６】１モル％のＰＥ－カルボキシフルオレセインを含有するＰＯＰＣリポソームでコーティングされたＭＳＲの写真を示す。明視野（左）、蛍光（中央）及びオーバーレイ（右）の画像が示される。

【図７】ＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ結合ペプチドのペプチド配列（ＬＥＥＫＫＧＮＹＶＶＴＤＨ（配列番号７５６））を示す。

【図８】ＭＳＲへのペプチド固定化によるＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ　Ｔのサイトカイン産生を示す。結果は、対照条件と比較して、ＥＧＦＲｖＩＩＩ－ＣＡＲ結合ペプチドを提示する脂質コーティングＭＳＲ（脂質コーティング中、１％ＰＥ－ビオチン）によって刺激されたＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ　Ｔのインターフェロンガンマ及びインターロイキン－２産生を提供する。

【図９】ＭＳＲへのペプチド固定化によるＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ　Ｔの増殖を示す。０．０１％ＰＥ－ビオチンの脂質コーティングＭＳＲ組成物がペプチド固定化に使用され、ＭＳＲ濃度は、ウェル内で３０μｇ／ｍｌであった。細胞数は、示された条件下で培養の７日目に実施された。

【図１０Ａ－１０Ｂ】ＭＳＲへのペプチド固定化によるＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ　Ｔの増殖及び最終的な細胞組成を示す。開始ＭＳＲ濃度は、５０μｇ／ｍｌであり、この開始濃度からのＭＳＲの希釈は、軸に示されているとおりである。図１０Ａは、示された材料による培養期間の終了時のＣＤ４及びＣＤ８Ｔ細胞のパーセンテージを示す。図１０Ｂは、ＭＳＲ表面に抗ＣＤ２８を有する又は有しない様々な量のＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ結合ペプチドを含むＭＳＲを使用して、３日間の培養期間中にＣＦＳＥを希釈するＣＤ８＋及びＣＤ４＋　ＣＡＲ　Ｔ細胞のＦＡＣＳ分析を示す。

【図１１Ａ－１１Ｂ】ＭＳＲへのＢＣＭＡタンパク質固定化によるＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔの増殖及び最終的な細胞組成を示す。開始ＭＳＲ濃度は、５０μｇ／ｍｌであり、この開始濃度からのＭＳＲの希釈は、軸に示されているとおりである。図１１Ａは、示された材料による培養期間の終了時のＣＤ４及びＣＤ８Ｔ細胞のパーセンテージを示す。図１１Ｂは、ＭＳＲ表面に抗ＣＤ２８を有する又は有しない様々な量のＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ結合ペプチドを含むＭＳＲを使用して、３日間の培養期間中にＣＦＳＥを希釈するＣＤ８＋及びＣＤ４＋　ＣＡＲ　Ｔ細胞のＦＡＣＳ分析を示す。

【図１２】いくつかの実施形態による、ＭＳＲを使用した非刺激ヒトＴ細胞の同時刺激及び形質導入の概略図を示す。ＭＳＲの２つの集団が生成される　－　１）Ｔ細胞を刺激するアゴニスト性ＣＤ３／ＣＤ２８抗体を提示するＭＳＲ、２）Ｔ細胞へのウイルス送達を促進するためにレンチウイルスと結合した正に帯電したＰＥＩ－ＭＳＲ。２種類のＭＳＲを異なる比率で混合して、Ｔ細胞が曝露される刺激及びウイルスの量を調整することができる。

【図１３】ウイルスと共にインキュベートされた刺激性（抗ＣＤ３／ＣＤ２８抗体固定化ＭＳＲ）及びＰＥＩ－ＭＳＲに曝露されたＴ細胞の形質導入効率を示す。Ｔ細胞を異なる量の刺激ロッド（Ｓｔｉｍ１．００は、７０μｇ／ｍｌのＭＳＲを表す）と共にインキュベートし、ＰＥＩ－ＭＳＲに結合して又は遊離ウイルスの形態において、異なる感染多重度（ＭＯＩ）でＧＦＰレンチウイルスに曝露した。ウイルス条件におけるＭＳＲの最高濃度は、２２μｇ／ｍｌであった。

【図１４】ウイルスと共にインキュベートされた刺激性（抗ＣＤ３／ＣＤ２８抗体固定化）ＭＳＲ及びＰＥＩ－ＭＳＲに曝露されたＴ細胞の形質導入効率を示す。プロットは、ウイルスの様々な総量での刺激性ＭＳＲの濃度の関数としての形質導入効率を示す。刺激ＭＳＲ条件１．０のＭＳＲ濃度は、７０μｇ／ｍｌである。ＰＥＩ　ＭＳＲ条件１のＭＳＲの濃度は、２２μｇ／ｍｌである。形質導入は、培養開始後３日で評価された。

【図１５】形質導入効率のためのウイルス送達戦略の比較からの結果を提供する。「ＰＥＩ」及び「遊離」条件では、ＭＳＲに結合した「高」レベルのＣＤ３／ＣＤ２８抗体（Ｍ

ＳＲ濃度７０μｇ／ｍｌ）でＴ細胞を刺激し、所与のウイルスは、それぞれＰＥＩ－ＭＳＲに結合しているか、培地中に遊離的に送達される（ウイルス濃度１．０は、２２μｇ／ｍｌのＭＳＲ、ＭＯＩ約６．７を含有する）。「ＰＥＩ＋ＣＤ３／ＣＤ２８」では、ウイルス及びＣＤ３／ＣＤ２８アゴニスト抗体がＰＥＩ－ＭＳＲに結合していた（濃度１．０は、２２μｇ／ｍｌ　ＭＳＲである）。形質導入は、培養開始後３日で評価された。

【図１６】ＰＢＭＣ集団における形質導入のための様々な送達戦略の比較からの結果を提供する。図１５の条件がＰＢＭＣに追加された。各細胞型における形質導入細胞の割合を定量化した。形質導入は、培養開始後３日で評価された。

【図１７】様々なウイルス送達戦略によるＰＢＭＣの異なる形質導入画分を提供する。上のパネルは、図１５の条件下でＰＢＭＣ集団に存在する全細胞組成を提供する。下のパネルは、図１５の条件を使用して、ウイルス送達後に存在する形質導入された細胞画分の組成を提供する。形質導入は、培養開始後３日で評価された。

【図１８】癌治療薬として使用するための、本明細書に開示される組成物の非限定的な例示的概略図を提供し、（Ａ）は、既存の皮膚毛細リンパ管のリンパ管新生を誘導する増殖因子ＶＥＧＦ－Ｃの送達を示し；（Ｂ）は、生成されたリンパ管内皮細胞がケモカイン（ＣＣＬ２１など）を分泌し、これが血液循環からゲル上部の真皮中に免疫細胞（主にナイーブＴ細胞）を誘引する様子を示し；（Ｃ）は、Ｔ細胞を教育するリンパ管内皮細胞を示し（理論に拘束されるものではないが、本出願人は、そのような教育が高い割合の幹細胞記憶表現型をもたらす可能性があり、それが次に形質導入されると、より強力な細胞になり得ると考える）；Ｔ細胞がこのプライミング部位に動員された後、（Ｄ）は、全身への広がりを防ぐために、メソポーラスシリカロッドと組み合わせて送達される１つ以上のキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードするレンチウイルスを示し（理論に拘束されるものではないが、本出願人は、ウイルスの局所的な位置付けが、局所的に動員されたＴ細胞の形質導入に有利に作用し得、活性化が形質導入を更に改善し、漏出及び不要な細胞の形質導入を妨げ得ると考える）；（Ｅ）及び（Ｆ）は、形質導入及び教育された細胞が皮膚リンパ管、リンパ節及び胸管を介して全身循環中に戻る様子を示す（理論に拘束されるものではないが、本出願人は、そのような細胞が腫瘍抗原に応答して更に拡大すると考える）。

【図１９Ａ】様々なＶＥＧＦ－Ｃタンパク質変異体の特徴を提示する。図１９Ａは、天然ＶＥＧＦ－Ｃ及び修飾ＶＥＧＦ－Ｃの両方の概略図を提供する。未成熟ＶＥＧＦ－Ｃ（＃１）は、通常、Ｎ末端及びＣ末端のプロペプチド配列と共に細胞内に見出される。放出されると、ＶＥＧＦ－Ｃタンパク質は、タンパク質分解切断を受け、二量体又は単量体形態のマイナー又はメジャー成熟型（＃２、＃７）として細胞外空間に存在する。メジャー型（＃９）及びマイナー成熟型（＃８）の安定化二量体は、Ｃ１３７Ａ変異を配列に挿入することによって操作された。マイナー成熟型とメジャー成熟型との間の主な違いは、マイナー成熟型Ｎ末端に追加の短いプロペプチド配列が存在することである。理論に拘束されるものではないが、本出願人は、追加の短いプロペプチドが、ＨＥＫ２９３Ｔ細胞及びＣＨＯ　ＭａＫｏ細胞の両方において、二量体形成と共にタンパク質発現も促進するようであると考える。図１９Ｂは、精製ＶＥＧＦ－Ｃ変異体を負荷した非還元（ＮＲ）及び還元条件（Ｒ）下で電気泳動に付したＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲルを示す。対応するＶＥＧＦ－Ｃ変異体を含むウェルの詳細は、図１９Ｃに示され、二量体（＊＊）及び単量体（＊）の存在は、星印で示されている。完全長プロペプチドを有する未成熟ＶＥＧＦ－Ｃ（＃１）は、いくつかの不純物中で二量体として産生され（ウェル２及び３）；プロペプチドの除去により、２つのメジャー成熟ＶＥＧＦ－Ｃ型（＃２）、１つの非共有二量体形態（ウェル５、６）及び単量体形態（ウェル８、９）が産生され；＃２に変異Ｃ１３７Ａを付加すると、共有結合二量体（ウェル２１、２２）及び単量体形態（ウェル２４、２５）が生成される。非共有結合二量体（ウェル１１、１２）又は単量体形態（ウェル１５、１６）のマイナー成熟ＶＥＧＦ－Ｃ型（＃７）を生成するために、短いＮ末端プロペプチドをタンパク質に結合したままにしておく。理論に拘束されるものではないが、本出願人は、＃７のＶＥＧＦ－ＣへのＣ１３７Ａ変異により、ＶＥＧＦ－Ｃ二量体のみの生成が起こり（ウェル１８、１９）、これが大規模生産に好適となり得ると判断した。第１、４、７

、１０、１３、１４、１７、２０、２３及び２６行は、ｋＤａ単位の分子量マーカーを示す。
【図１９Ｂ－１９Ｃ】同上。
【図２０Ａ－２０Ｃ】様々なＶＥＧＦ－Ｃ変異体を用いたＨＤＬＥＣ発芽アッセイの結果を示す。二量体ＶＥＧＦ－Ｃ形態は、良好なインビトロ活性を示すことが明らかとなった。図２０Ａは、ＶＥＧＦ－Ｃ変異体の生物学的活性を検査するためのヒト皮膚リンパ管内皮細胞（ＨＤＬＥＣ）に対するインビトロ発芽アッセイの実験セットアップを示す。インキュベーション後、細胞は、図２０Ｂ：ＷＴ－８アッセイにより増殖について評価され、次に図２０Ｃ：ファロイジン染色後のチューブ形成について画像化された。チューブ形成画像は、メジャー及びマイナー成熟型（＃２、７、８、９）が、未成熟型（＃１）よりも良好なＨＤＬＥＣの発芽を刺激することを示している。理論に拘束されるものではないが、二量体形態（＃２Ｄ、７Ｄ、８Ｄ、９Ｄ）の優れた発芽活性は、それらを単量体形態（＃２Ｍ、７Ｍ、９Ｍ）よりも好ましいものにすると考えられる。
【図２１Ａ－２１Ｂ】アルギン酸クリオゲル製剤からのＶＥＧＦ－Ｃの放出速度及びそれをマウスに皮下注射することができるという概念実証を示す。図２１Ａは、アルギン酸クリオゲル製造の非限定的な例示的概略図を提供する。アルギン酸液体プレポリマーをラポナイト及び目的のタンパク質と混合した後、凍結し、注射前に再び解凍して、多孔性マトリックスを生成する。図２１Ｂは、様々なタイプのアルギン酸ゲル：アルギン酸ナノ多孔性（ゲル化は、クリオゲル形成前に起こるため、細孔が形成されない）、アルギン酸クリオゲル（凍結及びクリオゲル形成後、多孔性）並びに０．２５％ラポナイトを含むアルギン酸クリオゲルによるインビトロでのＶＥＧＦ－Ｃ放出の調節を示す。０．２５％ラポナイトアルギン酸クリオゲルは、インビトロで制御され、且つ長時間持続するＶＥＧＦ－Ｃタンパク質の放出を示している。図２１Ｃは、１０μｇ又は５０μｇのＶＥＧＦ－Ｃを負荷した０．２５％又は０．５％のラポナイトアルギン酸クリオゲルからのインビトロでのＶＥＧＦ－Ｃ放出プロファイルの調節を示す。総ＶＥＧＦ－Ｃの３０％がゲルから放出されることから、制御放出プロファイルを考慮して、０．２５％のラポナイトアルギン酸クリオゲルをインビボ試験のために選択した。図２１Ｄは、１６Ｇ針を用いてマウスに皮下注射したクリオゲルを示す画像である。
【図２１Ｃ－２１Ｄ】同上。
【図２２Ａ－２２Ｃ】ナイーブマウス皮膚におけるＶＥＧＦ－Ｃによるインビボリンパ管新生の誘導を示す。理論に拘束されるものではないが、マイナー成熟共有結合二量体ＶＥＧＦ－Ｃは、優れた有効性を有すると思われる。図２２Ａは、インビボ実験のセットアップを示し、図２２Ｂは、クリオゲル移植から１４日後に行われた皮膚消化後のフローサイトメトリーによるリンパ管内皮細胞（ＣＤ４５－、ＣＤ３１＋、ＰＤＰＮ＋）の染色によって評価されたインビボリンパ管新生を示す代表的なドットプロットを示す。図２２Ｃでは、マウス皮膚のリンパ管新生をリンパ管内皮細胞数／ｍｇとして染色後に定量化した。共有結合二量体（＃８、＃９）は、高いインビボリンパ管新生を示す。従って、＃８を別の実験で使用した。ＰＤＰＮ：ポドプラニン。
【図２３Ａ－２３Ｃ】皮膚リンパ管が、アルギン酸クリオゲルによって送達される１０μｇのＶＥＧＦ－Ｃ（＃７変異体、配列番号７３４）に応答し、クリオゲル移植の１４日後にリンパ管新生のピークに達し、これがＣ５７／ＢＬ６マウスのナイーブ皮膚における免疫浸潤のピークに対応することを示す。図２３Ａは、アルギン酸クリオゲル（１、１０、２０、５０μｇ）に負荷されたＶＥＧＦ－Ｃのインビボ用量応答及びリンパ管新生誘導（総リンパ管内皮細胞（ＬＥＣ）数／ｍｇ組織として表される、上のグラフ）及び１０μｇのＶＥＧＦ－Ｃ送達後のリンパ管新生の経時変化（下のグラフ）を示す。これらの結果から，１０μｇのＶＥＧＦ－Ｃが高いインビボリンパ管新生を誘導し、クリオゲル皮下送達から１４日後にリンパ管新生のピークが観察されることが判明した。図２３Ｂ：ゲル移植から１４日後のＣ５７／ＢＬ６マウスの皮膚消化後に単離されたＬＥＣ（ＣＤ４５－ＣＤ３１＋ＰＤＰＮ＋）及び血管内皮細胞（ＢＥＣ、ＣＤ４５－ＣＤ３１＋ＰＤＰＮ－）染色の代表的なプロット。図２３Ｃ：内皮細胞の総細胞数／ｍｇ組織としての定量化。図２３

Ｄ：ＣＤ４＋Ｔ細胞及びＣＤ８＋Ｔ細胞の総細胞数／ｍｇ組織として表される定量。ＬＥＣ数は、特にナイーブ表現型（ＣＤ６２Ｌ＋、ＣＤ４４－）のＴ細胞浸潤と相関している。棒グラフは、ＶＥＧＦ－Ｃ及び対照条件、ＶＥＧＦ－Ｃ　ｎ＝３０、対照ｎ＝１８、ナイーブｎ＝３についてプールされた５つの独立した実験を含み、平均＋ＳＥＭ、マンホイットニーノンパラメトリックｔ検定、＊＊＊＊、ｐ＜０．０００１；＊＊、ｐ＜０．０１として表される。図２３Ｅは、ＶＥＧＦ－Ｃアルギン酸クリオゲル注射後の日数にわたる組織１ｍｇ当たりの表示細胞型（ＬＥＣ、ＣＤ４Ｔ細胞又はＣＤ８Ｔ細胞）の定量を示す。

【図２３Ｄ－２３Ｅ】同上。

【図２４Ａ－２４Ｃ】ＣＨＯ　ＭａＫｏ細胞で産生されたＶＥＧＦ－Ｃ＃８が機能的であることを確認する。図２４Ａでは、ＨＤＬＥＣインビトロ発芽アッセイは、ＨＥＫ２９３Ｔ細胞で産生された＃８と比較して、ＣＨＯ細胞で産生されたＶＥＧＦ－Ｃタンパク質＃８（８ＣＨＯ）の同等の活性を示す。図２４Ｂでは、クリオゲル送達後１４日目の皮膚消化後のＬＥＣを染色することにより、インビボでも同等の生物活性が確認された。図２４Ｃは、ブランククリオゲル又は＃８ＨＥＫ若しくは＃８ＣＨＯ　ＶＥＧＦ－Ｃを負荷したクリオゲルを注射したマウスにおける総ＬＥＣ数／ｍｇ組織としてのリンパ管新生の定量化を示す。ＢＥＣ（ＣＤ４５－ＣＤ３１＋ＰＤＰＮ－）は、ＶＥＧＦ－Ｃ＃８送達により影響されないが、リンパ管新生のピークは、クリオゲル送達後１４日目のクリオゲル上部の皮膚におけるＣＤ４及びＣＤ８Ｔ細胞（ＣＤ４５＋）のピーク免疫浸潤に対応した。ｎ＞９。棒グラフは、平均＋ＳＥＭ、ＣＨＯ対対照、ＨＥＫ対対照又はＣＨＯ対ＨＥＫの間のマンホイットニーノンパラメトリックｔ検定、＊＊＊＊、ｐ＜０．０００１；＊＊、ｐ＜０．０１として表される。

【図２５Ａ－２５Ｂ】ＶＥＧＦ－Ｃが免疫不全ＮＳＧマウスにおいてリンパ管新生誘発も誘導し、マウスＬＥＣがヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を効率的に動員することを実証する。図２５Ａは、ＶＥＧＦ－Ｃ（変異体＃８、Ｃ１３７Ａ変異を有するマイナー成熟型、配列番号７３６）又はブランククリオゲル送達から１４日後のＮＳＧ、Ｃ５７／ＢＬ６マウスにおける皮膚ＬＥＣ及びＢＥＣ染色の代表的なフローサイトメトリープロットを提供する。図２５Ｂは、ＮＳＧマウスにおけるゲル送達及びその後のヒトＰＢＭＣの静脈内注射（１０日目）の実験セットアップを表示する。マウスを安楽死させ、ゲル移植後１７日目に皮膚のリンパ管新生及び免疫浸潤について分析した。図２５Ｃは、ＬＥＣ、総Ｔ細胞（ＣＤ４５＋ＣＤ３＋）ＣＤ８（ＣＤ３＋ＣＤ８＋）及びＣＤ４（ＣＤ３＋ＣＤ４＋）Ｔ細胞サブセット並びにＢ細胞（ＣＤ４５＋ＣＤ１９＋）の総数／ｍｇとして表される定量を示す。これらのデータは、Ｔ細胞がＮＳＧマウスで動員されるＰＢＭＣの主要な細胞型であることを実証するものである。

【図２５Ｃ】同上。

【図２６Ａ】メソポーラスシリカ粒子（ＭＳＰ）に結合したウイルス粒子、例えば均質化メソポーラスシリカロッド（ＭＳＲ）、ＭＳＰ結合ＳＴＡＲＴＥＲＳとの組み合わせ（例えば、均質化ＭＳＲ結合ＳＴＡＲＴＥＲＳ）（図２６Ａ）又はＭＳＰ結合ＳＴＡＲＴＥＲＳと組み合わせた遊離ウイルス（例えば、均質化ＭＳＲ結合ＳＴＡＲＴＥＲＳ）（図２６Ｂ）の注射後、教育及び形質導入されるＴ細胞の二次プライミング部位を生成するマウス皮膚におけるＶＥＧＦ－Ｃ送達の概略図を提供する。

【図２６Ｂ】同上。

【図２７Ａ－２７Ｂ】ＣＤ１９ＣＡＲコード化レンチウイルスを用いて、ＭＳＰ、特に均質化ＭＳＲの負荷容量の特性決定を提供する。トリメチルアンモニウムＭＳＲを、細胞ベース形質導入アッセイにより決定される機能力価に応じた様々な量でＧＦＰ発現レンチウイルスと一緒に共インキュベートした。ウイルス負荷溶液（ＭＳＲに添加された初期投入量）、ＭＳＲ結合ウイルス（インキュベーション及び洗浄後にＭＳＲに結合したままの量）及び非結合ウイルス（ＭＳＲとウイルスの共インキュベーション後に溶液中に残留する量）の３つの画分中のウイルス量を特性決定した。ＭＳＲとウイルスを氷上で３０分間共インキュベートし、上清を除去し（非結合ウイルス）、ＭＳＲを２回洗浄した後、ＭＳＲ

結合ウイルスを評価した。各条件からの手つかずのウイルス負荷溶液も分析した。図２７Ａにおいて、結果は、投入されたウイルス負荷溶液中のウイルスの大部分が吸着及び洗浄後のＭＳＲ結合ウイルス画分中に保持されていることを示す。ＭＳＲに吸着したウイルスの量は、ウイルス負荷溶液中のウイルスの量と共に増加する。図２７Ａは、ウイルス負荷溶液に対してＭＳＲ結合ウイルスの計算された割合が、吸着及び洗浄後のＭＳＲへの負荷及び保持の高い効率を有することを示す。

【図２８】ＭＳＰ、特に均質化ＭＳＲ上のウイルスの保持の特性決定を提供する。レンチウイルスとＭＳＲを氷上で３０分間共インキュベートし、ＭＳＲを２回洗浄した。次に、１０％ＦＣＳ又はＯｐＴｍｉｚｅｒ無血清培地を含むＲ１０培地中でＭＳＲを培養し、投入ウイルスストックも培地中で同様にインキュベートした。インキュベーション開始後の表示時間に上清を除去し、総ウイルス含量を分析した。結果は、ＭＳＲが最初の１８時間にわたって入力ウイルスのごく一部のみを放出することを示している。

【図２９Ａ－２９Ｃ】ＣＤ１９　ＣＡＲコード化（ＣＡＲ１９）ウイルスに結合したＭＳＰ、特に均質化ＭＳＲを用いたＣＡＲ－Ｔ細胞の機能的生成を示す。ＣＡＲ　Ｔは、遊離レンチウイルス（ＣＡＲ－遊離）又はトリメチルアンモニウムＭＳＲに結合したレンチウイルス（ＣＡＲ－ＭＳＲ）のいずれかを用いて作製した。ＣＡＲ－遊離形質導入に用いたＭＯＩ及びＣＡＲ－ＭＳＲ条件でのＭＳＲへの吸着に用いた全ウイルスのＭＯＩを表示する。これらのＭＯＩは、２つの条件間で同様の形質導入効率を有するＣＡＲ　Ｔを産生するように選択された。ＭＳＲは、吸着工程後に洗浄されたため、ＭＳＲ条件下でのＴ細胞の形質導入におけるウイルスの総量は、表示されたものより低いＭＯＩで起こり得る。１ｍｇのＭＳＲ当たり４．３ｅ６ＴＵ／ウイルスをＭＳＲとウイルスの共インキュベーションに使用した後、洗浄し、Ｔ細胞を播種した。構築物４（表２０、図３８Ａ～３８Ｂ）及び表示のウイルス調製物でＴ細胞を１日処理した後、洗浄及び培養を更に３日間実施した。図２９Ａは、形質導入後４日目に測定されたＣＡＲ＋％を示す。細胞は、形質導入後４日目にＮａｌｍ６－Ｌｕｃ細胞との殺傷アッセイに使用し、全細胞及びＣＡＲ＋細胞について正規化した後、表示のエフェクター：標的（Ｅ：Ｔ比；Ｔ細胞）で共インキュベートした。結果は、図２９Ｂ：特異的殺傷活性及び図２９Ｃ：２４時間の共インキュベーション中のインターフェロン－ガンマ放出がＣＡＲ－ＭＳＲとＣＡＲ－遊離との間で同等であることを示し、これは、ＭＳＲを用いた製剤による形質導入が、従来の遊離ウイルス形質導入と比較して、インビトロで同等に機能的なＣＡＲ　Ｔを産生することを証明している。

【図３０Ａ－３０Ｂ】均質化によるサイズ縮小によってＭＳＲ注入性が向上したことを実証する。ＭＳＲは、ビーズミキサーを用いて均質化することにより、サイズを縮小し、注入性を向上させた。図３０Ａは、ＭＳＲの長さに関してサイズ縮小が認められ、これにより小径の針による皮内空隙への注射が可能となった。図３０Ａでは、標準トリメチルアンモニウムＭＳＲ又は均質化ＭＳＲをレンチウイルスで吸着し、この複合体の希釈系列を作製し、ＧＦＰコード化レンチウイルスでＴ細胞を形質導入するために使用した。ＭＳＲの均質化は、インビトロでの形質導入性能を実質的に改変しなかった。

【図３１Ａ－３１Ｂ】隣接するクリオゲル及びＭＳＰ、特に均質化ＭＳＲを含有する皮膚のヘマトキシリン及びエオシン（Ｈ＆Ｅ）染色切片を示す。ブランクアルギン酸クリオゲルを皮下注射し、７日後、遊離又はＭＳＲに結合したウイルス粒子（４ｅ６　ＴＵ）を、インスリンシリンジ（ＭＳＲウイルス群の場合）又はハミルトン（Ｈａｍｉｌｔｏｎ）シリンジ（遊離ウイルスの場合）を用いてゲル上部の皮内空隙中に注射した。ウイルス送達から７２時間後、マウスを安楽死させ、免疫組織化学分析のために組織（皮膚及び排出リンパ節）を採取した。毛細リンパ管へのＶＥＧＦ－Ｃの送達を促進するために、クリオゲルを筋肉層上部の高位皮下空間中に移植した。Ｈ＆Ｅ染色切片を示す図３１Ａは、皮下組織中の筋肉層に表在する下皮クリオゲルの位置を明らかにした。ＭＳＰ、特に均質化ＭＳＲは、移植されたクリオゲルに隣接する皮膚－皮下接合部に位置する単核細胞と混ざり合った軽度好酸球性粒状体として出現した（図３１Ａ及びクローズアップのための図３１Ｂ）。

【図３２Ａ－３２Ｂ】皮膚の切片上のＣＡＲ　ｍＲＮＡのインサイチュハイブリダイゼー

ションを示す。ＣＡＲ　ｍＲＮＡ転写物を検出するためのインサイチュハイブリダイゼーションは、ＭＳＲ結合ウイルスを注射したマウス（図３２Ａ）では、注入されたＭＳＰ、特に均質化ＭＳＲに対応する領域内で頑健なシグナルを示したのに対して、遊離ウイルス条件下では、ゲルに浸潤する細胞及びゲルに隣接した細胞で拡散シグナルを検出した（図３２Ｂ）。理論に拘束されるものではないが、本出願人は、これらのデータが、Ｔ細胞が皮膚に浸潤している真皮に局在するウイルスをＭＳＰ、特に均質化ＭＳＲが維持し得るという見解を支持すると考える。

【図３３Ａ－３３Ｂ】ＭＳＰウイルス、特に均質化ＭＳＲウイルスを注射したマウスが、遊離ウイルス群と比較して、排出リンパ節中により少ないＣＡＲ　ｍＲＮＡ転写物陽性細胞を有していたことを示す。排出リンパ節（ｄＬＮ）の切片でのＣＡＲ　ｍＲＮＡのインサイチュハイブリダイゼーションである。インサイチュハイブリダイゼーションにより、ＭＳＲ結合ウイルスを注射したマウスのｄＬＮ内で１つのみのＣＡＲ　ｍＲＮＡ転写物陽性細胞を検出した（図３３Ａ）のに対して、遊離ウイルスを注射したマウスは、クリオゲル移植部位からのウイルス又は細胞の局所排出と一致する辺縁洞内で少数のＣＡＲ　ｍＲＮＡ転写物陽性細胞を示した（図３３Ｂ）。

【図３４Ａ－３４Ｃ】インビボでのＣＤ１９＋ＣＡＲ　Ｔ細胞の生成及び脾臓におけるＢ細胞枯渇を示す。図３４Ａは、インビボＣＡＲ　Ｔ製造の実験セットアップのタイムラインを提供する。０日目に、ＶＥＧＦ－Ｃを負荷したアルギン酸クリオゲルをＮＳＧマウスに皮下注射した。１０日目（リンパ管新生のピークが達成されることがわかっている３日前）に、ＰＢＭＣをマウスに静脈内注射し、７日後（１７日目）にＭＳＰウイルス（特に均質化ＭＳＲウイルス）、遊離ウイルス又は対照としてのＰＢＳをＭＳＰ－ＳＴＡＲＴＥＲＳ、特に均質化ＭＳＲ－ＳＴＡＲＴＥＲＳと一緒にそれぞれのグループに注射することにより、可能な限りＴ細胞の活性化を促進すると共に、Ｔ細胞形質導入を有利にする。３５日目にマウスを安楽死させ、脾臓、血液を採取して、ウイルス送達をコードするインビボＣＤ１９ＣＡＲが、ＶＥＧＦ－Ｃ誘導リンパ管新生によって動員されたＴ細胞の形質導入を誘発したかどうかを決定した。図３４Ｂは、遊離ウイルス又はＭＳＰウイルス、特に均質化ＭＳＲウイルスで処置したマウスの脾臓におけるＢ細胞枯渇及びＴ細胞形質導入（ＣＤ１９ＣＡＲ＋細胞）を示す免疫集団の代表的なフローサイトメトリー（ＦＡＣＳ）プロットを提供する。図３４Ｃは、全ての群のマウスの脾臓におけるＢ細胞枯渇及びＣＡＲ－Ｔ細胞の定量である。

【図３５】組成物による非Ｔ細胞の形質導入が最小限であることを実証する。ヒトＣＤ１１ｂ＋単球、マウス単球（ＮＳＧマウスでは非機能性）及び遊離ウイルス若しくはＭＳＰウイルス、特に均質化ＭＳＲウイルス又はＰＢＳ対照で処置したマウスの脾臓の間質細胞の代表的なフローサイトメトリー（ＦＡＣＳ）プロットが提供される。少数のヒト単球細胞がＣＤ１９ＣＡＲに陽性染色を示した。

【図３６Ａ－３６Ｂ】Ｂ細胞枯渇が脾臓及び血液中のＣＡＲ－Ｔ細胞増殖と相関することを示す。図３６Ａでは、ＣＡＲ　Ｔ細胞（総数／ｍｇ組織）を脾臓中のＢ細胞（総数／ｍｇ組織）に対してプロットし、図３６Ｂでは、ＣＡＲ　Ｔ細胞（血液、総細胞数／μｌとして表される）をＢ細胞枯渇（脾臓、総細胞数／ｍｇ組織として表される）に対してプロットした。

【図３７Ａ】二重特異性抗体の例示的なスキームを提供し、単一の二重特異性抗体スキーム（図３７Ａ）、多量体二重特異性抗体スキーム（図３７Ｂ）及び図の説明（図３７Ｃ）を含む。

【図３７Ｂ－３７Ｃ】同上。

【図３８】Ｔ細胞は、移植の部位に動員される。図３８は、ウイルス送達の１８日後にクリオゲル－ＶＥＧＦ－Ｃ移植、更にＭＳＰウイルス及びＭＳＰ－ＳＴＡＲＴＥＲＳを投与されたマウス皮膚に関するＣＤ３のＩＨＣ分析の実験セットアップ（上）及び代表的な画像（下）を示す。

【図３９】ゲルを取り囲む単核細胞中のＣＡＲ　ＩＳＨシグナルである。図３９は、ウイルス送達の１８日後にクリオゲル－ＶＥＧＦ－Ｃ移植、更にＭＳＰウイルス及びＭＳＰ－

ＳＴＡＲＴＥＲＳを投与されたマウス皮膚の細胞のＣＡＲ　ＩＳＨ分析（ＣＤ１９　ＣＡＲ　ＲＮＡ）の代表的な画像を示す。
【図４０】インビボで局所生成されたＣＡＲ－Ｔ細胞は、脾臓に移動し、Ｂ細胞の枯渇と相関する。図４０は、ウイルス送達の１８日後にクリオゲル－ＶＥＧＦ－Ｃ移植、更にＭＳＰウイルス及びＭＳＰ－ＳＴＡＲＴＥＲＳを受けたマウス脾臓の細胞のＣＡＲ　ＩＳＨ分析の代表的な画像である。
【図４１Ａ－４１Ｂ】インビボＣＡＲ－Ｔ細胞の生成は、移植部位及び脾臓内でのＢ細胞の死滅と相関する。ウイルス送達の１８日後にクリオゲル－ＶＥＧＦ－Ｃ移植、更にＭＳＰ－ウイルス及びＭＳＰ－ＳＴＡＲＴＥＲＳを受けたマウスの移植部位における（図４１Ａ、上パネルの蛍光画像及び下パネルの明視野画像）並びに脾臓中の（図４１Ｂ）蛍光標識ＣＤ１９＋Ｂ細胞及びＣＤ３＋Ｔ細胞の代表的画像である。
【図４２Ａ】ＮＳＧマウスにおける循環ヒトＴ細胞の経時的な分析である。図４２Ａは、実験計画及び群を示す。図４２Ｂは、移植マウスの経時的なフローサイトメトリー分析を示すグラフのセットである。フローサイトメトリーデータは、平均±ＳＥＭとして表される。
【図４２Ｂ】同上。
【図４３Ａ】循環中のＢ細胞枯渇は、ＣＡＲ　Ｔ細胞の増殖と相関する。移植マウスの循環中のＣＡＲ　Ｔ細胞（図４３Ａ）及びＢ細胞（図４３Ｂ）の経時的なフローサイトメトリー分析である。フローサイトメトリーデータは、平均±ＳＥＭ（図４３Ａ及び４３Ｂ）又は各マウスについての個別の曲線（図４３Ｂ）として表される。
【図４３Ｂ】同上。
【図４４Ａ－４４Ｂ】循環及び脾臓におけるＣＡＲ　Ｔ細胞増殖とＢ細胞枯渇との強い相関である。異なる条件で処置したマウスの血液中（図４４Ａ）及び脾臓中（図４４Ｂ）のＢ細胞数とＴ細胞数の相関である。細胞数は、フローサイトメトリー分析中に決定された血液の細胞数／ｍｇ組織又は数／μｌを表す。
【図４５Ａ－４５Ｂ】ウイルス送達から１８日後の脾臓におけるＣＡＲ　Ｔ細胞増殖及び対応するＢ細胞枯渇の定量化である。処置マウスの脾臓におけるＣＡＲ　Ｔ（図４５Ａ）及びＢ細胞（図４５Ｂ）数／ｍｇ組織の定量化である。フローサイトメトリーデータは、平均±ＳＥＭとして表される。
【図４６Ａ－４６Ｂ】ウイルス送達から１８日後、ＣＡＲ　Ｔ細胞増殖は、リンパ管新生及び皮膚における局所Ｂ細胞枯渇と相関する。処置マウスの脾臓におけるＣＡＲ　Ｔ（図４６Ａ）及びＢ細胞（図４６Ｂ）数／ｍｇ組織の定量化である。フローサイトメトリーデータは、平均±ＳＥＭとして表される。皮膚におけるＢ細胞数及びＣＡＲ　Ｔ細胞数（図４６Ｃ）並びにＣＡＲ　Ｔ細胞数及びリンパ管内皮細胞（ＬＥＣ）数（図４６Ｄ）の相関プロットである。相関プロットでは、細胞数は、数／ｍｇ組織として表される。
【図４６Ｃ－４６Ｄ】同上。
【図４７】ＭＳＰ用量の関数としてのＧＦＰ導入遺伝子発現である。
【図４８Ａ】抗ＣＤ３抗体に由来する重鎖及び軽鎖を含むＣＤ３抗原結合ドメイン並びに対照構築物１１、１４及び１７を除く全てにおいて、表示のように、抗ＣＤ２８又はＣＤ２抗体に由来する重鎖及び軽鎖をそれぞれ含むＣＤ２８又はＣＤ２抗原結合ドメインを含む１７の異なる多重特異性構築物のスキームを示す。理論に拘束されるものではないが、これらの構築物のいずれか１つ以上は、本明細書に開示されるような細胞活性化剤として使用され得ることが理解される。構築物１は、抗ＣＤ２　Ｆａｂに融合した抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含み、これは、Ｆｃ領域に更に融合している。構築物１は、第１の鎖及び第２の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２　ＶＬ及びＣＬを含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ２　ＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。構築物２は、抗ＣＤ２８　Ｆａｂに融合した抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含み、これは、Ｆｃ領域に更に融合している。構築物２は、第１の鎖及び第２の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２８　ＶＬ及びＣＬを含む。第２の鎖は、Ｎ

末端からＣ末端に、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ２８　ＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。構築物３は、Ｆｃ領域に融合した抗ＣＤ２　Ｆａｂを含み、これは、抗ＣＤ３　ｓｃＦｖに更に融合している。構築物３は、第１の鎖及び第２の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２　ＶＬ及びＣＬを含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２　ＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２、ＣＨ３、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬを含む。構築物４は、Ｆｃ領域に融合した抗ＣＤ２８　Ｆａｂを含み、これは、抗ＣＤ３　ｓｃＦｖに更に融合している。構築物４は、第１の鎖及び第２の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２８　ＶＬ及びＣＬを含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２８　ＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２、ＣＨ３、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬを含む。構築物５は、抗ＣＤ３　ｓｃＦｖに融合した抗ＣＤ２　Ｆａｂを含み、これは、Ｆｃ領域に更に融合している。構築物５は、第１の鎖及び第２の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２　ＶＬ及びＣＬを含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２　ＶＨ、ＣＨ１、（Ｇ４Ｓ）２リンカー（配列番号７６７）、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。構築物６は、抗ＣＤ３　ｓｃＦｖに融合した抗ＣＤ２８　Ｆａｂを含み、これは、Ｆｃ領域に更に融合している。構築物６は、第１の鎖及び第２の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２８　ＶＬ及びＣＬを含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２８　ＶＨ、ＣＨ１、（Ｇ４Ｓ）２リンカー（配列番号７６７）、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。構築物７は、Ｆｃ領域に融合した抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含み、これは、抗ＣＤ２　Ｆａｂに更に融合している。構築物７は、第１の鎖及び第２の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２　ＶＬ及びＣＬを含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）、ＣＨ２、ＣＨ３、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ２　ＶＨ及びＣＨ１を含む。構築物８は、Ｆｃ領域に融合した抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含み、これは、抗ＣＤ２８　Ｆａｂに更に融合している。構築物８は、第１の鎖及び第２の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２８　ＶＬ及びＣＬを含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）、ＣＨ２、ＣＨ３、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ２８　ＶＨ及びＣＨ１を含む。構築物９は、第１のＦｃ領域に融合した抗ＣＤ２　Ｆａｂと、第２のＦｃ領域に融合した抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含む。構築物９は、第１の鎖、第２の鎖及び第３の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２ＶＬ及びＣＬを含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２　ＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。第３の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。構築物１０は、第１のＦｃ領域に融合した抗ＣＤ２８　Ｆａｂと、第２のＦｃ領域に融合した抗ＣＤ３　ｓｃＦｖとを含む。構築物１０は、第１の鎖、第２の鎖及び第３の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２８　ＶＬ及びＣＬを含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２８　ＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。第３の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。構築物１１は、Ｆｃ領域に融合した抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含む。構築物１１は、第１の鎖及び第２の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。構築物１２は、第１のＦｃ領域に融合した抗ＣＤ２　Ｆａｂと、第２

のＦｃ領域に融合した抗ＣＤ３　ｓｃＦｖとを含む。構築物１２は、第１の鎖、第２の鎖及び第３の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２　ＶＬ及びＣＬを含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２　ＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。第３の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）、ＣＨ２、ＣＨ３、（Ｇ４Ｓ）３リンカー（配列番号３０）及びマトリリン１を含む。構築物１３は、第１のＦｃ領域に融合した抗ＣＤ２８　Ｆａｂと、第２のＦｃ領域に融合した抗ＣＤ３　ｓｃＦｖとを含む。構築物１３は、第１の鎖、第２の鎖及び第３の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２８　ＶＬ及びＣＬを含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２８　ＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。第３の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）、ＣＨ２、ＣＨ３、（Ｇ４Ｓ）３リンカー（配列番号３０）及びマトリリン１を含む。構築物１４は、Ｆｃ領域に融合した抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含む。構築物１４は、第１の鎖及び第２の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４、リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）、ＣＨ２、ＣＨ３、（Ｇ４Ｓ）３リンカー（配列番号３０）及びマトリリン１を含む。構築物１５は、第１のＦｃ領域に融合した抗ＣＤ２　Ｆａｂと、第２のＦｃ領域に融合した抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含む。構築物１５は、第１の鎖、第２の鎖及び第３の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２　ＶＬ及びＣＬを含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２　ＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。第３の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）、ＣＨ２、ＣＨ３、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）及び軟骨オリゴマーマトリックスタンパク質のコイルドコイル（ＣＯＭＰｃｃ）ドメインを含む。構築物１６は、第１のＦｃ領域に融合した抗ＣＤ２８　Ｆａｂと、第２のＦｃ領域に融合した抗ＣＤ３　ｓｃＦｖとを含む。構築物１６は、第１の鎖、第２の鎖及び第３の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２８　ＶＬ及びＣＬを含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ２８　ＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。第３の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）、ＣＨ２、ＣＨ３、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）及びＣＯＭＰｃｃを含む。構築物１７は、Ｆｃ領域に融合した抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含む。構築物１７は、第１の鎖及び第２の鎖を含む。第１の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。第２の鎖は、Ｎ末端からＣ末端に、抗ＣＤ３　ＶＨ、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、抗ＣＤ３　ＶＬ、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）、ＣＨ２、ＣＨ３、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）及びＣＯＭＰｃｃを含む。構築物１～構築物１７の例示的な配列を表２０に提供する。追加の配列（例えば、本明細書に開示される抗ＣＤ３バインダー、本明細書に開示される抗ＣＤ２８バインダー、本明細書に開示される抗ＣＤ２バインダー又は本明細書に開示されるＦｃ領域）を使用して、構築物１～構築物１７を生成することができる。

【図４８Ｂ】同上。

【図４９Ａ－４９Ｂ】第２世代ＳＴＡＲＴＥＲＳ分子の結合情報（図４９Ａ）及び立体配置（図４９Ｂ）を示す。「Ｆ５抗－ＣＤ３（２）」は、抗ＣＤ３に基づく抗ＣＤ３バインダー（２）を有するＦ５構築物を指す。

【図５０Ａ－５０Ｂ】第３世代ＳＴＡＲＴＥＲＳ分子のバインダー情報（図５０Ａ）及び立体配置（図５０Ｂ）を示す。

【図５１Ａ－５１Ｃ】実施例Ｊで試験したＳＴＡＲＴＥＲＳ分子の立体配置を示す。図５１Ｂ及び５１Ｃは、ＭＳＰ－レンチウイルス－ＳＴＡＲＴＥＲＳ混合物によって媒介されるＴ細胞の活性化及び形質導入を示す。ＭＳＰ－レンチウイルス－ＳＴＡＲＴＥＲＳ混合物の各希釈液中のＳＴＡＲＴＥＲＳ分子の濃度をｘ軸に示す。両方のＭＳＰバッチから生

成された製剤は、インビトロで同様のＴ細胞活性化（図５１Ｂ）及び形質導入（図５１Ｃ）効率をもたらした。ＭＳＰに結合したＳＴＡＲＴＥＲＳ分子（図５１Ｂ～Ｃの「バッチ１」及び「バッチ２」）を送達すると、ＳＴＡＲＴＥＲＳ分子の可溶性送達（図５１Ｂ～Ｃにおける「ＭＳＰなし」）と比較して、活性化及び形質導入を増強した。図５１Ｂの１日目及び図５１Ｃの４日目は、Ｔ細胞培養の開始（即ち最初に細胞とＭＳＰ－ＳＴＡＲＴＥＲＳ－ウイルスを一緒に混合したとき）後の時間を指す。

【図５２Ａ－５２Ｂ】ＭＳＰ－レンチウイルス－ＳＴＡＲＴＥＲＳ混合物によって媒介されるＴ細胞の活性化及び形質導入を示す。ＧＦＰコード化レンチウイルス及びＳＴＡＲＴＥＲＳ分子をフルサイズ（「ＭＳＰ」）又はサイズ縮小ＭＳＰに負荷した（サイズ縮小は、ＭＳＰのビーズ均質化（ｂｅａｄ　ｈｏｍｏｇｅｎｉｚａｔｉｏｎ）（「ビーズ均質化（Ｂｅａｄ　ｈｏｍｏｇｅｎｉｚｅｄ）」）又は超音波処理（ｓｏｎｉｃａｔｉｏｎ）（「超音波処理（Ｓｏｎｉｃａｔｅｄ）」）を用いて達成された）。ＭＳＰ－レンチウイルス－ＳＴＡＲＴＥＲＳ混合物の各希釈液におけるレンチウイルスとＴ細胞（ＭＯＩ）との比をｘ軸に示す。ＭＳＰのサイズ縮小は、Ｔ細胞の活性化（図５２Ａ）及び形質導入（図５２Ｂ）に関してインビトロ効力にマイナスの影響を及ぼさなかった。ビーズの均質化及び超音波処理の両方は、フルサイズのＭＳＰと同等の結果をもたらした。

【図５３Ａ－５３Ｂ】図５３Ａ及び図５３Ｂは、インビボ試験の計画を示す。図５３Ｃは、注射剤２注射後１８日目におけるマウスの血液中のＣＤ１９ＣＡＲ－Ｔ増殖とＢ細胞枯渇との相関プロットである。図５３Ｄは、ＮＳＧマウスに４日間生着させた後、インビボＣＡＲ　Ｔ生成プロセスが進行中のマウスの初期コホートからの３ｅ５養子移入ＣＡＲ＋Ｔ細胞の１用量で処理したルシフェラーゼ発現ＮＡＬＭ６腫瘍の生物発光測定値を示す。画像は、養子移入から１３日後のものである。マウスを、遊離ウイルス（「遊離ウイルス」）又はＭＳＰ送達ウイルス（「ＭＳＰウイルス」）を用いて製造された３ｅ５　ＣＡＲ－Ｔの１用量で処置した。ＣＡＲ　Ｔのないドナーマウスから移入されたＰＢＭＣで腫瘍を処置した対照群（「ＰＢＭＣ対照」）又は腫瘍が未処置ではなかった対照群（「ＮＡＬＭ６」）も示した。「ａ」で分類されるマウスは、遊離ウイルス群からの１．５ｅ５　ＣＡＲ＋細胞を投与された。「ｂ」で分類されるマウスは、遊離ウイルス群からの２．３ｅ５　ＣＡＲ＋細胞を投与された。図５３Ｅ、図５３Ｆ及び図５３Ｇは、クリオゲル部位への注射剤２の皮内注射の１３日後、循環中の総Ｔ細胞のＣＡＲ　Ｔ％（図５３Ｅ）、循環中のＣＡＲ　Ｔの量（図５３Ｆ）及び循環ＣＤ３＋Ｔ細胞の量（図５３Ｇ）を示すプロットである。図５３Ｈ、図５３Ｉ及び５３Ｊは、ＮＡＬＭ６チャレンジマウスへの循環リンパ球養子移入のために選択されたマウスのプロットであり、注射剤２の皮内注射の１８日後、循環総Ｔ細胞の量（図５３Ｈ）、循環ＣＡＲ　Ｔ細胞の量（図５３Ｉ）及び循環中の総Ｔ細胞のＣＡＲ　Ｔ％（図５３Ｊ）を示す。図５３Ｋ及び図５３Ｌは、養子移入に使用されたマウス及び試験に登録された残りのマウスからの血液の複合フローサイトメトリー分析の結果を示し、注射剤２の皮内注射の１８又は１９日後の循環Ｔ細胞の量（図５３Ｋ）及び循環中のＣＡＲ　Ｔ細胞の量（図５３Ｌ）を示す。

【図５３Ｃ－５３Ｄ】同上。

【図５３Ｅ－５３Ｇ】同上。

【図５３Ｈ－５３Ｊ】同上。

【図５３Ｋ－５３Ｌ】同上。

【図５４Ａ－５４Ｂ】図５４Ａ、図５４Ｂ、図５４Ｃ及び図５４Ｄは、インビトロ放出データを示すグラフである。図５４Ａは、Ｈ２ａヒドロゲル（２００ｋＤａ［ＨＡ－$Ｎ_3$］－２４％；９％架橋）及びＨ４ａヒドロゲル（７００ｋＤａ［ＨＡ－$Ｎ_3$］－１６％；１８％架橋）のデータを示す。図５４Ｂは、Ｈ４ａヒドロゲル（７００ｋＤａ［ＨＡ－$Ｎ_3$］－１６％；１８％架橋；ラポナイトなし）、Ｈ５ａヒドロゲル（７００ｋＤａ［ＨＡ－$Ｎ_3$］－１６％；１８％架橋；０．２５ｍｇ／ｍｌラポナイト）及びＨ６ａヒドロゲル（７００ｋＤａ［ＨＡ－Ｎ３］－１６％；１８％架橋；１ｍｇ／ｍｌラポナイト）のデータを示す。図５４Ｃは、Ｈ５ａヒドロゲル（インサイチュ；０．２５ｍｇ／ｍｌラポナイト）及びＨ５ｂヒドロゲル（粒子；０．２５ｍｇ／ｍｌラポナイト）のデータを示す。図５

４Ｄは、Ｈ６ａヒドロゲル（インサイチュ；１ｍｇ／ｍｌラポナイト）及びＨ６ｂヒドロゲル（粒子；１ｍｇ／ｍｌラポナイト）のデータを示す。
【図５４Ｃ－５４Ｄ】同上。
【図５５Ａ－５５Ｂ】７日目のインビボＰＤ応答を示すグラフである。
【発明を実施するための形態】
【００７６】
定義
特に定義されない限り、本明細書で使用される全ての科学技術用語は、本発明が関係する技術分野の当業者が一般に理解するのと同じ意味を有する。
【００７７】
用語「１つの（ａ）」及び「１つの（ａｎ）」は、その冠詞の文法上の指示対象の１つ又は１つより多い（即ち少なくとも１つ）を指す。例として、「要素」は、１つの要素又は１つより多い要素を意味する。
【００７８】
用語「約」は、量、時間的な継続期間などの計測可能な値を参照するとき、指定される値から±２０％又はいくつかの例では±１０％、又はいくつかの例では±５％、又はいくつかの例では±１％、又はいくつかの例では±０．１％の変動が、かかる変動が本開示の方法の実施に適切であるものとして包含されることを意味する。
【００７９】
本明細書で使用される場合、「細胞動員因子」という用語は、細胞、例えば、免疫細胞を動員することができる薬剤を指す。このような動員因子の非限定的な例として、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＣＣＬ２１、ＩＬ５、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＣＬ１９、ＣＸＣＬ９、ＣＸＣＬ１０、ＸＣＬ１、リンホトキシンアルファ、リンホトキシンベータ及びＶＥＧＦ－Ｃが挙げられる。このような因子は、Ｔ細胞などの免疫細胞を動員することが知られている。特定の細胞型を動員する細胞動員因子の別の非限定的な例として、ＣＣＬ１７、ＣＣＬ２２、ＣＣＬ２０及びＣＣＬ２７などの皮膚ホーミングケモカイン；骨髄系細胞走化性物質、例えば、限定されないが、ＦＬＴ３Ｌ、Ｇ－ＣＳＦ、ＰＤＧＦ、Ｓ１００Ａ８／Ａ９、ＣＳＦ－１、ＣＸＣＬ８、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ１７、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＬ２、ＶＥＧＦ、アンジオポエチン－２、ＣＸＣＬ１２、ＰＧＥ２及びＬＴＢ４；並びにＮＫ固有の動員因子、例えば、限定されないが、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０、ＣＸＣＬ１１、ＣＸＣＬ１２が挙げられる。
【００８０】
本明細書で使用される場合、用語「細胞活性化剤」は、所与の機能を実施するために細胞を活性化することができる薬剤を指し、例えば、Ｔ細胞の場合、内因性若しくは操作された受容体（例えば、ＣＡＲ）又は細胞表面マーカーの結合により、Ｔ細胞を活性化して増殖させ、任意選択により適切なサイトカインを分泌させる。
【００８１】
用語「キメラ抗原受容体」又は代わりに「ＣＡＲ」は、少なくとも、細胞外抗原結合ドメインと、膜貫通ドメインと、以下に定義するとおりの刺激分子に由来する機能性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」とも称される）とを含む組換えポリペプチドコンストラクトを指す。いくつかの実施形態において、ＣＡＲポリペプチドコンストラクトのドメインは、同じポリペプチド鎖にあり、例えばキメラ融合タンパク質を含む。いくつかの実施形態において、ＣＡＲポリペプチドコンストラクトのドメインは、互いに連続しておらず、例えば本明細書に記載されるとおりのＲＣＡＲに提供されるように、例えば異なるポリペプチド鎖にある。
【００８２】
いくつかの態様において、細胞質シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達ドメイン（例えば、ＣＤ３－ゼータの一次シグナル伝達ドメイン）を含む。いくつかの態様において、細胞質シグナル伝達ドメインは、以下に定義するとおりの少なくとも１つの共刺激分子に由来する１つ以上の機能性シグナル伝達ドメインを更に含む。いくつかの態様におい

て、共刺激分子は、４１ＢＢ（即ちＣＤ１３７）、ＣＤ２７、ＩＣＯＳ及び／又はＣＤ２８から選択される。いくつかの態様において、ＣＡＲは、細胞外抗原認識ドメインと、膜貫通ドメインと、刺激分子に由来する機能性シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含むキメラ融合タンパク質を含む。いくつかの態様において、ＣＡＲは、細胞外抗原認識ドメインと、膜貫通ドメインと、共刺激分子に由来する機能性シグナル伝達ドメイン及び刺激分子に由来する機能性シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含むキメラ融合タンパク質を含む。いくつかの態様において、ＣＡＲは、細胞外抗原認識ドメインと、膜貫通ドメインと、１つ以上の共刺激分子に由来する２つの機能性シグナル伝達ドメイン及び刺激分子に由来する機能性シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含むキメラ融合タンパク質を含む。いくつかの態様において、ＣＡＲは、細胞外抗原認識ドメインと、膜貫通ドメインと、１つ以上の共刺激分子に由来する少なくとも２つの機能性シグナル伝達ドメイン及び刺激分子に由来する機能性シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含むキメラ融合タンパク質を含む。いくつかの態様において、ＣＡＲは、ＣＡＲ融合タンパク質のアミノ末端（Ｎ－ｔｅｒ）に任意選択のリーダー配列を含む。いくつかの態様において、ＣＡＲは、細胞外抗原認識ドメインのＮ末端にリーダー配列を更に含み、リーダー配列は、任意選択により、細胞プロセシング及びＣＡＲの細胞膜局在化中に抗原認識ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）から切断される。

【００８３】

特定の腫瘍マーカーＸ（ここで、Ｘは、本明細書に記載されるような腫瘍マーカーであり得る）を標的とする、抗原結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ、単一ドメイン抗体又はＴＣＲ（例えば、ＴＣＲアルファ結合ドメイン又はＴＣＲベータ結合ドメイン））を含むＣＡＲは、ＸＣＡＲとも称される。例えば、ＢＣＭＡを標的とする抗原結合ドメインを含むＣＡＲは、ＢＣＭＡ　ＣＡＲと称される。ＣＡＲは、任意の細胞、例えば本明細書に記載の免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞）で発現させることができる。

【００８４】

用語「シグナル伝達ドメイン」は、二次メッセンジャーを生成するか又はかかるメッセンジャーに応答してエフェクターとして機能することにより定義されたシグナル伝達経路を介して細胞活性を調節するように細胞内で情報を伝えることにより機能するタンパク質の機能性の一部分を指す。

【００８５】

用語「抗体」は、本明細書で使用されるとき、抗原と特異的に結合する免疫グロブリン分子に由来するタンパク質又はポリペプチド配列を指す。抗体は、ポリクローナル又はモノクローナル、多重鎖又は単鎖又はインタクトな免疫グロブリンであり得、且つ天然の供給源又は組換え供給源に由来し得る。抗体は、免疫グロブリン分子の四量体であり得る。

【００８６】

「抗体フラグメント」という用語は、抗原のエピトープと特異的に相互作用する（例えば、結合、立体障害、安定化／不安定化、空間分布による）能力を保持する抗体の少なくとも一部分を指す。抗体フラグメントの例は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖフラグメント、ｓｃＦｖ抗体フラグメント、ジスルフィド結合Ｆｖ（ｓｄＦｖ）、ＶＨ及びＣＨ１ドメインからなるＦｄフラグメント、直線状抗体、ｓｄＡｂなどの単一ドメイン抗体（ＶＬ又はＶＨ）、ラクダ類ＶＨＨドメイン、ヒンジ領域でジスルフィド架橋により結合された２Ｆａｂフラグメントを含む二価フラグメントなどの抗体フラグメントから形成された多特異的抗体及び単離ＣＤＲ又は抗体の他のエピトープ結合フラグメントを含むが、これらに限定されない。抗原結合フラグメントは、シングルドメイン抗体、マキシボディ、ミニボディ、ナノボディ、イントラボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ｖ－ＮＡＲ及びビス－ｓｃＦｖにも取り込まれ得る（例えば、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ　ａｎｄ　Ｈｕｄｓｏｎ，Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　２３：１１２６－１１３６，２００５を参照されたい）。抗原結合フラグメントは、フィブロネクチンＩＩＩ型（Ｆｎ３）などのポリペプチドをベースとする足場にもグラフトされ得る（フィブロ

ネクチンポリペプチドミニボディについて記載している米国特許第６，７０３，１９９号明細書を参照されたい）。

【００８７】

抗体又はその抗体フラグメントを含む本発明のＣＡＲの一部分は、様々な形態で存在し得、抗原結合ドメインは、例えば、シングルドメイン抗体フラグメント（ｓｄＡｂ）、単鎖抗体（ｓｃＦｖ）、ヒト化抗体又は二特異性抗体を含め、連続したポリペプチド鎖の一部として発現する（Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｕｓｉｎｇ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ；Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ；Ｈｏｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９８８，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３；Ｂｉｒｄ ｅｔ ａｌ．，１９８８，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６）。いくつかの態様において、本発明のＣＡＲ組成物の抗原結合ドメインは、抗体フラグメントを含む。更なる態様において、ＣＡＲは、ｓｃＦｖを含む抗体フラグメントを含む。所与のＣＤＲの正確なアミノ酸配列境界は、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．（１９９１），“Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，”５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ（「Ｋａｂａｔ」付番スキーム）、Ａｌ－Ｌａｚｉｋａｎｉ ｅｔ ａｌ．，（１９９７）ＪＭＢ ２７３，９２７－９４８（「Ｃｈｏｔｈｉａ」付番スキーム）又はそれらの組み合わせを含め、いくつもの周知のスキームのいずれかを用いて決定することができる。

【００８８】

本明細書で使用されるとき、用語「結合ドメイン」又は「抗体分子」は、少なくとも１つの免疫グロブリン可変ドメイン配列を含むタンパク質、例えば免疫グロブリン鎖又はそのフラグメントを指す。用語「結合ドメイン」又は「抗体分子」は、抗体及び抗体フラグメントを包含する。いくつかの実施形態において、抗体分子は、多重特異性抗体分子であり、例えば、これは、複数個の免疫グロブリン可変ドメイン配列を含み、ここで、複数個のうちの第１の免疫グロブリン可変ドメイン配列が第１のエピトープに対する結合特異性を有し、複数個のうちの第２の免疫グロブリン可変ドメイン配列が第２のエピトープに対する結合特異性を有する。いくつかの実施形態において、多重特異性抗体分子は、二重特異性抗体分子である。二重特異性抗体は、２つ以下の抗原に対して特異性を有する。二重特異性抗体分子は、第１のエピトープに対して結合特異性を有する第１の免疫グロブリン可変ドメイン配列及び第２のエピトープに対して結合特異性を有する第２の免疫グロブリン可変ドメイン配列によって特徴付けられる。

【００８９】

１つの「二重特異性抗体」及び複数の「二重特異性抗体」という用語は、単一の分子内で２つの抗体の抗原結合部位を結合させる分子を指す。従って、二重特異性抗体は、２つの異なる抗原に同時に又は連続して結合することができる。二重特異性抗体を作製する方法は、当技術分野において公知である。２つの抗体を結合させるための様々なフォーマットも当技術分野で公知である。本発明の二重特異性抗体の形態として、当業者には周知のように、ダイアボディ、一本鎖ダイアボディ、Ｆａｂ二量体化（Ｆａｂ－Ｆａｂ）、Ｆａｂ－ｓｃＦｖ及びタンデム抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【００９０】

用語「抗体重鎖」は、その天然に存在するコンホメーションをとる抗体分子に存在する２種類のポリペプチド鎖の大きい方を指し、通常、これが抗体の属するクラスを決定する。

【００９１】

用語「抗体軽鎖」は、その天然に存在するコンホメーションをとる抗体分子に存在する２種類のポリペプチド鎖の小さい方を指す。カッパ（κ）及びラムダ（λ）軽鎖が２つの

主要な抗体軽鎖アイソタイプを指す。

【００９２】

用語「組換え抗体」は、例えば、バクテリオファージ又は酵母発現システムによって発現される抗体など、組換えＤＮＡ技術を用いて作成される抗体を指す。この用語は、抗体をコードするＤＮＡ分子であって、抗体タンパク質を発現するＤＮＡ分子又はその抗体を指定するアミノ酸配列の合成によって作成された抗体を意味するとも解釈されるべきであり、ＤＮＡ又はアミノ酸配列は、当技術分野において利用可能な周知の組換えＤＮＡ又はアミノ酸配列技術を用いて得られたものである。

【００９３】

用語「抗原」又は「Ａｇ」は、免疫応答を引き起こす分子を指す。この免疫応答には、抗体産生又は特異的免疫適格細胞の活性化のいずれか又は両方が含まれ得る。当業者は、任意の巨大分子が、事実上あらゆるタンパク質又はペプチドを含め、抗原となり得ることを理解するであろう。更に、抗原は、組換えＤＮＡ又はゲノムＤＮＡに由来し得る。当業者は、従って、免疫応答を生じさせるタンパク質をコードするヌクレオチド配列又は部分的ヌクレオチド配列を含む任意のＤＮＡが、その用語が本明細書において使用されるとおりの「抗原」をコードすることを理解するであろう。更に、当業者は、抗原がある遺伝子の完全長ヌクレオチド配列によってのみコードされる必要はないことを理解するであろう。本発明には、限定されないが、２つ以上の遺伝子の部分的ヌクレオチド配列の使用が含まれること及びそれらのヌクレオチド配列が所望の免疫応答を生じさせるポリペプチドをコードするように様々な組み合わせで配列されることが容易に明らかである。更に、当業者は、抗原が「遺伝子」によってコードされる必要は全くないことを理解するであろう。抗原は、合成され得るか、又は生体サンプルから得られ得るか、又はポリペプチド以外の巨大分子である可能性もあることが容易に明らかである。かかる生体サンプルには、限定されないが、組織サンプル、腫瘍サンプル、細胞又は体液が他の生物学的成分と共に含まれ得る。

【００９４】

「多重特異性結合分子」という用語は、少なくとも２つの抗原に特異的に結合し、且つ２つ以上の抗原結合ドメインを含む分子を指す。抗原結合ドメインは、それぞれ独立して、抗体フラグメント（例えば、ｓｃＦｖ、Ｆａｂ、ナノボディ）、リガンド又は非抗体由来バインダー（例えば、フィブロネクチン、Ｆｙｎｏｍｅｒ、ＤＡＲＰｉｎ）であり得る。

【００９５】

多重特異性結合分子、抗体（例えば、二重特異性抗体）又は抗体フラグメントと関連して本明細書で使用される用語「一価」は、多重特異性結合分子、抗体（例えば、二重特異性抗体）又は抗体フラグメントが結合する各抗原に対して単一の抗原結合ドメインが存在する多重特異性結合分子、抗体（例えば、二重特異性抗体）又は抗体フラグメントを指す。

【００９６】

多重特異性結合分子、抗体（例えば、二重特異性抗体）又は抗体フラグメントと関連して本明細書で使用される用語「二価」は、多重特異性結合分子、抗体（例えば、二重特異性抗体）又は抗体フラグメントが結合する各抗原に対して２つの抗原結合ドメインが存在する多重特異性結合分子、抗体（例えば、二重特異性抗体）又は抗体フラグメントを指す。

【００９７】

用語「多量体」は、任意選択により、互いにコンジュゲートされている複数の分子（抗体（例えば、二重特異性抗体）など）の集合体を指す。

【００９８】

用語「抗癌効果」は、限定されないが、例えば腫瘍容積の減少、癌細胞数の減少、転移数の減少、平均余命の増加、癌細胞増殖の減少、癌細胞生存の減少又は癌性病態に関連する様々な生理学的症状の改善を含め、様々な手段によって明らかになり得る生物学的効果

を指す。「抗癌効果」は、そもそも癌の発生を防ぐことにおけるペプチド、ポリヌクレオチド、細胞及び抗体の能力によっても明らかになり得る。用語「抗腫瘍効果」は、限定されないが、例えば腫瘍容積の減少、腫瘍細胞数の減少、腫瘍細胞増殖の減少又は腫瘍細胞生存の減少を含め、様々な手段によって明らかになり得る生物学的効果を指す。

【００９９】

用語「自己」は、同じ個体に由来する任意の材料であって、後にその個体に再導入されることになる材料を指す。

【０１００】

用語「同種異系」は、材料が導入される個体と同じ種の異なる動物に由来する任意の材料を指す。２つ以上の個体は、１つ以上の遺伝子座の遺伝子が同一でないとき、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、同じ種の個体からの同種異系材料は、抗原的に相互作用するのに十分に遺伝的に異なり得る。

【０１０１】

用語「異種」は、異なる種の動物に由来する移植片を指す。

【０１０２】

用語「癌」は、異常細胞の無制御の成長によって特徴付けられる疾患を指す。癌細胞は、局所的に又は血流及びリンパ系を通じて体の他の部位に広がり得る。様々な癌の例が本明細書に記載され、限定されないが、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、子宮頸癌、皮膚癌、膵癌、結腸直腸癌、腎癌、肝癌、脳癌、リンパ腫、白血病、肺癌などが挙げられる。用語「腫瘍」及び「癌」は、本明細書では同義的に使用され、例えば両方の用語とも固形及び液性、例えばびまん性又は循環性腫瘍を包含する。本明細書で使用されるとき、用語「癌」又は「腫瘍」は、前癌性並びに悪性の癌及び腫瘍を含む。

【０１０３】

本明細書に記載される場合、「～にコンジュゲートされている」とは、本明細書に記載されるような任意の手段により、任意選択的に共有結合若しくは非共有結合的に及び／又は直接若しくはリンカーを介して結合されるか又は付着することを意味する。

【０１０４】

「由来する」は、この用語が本明細書で使用されるとき、第１の分子と第２の分子との間の関係を指す。これは、概して、第１の分子と第２の分子との間の構造的類似性に言及するものであり、第２の分子に由来する第１の分子に関する方法又は供給源を限定することを含意又は包含しない。例えば、ＣＤ３ゼータ分子に由来する細胞内シグナル伝達ドメインの場合、細胞内シグナル伝達ドメインは、それが、求められる機能、即ち適切な条件下でシグナルを生成する能力を有するような十分なＣＤ３ゼータ構造を保持している。これは、細胞内シグナル伝達ドメインの特定の作製方法に限定することを含意又は包含せず、例えば細胞内シグナル伝達ドメインを提供するためにＣＤ３ゼータ配列で開始して不要な配列を欠失させるか、又は突然変異を付与して細胞内シグナル伝達ドメインに至らせなければならないことを意味しない。

【０１０５】

「本明細書に記載の腫瘍抗原の発現に関連する疾患」という語句には、限定されないが、例えば癌若しくは悪性腫瘍などの増殖性疾患又は骨髄形成異常、骨髄異形成症候群若しくは前白血病などの前癌病態を含めた、本明細書に記載の腫瘍抗原の発現に関連する疾患又は本明細書に記載の腫瘍抗原を発現する細胞に関連する病状又は本明細書に記載の腫瘍抗原を発現する細胞に関連する非癌関連の適応症が含まれる。いくつかの態様において、本明細書に記載の腫瘍抗原の発現と関連する癌は、血液癌である。いくつかの態様において、本明細書に記載の腫瘍抗原の発現と関連する癌は、固形癌である。本明細書に記載する腫瘍抗原の発現と関連する更なる疾患は、例えば、本明細書に記載する腫瘍抗原の発現と関連する非定型及び／又は非古典的癌、悪性腫瘍、前癌状態又は増殖性疾患を含むが、これらに限定されない。本明細書に記載の腫瘍抗原の発現に伴う非癌関連徴候には、限定されないが、例えば自己免疫疾患（例えば、ループス）、炎症性障害（アレルギー及び喘息）及び移植が含まれる。いくつかの実施形態において、腫瘍抗原発現細胞は、腫瘍抗原

をコードするｍＲＮＡを発現するか、又はいずれかの時点で発現した。いくつかの実施形態において、腫瘍抗原発現細胞は、腫瘍抗原タンパク質（例えば、野生型又は突然変異体）を産生し、腫瘍抗原タンパク質は、正常レベル又は低下したレベルで存在し得る。いくつかの実施形態において、腫瘍抗原発現細胞は、一時的に検出可能なレベルの腫瘍抗原タンパク質を産生したが、続いて検出可能な腫瘍抗原タンパク質を実質的に産生しなくなった。

【０１０６】

「刺激」という用語は、刺激分子（例えば、ＴＣＲ／ＣＤ３複合体又はＣＡＲ）とその同族のリガンド（又はＣＡＲの場合には腫瘍抗原）との結合によって誘導される一次応答を指し、それにより、限定されないが、ＴＣＲ／ＣＤ３複合体を介したシグナル伝達又は適切なＮＫ受容体若しくはＣＡＲのシグナル伝達ドメインを介したシグナル伝達などのシグナル伝達事象を媒介する。刺激は、ある分子の発現変化を媒介することができる。

【０１０７】

「刺激性分子」という用語は、免疫細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞、Ｂ細胞）によって発現され、免疫細胞シグナル伝達経路の少なくともいくつかの態様について、免疫細胞の活性化を刺激的に調節する細胞質シグナル伝達配列を提供する分子を指す。いくつかの態様において、シグナルは、例えば、ＴＣＲ／ＣＤ３複合体とペプチドが負荷されたＭＨＣ分子との結合によって惹起される一次シグナルであり、これは、限定されないが、増殖、活性化、分化などを含めたＴ細胞応答の媒介につながる。刺激的方法で機能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」とも称される）は、免疫受容活性化チロシンモチーフ又は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有用であるＩＴＡＭ含有細胞質シグナル伝達配列の例には、ＣＤ３ゼータ、共通ＦｃＲガンマ（ＦＣＥＲ１Ｇ）、ＦｃガンマＲＩＩａ、ＦｃＲベータ（Ｆｃイプシロン Ｒ１６）、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＤＡＰ１０及びＤＡＰ１２に由来するものが含まれるが、これらに限定されない。本発明の特定のＣＡＲにおいて、本発明の任意の１つ以上のＣＡＲにおける細胞内シグナル伝達ドメインは、細胞内シグナル伝達配列、例えばＣＤ３ゼータの一次シグナル伝達配列を含む。本発明の特定のＣＡＲにおいて、ＣＤ３ゼータの一次シグナル伝達配列は、配列番号１８として提供される配列又は非ヒト種、例えばマウス、齧歯類、サル、類人猿などからの均等な残基である。本発明の具体的なＣＡＲにおいて、ＣＤ３－ゼータの一次シグナル伝達配列は、配列番号２０に提供されるとおりの配列又は非ヒト種、例えばマウス、げっ歯類、サル、類人猿などからの均等な残基である。

【０１０８】

用語「Ｆｃサイレント」は、エフェクター細胞との最小限の相互作用を有するように改変されたＦｃドメインを指す。抑制されたエフェクター機能は、抗体のＦｃ領域における突然変異によって得ることができ、これらは、当技術分野に記載されており、例えば、限定されないが、ＬＡＬＡ及びＮ２９７Ａ（Ｓｔｒｏｈｌ，Ｗ．，２００９ Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．ｖｏｌ．２０（６）：６８５－６９１）；並びにＤ２６５Ａ（Ｂａｕｄｉｎｏ ｅｔ ａｌ．，２００８，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ１８１：６６６４－６９）が挙げられ、Ｈｅｕｓｓｅｒ ｅｔ ａｌ．，国際公開第２０１２０６５９５０号パンフレットも参照されたい。Ｆｃサイレンシング変異の例としては、ＩｇＧ１ Ｆｃアミノ酸配列にＬ２３４Ａ及びＬ２３５Ａ変異を含むＬＡＬＡ変異体、ＤＡＰＡ（Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ）（例えば、米国特許第６，７３７，０５６号明細書を参照）、Ｎ２９７Ａ、ＤＡＮＡＰＡ（Ｄ２６５Ａ、Ｎ２９７Ａ及びＰ３２９Ａ）並びに／又はＬＡＬＡＤＡＮＡＰＳ（Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｄ２６５Ａ、Ｎ２９７Ａ及びＰ３３１Ｓ）が挙げられ、これらは、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされている。更に、サイレンシング変異の非限定的な例示的実施形態としては、ＬＡＬＡＧＡ（Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＧ２３７Ａ）、ＬＡＬＡＳＫＰＡ（Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｓ２６７Ｋ及びＰ３２９Ａ）、ＤＡＰＡＳＫ（Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ及びＳ２６７Ｋ）、ＧＡＤＡＰＡ（Ｇ２３７Ａ、Ｄ２６５Ａ及びＰ３２９Ａ）、ＧＡＤＡＰＡＳＫ（Ｇ２３７Ａ、Ｄ２６５Ａ

、Ｐ３２９Ａ及びＳ２６７Ｋ）、ＬＡＬＡＰＧ（Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＰ３２９Ｇ）及びＬＡＬＡＰＡ（Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＰ３２９Ａ）が挙げられ、これらは、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされている。本明細書において特に指定しない限り、Ｆｃ領域又は定常領域におけるアミノ酸残基の番号付けは、Ｋａｂａｔ，ｅｔａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．（１９９１）に記載されているように、Ｅｕインデックスとも呼ばれるＥｕナンバリングシステムに従う。

【０１０９】

用語「ＣＤ３／ＴＣＲ複合体」は、ＴＣＲアルファ鎖及びＴＣＲベータ鎖を含むＴＣＲ；１つのＣＤ３ガンマ鎖、１つのＣＤ３デルタ鎖及び２つのＣＤ３イプシロン鎖を含むＣＤ３；並びにゼータドメインを含むＴ細胞表面上の複合体を指す。ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ０１８４８（ＴＣＲアルファ、定常ドメイン）、Ｐ０１８５０（ＴＣＲベータ、定常ドメイン１）、Ａ０Ａ５Ｂ９（ＴＣＲベータ、定常ドメイン２）、Ｐ０９６９３（ＣＤ３ガンマ）、Ｐ０４２３４（ＣＤ３デルタ）、Ｐ０７７６６（ＣＤ３イプシロン）は、上記の鎖について例示的なヒト配列を提供するが、細胞内シグナル伝達を担うゼータ鎖は例外であり、これについては以下で更に詳しく論じる。更に関連するアクセッション番号としては、Ａ０Ａ０７５Ｂ６６２（マウスＴＣＲアルファ、定常ドメイン）、Ａ０Ａ０Ａ６ＹＷＶ４及び／又はＡ０Ａ０７５Ｂ５Ｊ３（マウスＴＣＲベータ、定常ドメイン１）、Ａ０Ａ０７５Ｂ５Ｊ４（マウスＴＣＲベータ、定常ドメイン２）、Ｐ１１９４２（マウスＣＤ３ガンマ）、Ｐ０４２３５（マウスＣＤ３デルタ）、Ｐ２２６４６（マウスＣＤ３イプシロン）が挙げられる。

【０１１０】

用語「ＣＤ２８」は、共刺激分子として機能するＴ細胞特異的糖タンパク質ＣＤ２８（Ｔｐ４４とも呼ばれる）並びにそれらの全ての代替名を指す。ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ１０７４７は、例示的なヒトＣＤ２８アミノ酸配列を提供する（ＨＧＮＣ：１６５３、Ｅｎｔｒｅｚ Ｇｅｎｅ：９４０、Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＧ００００００１７８５６２及びＯＭＩＭ：１８６７６０も参照）。別の関連するＣＤ２８配列としては、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ２１０４１（マウスＣＤ２８）がある。

【０１１１】

用語「ＩＣＯＳ」は、共刺激分子として機能する誘導性Ｔ細胞共刺激物質（ＡＩＬＩＭ、ＣＶＩＤ１、ＣＤ２７８とも呼ばれる）並びにそれらの全ての代替名を指す。ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｑ９Ｙ６Ｗ８は、例示的なヒトＩＣＯＳアミノ酸配列を提供する（ＨＧＮＣ：５３５１、Ｅｎｔｒｅｚ Ｇｅｎｅ：２９８５１、Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＧ００００００１６３６００及びＯＭＩＭ：６０４５５８も参照）。別の関連するＩＣＯＳ配列としては、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｑ９ＷＶＳ０（マウスＩＣＯＳ）がある。

【０１１２】

用語「ＣＤ２７」は、共刺激分子として機能するＴ細胞活性化抗原ＣＤ２７、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー７、Ｔ１４、Ｔ細胞活性化抗原Ｓ１５２、Ｔｐ５５並びにそれらの代替名を指す。ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ２６８４２は、例示的なヒトＣＤ２７アミノ酸配列を提供する（ＨＧＮＣ：１１９２２、Ｅｎｔｒｅｚ Ｇｅｎｅ：９３９、Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＧ００００００１３９１９３及びＯＭＩＭ：１８６７１１も参照）。別の関連するＣＤ２７配列としては、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ４１２７２（マウスＣＤ２７）がある。

【０１１３】

用語「ＣＤ２５」は、増殖因子受容体として機能するＩＬ－２サブユニットα、ＴＡＣ抗原、ｐ５５、インスリン依存性真性糖尿病１０、ＩＭＤ２１、Ｐ５５、ＴＣＧＦＲ並びにそれらの代替名を指す。ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ０１５８９は、例示的な

ヒトＣＤ２５アミノ酸配列を提供する（ＨＧＮＣ：６００８、Ｅｎｔｒｅｚ　Ｇｅｎｅ：３５５９、Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＧ００００００１３４４６０及びＯＭＩＭ：１４７７３０も参照）。別の関連するＣＤ２５配列としては、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ０１５９０（マウスＣＤ２５）がある。

【０１１４】

用語「４－１ＢＢ」は、共刺激分子として機能するＣＤ１３７又は腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー９並びにそれらの代替名を指す。ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｑ０７０１１は、例示的なヒト４－１ＢＢアミノ酸配列を提供する（ＨＧＮＣ：１１９２４、Ｅｎｔｒｅｚ　Ｇｅｎｅ：３６０４、Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＧ００００００４９２４９及びＯＭＩＭ：６０２２５０も参照）。別の関連する４－１ＢＢ配列としては、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ２０３３４（マウス４－１ＢＢ）がある。

【０１１５】

用語「ＩＬ６ＲＡ」は、増殖因子受容体として機能するＩＬ－６受容体サブユニットα又はＣＤ１２６並びにそれらの代替名を指す。ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ０８８８７は、例示的なヒトＩＬ６ＲＡアミノ酸配列を提供する（ＨＧＮＣ：６０１９、Ｅｎｔｒｅｚ　Ｇｅｎｅ：３５７０、Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＧ００００００１６０７１２及びＯＭＩＭ：１４７８８０も参照のこと。更に関連するＩＬ６ＲＡ配列としては、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ２２２７２（マウスＩＬ６ＲＡ）がある。

【０１１６】

用語「ＩＬ６ＲＢ」は、増殖因子受容体として機能するＩＬ－６受容体サブユニットベータ又はＣＤ１３０並びにそれらの代替名を指す。ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ４０１８９は、例示的なヒトＩＬ６ＲＢアミノ酸配列を提供する。別の関連するＩＬ６ＲＢ配列としては、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｑ００５６０（マウスＩＬ６ＲＢ）がある。

【０１１７】

用語「ＣＤ２」は、増殖因子受容体として機能するＴ細胞表面抗原Ｔ１１／Ｌｅｕ－５／ＣＤ２、リンパ球機能抗原２、Ｔ１１又は赤血球／ロゼット／ＬＦＡ－３受容体並びにそれらの代替名を指す。ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ０６７２９は、例示的なヒトＣＤ２アミノ酸配列を提供する（ＨＧＮＣ：１６３９、Ｅｎｔｒｅｚ　Ｇｅｎｅ：９１４、Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＧ００００００１１６８２４及びＯＭＩＭ：１８６９９０も参照）。別の関連するＣＤ２配列としては、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ０８９２０（マウスＣＤ２）がある。

【０１１８】

用語「抗原提示細胞」又は「ＡＰＣ」は、その表面上に主要組織適合遺伝子複合体（ＭＨＣ）と複合体化した外来抗原を提示するアクセサリー細胞などの免疫系細胞（例えば、Ｂ細胞、樹状細胞など）を指す。Ｔ細胞は、そのＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を用いてこうした複合体を認識し得る。ＡＰＣは、抗原をプロセシングしてそれをＴ細胞に提示する。

【０１１９】

「細胞内シグナル伝達ドメイン」は、この用語が本明細書で使用されるとき、分子の細胞内部分を指す。細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＡＲ含有細胞、例えばＣＡＲ　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。免疫エフェクター機能（例えば、ＣＡＲ　Ｔ細胞におけるもの）の例には、サイトカインの分泌を含む細胞溶解活性及びヘルパー活性が含まれる。

【０１２０】

いくつかの実施形態において、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み得る。例示的一次細胞内シグナル伝達ドメインには、一次刺激又は抗原依存性刺激に関与する分子に由来するものが含まれる。いくつかの実施形態において、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み得る。例示的共刺激細胞内シグナル伝達ドメインには、共刺激シグナル又は抗原非依存性刺激に関与する分子に由来するものが含まれる。例えば、ＣＡＲ　Ｔの場合、一次細胞内シグナル伝達ドメインがＴ細

胞受容体の細胞質配列を含むことができ、及び共刺激細胞内シグナル伝達ドメインが共受容体又は共刺激分子からの細胞質配列を含むことができる。

【０１２１】

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又はＩＴＡＭとして知られるシグナル伝達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には、限定されないが、ＣＤ３ゼータ、共通ＦｃＲガンマ（ＦＣＥＲ１Ｇ）、ＦｃガンマＲＩＩａ、ＦｃＲベータ（ＦｃイプシロンＲ１ｂ）、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３ベータ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＤＡＰ１０及びＤＡＰ１２に由来するものが含まれる。

【０１２２】

「ゼータ」又は代替的に「ゼータ鎖」、「ＣＤ３ゼータ」若しくは「ＴＣＲゼータ」という用語は、ＣＤ２４７を指す。Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受託番号Ｐ２０９６３は、例示的なヒトＣＤ３ゼータアミノ酸配列を提供する。「ゼータ刺激ドメイン」又は代替的に「ＣＤ３ゼータ刺激ドメイン」若しくは「ＴＣＲゼータ刺激ドメイン」は、ＣＤ３ゼータの刺激ドメイン又はその変異体（例えば、変異、例えば点変異、フラグメント、挿入又は欠失を有する分子）を指す。いくつかの実施形態において、ゼータの細胞質ドメインは、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＢＡＧ３６６６４．１の残基５２～１６４又はその変異体（例えば、変異、例えば点変異、フラグメント、挿入又は欠失を有する分子）を含む。いくつかの実施形態において、「ゼータ刺激ドメイン」又は「ＣＤ３ゼータ刺激ドメイン」は、配列番号９若しくは１０として提供される配列又はその変異体（例えば、変異、例えば点変異、フラグメント、挿入又は欠失を有する分子）を指す。代わりに又は更に、「ゼータ」若しくは代替的に「ゼータ鎖」、「ＣＤ３－ゼータ」（又は「ＣＤ３ゼータ、ＣＤ３　ゼータ若しくはＣＤ３ｚ）又は「ＴＣＲ－ゼータ」という用語は、ＧｅｎＢａｎ受託番号ＢＡＧ３６６６４．１として提供されるタンパク質又は非ヒト種、例えばマウス、げっ歯類、サル、類人猿などからの均等な残基として定義され、「ゼータ刺激ドメイン」若しくは代替的に「ＣＤ３－ゼータ刺激ドメイン」又は「ＴＣＲ－ゼータ刺激ドメイン」は、Ｔ細胞活性化に必要な初期シグナルを機能的に伝達するのに十分なゼータ鎖の細胞質ドメインからのアミノ酸残基又はその機能的誘導体として定義される。いくつかの態様において、ゼータの細胞質ドメインは、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＢＡＧ３６６６４．１の残基５２～１６４又はその機能性オルソログである非ヒト種、例えばマウス、げっ歯類、サル、類人猿などからの均等な残基を含む。いくつかの態様において、「ゼータ刺激ドメイン」又は「ＣＤ３－ゼータ刺激ドメイン」は、配列番号１８として提供される配列である。いくつかの態様において、「ゼータ刺激ドメイン」又は「ＣＤ３－ゼータ刺激ドメイン」は、配列番号２０として提供される配列である。

【０１２３】

用語「共刺激分子」は、共刺激リガンドに特異的に結合して、それにより、限定されないが増殖など、Ｔ細胞による共刺激応答を媒介するＴ細胞上のコグネイト結合パートナーを指す。共刺激分子は、効率的な免疫応答に寄与する、抗原受容体又はそのリガンド以外の細胞表面分子である。共刺激分子には、ＭＨＣクラスＩ分子、ＢＴＬＡ及びＴｏｌｌリガンド受容体並びにＯＸ４０、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）及び４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）が含まれるが、これらに限定されるものではない。そのような共刺激性分子の更なる例は、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＧＩＴＲ、ＢＡＦＦＲ、ＨＶＥＭ（ＬＩＧＨＴＲ）、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０（ＫＬＲＦ１）、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４６、ＣＤ１６０、ＣＤ１９、ＣＤ４、ＣＤ８アルファ、ＣＤ８ベータ、ＩＬ２Ｒベータ、ＩＬ２Ｒガンマ、ＩＬ７Ｒアルファ、ＩＴＧＡ４、ＶＬＡ１、ＣＤ４９ａ、ＩＴＧＡ４、ＩＡ４、ＣＤ４９Ｄ、ＩＴＧＡ６、ＶＬＡ－６、ＣＤ４９ｆ、ＩＴＧＡＤ、ＣＤ１１ｄ、ＩＴＧＡＥ、ＣＤ１０３、ＩＴＧＡＬ、ＣＤ１１ａ、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＡＭ、ＣＤ１１ｂ、ＩＴＧＡＸ、ＣＤ１１ｃ、ＩＴＧＢ１、ＣＤ２９、ＩＴＧＢ２、ＣＤ１８、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＢ７、ＮＫＧ２Ｄ、ＮＫＧ２Ｃ、ＴＮＦＲ２、ＴＲＡＮＣＥ／ＲＡＮＫＬ、ＤＮＡＭ１（ＣＤ２２６

）、ＳＬＡＭＦ４（ＣＤ２４４、２Ｂ４）、ＣＤ８４、ＣＤ９６（Ｔａｃｔｉｌｅ）、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＲＴＡＭ、Ｌｙ９（ＣＤ２２９）、ＣＤ１６０（ＢＹ５５）、ＰＳＧＬ１、ＣＤ１００（ＳＥＭＡ４Ｄ）、ＣＤ６９、ＳＬＡＭＦ６（ＮＴＢ－Ａ、Ｌｙ１０８）、ＳＬＡＭ（ＳＬＡＭＦ１、ＣＤ１５０、ＩＰＯ－３）、ＢＬＡＭＥ（ＳＬＡＭＦ８）、ＳＥＬＰＬＧ（ＣＤ１６２）、ＬＴＢＲ、ＬＡＴ、ＧＡＤＳ、ＳＬＰ－７６、ＰＡＧ／Ｃｂｐ、ＣＤ１９ａ及びＣＤ８３と特異的に結合するリガンドを含む。

【０１２４】

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り得る。共刺激性分子は、以下のタンパク質ファミリーに代表され得る：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。そのような分子の例には、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＩＣＯＳ、ＢＡＦＦＲ、ＨＶＥＭ、ＩＣＡＭ－１、リンパ球機能関連抗原－１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤＳ、ＣＤ７、ＣＤ２８７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、ＮＫＧ２Ｄ、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ４６、ＣＤ１６０、Ｂ７－Ｈ３及びＣＤ８３と特異的に結合するリガンドなどが含まれる。

【０１２５】

細胞内シグナル伝達ドメインは、その由来である分子の細胞内部分全体、又は天然の細胞内シグナル伝達ドメイン全体、又はその機能性フラグメント若しくは誘導体を含み得る。

【０１２６】

「免疫エフェクター細胞」は、この用語が本明細書で使用されるとき、免疫応答、例えば免疫エフェクター応答の促進に関与する細胞を指す。免疫エフェクター細胞の例としては、Ｔ細胞、例えばα／β　Ｔ細胞及びγ／δ　Ｔ細胞、Ｂ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、ナチュラルキラーＴ（ＮＫＴ）細胞、肥満細胞及び骨髄由来食細胞が挙げられる。

【０１２７】

「免疫エフェクター機能又は免疫エフェクター応答」は、この用語が本明細書で使用されるとき、標的細胞の免疫攻撃を亢進させる又は促進する例えば免疫エフェクター細胞の機能又は応答を指す。例えば、免疫エフェクター機能又は応答は、標的細胞の死滅又は成長若しくは増殖阻害を促進するＴ細胞又はＮＫ細胞の特性を指す。Ｔ細胞の場合、一次刺激及び共刺激が免疫エフェクター機能又は応答の例である。

【０１２８】

用語「コードしている」又は「コードする」は、定義付けられたヌクレオチド配列（例えば、ｒＲＮＡ、ｔＲＮＡ及びｍＲＮＡ）又は定義付けられたアミノ酸配列のいずれかを有する生物学的過程における他のポリマー及び巨大分子の合成の鋳型としての役割を果たす、遺伝子、ｃＤＮＡ又はｍＲＮＡなど、ポリヌクレオチド内の特異的ヌクレオチド配列の固有の特性及びそれによってもたらされる生物学的特性を指す。従って、遺伝子、ｃＤＮＡ又はＲＮＡは、その遺伝子に対応するｍＲＮＡの転写及び翻訳によって細胞又は他の生体系のタンパク質が産生される場合にタンパク質をコードする。そのヌクレオチド配列がｍＲＮＡ配列と同一の且つ通常配列表に提供されるものであるコード鎖及び遺伝子又はｃＤＮＡの転写鋳型として使用される非コード鎖の両方は、その遺伝子のｃＤＮＡのタンパク質又は他の産物をコードすると称することができる。

【０１２９】

特記されない限り、「アミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列」は、互いの縮重バージョンであり、同じアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列の全てを含む。タンパク質又はＲＮＡをコードするヌクレオチド配列という語句には、そのタンパク質をコードするヌクレオチド配列が何らかのバージョンで１つ又は複数のイントロンを含み得る限りにおいて、イントロンも含まれ得る。

【０１３０】

用語「有効量」又は「治療有効量」は、本明細書では同義的に使用され、本明細書に記載されるとおりの化合物、製剤、材料又は組成物が特定の生物学的結果を達成するのに有効な量を指す。

【０１３１】

用語「内因性」は、生物、細胞、組織又は系由来の又はその内部で産生される任意の材料を指す。

【０１３２】

用語「外因性」は、生物、細胞、組織又は系の外側から導入されるか又はその外側で産生される任意の材料を指す。

【０１３３】

「発現」という用語は、プロモーターによって駆動される特定のヌクレオチド配列の転写及び／又は翻訳を指す。

【０１３４】

本明細書において使用される場合、「持続放出剤」という用語は、所与の組成物、例えば、ウイルスベクター（例えば、レンチウイルスベクター）及び／又は細胞活性化剤を、同等の即時放出製剤よりも長い期間にわたって放出する薬剤を指す。いくつかの実施形態において、持続放出剤は、注射による投与のために製剤化される。

【０１３５】

用語「トランスファーベクター」は、単離核酸を含む組成物であって、細胞内部への単離核酸の送達に使用し得る組成物を指す。当技術分野では、限定されないが、線状ポリヌクレオチド、イオン性又は両親媒性化合物に関連するポリヌクレオチド、プラスミド及びウイルスを含め、多くのベクターが公知である。従って、用語「トランスファーベクター」には自己複製プラスミド又はウイルスが含まれる。この用語は、例えば、ポリリジン化合物、リポソームなど、細胞への核酸のトランスファーを促進する非プラスミド及び非ウイルス化合物も更に含むものと解釈されなければならない。ウイルストランスファーベクターの例としては、限定されないが、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などが挙げられる。

【０１３６】

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された発現制御配列を含む組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、発現に十分なシス作用エレメントを含み、他の発現用エレメントは、宿主細胞によって供給されるか、又はインビトロ発現系に供給され得る。発現ベクターには、組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、ネイキッド又はリポソームに含まれる）及びウイルス（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、「ウイルスベクター」）を含め、当技術分野において公知のもの全てが含まれる。

【０１３７】

用語「レンチウイルス」は、レトロウイルス科（Ｒｅｔｒｏｖｉｒｉｄａｅ）の属を指す。レンチウイルスは、非分裂細胞を感染させることができる点でレトロウイルスの中でユニークであり、レンチウイルスは、宿主細胞のＤＮＡに多量の遺伝情報を送達することができ、そのため、遺伝子デリバリー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、全てレンチウイルスの例である。

【０１３８】

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）に提供されるとおりの自己不活性化レンチウイルスベクターを含め、レンチウイルスゲノムの少なくとも一部分に由来するベクターを指す。臨床で使用し得るレンチウイルスベクターの他の例としては、限定されないが、例えばＯｘｆｏｒｄ　ＢｉｏＭｅｄｉｃａからのＬＥＮＴＩＶＥＣＴＯＲ（登録商標）遺伝子デリバリー技術、ＬｅｎｔｉｇｅｎからのＬＥＮＴＩＭＡＸ（商標）ベクターシステムなどが挙げられる。非臨床タイプのレンチウイルスベクターも利用可能であり

、当業者に公知であろう。

【０１３９】

用語「相同」又は「同一性」は、２つのポリマー分子間、例えば２つのＤＮＡ分子又は２つのＲＮＡ分子など、２つの核酸分子間又は２つのポリペプチド分子間におけるサブユニット配列同一性を指す。２つの分子の両方におけるサブユニット位置が同じ単量体サブユニットによって占有されるとき、例えば２つのＤＮＡ分子の各々の位置がアデニンによって占有される場合、それらは、その位置で相同又は同一である。２つの配列間の相同性は、一致する位置又は相同な位置の数の直接の関数である。例えば、２つの配列における位置の半分（例えば、１０サブユニット長のポリマーにおける５個の位置）が相同である場合、それらの２つの配列は、５０％相同である。位置の９０％（例えば、１０個中９個）が一致するか又は相同である場合、それらの２つの配列は、９０％相同である。

【０１４０】

「ヒト化」形態の非ヒト（例えば、マウス）抗体は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含むキメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖又はそのフラグメント（抗体のＦｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２又は他の抗原結合部分配列など）である。ほとんどの場合、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（レシピエント抗体又は抗体フラグメント）においてレシピエントの相補決定領域（ＣＤＲ）からの残基が所望の特異性、親和性及び能力を有するマウス、ラット又はウサギなどの非ヒト種（ドナー抗体）のＣＤＲからの残基に置き換えられているものである。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）残基が対応する非ヒト残基に置き換えられる。更に、ヒト化抗体／抗体フラグメントは、レシピエント抗体にも、移入されるＣＤＲ又は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。これらの改変は抗体又は抗体フラグメントの性能を更に精緻化及び最適化し得る。一般に、ヒト化抗体又はその抗体フラグメントは、少なくとも１つ及び典型的には２つの可変ドメインの実質的に全てを含むことになり、ＣＤＲ領域の全て又は実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、且つＦＲ領域の全て又は大部分がヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体又は抗体フラグメントは、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）、典型的にはヒト免疫グロブリンのＦｃの少なくとも一部分も含むことができる。更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。

【０１４１】

「完全にヒト」は、分子全体がヒト起源であるか、又はヒト形態の抗体又は免疫グロブリンと同一のアミノ酸配列からなる抗体又は抗体フラグメントなどの免疫グロブリンを指す。

【０１４２】

用語「単離されている」は、自然状態から改変されているか又は取り出されていることを意味する。例えば、生きている動物に天然に存在する核酸又はペプチドは、「単離されている」のではないが、その自然状態の共存する材料から部分的又は完全に分離された同じ核酸又はペプチドは、「単離されている」。単離核酸又はタンパク質は、実質的に精製された形態で存在することができるか、又は例えば宿主細胞など、非天然環境中に存在することができる。

【０１４３】

「作動可能に連結された」又は「転写制御」という用語は、調節配列と異種核酸配列との間における後者の発現をもたらす機能的な連結を指す。例えば、第１の核酸配列が第２の核酸配列と機能的に関係した状態に置かれているとき、第１の核酸配列は、第２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又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るＤＮＡ配列は、互いに連続し得、例えば２つのタンパク質コード領域をつな

ぎ合わせる必要がある場合、同じリーディングフレーム内にある。

【０１４４】

「核酸」又は「ポリヌクレオチド」という用語は、一本鎖又は二本鎖の形態のデオキシリボ核酸（ＤＮＡ）又はリボ核酸（ＲＮＡ）及びそれらのポリマーを指す。特に限定されない限り、この用語は、参照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方法で代謝される、天然ヌクレオチドの既知の類似体を含有する核酸を包含する。特に明記しない限り、特定の核酸配列は、その保存的に修飾された変異体（例えば、縮重コドン置換）、対立遺伝子、オルソログ、ＳＮＰ及び相補的配列並びに明示的に示された配列も暗黙的に包含する。具体的には、縮重コドン置換は、１つ以上の選択された（又は全ての）コドンの第３位が混合塩基及び／又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））。

【０１４５】

用語「ペプチド」、「ポリペプチド」及び「タンパク質」は、同義的に使用され、ペプチド結合によって共有結合的に連結したアミノ酸残基で構成される化合物を指す。タンパク質又はペプチドは、少なくとも２つのアミノ酸を含有しなければならず、タンパク質の配列又はペプチドの配列を含むことのできるアミノ酸の最大数に制限はない。ポリペプチドは、互いにペプチド結合によってつなぎ合わされた２つ以上のアミノ酸を含む任意のペプチド又はタンパク質を含む。本明細書で使用されるとき、この用語は、当技術分野では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称される短鎖と、当技術分野では概してタンパク質と称される、多数の種類があるより長い鎖との両方を指す。「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、ホモ二量体、ヘテロ二量体、ポリペプチドの変異体、修飾ポリペプチド、誘導体、類似体、融合タンパク質が特に含まれる。ポリペプチドには、天然ペプチド、組換えペプチド又はそれらの組み合わせが含まれる。

【０１４６】

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させるのに必要である、細胞の合成機構又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。

【０１４７】

用語「プロモーター／調節配列」は、そのプロモーター／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な核酸配列を指す。いくつかの例では、この配列は、コアプロモーター配列であり得、他の例では、この配列は、エンハンサー配列及び遺伝子産物の発現に必要な他の調節エレメントも含み得る。プロモーター／調節配列は、例えば、遺伝子産物を組織特異的に発現するものであり得る。

【０１４８】

用語「構成的プロモーター」は、遺伝子産物をコードするか又はそれを指定するポリヌクレオチドと作動可能に連結されているとき、細胞のほとんど又は全ての生理条件下で細胞において遺伝子産物の産生を生じさせるヌクレオチド配列を指す。

【０１４９】

用語「誘導性プロモーター」は、遺伝子産物をコードするか又はそれを指定するポリヌクレオチドと作動可能に連結されているとき、実質的にプロモーターに対応する誘発物質が細胞に存在する場合に限り細胞において遺伝子産物の産生を生じさせるヌクレオチド配列を指す。

【０１５０】

用語「組織特異的プロモーター」は、遺伝子をコードするか又はそれによって指定されるポリヌクレオチドと作動可能に連結されているとき、実質的に細胞がプロモーターに対応する組織型の細胞である場合に限り細胞において遺伝子産物の産生を生じさせるヌクレオチド配列を指す。

【０１５１】
用語「癌関連抗原」又は「腫瘍抗原」は、同義的に、癌細胞の表面上に、完全に又は代わりにフラグメント（例えば、ＭＨＣ／ペプチド）として発現する分子（典型的にはタンパク質、炭水化物又は脂質）であって、癌細胞への薬理学的薬剤の優先的なターゲティングに有用な分子を指す。いくつかの実施形態において、腫瘍抗原は、正常細胞及び癌細胞の両方が発現するマーカー、例えば系列マーカー、例えばＢ細胞上のＣＤ１９である。いくつかの実施形態において、腫瘍抗原は、正常細胞と比較して癌細胞で過剰発現する（例えば、正常細胞と比較して１倍の過剰発現、２倍の過剰発現、３倍の過剰発現又はそれを超える）細胞表面分子である。いくつかの実施形態において、腫瘍抗原は、癌細胞で不適切に合成される細胞表面分子、例えば正常細胞に発現する分子と比較して欠失、付加又は突然変異を含む分子である。いくつかの実施形態において、腫瘍抗原は癌細胞の細胞表面にのみ、完全に又は代わりにフラグメント（例えば、ＭＨＣ／ペプチド）として発現することになり、正常細胞の表面に合成されないか又は発現しない。いくつかの実施形態において、本発明のＣＡＲは、ＭＨＣ提示ペプチドに結合する抗原結合ドメイン（例えば、抗体又は抗体フラグメント）を含むＣＡＲを含む。通常、内因性タンパク質に由来するペプチドは、主要組織適合遺伝子複合体（ＭＨＣ）クラスＩ分子のポケットに嵌まり、ＣＤ８＋　Ｔリンパ球上のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）によって認識される。ＭＨＣクラスＩ複合体は、あらゆる有核細胞によって構成的に発現される。癌では、ウイルス特異的及び／又は腫瘍特異的ペプチド／ＭＨＣ複合体が免疫療法用のユニークなクラスの細胞表面標的となる。ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）－Ａ１又はＨＬＡ－Ａ２のコンテクストでウイルス又は腫瘍抗原由来のペプチドを標的とするＴＣＲ様抗体が記載されている（例えば、Ｓａｓｔｒｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｖｉｒｏｌ．２０１１　８５（５）：１９３５－１９４２；Ｓｅｒｇｅｅｖａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ，２０１１　１１７（１６）：４２６２－４２７２；Ｖｅｒｍａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　２０１０　１８４（４）：２１５６－２１６５；Ｗｉｌｌｅｍｓｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ　２００１　８（２１）：１６０１－１６０８；Ｄａｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉ　Ｔｒａｎｓｌ　Ｍｅｄ　２０１３　５（１７６）：１７６ｒａ３３；Ｔａｓｓｅｖ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ　２０１２　１９（２）：８４－１００を参照されたい）。例えば、ＴＣＲ様抗体は、ヒトｓｃＦｖファージディスプレイライブラリなど、ライブラリのスクリーニングによって同定することができる。

【０１５２】
「腫瘍支持抗原」又は「癌支持抗原」という用語は、互換的に、それ自体癌性ではないが、例えば増殖又は生存、例えば免疫細胞に対する抵抗性を促進することにより、癌細胞を支持する、細胞の表面に発現される分子（典型的には、タンパク質、炭水化物又は脂質）を指す。この型の例示的な細胞は、間質細胞及び骨髄由来サプレッサー細胞（ＭＤＳＣ）を含む。腫瘍支持抗原自体は、抗原が癌細胞を支持する細胞上に存在する限り、腫瘍細胞を支持する役割を果たさなくてもよい。

【０１５３】
本明細書で使用されるとき、「インビトロ転写ＲＮＡ」は、インビトロ合成されたＲＮＡ、好ましくはｍＲＮＡを指す。概して、インビトロ転写ＲＮＡは、インビトロ転写ベクターから作成される。インビトロ転写ベクターは、インビトロ転写ＲＮＡの作成に使用される鋳型を含む。

【０１５４】
本明細書で使用されるとき、「ポリ（Ａ）」は、ポリアデニル化によってｍＲＮＡに付加される一連のアデノシンである。一過性発現用のコンストラクトの好ましい実施形態において、ポリＡは、５０～５０００（配列番号３４）、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又は４００より多い。ポリ（Ａ）配列は、局在性、安定性又は翻訳効率などのｍＲＮＡ機能を調整するために化学的又は酵素的に改変することができる。

【０１５５】

発現、例えばＣＡＲ分子の発現に関して本明細書で使用されるとき、「一過性」は、数時間、数日間又は数週間の期間にわたる組み込まれないトランス遺伝子の発現を指し、この発現期間は、宿主細胞においてゲノムに組み込まれた場合又は安定プラスミドレプリコン中に含まれている場合の遺伝子の発現期間よりも短い。

【０１５６】

本明細書で使用されるとき、用語「処置する」、「処置」及び「処置している」は、１つ以上の療法（例えば、本発明のＣＡＲなどの１つ以上の療法剤）の投与によってもたらされる増殖性障害の進行、重症度及び／又は持続期間の低減又は改善又は増殖性障害の１つ以上の症状（好ましくは１つ以上の認識し得る症状）の改善を指す。具体的な実施形態において、用語「処置する」、「処置」及び「処置している」は、患者には必ずしも認識できない、腫瘍の成長などの増殖性障害の少なくとも１つの計測可能な理学的パラメータの改善を指す。他の実施形態において用語「処置する」、「処置」及び「処置している」は、増殖性障害の進行の物理的な、例えば認識し得る症状の安定化による阻害、生理学的な、例えば理学的パラメータの安定化による阻害のいずれか又は両方を指す。他の実施形態において用語「処置する」、「処置」及び「処置している」は、腫瘍サイズ又は癌性細胞数の低減又は安定化を指す。

【０１５７】

用語「シグナル伝達経路」は、細胞のある部分から細胞の別の部分へのシグナルの伝達において役割を果たす種々のシグナル伝達分子間の生化学的関係を指す。語句「細胞表面受容体」は、シグナルを受け取り、且つ細胞の膜を越えてシグナルを伝える能力を有する分子及び分子複合体を含む。

【０１５８】

用語「対象」は、免疫応答を生じさせ得る、生きている生物（例えば、哺乳類、ヒト）を含むことが意図される。

【０１５９】

用語の「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とは、その天然に存在する状態でそれが通常結び付いている他の細胞型と分離されている細胞も指す。いくつかの例では、実質的に精製された細胞集団とは、均質な細胞集団を指す。他の例では、この用語は、単に、その自然状態でそれが天然に結び付いている細胞から分離されている細胞を指す。いくつかの態様において、これらの細胞は、インビトロで培養される。他の態様において、これら細胞は、インビトロで培養されない。

【０１６０】

用語「療法的」とは、本明細書で使用されるとき、治療を意味する。療法的効果は疾患状態の低減、抑制、寛解又は根絶によって達成される。

【０１６１】

用語「予防」は、本明細書で使用されるとき、疾患又は疾患状態の予防又はそれに対する予防的治療を意味する。

【０１６２】

用語「トランスフェクトされた」、又は「形質転換された」、又は「形質導入された」は、外因性核酸を宿主細胞に移入させるか又は導入するプロセスを指す。「トランスフェクトされた」、又は「形質転換された」、又は「形質導入された」細胞は、外因性核酸をトランスフェクト、形質転換又は形質導入されたものである。細胞には初代対象細胞及びその子孫が含まれる。

【０１６３】

用語「特異的に結合する」は、サンプル中に存在する結合パートナー（例えば、腫瘍抗原）タンパク質を認識し、結合する抗体又はリガンドであって、しかし、サンプル中の他の分子は、実質的に認識又は結合しない、抗体又はリガンドを指す。

【０１６４】

「不応性」は、本明細書で使用されるとき、治療に応答しない疾患、例えば癌を指す。

実施形態において、不応性癌は、治療の開始前又は開始時点で治療に抵抗性であり得る。他の実施形態において、不応性癌は、治療中に抵抗性になり得る。不応性癌は、抵抗性癌とも称される。

【０１６５】

「再発した」は、本明細書で使用されるとき、改善期間後、例えば療法、例えば癌療法の前治療後における疾患（例えば、癌）又は癌などの疾患の徴候及び症状の再来を指す。

【０１６６】

「系」という用語は、例えば、遺伝子編集と関連して本明細書で使用される場合、一緒になって所望の機能を産生するように作用する分子群、例えば１つ以上の分子を指す。

【０１６７】

「遺伝子編集系」は、この用語が本明細書で使用される場合、前記系により標的とされる遺伝子ＤＮＡの部位又はその近辺の１つ以上の核酸の改変、例えば欠失を導き及び実施する系、例えば１つ以上の分子を指す。遺伝子編集系は、当技術分野において公知であり、以下により十分に記載する。

【０１６８】

「ドミナントネガティブ」遺伝子産物又はタンパク質は、遺伝子産物又はタンパク質の機能を妨害するものである。影響を受ける遺伝子産物は、ドミナントネガティブタンパク質と同一であるか又は異なり得る。ドミナントネガティブ遺伝子産物は、切断、点変異を有する全長タンパク質若しくはそのフラグメント又は全長野生型若しくは変異体タンパク質若しくはそのフラグメントと他のタンパク質との融合体を含む多様な形態であり得る。観察される阻害レベルは、非常に低い可能性がある。例えば、これは、効果を見るために、機能的タンパク質又は過程に関与するタンパク質と比較して大過剰のドミナントネガティブタンパク質を必要とし得る。通常の生物学的アッセイ条件下での効果の確認は、困難であり得る。

【０１６９】

「比率」という用語は、集団中の分子の総数に対する特定の分子の割合を指す。例示的な実施形態において、特定の表現型を有するＴ細胞（例えば、ＴＳＣＭ細胞）の割合は、集団におけるＴ細胞の総数に対する、その表現型を有するＴ細胞の数の比率を指す。例示的な実施形態において、特定の表現型を有するＴ細胞（例えば、ＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋細胞）の割合は、集団におけるＴ細胞の総数に対する、その表現型を有するＴ細胞の数の比率を指す。このような比率は、示されている場合、細胞のあるサブセットに対して測定され得ることが理解されるであろう。例えば、ＣＤ４＋ＴＳＣＭ細胞の比率は、ＣＤ４＋Ｔ細胞の総数に対して測定され得る。

【０１７０】

「免疫エフェクター細胞の集団」という用語は、本明細書において使用される場合、少なくとも２つ、例えば２つ以上、例えば１つを超える免疫エフェクター細胞を含む組成物を指し、いかなるレベルの純度も他の細胞型の存在又は非存在を示すものではない。例示的な実施形態において、集団は、他の細胞型を実質的に含まない。別の例示的な実施形態において、集団は、特定の細胞型又は特定の機能若しくは性質を有する少なくとも２つの細胞を含む。

【０１７１】

本明細書で使用される場合、用語「生体材料」は、治療の目的で生体系と相互作用するように操作された物質を指す。「ヒドロゲル」は、水和されて、ゲル形態をとることができる（典型的にはポリマー鎖間の架橋の結果として）、ポリマー鎖のネットワークから構成される物質である。「クリオゲル」は、凍結によって形成されたヒドロゲルの一種である。いくつかの実施形態において、クリオゲルは、部分的に凍結した状態で架橋を生じさせ、その結果、ヒドロゲルネットワークをもたらすことによって形成される。

【０１７２】

「ＴＳＣＭ様細胞」及び「ナイーブＴ細胞」という用語は、互換的に使用され、ＣＤ４５ＲＡ及びＣＤ６２Ｌの表面発現を特徴とする低分化Ｔ細胞状態を指す（例えば、ＣＤ４

５ＲＡ陽性及びＣＤ６２Ｌ陽性（ＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋と記載する場合がある）である）。一般的に、Ｔ細胞分化は、最も「ナイーブ」なものから最も「枯渇した」ものに、T_{SCM}様（例えば、ＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋細胞）＞T_{CM}（例えば、ＣＤ４５ＲＡ－ＣＤ６２Ｌ＋細胞）＞T_{EM}（例えば、ＣＤ４５ＲＡ－ＣＤ６２Ｌ－細胞）＞T_{EFF}と進む。ナイーブＴ細胞は、より枯渇したＴ細胞表現型と比較して例えば自己再生、抗腫瘍有効性、増殖及び／又は生存が増加していることにより特徴付けられ得る。例示的な実施形態において、ナイーブＴ細胞は、ＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋Ｔ細胞を指す。別の例示的な実施形態において、ナイーブＴ細胞は、T_{SCM}細胞、例えばＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋ＣＣＲ７＋ＣＤ２７＋ＣＤ９５＋Ｔ細胞を指す。

【０１７３】

「T_{SCM}」という用語は、その細胞表面にＣＤ４５ＲＡ、ＣＤ６２Ｌ、ＣＣＲ７、ＣＤ２７及びＣＤ９５を発現することを特徴とする、幹細胞記憶表現型を有するＴ細胞を指す（例えば、ＣＤ４５ＲＡ陽性、ＣＤ６２Ｌ陽性、ＣＣＲ７陽性、ＣＤ２７陽性及びＣＤ９５陽性（ＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋ＣＣＲ７＋ＣＤ２７＋ＣＤ９５＋と表記されることもある）である）。T_{SCM}細胞は、ナイーブＴ細胞の一例である。Ｔ細胞は、ＣＤ４＋及び／又はＣＤ８＋Ｔ細胞であり得る。

【０１７４】

本明細書に記載される特定のタンパク質（例えば、ＶＥＧＦ－Ｃ）の場合、命名されるタンパク質は、タンパク質の天然に存在する形態、変異体又は相同体（例えば、天然タンパク質と比較して少なくとも５０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％以内の活性）のいずれかを含む。いくつかの実施形態において、変異体又は相同体は、天然に存在する形態と比較して、配列全体又は配列の一部（例えば、５０、１００、１５０若しくは２００の連続したアミノ酸部分）にわたって少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％のアミノ酸配列同一性を有する。いくつかの実施形態において、タンパク質は、そのＮＣＢＩ配列参照（例えば、ＮＰ＿００５４２０．１）によって同定されるタンパク質である。いくつかの実施形態において、タンパク質は、そのＮＣＢＩ配列参照によって同定されるタンパク質、その相同体又は機能的断片である。

【０１７５】

本明細書で使用される場合、「アルキル」という用語は、１～２０個の炭素原子を含む、完全に飽和した分岐又は非分岐（又は直鎖若しくは線状）炭化水素部分を指す。好ましくは、アルキルは、１～６個の炭素原子、より好ましくは１～４個の炭素原子を含む。アルキルの代表的な例には、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、ｓｅｃ－ブチル、イソブチル、ｖｅｒｔ－ブチル、ｎ－ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ｎ－ヘキシル、３－メチルヘキシル、２，２－ジメチルペンチル、２，３－ジメチルペンチル、ｎ－ヘプチルが含まれる。例えば、「$C_{1\sim6}$アルキル」という用語は、１～６個の炭素原子を有する炭化水素を指し、「$C_{1\sim7}$アルキル」という用語は、１～７個の炭素原子を有する炭化水素を指す。

【０１７６】

本明細書で使用される場合、「ハロアルキル」という用語は、本明細書で定義される１つ以上のハロ基によって置換される、本明細書で定義されるアルキルを指す。好ましくは、ハロアルキルは、モノハロアルキル、ジハロアルキル又はパーハロアルキルを含むポリハロアルキルであり得る。モノハロアルキルは、アルキル基内に１つのヨード、ブロモ、クロロ又はフルオロを有し得る。ジハロアルキル基及びポリハロアルキル基は、２つ以上の同じハロ原子又はアルキル内の異なるハロ基の組み合わせを有し得る。好ましくは、ポリハロアルキルは、最大１２個、又は１０個、又は８つ、又は６つ、又は４つ、又は３つ、又は２つのハロ基を含有する。ハロアルキルの代表的な例は、フルオロメチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメチル、クロロメチル、ジクロロメチル、トリクロロメチル、ペンタフルオロエチル、ヘプタフルオロプロピル、ジフルオロクロロメチル、ジクロロフルオロメチル、ジフルオロエチル、ジフルオロプロピル、ジクロロエチル及びジクロロプ

ロピルである。パーハロアルキルは、全ての水素原子がハロ原子で置き換えられたアルキルを指す。例えば、「ハロ－Ｃ$_{1～6}$アルキル」という用語は、１～６個の炭素原子を有し、１つ以上のハロ基で置換されている炭化水素を指し、「ハロ－Ｃ$_{1～7}$アルキル」という用語は、１～７個の炭素原子を有し、１つ以上のハロ基で置換されている炭化水素を指す。

【０１７７】

本明細書で使用される場合、「塩」には、無機酸及び有機酸で形成することができる薬学的に許容される酸付加塩、例えば酢酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベシル酸塩、臭化物／臭化水素酸塩、重炭酸塩／炭酸塩、重硫酸塩／硫酸塩、カンファースルホン酸塩、塩化物／塩酸塩、クロルテオフィロネート、クエン酸塩、エタンジスルホン酸塩、フマル酸塩、グルセプト酸塩、グルコン酸塩、グルクロン酸塩、馬尿酸塩、ヨウ化水素酸塩／ヨウ化物塩、イセチオン酸塩、乳酸塩、ラクトビオン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、マンデル酸塩、メシル酸塩、メチル硫酸塩、ナフト酸塩、ナプシル酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オクタデカン酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、リン酸塩／リン酸水素塩／リン酸二水素塩、ポリガラクツロン酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、スルホサリチル酸塩、酒石酸塩、トシル化物塩及びトリフルオロ酢酸塩が含まれる。

【０１７８】

塩を誘導することができる無機酸には、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などが含まれる。塩を誘導することができる有機酸には、例えば、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、シュウ酸、マレイン酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、トルエンスルホン酸、スルホサリチル酸などが含まれる。薬学的に許容される塩基付加塩は、無機及び有機塩基で形成することができる。

【０１７９】

塩を誘導することができる無機塩基には、例えば、アンモニウム塩及び周期表の列ＩからＸＩＩまでの金属が含まれる。特定の実施形態において、塩は、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、マグネシウム、鉄、銀、亜鉛及び銅に由来し、特に適切な塩には、アンモニウム、カリウム、ナトリウム、カルシウム及びマグネシウム塩が含まれる。

【０１８０】

塩を誘導することができる有機塩基には、例えば、一級、二級及び三級アミン、天然に存在する置換アミンを含む置換アミン、環状アミン、塩基性イオン交換樹脂などが含まれる。特定の有機アミンには、イソプロピルアミン、ベンザチン、コリネート、ジエタノールアミン、ジエチルアミン、リジン、メグルミン、ピペラジン及びトロメタミンが含まれる。

【０１８１】

範囲：本開示全体を通じて、本発明の様々な態様が範囲の形式で提示され得る。範囲の形式での記載は、単に便宜上及び簡潔にするためのものであり、本発明の範囲に対する確固たる限定と解釈されてはならないことが理解されるべきである。従って、範囲の記載は、具体的に開示される全ての可能な部分範囲並びにその範囲内にある個々の数値を有すると考えられなければならない。例えば、１～６などの範囲の記載は、１～３、１～４、１～５、２～４、２～６、３～６などの具体的に開示される部分範囲並びにその範囲内にある個々の数値、例えば１、２、２．７、３、４、５、５．３及び６を有すると考えられなければならない。別の例として、９５～９９％の同一性などの範囲は、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％の同一性を有するものを含み、且つ９６～９９％、９６～９８％、９６～９７％、９７～９９％、９７～９８％及び９８～９９％の同一性などの部分範囲を含む。これは、範囲の幅に関わらず適用される。

【０１８２】

用語「Ｂ細胞抗原」又は「Ｂ細胞抗原」は互換的に使用され、それに結合する薬剤で標

的とすることができるＢ細胞の表面に優先的若しくは特異的に発現される分子（典型的にはタンパク質、炭水化物又は脂質）を指す。特定の目的のＢ細胞抗原は、哺乳動物の他の非Ｂ細胞組織と比較してＢ細胞で優先的に発現される。Ｂ細胞抗原は、１つの特定のＢ細胞集団、例えば、Ｂ細胞前駆体若しくは成熟Ｂ細胞又は２つ以上の特定のＢ細胞集団、例えば、前駆体Ｂ細胞と成熟Ｂ細胞の両方に発現され得る。例示的なＢ細胞表面マーカーとしては、ＣＤ５、ＣＤ１０、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２１、ＣＤ２２、ＣＤ２３、ＣＤ２４、ＣＤ２５、ＣＤ２７、ＣＤ３０、ＣＤ３４、ＣＤ３７、ＣＤ３８、ＣＤ４０、ＣＤ５３、ＣＤ６９、ＣＤ７２、ＣＤ７３、ＣＤ７４、ＣＤ７５、ＣＤ７７、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ８０、ＣＤ８１、ＣＤ８２、ＣＤ８３、ＣＤ８４、ＣＤ８５、ＣＤ８６、ＣＤ１２３、ＣＤ１３５、ＣＤ１３８、ＣＤ１７９、ＣＤ２６９、Ｆｌｔ３、ＲＯＲ１、ＢＣＭＡ、ＦｃＲｎ５、ＦｃＲｎ２、ＣＳ－１、ＣＸＣＲ４、５、７、ＩＬ－７／３Ｒ、ＩＬ７／４／３Ｒ及びＩＬ４Ｒが挙げられる。いくつかの実施形態において、Ｂ細胞抗原は、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＦｃＲｎ５、ＦｃＲｎ２、ＢＣＭＡ、ＣＳ－１又はＣＤ１３８である。複数の実施形態では、Ｂ細胞抗原は、ＣＤ１９である。複数の実施形態では、Ｂ細胞抗原は、ＣＤ２０である。複数の実施形態では、Ｂ細胞抗原は、ＣＤ２２である。複数の実施形態では、Ｂ細胞抗原は、ＢＣＭＡである。複数の実施形態では、Ｂ細胞抗原は、ＦｃＲｎ５である。複数の実施形態では、Ｂ細胞抗原は、ＦｃＲｎ２である。複数の実施形態では、Ｂ細胞抗原は、ＣＳ－１である。複数の実施形態では、Ｂ細胞抗原はＣＤ１３８である。

【０１８３】

用語「固形腫瘍抗原」又は「固形腫瘍細胞抗原」は、それに結合する薬剤で標的とすることができる固形腫瘍細胞の表面に優先的又は特異的に発現される分子（典型的にはタンパク質、炭水化物又は脂質）を指す。特定の目的の固形腫瘍抗原は、哺乳動物の他の非腫瘍組織と比較して、固形腫瘍細胞で優先的に発現される。固形腫瘍抗原は、１つの特定の固形腫瘍細胞集団、例えば、中皮腫腫瘍細胞又は２つ以上の特定の固形腫瘍細胞集団、例えば、中皮腫腫瘍細胞と卵巣癌細胞の両方に発現され得る。例示的な固形腫瘍抗原としては、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、メソテリン、ＧＤ２、Ｔｎ　Ａｇ、ＰＳＭＡ、ＴＡＧ７２、ＣＤ４４ｖ６、ＣＥＡ、ＥＰＣＡＭ、ＫＩＴ、ＩＬ－１３Ｒａ２、レグマン、ＧＤ３、ＣＤ１７１、ＩＬ－１１Ｒａ、ＰＳＣＡ、ＭＡＤ－ＣＴ－１、ＭＡＤ－ＣＴ－２、ＶＥＧＦＲ２、ルイスＹ、ＣＤ２４、ＰＤＧＦＲ－ベータ、ＳＳＥＡ－４、葉酸受容体アルファ、ＥＲＢＢ（例えば、ＥＲＢＢ２）、Ｈｅｒ２／ｎｅｕ、ＭＵＣ１、ＥＧＦＲ、ＮＣＡＭ、エフリンＢ２、ＣＡＩＸ、ＬＭＰ２、ｓＬｅ、ＨＭＷＭＡＡ、ｏ－アセチル－ＧＤ２、葉酸受容体ベータ、ＴＥＭ１／ＣＤ２４８、ＴＥＭ７Ｒ、ＦＡＰ、レグマイン、ＨＰＶ　Ｅ６又はＥ７、　ＭＬ－ＩＡＰ、ＣＬＤＮ６、ＴＳＨＲ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＡＬＫ、ポリシアル酸、Ｆｏｓ関連抗原、好中球エラスターゼ、ＴＲＰ－２、ＣＹＰ１Ｂ１、精子タンパク質１７、βヒト絨毛性ゴナドトロピン、ＡＦＰ、サイログロブリン、ＰＬＡＣ１、グロボＨ、ＲＡＧＥ１、ＭＮ－ＣＡ　ＩＸ、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、腸カルボキシルエステラーゼ、ｍｕｔ　ｈｓｐ　７０－２、ＮＡ－１７、ＮＹ－ＢＲ－１、ＵＰＫ２、ＨＡＶＣＲ１、ＡＤＲＢ３、ＰＡＮＸ３、ＧＰＲ２０、Ｌｙ６ｋ、ＯＲ５１Ｅ２、ＴＡＲＰ、ＧＦＲα４及びＭＨＣ上に提示されるこれらの抗原のいずれかのペプチドが挙げられる。いくつかの実施形態では、固形腫瘍抗原は、ＣＬＤＮ６、メソテリン又はＥＧＦＲｖＩＩＩである。

【０１８４】

「骨髄性腫瘍抗原」又は「骨髄性腫瘍細胞抗原」という用語は、それに結合する薬剤で標的とすることができる骨髄性腫瘍細胞の表面に優先的若しくは特異的に発現される分子（典型的にはタンパク質、炭水化物又は脂質）を指す。特定の目的の骨髄性腫瘍抗原は、哺乳動物の他の非腫瘍組織と比較して、骨髄性腫瘍細胞に優先的に発現される。骨髄性腫瘍抗原は、１つの特定の骨髄性腫瘍細胞集団、例えば、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）腫瘍細胞又は２つ以上の特定の骨髄性腫瘍細胞集団に発現され得る。例示的な骨髄性腫瘍抗原としては、ＣＤ３３及びＣＬＬ－１が挙げられる。

【０１８５】
「Ｂ細胞系列のものではない血液腫瘍の抗原」という用語は、Ｂ細胞起源以外の造血又はリンパ組織起源の腫瘍又は癌の表面に優先的若しくは特異的に発現される分子（典型的にはタンパク質、炭水化物又は脂質）を指す。こうしたものとして、骨髄系列起源の腫瘍、例えば、顆粒球、赤血球、血小板、マクロファージ及び／若しくは肥満細胞起源又はそれらの前駆細胞集団のいずれかに由来する腫瘍並びにＢ細胞起源以外のリンパ系起源の腫瘍、例えばＴ細胞、ＮＫ細胞及び／若しくは形質細胞起源又はそれらの前駆細胞集団のいずれかが挙げられる。
【０１８６】
見出し、副見出し又は番号若しくは文字が振られた要素、例えば（ａ）、（ｂ）、（ｉ）等は、単に読み易いように提供される。本明細書で見出し又は番号若しくは文字が振られた要素を使用しても、工程若しくは要素がアルファベット順に実施される必要はなく、又は工程若しくは要素が必ず互いに別個のものである必要はない。
【０１８７】
本明細書において言及される刊行物、特許出願、特許及び他の参考文献の全ては、全体として参照により組み込まれる。
【０１８８】
本発明の他の特徴、目的及び利点は、説明及び図面並びに特許請求の範囲から明らかとなるであろう。
【０１８９】
説明
生体材料及び細胞動員因子を含む第１の組成物並びに／又はウイルスベクター、更に任意選択により粒子、例えばメソポーラスシリカ粒子（ＭＳＰ）及び細胞活性化剤、例えば本明細書に記載の多重特異性結合分子を含む第２の組成物が本明細書で企図される。
【０１９０】
細胞動員因子を含む生体材料と；メソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；ウイルスベクターと；任意選択により細胞活性化剤とを含む組成物及びその使用方法も本明細書で企図される。細胞動員因子と；メソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；ウイルスベクターと；任意選択により細胞活性化剤とを含む組成物及び生体材料及びその使用方法も本明細書で企図される。
【０１９１】
これらの組成物の要素及びその使用方法を本明細書の以下に説明する。理論に拘束されるものではないが、本出願人は、細胞動員因子の使用により、上記組成物を局所、例えば、皮下に送達することができ、細胞が規定の送達部位に動員され、ウイルスベクターによって形質導入され得ると考える。ベクターがＣＡＲをコードする実施形態では、形質導入された細胞は、ＣＡＲを発現することから、疾患、障害又は状態を治療する目的で、特定の抗原を標的とするためにこれらを使用することができる。
【０１９２】
生体材料
いくつかの実施形態において、生体材料は、ヒドロゲルを含み、任意選択によりクリオゲルを含む。いくつかの実施形態では、クリオゲルは、ゼラチン、ヒアルロン酸（ＨＡ）、コラーゲン、アルギン酸塩、ラミニン、キトサン、絹フィブロイン、アガロース、ポリ（エチレングリコール）、ポリビニルアルコール及び／又はヒドロキシエチルメチルアクリレートを含む。いくつかの実施形態では、生体材料は、アルギン酸ヒドロゲル、例えば、アルギン酸クリオゲルを含む。いくつかの実施形態、生体材料は、ヒアルロン酸ヒドロゲル（ＨＡヒドロゲル）を含む。いくつかの実施形態では、生体材料は、ヒアルロン酸クリオゲルを含む。
【０１９３】
いくつかの実施形態において、アルギン酸ヒドロゲル、例えば、アルギン酸クリオゲルは、ノルボルネン及び／又はテトラジンを更に含む。いくつかの実施形態では、ノルボル

ネン及び／又はテトラジンは、アルギン酸塩と共有結合されており、例えば化学的に連結されている。いくつかの実施形態では、ノルボルネン及び／又はテトラジンは、アルギン酸塩と共有結合されており、例えばそれに吸着されている。

【０１９４】

いくつかの実施形態において、クリオゲル、例えば、アルギン酸クリオゲルと、細胞動員因子とを含む組成物は、ラポナイトを更に含む。いくつかの実施形態では、ヒドロゲル、例えば、ＨＡヒドロゲルと、細胞動員因子とを含む組成物は、ラポナイトを更に含む。理論に拘束されることを望まないが、いくつかの実施形態において、ラポナイトの使用は、組成物からの細胞動員因子の緩徐且つ／又は制御された放出を可能にする。いくつかの実施形態において、ラポナイトは、約０．１～約０．５ｍｇ／ｍＬの濃度、例えば、約０．１～０．４ｍｇ／ｍＬ、約０．１～０．３５ｍｇ／ｍＬ、約０．１～０．３ｍｇ／ｍＬ、約０．１～０．２５ｍｇ／ｍＬ、約０．１～０．１５ｍｇ／ｍＬ、約０．１５～０．５ｍｇ／ｍＬ、約０．１５～０．４ｍｇ／ｍＬ、約０．１５～０．３５ｍｇ／ｍＬ、約０．１５～０．３ｍｇ／ｍＬ、約０．１５～０．２５ｍｇ／ｍＬ、約１．５ｍｇ／ｍＬ～０．２ｍｇ／ｍＬ、約０．２～０．５ｍｇ／ｍＬ、約０．２～０．４ｍｇ／ｍＬ、約０．２～０．３５ｍｇ／ｍＬ、約０．２～０．３ｍｇ／ｍＬ、約０．２～０．２５ｍｇ／ｍＬ、約０．２５～０．５ｍｇ／ｍＬ、約０．２５～０．４ｍｇ／ｍＬ、約０．２５～約０．３５ｍｇ／ｍＬ、約０．２５～０．３ｍｇ／ｍＬ、約０．３～０．５ｍｇ／ｍＬ、約０．３５～０．５ｍｇ／ｍＬ、約０．３５～０．４ｍｇ／ｍＬ、約０．４～０．５ｍｇ／ｍＬ、約０．１ｍｇ／ｍＬ、約０．１５ｍｇ／ｍＬ、約０．２ｍｇ／ｍＬ、約０．２５ｍｇ／ｍＬ、０．３ｍｇ／ｍＬ、約０．３５ｍｇ／ｍＬ又は約０．５ｍｇ／ｍＬで存在する。いくつかの実施形態では、ラポナイトは、約０．２５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する。

【０１９５】

いくつかの実施形態において、クリオゲルは、約１０～３００μｍ、例えば約１０～２０μｍ、約１０～３０μｍ、約１０～４０μｍ、約１０～５０μｍ、約１０～１００μｍ、約１０～１５０μｍ、約１０～２００μｍ、約１０～２５０μｍ、約２０～３０μｍ、約２０～４０μｍ、約２０～５０μｍ、約２０～１００μｍ、約２０～１５０μｍ、約２０～２００μｍ、約２０～２５０μｍ、約２０～３００μｍ、約５０～３００μｍ、約５０～１００μｍ、５０～約１５０μｍ、５０～約２００μｍ、５０～約２５０μｍ、１００～約１５０μｍ、１００～約２００μｍ、１００～約２５０μｍ、約１００～３００μｍ、約１５０～２００μｍ、約１５０～２５０μｍ、約１５０～３００μｍ、約２００～２５０μｍ、約２００～３００μｍ又は約２５０～３００μｍの直径の細孔を含む。いくつかの実施形態では、クリオゲルは、細孔を含まない。いくつかの実施形態では、クリオゲルは、実質的に同じサイズの細孔を含む。いくつかの実施形態では、生体材料は、異なるサイズの細孔を含む。いくつかの実施形態では、クリオゲルは化学的に架橋される。

【０１９６】

生体材料の製造方法は、当技術分野において周知である。例えば、Ｋｏｓｈｙ，Ｓ．Ｔ．，Ｚｈａｎｇ，Ｄ．，Ｇｒｏｌｍａｎ，ＪＭ．，Ｓｔａｆｆｏｒｄ，Ａ．Ｇ．，＆Ｍｏｏｎｅｙ，Ｄ．Ｊ．（２０１８）Ｉｎｊｅｃｔａｂｌｅ ｎａｎｏｃｏｍｐｏｓｉｔｅ ｃｒｙｏｇｅｌｓ ｆｏｒ ｖｅｒｓａｔｉｌｅ ｐｒｏｔｅｉｎ ｄｒｕｇ ｄｅｌｉｖｅｒｙ．Ａｃｔａ ｂｉｏｍａｔｅｒｉａｌｉａ，６５，３６－４３（アルギン酸クリオゲルの製造について記載）を参照されたい。更に、生体材料及びその成分は、市販のもの、例えば、Ｐａｒｔｅｋ ＳＬＣ（ＥＭＤ Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅからのシリカ）又はＴｒｕＴａｇシリカ粒子を購入することができる。

【０１９７】

いくつかの実施形態において、クリオゲル、例えば、アルギン酸クリオゲルは、高位皮下空間又は真皮に隣接する皮下空間に投与される。いくつかの実施形態では、ヒドロゲル、例えば、ＨＡヒドロゲルは、高位皮下空間又は真皮に隣接する皮下空間に投与される。

【０１９８】

細胞動員因子

いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、本明細書に記載の組成物又は方法においての使用を目的とする。

【０１９９】

いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、リンパ管新生を誘導する。いくつかの実施形態では、リンパ管新生の誘導は、リンパ管内皮細胞（ＬＥＣ）（例えば、ＣＤ４５－ＣＤ３１＋ＰＤＰＮ＋細胞）のレベル及び／又は活性化の増加を含む。いくつかの実施形態では、ＬＥＣ（例えば、ＣＤ４５－ＣＤ３１＋ＰＤＰＮ＋細胞）のレベルは、少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、１００％又は２００％増加する。

【０２００】

いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、例えば、免疫細胞、任意選択によりＴ細胞及び／又はＮＫ細胞を選択的に動員する。いくつかの実施形態では、細胞動員因子は、細胞（例えば、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞）を直接動員する。いくつかの実施形態では、細胞動員因子は、細胞（例えば、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞）を間接的に動員する。いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、リンパ管新生を誘導し、次にリンパ管新生が、細胞、例えば、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞を動員する。

【０２０１】

いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、（例えば、直接又は間接的に）Ｔ細胞、例えば、ナイーブＴ細胞（例えば、ＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋Ｔ細胞又はＣＤ４５ＲＡ＋ＣＤ６２Ｌ＋ＣＣＲ７＋ＣＤ２７＋ＣＤ９５＋Ｔ細胞）を動員する。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞の動員は、Ｔ細胞のレベルの増加を含む。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞のレベルは、少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、１００％、２００％、２５０％又は３００％増加する。

【０２０２】

いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、ＣＣＬ１９、ＣＸＣＬ９、ＣＸＣＬ１０、ＸＣＬ１、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＣＣＬ２１、ＧＭ－ＣＳＦ、ＣＣＬ１７、ＣＣＬ２２、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ２７、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））、リンホトキシンアルファ、リンホトキシンベータ、ＶＥＧＦ－Ｃ、ＦＬＴ３Ｌ、Ｇ－ＣＳＦ、ＰＤＧＦ、Ｓ１００Ａ８／Ａ９、ＣＳＦ－１、ＣＸＣＬ８、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ１７、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＬ２、ＶＥＧＦ、アンジオポエチン－２、ＰＧＥ２、ＬＴＢ４、ＣＸＣ３Ｌ１、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２１、ＣＸＣＬ１０、ＣＸＣＬ１１及び／又はＣＸＣＬ１２からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、細胞動員因子は、ＶＥＧＦ－Ｃ又はその機能的変異体を含む。

【０２０３】

理論に拘束されることを望まないが、いくつかの実施形態では、本明細書に記載のクリオゲルからの細胞動員因子、例えば、ＶＥＧＦ－Ｃ又はその変異体の放出は、既存の皮膚毛細リンパ管のリンパ管新生を誘導し、リンパ管内皮細胞（ＬＥＣ）を活性化し、次にこれが、ＣＣＬ２１などのケモカインを分泌し、Ｔ細胞、例えばナイーブＴ細胞を、クリオゲルの投与部位、例えば、ゲル上部の真皮における部位に動員する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の細胞動員因子により、リンパ管新生を誘導して、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞を動員する時間は、約５～約２８日、例えば、約５～２１日間、約５～１５日、約５～１４日、約５～１０日、約７～約２８日、約７～約２１日、約７～１５日、約７～１４日、約７～１０日、約１０～２８日、約１０～２１日、約１０～１５日、約１０～１４日、約１４～２８日、約１４～２１日、約１５～２８日、約１５～２１日、約２１～２８日、約７日、約１０日、約１４日、約１５日又は約２０日、約２１日、約２８日を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の細胞動員因子により、リンパ管新生を誘導して、免疫細胞、例えばＴ細胞を動員する時間は、１４日間（例えば、２週間）を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の細胞動員因子により、リンパ管新生を誘導して、免疫細胞、例えばＴ細胞を動員する時間は、２１日（例えば、３週間）を含む。い

くつかの実施形態では、本明細書に記載の細胞動員因子により、リンパ管新生を誘導して、免疫細胞、例えばＴ細胞を動員する時間は、２８日間（例えば、４週間又は１ヶ月）を含む。

【０２０４】

これらの様々な細胞動員因子を生産、製剤化及び／又は調達する方法は、当技術分野において公知である。例えば、以下を参照されたい：Ｌｅｐｐａｅｎｅｎ ＶＭ，Ｐｒｏｔａ ＡＥ，Ｊｅｌｔｓｃｈ Ｍ，ｅｔ ａｌ．Ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｄｅｔｅｒｍｉｎａｎｔｓ ｏｆ ｇｒｏｗｔｈ ｆａｃｔｏｒ ｂｉｎｄｉｎｇ ａｎｄ ｓｐｅｃｉｆｉｃｉｔｙ ｂｙ ＶＥＧＦ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ２．Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ Ｕ Ｓ Ａ．２０１０；１０７（６）：２４２５－２４３０．ｄｏｉ：１０．１０７３／ｐｎａｓ．０９１４３１８１０７；Ｌｅｐｐａｅｎｅｎ ＶＭ，Ｔｖｏｒｏｇｏｖ Ｄ，Ｋｉｓｋｏ Ｋ，ｅｔ ａｌ．Ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ａｎｄ ｍｅｃｈａｎｉｓｔｉｃ ｉｎｓｉｇｈｔｓ ｉｎｔｏ ＶＥＧＦ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ３ ｌｉｇａｎｄ ｂｉｎｄｉｎｇ ａｎｄ ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ．Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ Ｕ Ｓ Ａ．２０１３；１１０（３２）：１２９６０－１２９６５．ｄｏｉ：１０．１０７３／ｐｎａｓ．１３０１４１５１１０；Ｊｏｙｃｅ Ｃｈｉｕ，Ｊａｓｏｎ Ｗ．Ｈ．Ｗｏｎｇ，Ｍｉｃｈａｅｌ Ｇｅｒｏｍｅｔｔａ，ａｎｄ Ｐｈｉｌｉｐ Ｊ．Ｈｏｇｇ．Ｍｅｃｈａｎｉｓｍ ｏｆ Ｄｉｍｅｒｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ ａ Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ Ｍａｔｕｒｅ Ｖａｓｃｕｌａｒ Ｅｎｄｏｔｈｅｌｉａｌ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｃ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２０１３ ５３（１），７－９．ｄｏｉ：１０．１０２１／ｂｉ４０１５１８ｂ；Ｂｒｏｇｇｉ，Ｍ．Ａ．Ｓ．，Ｓｃｈｍａｌｅｒ，Ｍ．Ｌａｇａｒｄｅ，Ｎ．，Ｒｏｓｓｉ，Ｓ．Ｗ．Ｉｓｏｌａｔｉｏｎ ｏｆ Ｍｕｒｉｎｅ Ｌｙｍｐｈ Ｎｏｄｅ Ｓｔｒｏｍａｌ Ｃｅｌｌｓ．Ｊ．Ｖｉｓ．Ｅｘｐ．（９０），ｅ５１８０３，ｄｏｉ：１０．３７９１／５１８０３（２０１４）；Ｆａｎｋｈａｕｓｅｒ，Ｍ．，Ｍ．Ａ．Ｂｒｏｇｇｉ，Ｌ．Ｐｏｔｉｎ，Ｎ．Ｂｏｒｄｒｙ，Ｌ．Ｊｅａｎｂａｒｔ，Ａ．Ｗ．Ｌｕｎｄ，Ｅ．Ｄａ Ｃｏｓｔａ，Ｓ．Ｈａｕｅｒｔ，Ｍ．Ｒｉｎｃｏｎ－Ｒｅｓｔｒｅｐｏ，ａｎｄ Ｃ．Ｔｒｅｍｂｌａｙ．２０１７．Ｔｕｍｏｒ ｌｙｍｐｈａｎｇｉｏｇｅｎｅｓｉｓ ｐｒｏｍｏｔｅｓ Ｔ ｃｅｌｌ ｉｎｆｉｌｔｒａｔｉｏｎ ａｎｄ ｐｏｔｅｎｔｉａｔｅｓ ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ ｉｎ ｍｅｌａｎｏｍａ．Ｓｃｉｅｎｃｅ ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ ｍｅｄｉｃｉｎｅ．９：ｅａａｌ４７１２；米国特許出願第２０１９／００９９４８５Ａ１号：“Ｌｙｍｐｈａｎｇｉｏｇｅｎｅｓｉｓ ｆｏｒ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ｉｍｍｕｎｏｍｏｄｕｌａｔｉｏｎ”（２０１７）；及びＶｏｋａｌｉ Ｅ．，Ｓ．Ｙ．Ｓｈａｎｎ，Ｓ．Ｈｉｒｏｓｕｅ，Ｍ．Ｒｉｎｃｏｎ－Ｒｅｓｔｒｅｐｏ，Ｆ．Ｖ．Ｄｕｒａｅｓ，Ｓ．Ｓｃｈｅｒｅｒ，Ｐ．Ｃｏｒｔｈｅｓｙ－Ｈｅｎｒｉｏｕｄ，Ｗ．Ｗ．Ｋｉｌａｒｓｋｉ，Ａ．Ｍｏｎｄｉｎｏ，ａｎｄ Ｄ．Ｚｅｈｎ．２０２０．Ｌｙｍｐｈａｔｉｃ ｅｎｄｏｔｈｅｌｉａｌ ｃｅｌｌｓ ｐｒｉｍｅ ｎａｉｖｅ ＣＤ８＋ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｉｎｔｏ ｍｅｍｏｒｙ ｃｅｌｌｓ ｕｎｄｅｒ ｓｔｅａｄｙ－ｓｔａｔｅ ｃｏｎｄｉｔｉｏｎｓ．Ｎａｔｕｒｅ ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎｓ．１１：１－１８。

【０２０５】

いくつかの実施形態において、ＶＥＧＦ－Ｃは、未成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチド又は成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、マイナー成熟型又はメジャー成熟型である。いくつかの実施形態において、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、野生型マイナー成熟型又は野生型メジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、修飾マイナー成熟型又は修飾メジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、システイン１３７に変異（例えば、Ｃ１３７Ａ）を含む修飾マイナー成熟型又はシステイン１３７に変異（例えば、Ｃ１３７Ａ）を含む改変メジャー成熟型であり、これは、配列番号７２５に従って番号付けされている。いくつかの実施形態において、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、Ｃ１３７Ａ変異を含む修飾マイナー成熟型又はＣ１３７Ａ変異を含む修飾メ

ジャー成熟型である。いくつかの実施形態では、成熟ＶＥＧＦ－Ｃペプチドは、二量体又は単量体として存在する。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、各単量体中にＣ１３７Ａ変異を更に含むメジャー成熟型の二量体である。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、各単量体中にＣ１３７Ａ変異を更に含むマイナー成熟型の二量体である。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、以下の表１８に提供される配列から選択される。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、表１８に提供される配列又はそれに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列から選択される。いくつかの実施形態において、ＶＥＧＦ－Ｃ配列は、リンカー（例えば、グリシン－セリンリンカー）及び／又はｈｉｓタグを含むか又は含まない。

【０２０６】

いくつかの実施形態において、ＶＥＧＦ－Ｃは、配列番号７３１、７３２、７３３又は７３４のアミノ酸配列又はそれらに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、配列番号７４１のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列を含み、但し、その際、２６位はシステイン（Ｃ）ではなく、例えば、アラニン（Ａ）である。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、配列番号７３７若しくは７３８のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列を含む。

【０２０７】

いくつかの実施形態において、ＶＥＧＦ－Ｃは、配列番号７４３のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ＶＥＧＦ－Ｃは、配列番号７４０のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列を更に含む。

【０２０８】

いくつかの実施形態において、ＶＥＧＦ－Ｃは、配列番号７３６のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃは、配列番号７３５のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２０９】

【表１】

表18 - VEGF-C変異体

以下の配列は、単量体に対応する。二量体が形成される場合、システイン架橋によって同じ配列の2つが互いにアセンブリングされる。実験の目的のためにhisタグが使用されるが、全ての実施形態において必要であるわけではないことに留意されたい。

配列番号	記述子	配列	符号一覧
725	**>sp|P49767|VEGFC_HUMAN 血管内皮増殖因子C OS=ヒト OX=9606 GN=VEGFC PE=1 SV=1**	MHLLGFFSVACSLLAAALLPGPREAPAAAAAFE **SGLDLSDAEPDAGEATAYASKDLEEQLRSVSS** **VDELMTVLYPEYWKMYKCQLRKGGWQHN** **REQANLNSRTEETIKFAA**AHYNTEILKSIDNEW RKTQCMPREVCIDVGKEFGVATNTFFKPPCVSV YRCGGCCNSEGLQCMNTSTSYLSKTLFEITVPLS QGPKPVTISFANHTSCRCMSKLDVYRQVHSIIRR SLPATLPQCQAANKTCPTNYMWNNHICRCLAQ EDFMFSSDAGDDSTDGFHDICGPNKELDEETCQ CVCRAGLRPASCGPHKELDRNSCQCVCKNKLFP SQCGANREFDENTCQCVCKRTCPRNQPLNPGK CACECTESPQKCLLKGKKFHHQTCSCYRRPCTN RQKACEPGFSYSEEVCRCVPSYWKRPQMS	下線：切断された残基 **太字：プロペプチド**

【０２１０】

【表２】

727	**>1未成熟ペプチド (32-227)-VEGFC_His**	FESGLDLSDAEPDAGEATAYASKDLEEQLRSVS SVDELMTVLYPEYWKMYKCQLRKGGWQHNRE QANLNSRTEETIKFAAAHYNTEILKSIDNEWRKT QCMPREVCIDVGKEFGVATNTFFKPPCVSVYRC GGCCNSEGLQCMNTSTSYLSKTLFEITVPLSQGP KPVTISFANHTSCRCMSKLDVYRQVHSIIRRGS**H HHHHH**	下線: プロペプチド 二重下線: GSリンカー **太字**:hisタグ
729	**>1未成熟ペプチド (32-227)-VEGFC**	FESGLDLSDAEPDAGEATAYASKDLEEQLRSVS SVDELMTVLYPEYWKMYKCQLRKGGWQHNRE QANLNSRTEETIKFAAAHYNTEILKSIDNEWRKT QCMPREVCIDVGKEFGVATNTFFKPPCVSVYRC GGCCNSEGLQCMNTSTSYLSKTLFEITVPLSQGP KPVTISFANHTSCRCMSKLDVYRQVHSIIRR	下線: プロペプチド
731	**>2 メジャー成熟 (112-227)-VEGFC_His**	AHYNTEILKSIDNEWRKTQCMPREVCIDVGKEF GVATNTFFKPPCVSVYRCGGCCNSEGLQCMNT STSYLSKTLFEITVPLSQGPKPVTISFANHTSCRC MSKLDVYRQVHSIIRRGS**HHHHHH**	二重下線: GSリンカー **太字**:hisタグ
732	**>2 メジャー成熟 (112-227)-VEGFC**	AHYNTEILKSIDNEWRKTQCMPREVCIDVGKEF GVATNTFFKPPCVSVYRCGGCCNSEGLQCMNT STSYLSKTLFEITVPLSQGPKPVTISFANHTSCRC MSKSKLDVYRQVHSIIRR	
733	**>7マイナー成熟 (103-227)-VEGFC_His**	TEETIKFAAahynteilksidnewrktqcmprevcidvgkefgvat ntffkppcvsvyreggccnseglqcmntstsylsktlfeitvplsqgpkp vtisfanhtscrcmskldvyrqvhsiirrgs**hhhhhh**	大文字: プロペプチドの断片 二重下線: GSリンカー **太字**:hisタグ
734	**>7マイナー成熟 (103-227)-VEGFC**	TEETIKFAAahynteilksidnewrktqcmprevcidvgkefgva tntffkppcvsvyreggccnseglqcmntstsylsktlfeitvplsqgpkp vtisfanhtscrcmskldvyrqvhsiirr	大文字: プロペプチドの断片
735	**>8マイナー成熟 変異あり (103-227)-VEGFC_C137A_His**	TEETIKFAAahynteilksidnewrktqcmprevAidvgkefgva tntffkppcvsvyreggccnseglqcmntstsylsktlfeitvplsqgpkp vtisfanhtscrcmskldvyrqvhsiirrgs**hhhhhh**	大文字: プロペプチドの断片 大文字の**太字**A：Cから Aへの変異 二重下線: GSリンカー **太字**:hisタグ

【０２１１】

【表３】

736	**>8マイナー成熟変異あり (103-227)-VEGFC_C137A**	TEETIKFAAahynteilksidnewrktqcmprevAidvgkefgvatntffkppcvsvyreggccnseglqcmntstsylsktlfeitvplsqgpkpvtisfanhtscrcmskldvyrqvhsiirr	大文字: プロペプチドの断片 大文字の太字A: CからAへの変異
737	**>9メジャー成熟変異あり (112-227)-VEGFC_C137A_His**	ahynteilksidnewrktqcmprevAidvgkefgvatntffkppcvsvyreggccnseglqcmntstsylsktlfeitvplsqgpkpvtisfanhtscrcmskldvyrqvhsiirr**gshhhhhh**	大文字の太字A: CからAへの変異 二重下線: GSリンカー 太字:hisタグ
738	**>9メジャー成熟変異あり (112-227)-VEGFC_C137A**	ahynteilksidnewrktqcmprevAidvgkefgvatntffkppcvsvyreggccnseglqcmntstsylsktlfeitvplsqgpkpvtisfanhtscrcmskldvyrqvhsiirr	大文字の太字A: CからAへの変異
739	**プロペプチド**	FESGLDLSDAEPDAGEATAYASKDLEEQLRSVSSVDELMTVLYPEYWKMYKCQLRKGGWQHNREQANLNSRTEETIKFAA	
740	**プロペプチドの断片**	TEETIKFAA	
741	**VEGF-C コンセンサス**	ahynteilksidnewrktqcmprevXidvgkefgvatntffkppcvsvyreggccnseglqcmntstsylsktlfeitvplsqgpkpvtisfanhtscrcmskldvyrqvhsiirr	Xは、C又はAである
742	**VEGF-C**	ahynteilksidnewrktqcmprevcidvgkefgvatntffkppcvsvyreggccnseglqcmntstsylsktlfeitvplsqgpkpvtisfanhtscrcmskldvyrqvhsiirr	
743	**変異を有するVEGF-C**	ahynteilksidnewrktqcmprevAidvgkefgvatntffkppcvsvyreggccnseglqcmntstsylsktlfeitvplsqgpkpvtisfanhtscrcmskldvyrqvhsiirr	大文字の太字A: CからAへの変異

【０２１２】

いくつかの実施形態において、ＶＥＧＦ－Ｃは、有効量、任意選択により約１ｍｇ以下、約１０ｍｇ以下、約１０μｇ以上、約１μｇ以上、約１μｇ～１ｍｇ、約１０μｇ～１ｍｇ、約１μｇ～１０ｍｇ又は約１０μｇ～１０ｍｇの量で存在する。

【０２１３】

いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞の遊走を誘導、例えば、促進することができる。いくつかの実施形態では、細胞動員因子は、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞の集団拡大又は増殖を増大することができる。いくつかの実施形態では、細胞動員因子は、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））又はその機能的変異体を含む。理論に拘束されることを望まないが、細胞動員因子、例えば、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））又はその変異体をクリオゲルと組み合わせて使用すると、免疫細胞の拡大又は増殖が誘導され、免疫細胞、例えばＴ細胞の局所的な活性化並びにクリオゲルへの遊走の促進及び増強をもたらすと考えられる。

【０２１４】

いくつかの実施形態では、細胞動員因子は、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞、生存を増強する。いくつかの実施形態では、細胞動員因子は、ＩＬ－７又はその機能的変異体を含む。

理論に拘束されることを望まないが、細胞動員因子、例えばＩＬ－７又はその機能的変異体をクリオゲルと組み合わせて使用すると、免疫細胞、例えばＴ細胞の生存及び増殖を増強すると考えられる。

【０２１５】

いくつかの実施形態において、１つ、２つ、３つ若しくはそれを超える細胞動員因子を、本明細書に記載の組成物又は方法で使用すべきである。いくつかの実施形態では、細胞動員因子は、ＶＥＧＦ－Ｃ若しくはその機能的変異体；ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））若しくはその機能的変異体；ＩＬ－７若しくはその機能的変異体；又はそれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態において、細胞動員因子は、ＶＥＧＦ－Ｃ又はその機能的変異体及びＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））又はその機能的変異体を含む。いくつかの実施形態では、細胞動員因子は、ＶＥＧＦ－Ｃ又はその機能的変異体及びＩＬ－７又はその機能的変異体を含む。いくつかの実施形態では、細胞動員因子は、ＶＥＧＦ－Ｃ又はその機能的変異体；ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））又はその機能的変異体；及びＩＬ－７又はその機能的変異体を含む。いくつかの実施形態では、細胞動員因子は、ＩＬ－１５（例えば、ｈｅｔＩＬ－１５（ＩＬ１５／ｓＩＬ－１５Ｒａ））又はその機能的変異体と；ＩＬ－７又はその機能的変異体を含む。

【０２１６】

Ｔ細胞機能を促進するための薬剤

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の組成物又は方法は、免疫細胞、例えばＴ細胞の機能を促進する薬剤を使用する。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞機能を促進するための薬剤は、Ｔ細胞枯渇を低減し、且つ／又はＴ細胞機能障害を予防する。

【０２１７】

いくつかの実施形態において、Ｔ細胞機能を促進する薬剤は、Ｔｅｔ２遺伝子の阻害剤、例えば、Ｔｅｔ２阻害剤を含む。理論に拘束されることを望まないが、Ｔｅｔ遺伝子の単一の対立遺伝子（例えば、Ｔｅｔ１、Ｔｅｔ２又はＴｅｔ３）の破壊は、増殖の増強、エフェクターサイトカイン産生の調節及び脱顆粒に伴って５－ヒドロキシメチルシトシンの総レベルを低下させ、それにより、ＣＡＲ　Ｔ細胞の増殖及び／又は機能を高める。いくつかの実施形態では、Ｔｅｔ２阻害剤は、（１）Ｔｅｔ２をコードする遺伝子内の１つ以上の部位を標的とする遺伝子編集システム又はそれに対応する調節エレメント；（２）Ｔｅｔ２の発現を阻害する核酸（例えば、ｓｉＲＮＡ若しくはｓｈＲＮＡ）；（３）タンパク質（例えば、ドミナントネガティブ、例えば触媒として不活性な）Ｔｅｔ２若しくはＴｅｔ２の結合パートナー（例えば、Ｔｅｔ２のドミナントネガティブ結合パートナー）；（４）Ｔｅｔ２の発現及び／若しくは機能を阻害する小分子；（５）（１）～（３）のいずれかをコードする核酸；又は（６）（１）～（５）の任意の組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞機能を促進するための薬剤は、例えば、国際公開第２０１７／０４９１６６号パンフレット、国際公開２０１８／１７５７３３号パンフレット及び国際公開第２０１９／２１０１５３号パンフレットに記載されるようなＴｅｔ２阻害剤を含み、それらの内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０２１８】

いくつかの実施形態において、Ｔ細胞機能を促進するための薬剤は、ＺＢＴＢ３２の阻害剤、例えば、ＺＢＴＢ３２阻害剤を含む。理論に拘束されることを望まないが、いくつかの実施形態では、ＺＢＴＢ３２の阻害により、Ｔ細胞媒介の抗腫瘍応答を増強することができると考えられる。特定の実施形態では、ＺＢＴＢ３２の阻害は、ＣＡＲ　Ｔ細胞活性、例えば、細胞増殖、サイトカイン産生、持続性、枯渇に対する抵抗性及びインビボでの抗腫瘍活性を増強する。いくつかの実施形態において、ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（１）ＺＢＴＢ３２遺伝子を標的とする遺伝子編集系又はその１つ以上の成分；（２）遺伝子編集系の１つ以上の成分をコードする核酸；又は（３）（１）と（２）との組み合わせを含む。実施形態では、ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（１）ＺＢＴＢ３２遺伝子を標的とする遺伝子編集系又はその１つ以上の成分を含む。実施形態では、ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（２）

遺伝子編集系の１つ以上の成分をコードする核酸を含む。実施形態では、ＺＢＴＢ３２阻害剤は、（１）及び（２）の組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、Ｔ細胞機能を促進するための薬剤は、ＰＣＴ／米国特許出願公開第２０２１／０３７０４８号明細書に記載されているようなＺＢＴＢ３２阻害剤を含み、その内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０２１９】

持続放出剤

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の組成物又は方法は、持続放出剤を使用する。いくつかの実施形態では、持続放出剤を用いて、ウイルスベクター（例えば、レンチウイルスベクター、例えば、ＣＡＲをコードするレンチウイルスベクター）、細胞活性化剤又はウイルスベクターと細胞活性化剤の両方の持続放出を提供することができる。いくつかの実施形態では、持続放出剤は、注射による投与のために製剤化される。いくつかの実施形態では、持続放出剤は、粒子、例えば、シリカ粒子、例えばメソポーラスシリカ粒子を含む。

【０２２０】

表面修飾メソポーラスシリカ粒子

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の組成物又は方法は、メソポーラスシリカ粒子を利用する。メソポーラスシリカ粒子は、例えば、六角形の最密充填された円筒形の均一な細孔を有する多孔質体を含む。メソポーラスシリカ粒子は、界面活性剤のロッド状ミセルをテンプレートとして使用することで合成することができ、これは、アルコキシシラン、ケイ酸ナトリウム溶液、カネマイト、シリカ微粒子などのシリカ源を酸又は塩基性触媒の存在化で水又はアルコールに溶解及び加水分解することにより、水中で形成される。例えば、米国特許出願公開第２０１５－００７２００９号明細書及びＨｏｆｆｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｇｅｗａｎｄｔｅ Ｃｈｅｍｉｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｅｄｉｔｉｏｎ，４５，３２１６－３２５１，２００６を参照されたい。カチオン性、アニオン性及び非イオン性界面活性剤など、多くの種類の界面活性剤が界面活性剤として検討されており、一般にカチオン性界面活性剤のアルキルトリメチルアンモニウム塩が最大の比表面積及び細孔容積を有するメソポーラスシリカをもたらすことが知られている。米国特許出願公開第２０１３／００５２１１７号明細書及びＫａｔｉｙａｒ ｅｔ ａｌ．（Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒａｐｈｙ １１２２（１－２）：１３－２０）を参照されたい。

【０２２１】

メソポーラスシリカ粒子は、様々な形態、例えばマイクロスフェア、不規則形状の粒子、角形のロッド、丸いナノロッドで提供され得る。メソポーラスシリカ粒子は、例えば、球状、楕円形、ロッド様形状又は湾曲した円筒形を含む様々な所定の形状を有し得る。特定の実施形態において、本明細書に記載の組成物及び方法は、メソポーラスシリカロッド（ＭＳＲ）を使用する。マイクロロッドを生成するためにメソポーラスシリカを組み立てる方法は、当技術分野で公知である。Ｗａｎｇ ｅｔ ａｌ，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｎａｎｏｐａｒｔｉｃｌｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，１５：１５０１，２０１３を参照されたい。いくつかの実施形態において、メソポーラスシリカ粒子は、オルトケイ酸テトラエチルを、ミセルロッドで作製されたテンプレートと反応させることによって合成される。その結果、規則的な細孔配列で満たされたメソポーラスシリカ球又はロッドが得られる。次に、適切なｐＨに調整された溶媒で洗浄することにより、テンプレートが除去できる。この例では、界面活性剤テンプレートを除去した後、メソポーラスシリカ粒子は、均一で規則正しく連結されたメソポーラス性によって特徴付けられ、例えば６００ｍ^2／ｇ～約１２００ｍ^2／ｇ、特に約８００ｍ^2／ｇ～約１０００ｍ^2／ｇ、特に約８５０ｍ^2／ｇ～約９５０ｍ^2／ｇの比表面積で調製される。別の実施形態において、メソポーラスシリカ粒子は、ゾルゲル法又は噴霧乾燥法を使用して合成され得る。オルトケイ酸テトラエチルは、追加のポリマーモノマー（テンプレートとして）と共に使用される。更に別の実施形態において、１つ以上のテトラアルコキシシラン及び１つ以上の（３－シアノプロピル）

トリアルコキシシランを共縮合させて、メソポーラスシリケート粒子をロッドとして提供し得る。内容が全体として参照により組み込まれる米国特許出願公開第２０１３－０１４５４８８号明細書、米国特許出願公開第２０１２－０２６４５９９号明細書及び米国特許出願公開第２０１２－０２５６３３６号明細書を参照されたい。

【０２２２】

メソポーラスシリカ粒子（ＭＳＰ）（例えば、ＭＳＲ）は、直径が２～１００ｎｍ又は直径が２～５０ｎｍの、秩序化されているか又はランダムに分布され得る細孔、例えば２～５ｎｍ、１０～２０ｎｍ、１０～３０ｎｍ、１０～４０ｎｍ、２０～３０ｎｍ、３０～５０ｎｍ、３０～４０ｎｍ、４０～５０ｎｍの細孔を含み得る。いくつかの実施形態において、マイクロロッドは、直径がおよそ５ｎｍ、６ｎｍ、７ｎｍ、８ｎｍ、９ｎｍ、１０ｎｍ、１１ｎｍ、１２ｎｍ又はそれを超える細孔を含む。細孔のサイズは、用途の種類によって変更され得る。

【０２２３】

いくつかの実施形態において、ＭＳＲの長さは、マイクロメートルの範囲であり、約５μｍ～約５００μｍの範囲である。一例において、ＭＳＲは、５～５０μｍ、例えば１０～２０μｍ、１０～３０μｍ、１０～４０μｍ、２０～３０μｍ、３０～５０μｍ、３０～４０μｍ、４０～５０μｍの長さを含む。いくつかの実施形態において、ＭＳＲは、５０μｍ～２５０μｍ、例えば約６０μｍ、７０μｍ、８０μｍ、９０μｍ、１００μｍ、１２０μｍ、１５０μｍ、１８０μｍ、２００μｍ、２２５μｍ又はそれを超える長さを含む。いくつかの実施形態において、例えば５０μｍ～２００μｍの長さ、特に８０μｍ～１２０μｍの長さ、特に約１００μｍ以上の長さを含むロッドを有する、より高いアスペクト比を有するＭＳＲが使用される。

【０２２４】

更に別の実施形態において、ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）は、標的細胞、例えばＴ細胞への付着及び／又は結合のための大きい表面積を提供する。高表面積のメソポーラスシリケートを得る方法は、当技術分野で公知である。例えば、全内容が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第８，８８３，３０８号明細書及び米国公開第２０１１－０２５３６４３号明細書を参照されたい。いくつかの実施形態において、高表面積は、ナノ粒子の繊維形態によるものであり、これにより表面上に高濃度の高度に分散され、容易にアクセス可能な部分を得ることが可能になる。特定の実施形態において、高表面積ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）は、少なくとも約１００m^2／ｇ、少なくとも１５０m^2／ｇ又は少なくとも３００m^2／ｇの表面積を有する。他の実施形態において、高表面積ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）は、約１００m^2／ｇ～約１０００m^2／ｇ（その間の全ての値又は部分範囲を含む）、例えば５０m^2／ｇ、１００m^2／ｇ、２００m^2／ｇ、３００m^2／ｇ、４００m^2／ｇ、６００m^2／ｇ、８００m^2／ｇ、１００～５００m^2／ｇ、１００～３００m^2／ｇ、５００～８００m^2／ｇ又は５００～１０００m^2／ｇの表面積を有する。

【０２２５】

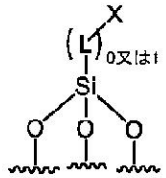
いくつかの実施形態において、メソポーラスシリカ粒子は、表面修飾を含み得る。本明細書で使用される場合、「表面修飾」は、ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）の表面に官能基を付着又は付加することを意味する。いくつかの実施形態において、官能基は、細孔及び／又はナノチャネルを覆う表面又はＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）の表面に吸着又は共有結合される。本明細書で使用される場合、「官能基」は、ＭＳＲに連結された化学部分を定義する。いくつかの実施形態において、官能基は、－ＯＨ（ヒドロキシル）、アミン、カルボン酸、ホスホネート、ハライド、アジド、アルキン、エポキシド、スルフヒドリル、ジスルフィド、ポリエチレンイミン、疎水性部分又はその塩である。いくつかの実施形態において、官能基（即ち－ＯＨ（ヒドロキシル）、アミン、カルボン酸、ホスホネート、ハライド、アジド、アルキン、エポキシド、スルフヒドリル、ジスルフィド、ポリエチレンイミン、疎水性部分又はその塩）は、リンカーによってシリカ表面から分離され得る。いくつかの実施形態において、官能基は、C_1～C_{20}アルキルリンカーを介してＭＳＰ又はＭＳＲ表面に共有結合している。他の実施形態において、官能基は、ポリエチレングリコー

ルリンカーを介してＭＳＰ又はＭＳＲの表面に共有結合している。特定の実施形態において、ポリエチレングリコールリンカーは、式（－Ｏ（ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－）$_{1～25}$を有する。特定の実施形態において、表面修飾は、Ｃ$_1$～Ｃ$_{20}$アルキルパーハロアルキル又はＣ$_1$～Ｃ$_{20}$アルキルパーフルオロアルキルである。

【０２２６】

表面修飾の一般的な構造は、

【化１】



（式中、Ｌは、リンカーであり、Ｘは、官能基である）

であり得る。

【０２２７】

いくつかの実施形態において、Ｌは、Ｃ$_1$～Ｃ$_{20}$のアルキル基又はポリエチレングリコール基であり得、及びＸは、－ＯＨ（ヒドロキシル）、一級、二級、三級若しくは四級アミン、カルボン酸、ホスホネート、ハライド、アジド、アルキン、エポキシド、スルフヒドリル、ジスルフィド、ポリエチレンイミン若しくは疎水性部分又はその塩であり得る。

【０２２８】

本明細書で使用される場合、ホスホネート（ホスホネート修飾ナノ粒子としても知られる）を有する表面修飾は、少なくとも１つのホスホン酸（－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）$_2$）基又はホスフィン酸（－Ｐ（Ｏ）（ＯＨ）Ｒ、ここで、Ｒは、Ｃ$_1$～Ｃ$_{20}$のアルキル基である）を有する。ホスホン酸又はホスフィン酸は、ｐＨに応じて帯電又は非帯電となり得る。生理的ｐＨでは、ホスホン酸及びホスフィン酸は、負に帯電しているか、陰イオン性である。ホスホネート修飾は、例えば、シリカ体表面をホスホネート含有トリアルキルシロキサン化合物又はホスホネート含有トリヒドロキシルシリル化合物、例えば（トリヒドロキシルシリル）プロピルメチルホスホネートで処理することによって調製され得る。

【０２２９】

いくつかの実施形態において、メソポーラスシリカ粒子（例えば、ＭＳＲ）は、一級、二級、三級又は四級アミンで表面修飾されている。二級、三級及び四級アミンは、Ｃ$_1$～Ｃ$_{20}$のアルキル基で置換され得、且つ帯電し得る。いくつかの実施形態において、アミン基は、塩形態であり得る。いくつかの実施形態において、一級、二級、三級又は四級アミンは、リンカーによってＭＳＰ表面から分離され得る。特定の実施形態において、メソポーラスシリカ粒子は、ポリエチレンイミンで修飾されている。特定の実施形態において、ポリエチレンイミンは、分岐又は非分岐である。代替的な実施形態において、ポリエチレンイミン基は、ゲル浸透クロマトグラフィー（ＧＰＣ）によって測定されて約１０００～１００，０００ダルトン（Ｄａ）の範囲の平均分子量を有する。いくつかの実施形態において、ポリエチレンイミン基は、ゲル浸透クロマトグラフィー（ＧＰＣ）によって測定されて約１，２００～１５，０００Ｄａ、約１，５００～１２，０００Ｄａ、約２，０００Ｄａ、約３，０００Ｄａ、約４，０００Ｄａ、約５，０００Ｄａ、約６，０００Ｄａ、約７，０００Ｄａ、約８，０００Ｄａ、約９，０００Ｄａ、約１０，０００Ｄａ又は約２０，０００Ｄａの平均分子量を有する。

【０２３０】

様々な例示的な表面修飾メソポーラスシリカ粒子の構造が図１に示される。

【０２３１】

本明細書に記載のＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）は、本明細書に記載されるように、当業者

に公知の方法によって調製される。一般に、表面修飾を有するＭＳＰは、以下の方法で調製され得る。

【０２３２】

一般に、ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）のシリルヒドロキシド表面と反応することができる任意の反応を使用して、表面が共有結合的に修飾され得る。例えば、ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）の表面は、トリアルコキシシリル化合物又はトリヒドロキシシリル化合物で処理され得る。いくつかの実施形態において、メソポーラスシリカ粒子は、適切な反応溶媒中に懸濁される。いくつかの実施形態において、反応溶媒は、水性溶媒又は０～１４のｐＨの緩衝液であり得る。テトラヒドロフラン、２－メチルテトラヒドロフラン、酢酸エチル、トルエン、トリエチルアミン、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、ジメチルスルホキシド、メタノール、エタノール、塩化メチレン又はジクロロメタンを含むが、これらに限定されない１つ以上の有機溶媒との水溶液の更なる混合物が使用され得る。いくつかの実施形態において、懸濁されたメソポーラスシリカ粒子は、本明細書に記載されるような所望の官能基を有するトリアルコキシシリル又はトリヒドロキシシリル試薬と反応される。アミン修飾は、例えば、ＭＳＰをアミノプロピルトリエトキシシラン、３－（２－アミノエチルアミノ）プロピル－トリメトキシシラン又は３－トリメトキシシリルプロピルエチレンジアミンなどのアミン含有トリアルコキシシラン化合物で処理することによって調製され得る。特定の実施形態において、トリアルコキシシリルは、トリメトキシシリル又はトリエトキシシリル基である。代替的な実施形態において、トリアルコキシシリル試薬は、トリアルコキシアルキルアミンである。いくつかの実施形態において、トリアルコキシアルキルアミンは、一級、二級、三級又は四級アミンを含む。

【０２３３】

特定の実施形態において、トリアルコキシシリル試薬は、ポリエチレンイミン基を含む。特定の実施形態において、ポリエチレンイミンは、分岐又は非分岐である。代替的な実施形態において、ポリエチレンイミン基は、ゲル浸透クロマトグラフィー（ＧＰＣ）によって測定されて約１０００～２０，０００Ｄａ、約１，２００～１５，０００Ｄａ、約１，５００～１２，０００Ｄａ、約２，０００Ｄａ、約３，０００Ｄａ、約４，０００Ｄａ、約５，０００Ｄａ、約６，０００Ｄａ、約７，０００Ｄａ、約８，０００Ｄａ、約９，０００Ｄａ又は約１０，０００Ｄａの平均分子量を有する。いくつかの実施形態において、トリアルコキシシリル試薬は、Ｃ$_{1～20}$アルキルアジド基を含む。特定の実施形態において、トリアルコキシシリル試薬は、Ｃ$_{1～20}$アルキルカルボン酸基を含む。他の実施形態において、トリアルコキシシリル試薬は、Ｃ$_{1～20}$アルキル基を含む。

【０２３４】

ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）上のスルフヒドリル修飾は、例えば、ＭＳＰを３－メルカプトプロピルトリエトキシシランなどのスルフヒドリル含有トリアルコキシシラン化合物で処理することによって調製され得る。

【０２３５】

ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）上のジスルフィド修飾は、例えば、ナノ粒子の表面をジスルフィド含有トリアルコキシシラン化合物で処理するか、又はスルフヒドリル修飾表面を２，２’－ジチオジピリジン又は他のジスルフィドで処理することによって調製され得る。

【０２３６】

カルボン酸基を含むＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）表面修飾は、例えば、カルボン酸含有トリアルコキシシラン化合物で表面を処理するか、又は化学的にカルボン酸に変換され得る官能基を有するトリアルコキシシラン化合物でＭＳＰを処理することによって調製され得る。例えば、ＭＳＰは、３－シアノプロピルトリエトキシシランで処理され、その後、硫酸で加水分解され得る。

【０２３７】

エポキシドを含むＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）表面修飾は、例えば、ＭＳＰをグリシドキシプロピルトリエトキシシランなどのエポキシド含有トリアルコキシシラン化合物で処理することによって調製され得る少なくとも１つのエポキシドを有する。

【０２３８】
疎水性部分を有する表面修飾は、水への溶解度を低下させること又は有機溶媒への溶解度を増加させることを目的とした少なくとも１つの部分を有する。疎水性部分の例には、長鎖アルキル基（例えば、Ｃ８～Ｃ２０アルキル基）、脂肪酸エステル（例えば、Ｃ１～Ｃ２２アルキル酸エステル）及びＣ６～Ｃ１０炭素原子を有する芳香環が含まれる。
【０２３９】
いくつかの実施形態において、ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）とトリアルコキシシリル試薬との反応は、周囲温度又は室温で実施される。他の実施形態において、反応は、高温で実施される。更なる実施形態において、反応の温度は、約４０℃～約１２０℃、約５０℃～約１００℃、約６０℃～約８０℃、約７０℃～約８０℃又は約５０℃、約５５℃、約６０℃、約６５℃、約７０℃、約７５℃、約８０℃、約８５℃、約９０℃、約９５℃又は約１００℃である。
【０２４０】
ウイルスベクター
いくつかの実施形態において、本明細書に記載の組成物は、持続放出剤、例えば本明細書に記載のメソポーラスシリカ粒子及びウイルスベクターを含み得る。
【０２４１】
ウイルスベクターは、任意のウイルスベクターであり得る。ウイルスベクターテクノロジーは、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及び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。例として、ウイルスベクターは、アデノウイルス、レンチウイルス、レトロウイルス、アデノ随伴ウイルス又はヘルペスウイルスであり得る。いくつかの実施形態において、ウイルスベクターは、レンチウイルスベクター又はアデノウイルスベクターである。
【０２４２】
レンチウイルスなどのレトロウイルス由来のベクターは、それらが導入遺伝子の長期の安定した組み込み及び娘細胞への伝播を可能にするため、長期遺伝子導入を達成するのに適するツールである。レンチウイルスベクターは、肝細胞などの非増殖細胞を形質導入できる点でマウス白血病ウイルスなどのオンコ－レトロウイルス由来のベクターを超える更なる利点を有する。それらは、低免疫原性であるという付加的利点も有する。レトロウイルスベクターは、例えば、ガンマレトロウイルスベクターでもあり得る。ガンマレトロウイルスベクターは、例えば、プロモーター、パッケージングシグナル（ψ）、プライマー結合部位（ＰＢＳ）、１つ以上の（例えば、２つの）末端反復配列（ＬＴＲ）及び目的の導入遺伝子、例えばＣＡＲをコードする遺伝子を含み得る。ガンマレトロウイルスベクターは、ｇａｇ、ｐｏｌ及びｅｎｖなどのウイルス構造的遺伝子を欠き得る。例示的なガンマレトロウイルスベクターは、マウス白血病ウイルス（ＭＬＶ）、脾フォーカス形成ウイルス（ＳＦＦＶ）及び骨髄増殖性肉腫ウイルス（ＭＰＳＶ）及びそれら由来のベクターを含む。他のガンマレトロウイルスベクターは、例えば、Ｔｏｂｉａｓ　Ｍａｅｔｚｉｇ　ｅｔ　ａｌ．，“Ｇａｍｍａｒｅｔｒｏｖｉｒａｌ　Ｖｅｃｔｏｒｓ：Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　ａｎｄ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ”Ｖｉｒｕｓｅｓ．２０１１　Ｊｕｎ；３（６）：６７７－７１３に記載されている。
【０２４３】
別の実施形態において、所望の本発明のＣＡＲ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。別の実施形態において、ＣＡＲをコードする核酸の発現は、ｓｌｅｅｐｉｎｇ　ｂｅａｕｔｙ、ＣＲＩＳＰＲ、ＣＡＳ９及び亜鉛フィンガーヌクレアーゼなどのトランスポゾンを使用して達成できる。参照により本明細書に組み込まれるＪｕｎｅ　ｅｔ　ａｌ．２００９　Ｎａｔｕｒｅ　Ｒｅｖｉｅｗｓ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　９．１０：７０４－７１６を参照されたい。
【０２４４】

いくつかの実施形態において、ウイルスベクターは、発現されるヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。いくつかの実施形態において、ヌクレオチド配列は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、操作されたＴＣＲ、サイトカイン、ケモカイン、阻害分子を遮断するｓｈＲＮＡ又はタンパク質の発現を誘導するｍＲＮＡを発現する。いくつかの実施形態において、タンパク質は、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、共刺激シグナル伝達領域及びシグナル伝達ドメインを含むＣＡＲである。いくつかの実施形態において、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である。

【０２４５】

いくつかの実施形態において、ウイルスベクター中のヌクレオチド配列は、腫瘍抗原を標的とするように操作されたペプチドを発現する。いくつかの実施形態において、ペプチドは、ＴＳＨＲ、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ１７１、ＣＳ－１、ＣＬＬ－１、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ２、ＧＤ３、ＢＣＭＡ、Ｔｎ　Ａｇ、ＰＳＭＡ、ＲＯＲ１、ＦＬＴ３、ＦＡＰ、ＴＡＧ７２、ＣＤ３８、ＣＤ４４ｖ６、ＣＥＡ、ＥＰＣＡＭ、Ｂ７Ｈ３、ＫＩＴ、ＩＬ－１３Ｒａ２、メソテリン、ＩＬ－１１Ｒａ、ＰＳＣＡ、ＰＲＳＳ２１、ＶＥＧＦＲ２、ルイスＹ、ＣＤ２４、ＰＤＧＦＲ－ベータ、ＳＳＥＡ－４、ＣＤ２０、葉酸受容体アルファ、ＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）、ＭＵＣ１、ＥＧＦＲ、ＮＣＡＭ、プロスターゼ、ＰＡＰ、ＥＬＦ２Ｍ、エフリンＢ２、ＩＧＦ－Ｉ受容体、ＣＡＩＸ、ＬＭＰ２、ｇｐ１００、ｂｃｒ－ａｂｌ、チロシナーゼ、ＥｐｈＡ２、フコシルＧＭ１、ｓＬｅ、ＧＭ３、ＴＧＳ５、ＨＭＷＭＡＡ、ｏ－アセチル－ＧＤ２、葉酸受容体ベータ、ＴＥＭ１／ＣＤ２４８、ＴＥＭ７Ｒ、ＣＬＤＮ６、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＸＯＲＦ６１、ＣＤ９７、ＣＤ１７９ａ、ＡＬＫ、ポリシアル酸、ＰＬＡＣ１、ＧｌｏｂｏＨ、ＮＹ－ＢＲ－１、ＵＰＫ２、ＨＡＶＣＲ１、ＡＤＲＢ３、ＰＡＮＸ３、ＧＰＲ２０、ＬＹ６Ｋ、ＯＲ５１Ｅ２、ＴＡＲＰ、ＷＴ１、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＬＡＧＥ－１ａ、ＭＡＧＥ－Ａ１、レグマイン、ＨＰＶ　Ｅ６、Ｅ７、ＭＡＧＥ　Ａ１、ＥＴＶ６－ＡＭＬ、精子タンパク質１７、ＸＡＧＥ１、Ｔｉｅ　２、ＭＡＤ－ＣＴ－１、ＭＡＤ－ＣＴ－２、Ｆｏｓ関連抗原１、ｐ５３、ｐ５３変異体、プロステイン、サバイビン及びテロメラーゼ、ＰＣＴＡ－１／ガレクチン８、ＭｅｌａｎＡ／ＭＡＲＴ１、Ｒａｓ変異体、ｈＴＥＲＴ、肉腫転座切断点、ＭＬ－ＩＡＰ、ＥＲＧ（ＴＭＰＲＳＳ２　ＥＴＳ融合遺伝子）、ＮＡ１７、ＰＡＸ３、アンドロゲン受容体、サイクリンＢ１、ＭＹＣＮ、ＲｈｏＣ、ＴＲＰ－２、ＣＹＰ１Ｂ１、ＢＯＲＩＳ、ＳＡＲＴ３、ＰＡＸ５、ＯＹ－ＴＥＳ１、ＬＣＫ、ＡＫＡＰ－４、ＳＳＸ２、ＲＡＧＥ－１、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、ＲＵ１、ＲＵ２、腸カルボキシルエステラーゼ、ｍｕｔ　ｈｓｐ７０－２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ７２、ＬＡＩＲ１、ＦＣＡＲ、ＬＩＬＲＡ２、ＣＤ３００ＬＦ、ＣＬＥＣ１２Ａ、ＢＳＴ２、ＥＭＲ２、ＬＹ７５、ＧＰＣ３、ＦＣＲＬ５、ＩＧＬＬ１並びにそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される腫瘍抗原を標的とする。いくつかの実施形態において、ペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）又は操作されたＴＣＲである。このようなペプチドは、以下の「キメラ抗原受容体技術の一般的説明」という名称のセクションでより詳細に説明される。

【０２４６】

いくつかの実施形態において、ベクター中のヌクレオチド配列は、腫瘍抗原を標的とするように操作されたタンパク質を発現する。いくつかの実施形態において、腫瘍抗原は、ＣＤ１９；ＣＤ１２３；ＣＤ２２；ＣＤ３０；ＣＤ１７１；ＣＳ－１（ＣＤ２サブセット１、ＣＲＡＣＣ、ＳＬＡＭＦ７、ＣＤ３１９及び１９Ａ２４とも称される）；Ｃ型レクチン様分子－１（ＣＬＬ－１又はＣＬＥＣＬ１）；ＣＤ３３；上皮成長因子受容体変異体ＩＩＩ（ＥＧＦＲｖＩＩＩ）；ガングリオシドＧ２（ＧＤ２）；ガングリオシドＧＤ３（ａＮｅｕ５Ａｃ（２－８）ａＮｅｕ５Ａｃ（２－３）ｂＤＧａｌｐ（１－４）ｂＤＧｌｃｐ（１－１）Ｃｅｒ）；ＴＮＦ受容体ファミリーメンバーＢ細胞成熟（ＢＣＭＡ）；Ｔｎ抗原（（ＴｎＡｇ）又は（ＧａｌＮＡｃα－Ｓｅｒ／Ｔｈｒ））；前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）；受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）；Ｆｍｓ様チロシ

ンキナーゼ３（ＦＬＴ３）；腫瘍関連糖タンパク質７２（ＴＡＧ７２）；ＣＤ３８；ＣＤ４４ｖ６；癌胎児性抗原（ＣＥＡ）；上皮細胞接着分子（ＥＰＣＡＭ）；Ｂ７Ｈ３（ＣＤ２７６）；ＫＩＴ（ＣＤ１１７）；インターロイキン－１３受容体サブユニットα－２（ＩＬ－１３Ｒａ２又はＣＤ２１３Ａ２）；メソテリン；インターロイキン１１受容体α（ＩＬ－１１Ｒａ）；前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）；プロテアーゼセリン２１（テスチシン又はＰＲＳＳ２１）；血管内皮成長因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）；ルイス（Ｙ）抗原；ＣＤ２４；血小板由来成長因子受容体β（ＰＤＧＦＲ－β）；ステージ特異的胎児抗原－４（ＳＳＥＡ－４）；ＣＤ２０；葉酸受容体α；受容体チロシン－プロテインキナーゼＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）；ムチン１、細胞表面関連（ＭＵＣ１）；上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）；神経細胞接着分子（ＮＣＡＭ）；プロスターゼ；前立腺酸性ホスファターゼ（ＰＡＰ）；伸長因子２突然変異型（ＥＬＦ２Ｍ）；エフリンＢ２；線維芽細胞活性化タンパク質α（ＦＡＰ）；インスリン様成長因子１受容体（ＩＧＦ－Ｉ受容体）、炭酸脱水酵素ＩＸ（ＣＡＩＸ）；プロテアソーム（プロソーム、マクロパイン）サブユニット、ベータ型、９（ＬＭＰ２）；糖タンパク質１００（ｇｐ１００）；切断点クラスター領域（ＢＣＲ）及びエーベルソンマウス白血病ウイルス性癌遺伝子ホモログ１（Ａｂｌ）からなる癌遺伝子融合タンパク質（ｂｃｒ－ａｂｌ）；チロシナーゼ；エフリンＡ型受容体２（ＥｐｈＡ２）；フコシルＧＭ１；シアリルルイス接着分子（ｓＬｅ）；ガングリオシドＧＭ３（ａＮｅｕ５Ａｃ（２－３）ｂＤＧａｌｐ（１－４）ｂＤＧｌｃｐ（１－１）Ｃｅｒ）；トランスグルタミナーゼ５（ＴＧＳ５）；高分子量黒色腫関連抗原（ＨＭＷＭＡＡ）；ｏ－アセチル－ＧＤ２ガングリオシド（ＯＡｃＧＤ２）；葉酸受容体β；腫瘍内皮マーカー１（ＴＥＭ１／ＣＤ２４８）；腫瘍内皮マーカー７関連（ＴＥＭ７Ｒ）；クローディン６（ＣＬＤＮ６）；甲状腺刺激ホルモン受容体（ＴＳＨＲ）；Ｇタンパク質共役受容体クラスＣグループ５、メンバーＤ（ＧＰＲＣ５Ｄ）；Ｘ染色体オープンリーディングフレーム６１（ＣＸＯＲＦ６１）；ＣＤ９７；ＣＤ１７９ａ；未分化リンパ腫キナーゼ（ＡＬＫ）；ポリシアル酸；胎盤特異的１（ＰＬＡＣ１）；グロボＨグリコセラミドの六糖部分（ＧｌｏｂｏＨ）；乳腺分化抗原（ＮＹ－ＢＲ－１）；ウロプラキン２（ＵＰＫ２）；Ａ型肝炎ウイルス細胞受容体１（ＨＡＶＣＲ１）；アドレノセプターβ３（ＡＤＲＢ３）；パネキシン３（ＰＡＮＸ３）；Ｇタンパク質共役受容体２０（ＧＰＲ２０）；リンパ球抗原６複合体、遺伝子座Ｋ９（ＬＹ６Ｋ）；嗅覚受容体５１Ｅ２（ＯＲ５１Ｅ２）；ＴＣＲγ代替リーディングフレームタンパク質（ＴＡＲＰ）；ウィルムス腫瘍タンパク質（ＷＴ１）；癌／精巣抗原１（ＮＹ－ＥＳＯ－１）；癌／精巣抗原２（ＬＡＧＥ－１ａ）；黒色腫関連抗原１（ＭＡＧＥ－Ａ１）；ＥＴＳ転座変異体遺伝子６、染色体１２ｐに位置する（ＥＴＶ６－ＡＭＬ）；精子タンパク質１７（ＳＰＡ１７）；Ｘ抗原ファミリー、メンバー１Ａ（ＸＡＧＥ１）；アンギオポエチン結合細胞表面受容体２（Ｔｉｅ　２）；黒色腫癌精巣抗原－１（ＭＡＤ－ＣＴ－１）；黒色腫癌精巣抗原－２（ＭＡＤ－ＣＴ－２）；Ｆｏｓ関連抗原１；腫瘍タンパク質ｐ５３（ｐ５３）；ｐ５３突然変異体；プロステイン；サバイビン；テロメラーゼ；前立腺癌腫瘍抗原－１（ＰＣＴＡ－１又はガレクチン８）、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原１（メランＡ又はＭＡＲＴ１）；ラット肉腫（Ｒａｓ）突然変異体；ヒトテロメラーゼ逆転写酵素（ｈＴＥＲＴ）；サルコーマ転座切断点；黒色腫アポトーシス阻害因子（ＭＬ－ＩＡＰ）；ＥＲＧ（膜貫通型プロテアーゼ、セリン２（ＴＭＰＲＳＳ２）ＥＴＳ融合遺伝子）；Ｎ－アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼＶ（ＮＡ１７）；ペアードボックスタンパク質Ｐａｘ－３（ＰＡＸ３）；アンドロゲン受容体；サイクリンＢ１；ｖ－ｍｙｃトリ骨髄球腫症ウイルス性癌遺伝子神経芽細胞腫由来ホモログ（ＭＹＣＮ）；Ｒａｓホモログファミリーメンバー Ｃ（ＲｈｏＣ）；チロシナーゼ関連タンパク質２（ＴＲＰ－２）；シトクロムＰ４５０　１Ｂ１（ＣＹＰ１Ｂ１）；ＣＣＣＴＣ結合因子（亜鉛フィンガータンパク質）様（ＢＯＲＩＳ又は刷り込み部位の調節因子のブラザー）、Ｔ細胞によって認識される扁平上皮癌抗原３（ＳＡＲＴ３）；ペアードボックスタンパク質Ｐａｘ－５（ＰＡＸ５）；プロアクロシン結合タンパク質ｓｐ３２（ＯＹ－ＴＥＳ１）；リンパ球特異的プロテインチロシンキナーゼ（ＬＣＫ）；Ａキナーゼアンカータンパク質４（ＡＫＡＰ－４）；滑膜肉腫、Ｘ切断点２（ＳＳＸ

２）；後期糖化最終産物受容体（ＲＡＧＥ－１）；腎臓遍在性１（ＲＵ１）；腎臓遍在性２（ＲＵ２）；レグマイン；ヒトパピローマウイルスＥ６（ＨＰＶ　Ｅ６）；ヒトパピローマウイルスＥ７（ＨＰＶ　Ｅ７）；腸カルボキシルエステラーゼ；熱ショックタンパク質７０－２突然変異型（ｍｕｔ　ｈｓｐ７０－２）；ＣＤ７９ａ；ＣＤ７９ｂ；ＣＤ７２；白血球関連免疫グロブリン様受容体１（ＬＡＩＲ１）；ＩｇＡ受容体のＦｃフラグメント（ＦＣＡＲ又はＣＤ８９）；白血球免疫グロブリン様受容体サブファミリーＡメンバー２（ＬＩＬＲＡ２）；ＣＤ３００分子様ファミリーメンバーｆ（ＣＤ３００ＬＦ）；Ｃ型レクチンドメインファミリー１２メンバーＡ（ＣＬＥＣ１２Ａ）；骨髄間質細胞抗原２（ＢＳＴ２）；ＥＧＦ様モジュール含有ムチン様ホルモン受容体様２（ＥＭＲ２）；リンパ球抗原７５（ＬＹ７５）；グリピカン－３（ＧＰＣ３）；Ｆｃ受容体様５（ＦＣＲＬ５）；又は免疫グロブリンλ様ポリペプチド１（ＩＧＬＬ１）の１つ以上から選択される。

【０２４７】

本明細書に記載のＣＡＲは、腫瘍支持抗原（例えば、本明細書に記載の腫瘍支持抗原）に結合する抗原結合ドメイン（例えば、抗体又は抗体フラグメント、ＴＣＲ又はＴＣＲフラグメント）を含み得る。いくつかの実施形態において、腫瘍支持抗原は、間質細胞又は骨髄由来サプレッサー細胞（ＭＤＳＣ）上に存在する抗原である。間質細胞は、微小環境における細胞分裂を促進するために成長因子を分泌し得る。ＭＤＳＣ細胞は、Ｔ細胞の増殖及び活性化を阻害することができる。理論に拘束されることを望まないが、いくつかの実施形態において、ＣＡＲ発現細胞は、腫瘍支持細胞を破壊し、それにより腫瘍増殖又は生存を間接的に阻害する。

【０２４８】

いくつかの実施形態において、間質細胞抗原は、骨髄間質細胞抗原２（ＢＳＴ２）、線維芽細胞活性化タンパク質（ＦＡＰ）及びテネイシンの１つ以上から選択される。いくつかの実施形態において、ＦＡＰ特異的抗体は、シブロツズマブとの結合について競合するか又はそれと同じＣＤＲを有する。実施形態において、ＭＤＳＣ抗原は、ＣＤ３３、ＣＤ１１ｂ、Ｃ１４、ＣＤ１５及びＣＤ６６ｂの１つ以上から選択される。従って、いくつかの実施形態において、腫瘍支持抗原は、骨髄間質細胞抗原２（ＢＳＴ２）、線維芽細胞活性化タンパク質（ＦＡＰ）又はテネイシン、ＣＤ３３、ＣＤ１１ｂ、Ｃ１４、ＣＤ１５及びＣＤ６６ｂの１つ以上から選択される。

【０２４９】

いくつかの実施形態において、コードされたＣＡＲ分子の抗原結合ドメインは、抗体、抗体フラグメント、ｓｃＦｖ、Ｆｖ、Ｆａｂ、（Ｆａｂ’）２、単一ドメイン抗体（ＳＤＡＢ）、ＶＨ又はＶＬドメイン、ラクダ科動物のＶＨＨドメイン又は二機能性（例えば二特異性）ハイブリッド抗体（例えば、Ｌａｎｚａｖｅｃｃｈｉａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１７，１０５（１９８７））を含む。

【０２５０】

ある例において、ｓｃＦｖは、当技術分野で知られる方法により製造できる（例えば、Ｂｉｒｄ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４２：４２３－４２６及びＨｕｓｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８５：５８７９－５８８３を参照されたい）。ＳｃＦｖ分子は、可動性ポリペプチドリンカーを使用して、ＶＨ領域とＶＬ領域とを一緒に連結することにより産生できる。ｓｃＦｖ分子は、最適長及び／又はアミノ酸組成を有するリンカー（例えば、Ｓｅｒ－Ｇｌｙリンカー）を含む。リンカー長は、ｓｃＦｖの可変領域がどのように折りたたまれ、相互作用するかに大きく影響し得る。実際に、短ポリペプチドリンカーを用いる場合、（例えば、５～１０アミノ酸）、鎖内折りたたみは、阻止される。鎖内折りたたみは、２つの可変領域が一体となって機能的エピトープ結合部位を形成させるためにも必要である。リンカー方向及びサイズの例は、例えば、参照により本明細書に組み込まれる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号明細書、米国特許出願公開第２００５／０１７５６０６号明細書、米国特許出願公開第２００７／０

０１４７９４号明細書並びに国際公開第２００６／０２０２５８号パンフレット及び国際公開第２００７／０２４７１５号パンフレットを参照されたい。

【０２５１】

ｓｃＦｖは、そのＶＬ領域とＶＨ領域との間に少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０又はそれを超えるアミノ酸残基のリンカーを含み得る。リンカー配列は、あらゆる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において、リンカー配列は、アミノ酸グリシン及びセリンを含む。別の実施形態において、リンカー配列は、（Gly_4Ser）n（ここで、nは、１つ以上の正の整数である）などの一連のグリシン及びセリン反復を含む（配列番号２２）。いくつかの実施形態において、リンカーは、（Gly_4Ser）$_4$（配列番号２９）又は（Gly_4Ser）$_3$（配列番号３０）であり得る。リンカー長の変動は、活性を維持又は増強し、活性試験において優れた有効性を生じ得る。

【０２５２】

別の態様において、抗原結合ドメインは、Ｔ細胞受容体（「ＴＣＲ」）又はそのフラグメント、例えば単鎖ＴＣＲ（ｓｃＴＣＲ）である。そのようなＴＣＲを作製する方法は、当技術分野において公知である。例えば、Ｗｉｌｌｅｍｓｅｎ ＲＡ ｅｔ ａｌ，Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ７：１３６９－１３７７（２０００）；Ｚｈａｎｇ Ｔ ｅｔ ａｌ，Ｃａｎｃｅｒ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ １１：４８７－４９６（２００４）；Ａｇｇｅｎ ｅｔ ａｌ，Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．１９（４）：３６５－７４（２０１２）（参考文献は、その全体が本明細書に組み込まれる）を参照されたい。例えば、リンカー（例えば、柔軟なペプチド）によって連結されたＴ細胞クローン由来のＶα及びＶβ遺伝子を含むｓｃＴＣＲを操作することができる。このアプローチは、それ自体が細胞内にある癌関連標的にとって非常に有用であるが、そのような抗原（ペプチド）のフラグメントは、ＭＨＣによって癌細胞の表面に提示される。

【０２５３】

特定の実施形態において、コードされた抗原結合ドメインは、10^{-4}Ｍ～10^{-8}Ｍの結合親和性ＫＤを有する。

【０２５４】

いくつかの実施形態において、コードされたＣＡＲ分子は、標的抗原について、10^{-4}Ｍ～10^{-8}Ｍ、例えば10^{-5}Ｍ～10^{-7}Ｍ、例えば10^{-6}Ｍ又は10^{-7}Ｍの結合親和性K_Dを有する抗原結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、参照抗体、例えば本明細書に記載の抗体より少なくとも５倍、１０倍、２０倍、３０倍、５０倍、１００倍又は１，０００倍小さい結合親和性を有する。いくつかの実施形態において、コードされた抗原結合ドメインは、参照抗体（例えば、抗原結合ドメインが由来する抗体）より少なくとも５倍小さい結合親和性を有する。いくつかの態様において、このような抗体フラグメントは、当業者に理解されるように、免疫応答活性化、その標的抗原からのシグナル伝達開始阻害を含むが、これらに限定されない生物学的応答を提供する点で機能的である。

【０２５５】

いくつかの態様において、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、それが由来するｓｃＦｖのマウス配列と比較してヒト化されたｓｃＦｖ抗体フラグメントである。

【０２５６】

いくつかの態様において、本発明のＣＡＲの抗原結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）は、その配列が哺乳動物細胞における発現のためにコドン最適化されている核酸分子によってコードされる。いくつかの態様において、本発明のＣＡＲ構築物全体は、その配列全体が哺乳動物細胞での発現のためにコドン最適化されている核酸分子によってコードされる。コドン最適化とは、コードＤＮＡにおける同義コドン（即ち同じアミノ酸をコードするコドン）の出現頻度が異なる種で偏っているという発見を指す。そのようなコドン縮重は、同一のポリペプチドが様々なヌクレオチド配列によってコードされることを可能にする

。様々なコドン最適化方法が当技術分野で知られており、例えば少なくとも米国特許第５，７８６，４６４号明細書及び米国特許第６，１１４，１４８号明細書に開示される方法が含まれる。

【０２５７】

ＣＡＲ分子、例えば本明細書に記載のものを発現するように操作された免疫エフェクター細胞が関与するいくつかの実施形態において、処置方法は、キメラ抗原受容体に関する節において以下に記載する工程、態様又は特徴のいずれも更に含み得ることが理解される。

【０２５８】

細胞は、好ましくは、免疫エフェクター細胞である。いくつかの実施形態において、細胞は、Ｔ細胞である。いくつかの実施形態において、細胞は、ＮＫ細胞である。実施形態において、本発明は、本発明の細胞の集団、例えば本発明の免疫エフェクター細胞の集団に関する。実施形態では、本発明の細胞の集団は、示される型の細胞を含み、他の型を含み得る（例えば、ＣＡＲ分子、例えば本明細書に記載のものを発現するように操作された免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞の集団は、ＣＡＲ分子を発現するように操作されたＴ細胞及びＣＡＲ分子を発現するように操作されていないＴ細胞（又は他の細胞型）を含み得る）。実施形態において、本発明の方法において使用される細胞の集団は、示された型の細胞から本質的になる。実施形態では、本発明の細胞の集団は、他の細胞型を実質的に含まない。実施形態において、本発明の細胞の集団は、示された細胞型からなる。

【０２５９】

前述の態様及び実施形態のいずれかにおいて、細胞及び／又は細胞の集団は、免疫エフェクター細胞であるか又はそれを含み、例えば、免疫エフェクター細胞の集団は、Ｔ細胞又はＮＫ細胞を含む、例えばそれからなる。実施形態において、細胞は、Ｔ細胞、例えばＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞又はそれらの組み合わせである。ある実施形態において、細胞は、ＮＫ細胞である。

【０２６０】

実施形態において、細胞は、ヒト細胞である。実施形態において、細胞は、例えば、細胞を投与する対象に対して自己由来である。実施形態において、細胞は、例えば、細胞を投与する対象に対して同種異系である。

【０２６１】

一般に、本明細書に記載の方法において、本明細書に記載の組成物は、当技術分野において公知の通常の及び許容される方式のいずれかにより、単独で又は１つ以上の治療剤と組み合わせて上記の治療有効量で投与される。特定の実施形態において、組成物は、注射によって投与される。更に特定の実施形態において、インビボ投与のために、組成物は、それを必要とする対象に皮下投与される。他の実施形態において、組成物は、所望の作用部位にインプラントの形態で投与され得る。作用部位は、対象の必要性に従って当業者によって決定され得る。

【０２６２】

ＣＡＲ標的

免疫エフェクター細胞を、望ましくない細胞（例えば、癌細胞）に指向させる、１つ以上のＣＡＲを含有するように操作された免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）を形質導入するウイルスベクターが本明細書に記載される。これは、癌関連抗原に対して特異的であるＣＡＲ上の抗原結合ドメインを通して達成される。本発明のＣＡＲにより標的化され得る２つのクラスの癌関連抗原（腫瘍抗原）が存在する：（１）癌細胞の表面に発現される癌関連抗原；及び（２）それ自体細胞内であるが、そのような抗原（ペプチド）のフラグメントがＭＨＣ（主要組織適合複合体）により癌細胞の表面に提示される癌関連抗原。

【０２６３】

いくつかの実施形態において、腫瘍抗原は、ＣＤ１９；ＣＤ１２３；ＣＤ２２；ＣＤ３０；ＣＤ１７１；ＣＳ－１（ＣＤ２サブセット１、ＣＲＡＣＣ、ＳＬＡＭＦ７、ＣＤ３１

９及び１９Ａ２４とも称される）；Ｃ型レクチン様分子－１（ＣＬＬ－１又はＣＬＥＣＬ１）；ＣＤ３３；上皮成長因子受容体変異体ＩＩＩ（ＥＧＦＲｖＩＩＩ）；ガングリオシドＧ２（ＧＤ２）；ガングリオシドＧＤ３（ａＮｅｕ５Ａｃ（２－８）ａＮｅｕ５Ａｃ（２－３）ｂＤＧａｌｐ（１－４）ｂＤＧｌｃｐ（１－１）Ｃｅｒ）；ＴＮＦ受容体ファミリーメンバーＢ細胞成熟（ＢＣＭＡ）；Ｔｎ抗原（（ＴｎＡｇ）又は（ＧａｌＮＡｃα－Ｓｅｒ／Ｔｈｒ））；前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）；受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）；Ｆｍｓ様チロシンキナーゼ３（ＦＬＴ３）；腫瘍関連糖タンパク質７２（ＴＡＧ７２）；ＣＤ３８；ＣＤ４４ｖ６；癌胎児性抗原（ＣＥＡ）；上皮細胞接着分子（ＥＰＣＡＭ）；Ｂ７Ｈ３（ＣＤ２７６）；ＫＩＴ（ＣＤ１１７）；インターロイキン－１３受容体サブユニットα－２（ＩＬ－１３Ｒａ２又はＣＤ２１３Ａ２）；メソテリン；インターロイキン１１受容体α（ＩＬ－１１Ｒａ）；前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）；プロテアーゼセリン２１（テスチシン又はＰＲＳＳ２１）；血管内皮成長因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）；ルイス（Ｙ）抗原；ＣＤ２４；血小板由来成長因子受容体β（ＰＤＧＦＲ－β）；ステージ特異的胎児抗原－４（ＳＳＥＡ－４）；ＣＤ２０；葉酸受容体α；受容体チロシン－プロテインキナーゼＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）；ムチン１、細胞表面関連（ＭＵＣ１）；上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）；神経細胞接着分子（ＮＣＡＭ）；プロスターゼ；前立腺酸性ホスファターゼ（ＰＡＰ）；伸長因子２突然変異型（ＥＬＦ２Ｍ）；エフリンＢ２；線維芽細胞活性化タンパク質α（ＦＡＰ）；インスリン様成長因子１受容体（ＩＧＦ－Ｉ受容体）、炭酸脱水酵素ＩＸ（ＣＡＩＸ）；プロテアソーム（プロソーム、マクロパイン）サブユニット、ベータ型、９（ＬＭＰ２）；糖タンパク質１００（ｇｐ１００）；切断点クラスター領域（ＢＣＲ）及びエーベルソンマウス白血病ウイルス性癌遺伝子ホモログ１（Ａｂｌ）からなる癌遺伝子融合タンパク質（ｂｃｒ－ａｂｌ）；チロシナーゼ；エフリンＡ型受容体２（ＥｐｈＡ２）；フコシルＧＭ１；シアリルルイス接着分子（ｓＬｅ）；ガングリオシドＧＭ３（ａＮｅｕ５Ａｃ（２－３）ｂＤＧａｌｐ（１－４）ｂＤＧｌｃｐ（１－１）Ｃｅｒ）；トランスグルタミナーゼ５（ＴＧＳ５）；高分子量黒色腫関連抗原（ＨＭＷＭＡＡ）；ｏ－アセチル－ＧＤ２ガングリオシド（ＯＡｃＧＤ２）；葉酸受容体β；腫瘍内皮マーカー１（ＴＥＭ１／ＣＤ２４８）；腫瘍内皮マーカー７関連（ＴＥＭ７Ｒ）；クローディン６（ＣＬＤＮ６）；甲状腺刺激ホルモン受容体（ＴＳＨＲ）；Ｇタンパク質共役受容体クラスＣグループ５、メンバーＤ（ＧＰＲＣ５Ｄ）；Ｘ染色体オープンリーディングフレーム６１（ＣＸＯＲＦ６１）；ＣＤ９７；ＣＤ１７９ａ；未分化リンパ腫キナーゼ（ＡＬＫ）；ポリシアル酸；胎盤特異的１（ＰＬＡＣ１）；グロボＨグリコセラミドの六糖部分（ＧｌｏｂｏＨ）；乳腺分化抗原（ＮＹ－ＢＲ－１）；ウロプラキン２（ＵＰＫ２）；Ａ型肝炎ウイルス細胞受容体１（ＨＡＶＣＲ１）；アドレノセプターβ３（ＡＤＲＢ３）；パネキシン３（ＰＡＮＸ３）；Ｇタンパク質共役受容体２０（ＧＰＲ２０）；リンパ球抗原６複合体、遺伝子座Ｋ９（ＬＹ６Ｋ）；嗅覚受容体５１Ｅ２（ＯＲ５１Ｅ２）；ＴＣＲγ代替リーディングフレームタンパク質（ＴＡＲＰ）；ウィルムス腫瘍タンパク質（ＷＴ１）；癌／精巣抗原１（ＮＹ－ＥＳＯ－１）；癌／精巣抗原２（ＬＡＧＥ－１ａ）；黒色腫関連抗原１（ＭＡＧＥ－Ａ１）；ＥＴＳ転座変異体遺伝子６、染色体１２ｐに位置する（ＥＴＶ６－ＡＭＬ）；精子タンパク質１７（ＳＰＡ１７）；Ｘ抗原ファミリー、メンバー１Ａ（ＸＡＧＥ１）；アンギオポエチン結合細胞表面受容体２（Ｔｉｅ　２）；黒色腫癌精巣抗原－１（ＭＡＤ－ＣＴ－１）；黒色腫癌精巣抗原－２（ＭＡＤ－ＣＴ－２）；Ｆｏｓ関連抗原１；腫瘍タンパク質ｐ５３（ｐ５３）；ｐ５３突然変異体；プロステイン；サバイビン；テロメラーゼ；前立腺癌腫瘍抗原－１（ＰＣＴＡ－１又はガレクチン８）、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原１（メランＡ又はＭＡＲＴ１）；ラット肉腫（Ｒａｓ）突然変異体；ヒトテロメラーゼ逆転写酵素（ｈＴＥＲＴ）；サルコーマ転座切断点；黒色腫アポトーシス阻害因子（ＭＬ－ＩＡＰ）；ＥＲＧ（膜貫通型プロテアーゼ、セリン２（ＴＭＰＲＳＳ２）ＥＴＳ融合遺伝子）；Ｎ－アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼＶ（ＮＡ１７）；ペアードボックスタンパク質Ｐａｘ－３（ＰＡＸ３）；アンドロゲン受容体；サイクリンＢ１；ｖ－ｍｙｃトリ骨髄球腫症ウイルス性癌遺伝子神経芽細胞腫由来ホモログ（ＭＹＣＮ）；Ｒａ

ｓホモログファミリーメンバーＣ（ＲｈｏＣ）；チロシナーゼ関連タンパク質２（ＴＲＰ－２）；シトクロムＰ４５０　１Ｂ１（ＣＹＰ１Ｂ１）；ＣＣＣＴＣ結合因子（亜鉛フィンガータンパク質）様（ＢＯＲＩＳ又は刷り込み部位の調節因子のブラザー）、Ｔ細胞によって認識される扁平上皮癌抗原３（ＳＡＲＴ３）；ペアードボックスタンパク質Ｐａｘ－５（ＰＡＸ５）；プロアクロシン結合タンパク質ｓｐ３２（ＯＹ－ＴＥＳ１）；リンパ球特異的プロテインチロシンキナーゼ（ＬＣＫ）；Ａキナーゼアンカータンパク質４（ＡＫＡＰ－４）；滑膜肉腫、Ｘ切断点２（ＳＳＸ２）；後期糖化最終産物受容体（ＲＡＧＥ－１）；腎臓遍在性１（ＲＵ１）；腎臓遍在性２（ＲＵ２）；レグマイン；ヒトパピローマウイルスＥ６（ＨＰＶ　Ｅ６）；ヒトパピローマウイルスＥ７（ＨＰＶ　Ｅ７）；腸カルボキシルエステラーゼ；熱ショックタンパク質７０－２突然変異型（ｍｕｔ　ｈｓｐ７０－２）；ＣＤ７９ａ；ＣＤ７９ｂ；ＣＤ７２；白血球関連免疫グロブリン様受容体１（ＬＡＩＲ１）；ＩｇＡ受容体のＦｃフラグメント（ＦＣＡＲ又はＣＤ８９）；白血球免疫グロブリン様受容体サブファミリーＡメンバー２（ＬＩＬＲＡ２）；ＣＤ３００分子様ファミリーメンバーｆ（ＣＤ３００ＬＦ）；Ｃ型レクチンドメインファミリー１２メンバーＡ（ＣＬＥＣ１２Ａ）；骨髄間質細胞抗原２（ＢＳＴ２）；ＥＧＦ様モジュール含有ムチン様ホルモン受容体様２（ＥＭＲ２）；リンパ球抗原７５（ＬＹ７５）；グリピカン－３（ＧＰＣ３）；Ｆｃ受容体様５（ＦＣＲＬ５）；又は免疫グロブリンλ様ポリペプチド１（ＩＧＬＬ１）の１つ以上から選択される。

【０２６４】

ＣＤ１９

非限定的な例示的な腫瘍抗原は、ＣＤ１９である。ＣＤ１９に結合するＣＡＲは、当技術分野で公知である。例えば、国際公開第２０１２／０７９０００号パンフレット及び国際公開第２０１４／１５３２７０号パンフレットに開示されているものである。当技術分野において、任意の公知のＣＤ１９　ＣＡＲ、例えば任意の公知のＣＤ１９　ＣＡＲのＣＤ１９抗原結合ドメインは、本開示に従って使用され得る。例えば、ＬＧ－７４０；米国特許第８，３９９，６４５号明細書に記載のＣＤ１９　ＣＡＲ；米国特許第７，４４６，１９０号明細書；Ｘｕ　ｅｔ　ａｌ．，Ｌｅｕｋ　Ｌｙｍｐｈｏｍａ．２０１３　５４（２）：２５５－２６０（２０１２）；Ｃｒｕｚ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ　１２２（１７）：２９６５－２９７３（２０１３）；Ｂｒｅｎｔｊｅｎｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ，１１８（１８）：４８１７－４８２８（２０１１）；Ｋｏｃｈｅｎｄｅｒｆｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ　１１６（２０）：４０９９－１０２（２０１０）；Ｋｏｃｈｅｎｄｅｒｆｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ　１２２（２５）：４１２９－３９（２０１３）；及び１６ｔｈ　Ａｎｎｕ　Ｍｅｅｔ　Ａｍ　Ｓｏｃ　Ｇｅｎ　Ｃｅｌｌ　Ｔｈｅｒ（ＡＳＧＣＴ）（Ｍａｙ　１５－１８，Ｓａｌｔ　Ｌａｋｅ　Ｃｉｔｙ）２０１３，Ａｂｓｔ　１０。

【０２６５】

非限定的な例示的なＣＤ１９　ＣＡＲは、例えば、本明細書に記載されるＣＤ１９　ＣＡＲ又はＸｕ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｌｏｏｄ　１２３．２４（２０１４）：３７５０－９；Ｋｏｃｈｅｎｄｅｒｆｅｒ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｌｏｏｄ　１２２．２５（２０１３）：４１２９－３９，Ｃｒｕｚ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｌｏｏｄ　１２２．１７（２０１３）：２９６５－７３、ＮＣＴ００５８６３９１、ＮＣＴ０１０８７２９４、ＮＣＴ０２４５６３５０、ＮＣＴ００８４０８５３、ＮＣＴ０２６５９９４３、ＮＣＴ０２６５０９９９、ＮＣＴ０２６４０２０９、ＮＣＴ０１７４７４８６、ＮＣＴ０２５４６７３９、ＮＣＴ０２６５６１４７、ＮＣＴ０２７７２１９８、ＮＣＴ００７０９０３３、ＮＣＴ０２０８１９３７、ＮＣＴ００９２４３２６、ＮＣＴ０２７３５０８３、ＮＣＴ０２７９４２４６、ＮＣＴ０２７４６９５２、ＮＣＴ０１５９３６９６、ＮＣＴ０２１３４２６２、ＮＣＴ０１８５３６３１、ＮＣＴ０２４４３８３１、ＮＣＴ０２２７７５２２、ＮＣＴ０２３４８２１６、ＮＣＴ０２６１４０６６、ＮＣＴ０２０３０８３４、ＮＣＴ０２６２４２５８、ＮＣＴ０２６２５４８０、ＮＣＴ０２０３０８４７、ＮＣＴ０２６４４６５５、ＮＣＴ０２３４９６９８、ＮＣＴ０２８１３８３７、ＮＣＴ０２０５０３４７、ＮＣＴ０１６８３２７９、Ｎ

ＣＴ０２５２９８１３、ＮＣＴ０２５３７９７７、ＮＣＴ０２７９９５５０、ＮＣＴ０２６７２５０１、ＮＣＴ０２８１９５８３、ＮＣＴ０２０２８４５５、ＮＣＴ０１８４０５６６、ＮＣＴ０１３１８３１７、ＮＣＴ０１８６４８８９、ＮＣＴ０２７０６４０５、ＮＣＴ０１４７５０５８、ＮＣＴ０１４３０３９０、ＮＣＴ０２１４６９２４、ＮＣＴ０２０５１２５７、ＮＣＴ０２４３１９８８、ＮＣＴ０１８１５７４９、ＮＣＴ０２１５３５８０、ＮＣＴ０１８６５６１７、ＮＣＴ０２２０８３６２、ＮＣＴ０２６８５６７０、ＮＣＴ０２５３５３６４、ＮＣＴ０２６３１０４４、ＮＣＴ０２７２８８８２、ＮＣＴ０２７３５２９１、ＮＣＴ０１８６０９３７、ＮＣＴ０２８２２３２６、ＮＣＴ０２７３７０８５、ＮＣＴ０２４６５９８３、ＮＣＴ０２１３２６２４、ＮＣＴ０２７８２３５１、ＮＣＴ０１４９３４５３、ＮＣＴ０２６５２９１０、ＮＣＴ０２２４７６０９、ＮＣＴ０１０２９３６６、ＮＣＴ０１６２６４９５、ＮＣＴ０２７２１４０７、ＮＣＴ０１０４４０６９、ＮＣＴ００４２２３８３、ＮＣＴ０１６８０９９１、ＮＣＴ０２７９４９６１又はＮＣＴ０２４５６２０７に記載される抗ＣＤ１９　ＣＡＲを含み、それぞれその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０２６６】

いくつかの実施形態において、ＣＤ１９　ＣＡＲは、国際公開第２０１２／０７９００号パンフレットにおいて配列番号１２として提供される融合ポリペプチド配列を含み、これは、ヒトＣＤ１９に特異的に結合するマウス起源のｓｃＦｖフラグメントを提供する。

【０２６７】

いくつかの実施形態において、ＣＤ１９　ＣＡＲは、国際公開第２０１２／０７９００号パンフレットで配列番号１２として提供されるアミノ酸配列を含む。

【０２６８】

いくつかの実施形態において、ＣＤ１９　ＣＡＲは、

【化２】

diqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvklliyhtsrlhsgvpsrfsgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntl
pytfgggtkleitggggsggggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirqpprkglewlgviwgsettyyn
salksrltiikdnsksqvflkmnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdywgqgtsvtvsstttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpa
aggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadap
aykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstat
kdtydalhmqalppr (配列番号757)

のアミノ酸配列又はそれと実質的に相同な配列を含む。

【０２６９】

いくつかの実施形態において、ＣＤ１９　ＣＡＲは、

【化３】

eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntl
pytfgqgtkleikggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyyq
sslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvss (配列番号758)

のアミノ酸配列を含む。

【０２７０】

いくつかの実施形態において、ＣＤ１９　ＣＡＲは、アミノ酸配列：

【化４】

eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntl
pytfgqgtkleikggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyyq
sslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvssttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpa
aggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadap
aykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstat
kdtydalhmqalppr (配列番号759)

を含むヒト化ＣＤ１９　ＣＡＲである。

【０２７１】

いくつかの実施形態において、ＣＤ１９　ＣＡＲは、配列、例えば以下の表１に開示されるＣＤＲ、ＶＨ、ＶＬ、ｓｃＦｖ若しくは全長ＣＡＲ配列又はそれらと少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の同一性を有する配列を含む。

【０２７２】

【表４】

表 1. 例示的な抗 CD19 分子のアミノ酸配列

配列番号	領域	配列
CTL019		
760	HCDR1 (Kabat)	DYGVS
761	HCDR2 (Kabat)	VIWGSETTYYNSALKS
762	HCDR3 (Kabat)	HYYYGGSYAMDY
763	LCDR1 (Kabat)	RASQDISKYLN
764	LCDR2 (Kabat)	HTSRLHS
765	LCDR3 (Kabat)	QQGNTLPYT
766	CTL019 全アミノ酸配列	MALPVTALLLPLALLLHAARPdiqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvklliyhtsrlhsgvpsrfsgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntlpytfgggtkleitggggsggggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirqpprkglewlgviwgsettyynsalksrltiikdnsksqvflkmnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdywgqgtsvtvssttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr

【０２７３】

【表５】

685	CTL019 全ヌクレオチド配列	atggccttaccagtgaccgccttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccgccaggc cggacatccagatgacacagactacatcctccctgtctgcctctctgggagacagagtcac catcagttgcagggcaagtcaggacattagtaaatatttaaattggtatcagcagaaaccag atggaactgttaaactcctgatctaccatacatcaagattacactcaggagtcccatcaaggt tcagtggcagtgggtctggaacagattatctctcaccattagcaacctggagcaagaagat attgccacttacttttgccaacagggtaatacgcttccgtacacgttcggaggggggaccaa gctggagatcacaggtggcggtggctcgggcggtggtgggtcgggtggcggcggatct gaggtgaaactgcaggagtcaggacctggcctggtggcgccctcacagagcctgtccgt cacatgcactgtctcaggggtctcattacccgactatggtgtaagctggattcgccagcctc cacgaaagggtctggagtggctgggagtaatatggggtagtgaaaccacatactataattc agctctcaaatccagactgaccatcatcaaggacaactccaagagccaagttttcttaaaaat gaacagtctgcaaactgatgacacagccatttactactgtgccaaacattattactacggtgg tagctatgctatggactactggggccaaggaacctcagtcaccgtctcctcaaccacgacg ccagcgccgcgaccaccaacaccggcgcccaccatcgcgtcgcagcccctgtccctgc gcccagaggcgtgccggccagcggcgggggggcgcagtgcacacgagggggctggac ttcgcctgtgatatctacatctgggcgcccttggccgggacttgtggggtccttctcctgtcac tggttatcaccctttactgcaaacgggcagaaagaaactcctgtatatattcaaacaaccat ttatgagaccagtacaaactactcaagaggaagatggctgtagctgccgatttccagaaga agaagaaggaggatgtgaactgagagtgaagttcagcaggagcgcagacgcccccgcg tacaagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagta cgatgttttggacaagagacgtggccgggaccctgagatgggggggaaagccgagaagg aagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggccta cagtgagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggccttac cagggtctcagtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgcaggccctgccc cctcgc
686	CTL019 scFv ドメイン	Diqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvkllivhtsrlhsgvpsrf sgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntlpytfgggtkleitggggsggggsggggse vklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirqpprkglewlgviwgsettyyn salksrltiikdnsksqvflkmnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdywgqgtsvtv ss
ヒト化 CAR2		
760	HCDR1 (Kabat)	DYGVS
687	HCDR2 (Kabat)	VIWGSETTYYQSSLKS
762	HCDR3 (Kabat)	HYYYGGSYAMDY
763	LCDR1 (Kabat)	RASQDISKYLN
764	LCDR2 (Kabat)	HTSRLHS
76–	LCDR3 (Kabat)	QQGNTLPYT

【０２７４】

【表６】

758	CAR2 scFv ドメイン – aa (リンカーは下線で示す)	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKP GQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPED FAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGG SQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQ PPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVS LKLSSVTAADTAV– YCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSS
688	CAR2 scFv ドメイン - nt	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggcc cgaaattgtgatgacccagtcaccctgccactcttagcctttcaccctggtgagcgcgcaacc ctgtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagccctgg acaggctcctcgccttctgatctaccacaccagcggctccattctggaatccctgccaggt tcagcggtagcggatctgggaccgactacaccctcactatcagctcactgcagccagagg acttcgctgtctatttctgtcagcaagggaacaccctgccctacacctttggacagggcacc aagctcgagattaaaggtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaa gccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcact gacttgtactgtgagcggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccac cggggaagggtctggaatggattggagtgatttggggctctgagactacttactaccaatca tccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaact gtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcg ggagctacgcaatggattactggggacagggtactctggtcaccgt– tccagccaccaccatcatcaccatcaccat
689	CAR2 – 全 - aa	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERA TLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIP ARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFG QGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSE TLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSET TYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYC AKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAP TIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLA GTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLY NELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY NELQKDKMAEAYSEIGMKGERR– GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

【０２７５】

【表７】

690	CAR2 – 全 - nt	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggcc cgaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcaccccggtgagcgcgcaacc ctgtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagccccgg acaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggctccattctggaatccctgccaggt tcagcggtagcggatctgggaccgactacaccctcactatcagctcactgcagccagagg acttcgctgtctatttctgtcagcaagggaacaccctgccctacacctttggacagggcacc aagctcgagattaaaggtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaa gccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcact gacttgtactgtgagcggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccac cggggaagggtctggaatggattggagtgatttggggctctgagactacttactaccaatca tccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaact gtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcg ggagctacgcaatggattactggggacagggtactctggtcaccgtgtccagcaccactac cccagcaccgaggccacccacccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcg tccggaggcatgtagaccccgcagctggtggggccgtgcataccccggggtcttgacttcgc ctgcgatatctacatttgggccccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcactcgtg atcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatg aggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggagga ggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctaca agcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgac gtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaa gaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctata gcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtacca gggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcc tcgg
349	CAR 2A– 全アミノ酸配列; シグナルペプチドは下線で示す	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQ DISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTIS SLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIG VIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCA KHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKN PQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
225	CAR 2A – アミノ酸配列; シグナルペプチドなし	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLI YHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYT FGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTC TVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRVTIS KDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGT LVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA CDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTT QEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

【０２７６】

【表８】

354	CAR 2A 全核酸配列; シグナルペプチドと終止コドンは下線で示す	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggcccgaaattgtgatg acccagtcaccccgccactcttagccttttcaccccggtgagcgcgcaaccctgtcttgcagagcctccccaagacat ctcaaaatacctaattggtatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggc tccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccctcactatcagctcactg cagccagaggactlcgctgtctatttctgtcagcaagggaacaccctgccctacaccttggacagggcaccaa gctcgagattaaaggtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagccaggtccaactc caagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtgagcggagtgtctctc cccgattacgggggtgtcttggatcagacagccaccggggaagggtctggaatggattggagtgattgggggct ctgagactacttactaccaatcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgt cactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcggga gctacgcaatggattactggggacagggtactctggtcaccgtgtccagcaccactaccccagcaccgaggc cacccacccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctg gtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttgggccccctctggctggtacttgcg gggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatcttaagca acccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggagga aggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctaccagcagggcagaac cagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggga cccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggat aagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggact gtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
355	CAR 2A 核酸配列; シグナルペプチドは下線で示す; 終止コドンなし	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggcccgaaattgtgatg acccagtcaccccgccactcttagccttttcaccccggtgagcgcgcaaccctgtcttgcagagcctccccaagacat ctcaaaatacctaattggtatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggc tccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccctcactatcagctcactg cagccagaggactlcgctgtctatttctgtcagcaagggaacaccctgccctacaccttggacagggcaccaa gctcgagattaaaggtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagccaggtccaactc caagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtgagcggagtgtctctc cccgattacgggggtgtcttggatcagacagccaccggggaagggtctggaatggattggagtgatttgggggct ctgagactacttactaccaatcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgt cactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcggga gctacgcaatggattactggggacagggtactctggtcaccgtgtccagcaccactaccccagcaccgaggc cacccacccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctg gtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttgggccccctctggctggtacttgcg gggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatcttaagca acccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggagga aggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctaccagcagggcagaac cagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggga cccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggat aagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggac tgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg

【０２７７】

【表９】

356	CAR 2A 核酸配列; シグナル ペプチド なし: 終止 コドンは 下線で示す	gaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagccttcacccggtgagcgcgcaaccctgtcttgcagagc ctcccaagacatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctacca caccagccggctccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccctcact atcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaagggaacaccctgccctacacctttgga cagggcaccaagctcgagattaaaggtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagc caggtccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtgag cggagtgtctctcccgattacggggtgtcttggatcagacagccaccgggaagggtctggaatggattgga gtgatttgggggctctgagactacttactaccaatcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactcta agaatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgacccgcagccgacacccgccgtgtactattgcgctaagcattact attatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggtactctggtcaccgtgtccagcaccactaccca agcaccgaggccacccaccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtag accccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttgggcccctctgg ctggtacttgcggggtcctgctgtttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgta catctttaagcaacccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccag aggaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctaccagca ggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcgga gaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaatccccaagagggcctgtacaacgag ctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaag gccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggcc ctgccgcctcggtaa
417	CAR 2A 核酸配列; シグナル ペプチド なし; 終止 コドンなし	gaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcacccggtgagcgcgcaaccct gtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccggac aggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggctccattctggaatccctgccaggttc agcggtagcggatctgggaccgactacaccctcactatcagctcactgcagccagaggac ttcgctgtctatttctgtcagcaagggaacaccctgccctacacctttggacagggcaccaa gctcgagattaaaggtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagc caggtccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactga cttgtactgtgagcggagtgtctctcccgattacggggtgtcttggatcagacagccaccg gggaagggtctggaatggattggagtgatttggggctctgagactacttactaccaatcatc cctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaactgt catctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcggg agctacgcaatggattactggggacagggtactctggtcaccgtgtccagcaccactaccc cagcaccgaggccacccaccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtc cggaggcatgtagaccccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgcct gcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcactcgtgat cactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgag gcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggagg aaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctaccag caggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgt gctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaaga atccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagc gagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagg gactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctc gg
250	抗CD19 VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWI GVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYC AKHYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSS
251	抗CD19 VL	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLI YHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYT FGQGTKLEIK
331	VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWI GVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYC AKHYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSS
332	VL	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLI YHTSRLHSGIPARFSGSSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYT FGCGTKLEIK

【０２７８】

ＢＣＭＡ

非限定的な例示的な腫瘍抗原は、ＢＣＭＡである。ＢＣＭＡに結合するＣＡＲは、当技術分野で公知である。例えば、国際公開第２０１６／０１４５６５号パンフレット又は国際公開第２０１９／２４１４２６号パンフレットに開示されるものである。当技術分野において、任意の公知のＢＣＭＡ　ＣＡＲ、例えば任意の公知のＢＣＭＡ　ＣＡＲのＢＣＭＡ抗原結合ドメインは、本開示に従って使用され得る。例えば、国際公開第２０１６／０１４５６５号パンフレットに開示されるＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－２、ＢＣＭＡ－３、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－９

、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１１、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４、ＢＣＭＡ－１５、１４９３６２、１４９３６３、１４９３６４、１４９３６５、１４９３６６、１４９３６７、１４９３６８、１４９３６９、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｃ７、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｇ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｄ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ａ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８１－Ｃ３、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ４、Ａ７Ｄ１２．２、Ｃ１１Ｄ５．３、Ｃ１２Ａ３．２又はＣ１３Ｆ１２．１である。

【０２７９】

いくつかの実施形態において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、国際公開第２０１６／０１４５６５号パンフレットに開示されるＢＣＭＡ－１、ＢＣＭＡ－２、ＢＣＭＡ－３、ＢＣＭＡ－４、ＢＣＭＡ－５、ＢＣＭＡ－６、ＢＣＭＡ－７、ＢＣＭＡ－８、ＢＣＭＡ－９、ＢＣＭＡ－１０、ＢＣＭＡ－１１、ＢＣＭＡ－１２、ＢＣＭＡ－１３、ＢＣＭＡ－１４、ＢＣＭＡ－１５、１４９３６２、１４９３６３、１４９３６４、１４９３６５、１４９３６６、１４９３６７、１４９３６８、１４９３６９、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｃ７、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７９－Ｃ１２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｇ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ｄ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ａ１０、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｄ４、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８０－Ａ２、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９８１－Ｃ３、ＢＣＭＡ＿ＥＢＢ－Ｃ１９７８－Ｇ４、Ａ７Ｄ１２．２、Ｃ１１Ｄ５．３、Ｃ１２Ａ３．２又はＣ１３Ｆ１２．１の、１つ以上のＣＤＲ、ＶＨ、ＶＬ、ｓｃＦＶ若しくは全長配列又はそれと実質的に（例えば、９５～９９％）同一の配列を含む。

【０２８０】

いくつかの実施形態において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、配列、例えば表２～１４に開示されるＣＤＲ、ＶＨ、ＶＬ、ｓｃＦｖ若しくは全長ＣＡＲ配列又はそれらと少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の同一性を有する配列を含む。

【０２８１】

【表１０】

表 2. 例示的な PALLAS 由来抗 BCMA 分子のアミノ酸配列及び核酸配列

配列番号	名称/記述	配列
R1B6		
配列番号 44	HCDR1 (Kabat)	SYAMS
配列番号 45	HCDR2 (Kabat)	AISGSGGSTYYADSVKG
配列番号 46	HCDR3 (Kabat)	REWVPYDVSWYFDY
配列番号 47	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
配列番号 48	HCDR2 (Chothia)	SGSGGS
配列番号 46	HCDR3 (Chothia)	REWVPYDVSWYFDY
配列番号 49	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYA
配列番号 50	HCDR2 (IMGT)	ISGSGGST
配列番号 51	HCDR3 (IMGT)	ARREWVPYDVSWYFDY
配列番号 52	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARREWVPYDVSWYFDYWGQGTLVT VSS
配列番号 53	DNA VH	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAG CCCGGAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCT TTACCTTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGC TCCCGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGG TTCCGGCGGAAGCACTTACTATGCCGACTCTGTGAAGGG CCGCTTCACTATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTG TATCTCCAAATGAATTCCCTGAGGGCCGAAGATACCGCG GTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGGTGCCCTACGAT GTCAGCTGGTACTTCGACTACTGGGGACAGGGCACTCTC GTGACTGTGTCCTCC

【０２８２】

【表１１】

配列番号 54	LCDR1 (Kabat)	RASQSISSYLN
配列番号 55	LCDR2 (Kabat)	AASSLQS
配列番号 56	LCDR3 (Kabat)	QQSYSTPLT
配列番号 57	LCDR1 (Chothia)	SQSISSY
配列番号 58	LCDR2 (Chothia)	AAS
配列番号 59	LCDR3 (Chothia)	SYSTPL
配列番号 60	LCDR1 (IMGT)	QSISSY
配列番号 58	LCDR2 (IMGT)	AAS
配列番号 56	LCDR3 (IMGT)	QQSYSTPLT
配列番号 61	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIK
配列番号 62	DNA VL	GACATTCAAATGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCT CCGTGGGAGATCGCGTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCC AGAGCATCTCCAGCTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGC CAGGGAAGGCACCGAAGCTCCTGATCTACGCCGCTAGCT CGCTGCAGTCCGGCGTCCCTTCACGGTTCTCGGGATCGGG CTCAGGCACCGACTTCACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAG CCGGAGGACTTCGCGACATACTACTGTCAGCAGTCATACT CCACCCCTCTGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGA TCAAG
配列番号 63	リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
配列番号 64	scFv (VH-リンカー-VL)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARREWVPYDVSWYFDYWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTK VEIK

【０２８３】

【表１２】

配列番号 65	DNA scFv	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAG CCCGGAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCT TTACCTTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGC TCCCGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGG TTCCGGCGGAAGCACTTACTATGCCGACTCTGTGAAGGG CCGCTTCACTATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTG TATCTCCAAATGAATTCCCTGAGGGCCGAAGATACCGCG GTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGGTGCCCTACGAT GTCAGCTGGTACTTCGACTACTGGGGACAGGGCACTCTC GTGACTGTGTCCTCCGGTGGTGGTGGATCGGGGGGTGGT GGTTCGGGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGGGTCGGA CATTCAAATGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCC GTGGGAGATCGCGTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAG AGCATCTCCAGCTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCA GGGAAGGCACCGAAGCTCCTGATCTACGCCGCTAGCTCG CTGCAGTCCGGCGTCCCTTCACGGTTCTCGGGATCGGGCT CAGGCACCGACTTCACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGC CGGAGGACTTCGCGACATACTACTGTCAGCAGTCATACTC CACCCCTCTGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGAT CAAG
配列番号 66	全 CAR アミノ酸 配列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARREWVPYDVSWYFDYWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTK VEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAP AYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

【０２８４】

【表１３】

配列番号 67	全 CAR DNA 配列	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAG CCCGGAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCT TTACCTTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGC TCCCGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGG TTCCGGCGGAAGCACTTACTATGCCGACTCTGTGAAGGG CCGCTTCACTATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTG TATCTCCAAATGAATTCCCTGAGGGCCGAAGATACCGCG GTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGGTGCCCTACGAT GTCAGCTGGTACTTCGACTACTGGGGACAGGGCACTCTC GTGACTGTGTCCTCCGGTGGTGGTGGATCGGGGGGTGGT GGTTCGGGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGGGTCGGA CATTCAAATGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCC GTGGGAGATCGCGTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAG AGCATCTCCAGCTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCA GGGAAGGCACCGAAGCTCCTGATCTACGCCGCTAGCTCG CTGCAGTCCGGCGTCCCTTCACGGTTCTCGGGATCGGGCT CAGGCACCGACTTCACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGC CGGAGGACTTCGCGACATACTACTGTCAGCAGTCATACTC CACCCCTCTGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGAT CAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGC TCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAG GCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGG GGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTC TGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGAT CACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTAC ATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTC AAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGG AGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCA GCGCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCAGAACCAGC TCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACG ACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATG GGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCT GTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTA TAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCA AAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCA CCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCC GCCTCGG
R1F2		
配列番号 44	HCDR1 (Kabat)	SYAMS
配列番号 45	HCDR2 (Kabat)	AISGSGGSTYYADSVKG

【０２８５】

【表１４】

配列番号 68	HCDR3 (Kabat)	REWWYDDWYLDY
配列番号 47	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
配列番号 48	HCDR2 (Chothia)	SGSGGS
配列番号 68	HCDR3 (Chothia)	REWWYDDWYLDY
配列番号 49	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYA
配列番号 50	HCDR2 (IMGT)	ISGSGGST
配列番号 69	HCDR3 (IMGT)	ARREWWYDDWYLDY
配列番号 70	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARREWYDDWYLDYWGQGTLVTVSS
配列番号 71	DNA VH	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAG CCCGGAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCT TTACCTTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGC TCCCGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGG TTCCGGCGGAAGCACTTACTATGCCGACTCTGTGAAGGG CCGCTTCACTATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTG TATCTCCAAATGAATTCCCTGAGGGCCGAAGATACCGCG GTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGTGGTACGACGAT TGGTACCTGGACTACTGGGGACAGGGCACTCTCGTGACT GTGTCCTCC
配列番号 54	LCDR1 (Kabat)	RASQSISSYLN
配列番号 55	LCDR2 (Kabat)	AASSLQS
配列番号 56	LCDR3 (Kabat)	QQSYSTPLT
配列番号 57	LCDR1 (Chothia)	SQSISSY

【０２８６】

【表１５】

配列番号 58	LCDR2 (Chothia)	AAS
配列番号 59	LCDR3 (Chothia)	SYSTPL
配列番号 60	LCDR1 (IMGT)	QSISSY
配列番号 58	LCDR2 (IMGT)	AAS
配列番号 56	LCDR3 (IMGT)	QQSYSTPLT
配列番号 61	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIK
配列番号 62	DNA VL	GACATTCAAATGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCT CCGTGGGAGATCGCGTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCC AGAGCATCTCCAGCTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGC CAGGGAAGGCACCGAAGCTCCTGATCTACGCCGCTAGCT CGCTGCAGTCCGGCGTCCCTTCACGGTTCTCGGGATCGGG CTCAGGCACCGACTTCACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAG CCGGAGGACTTCGCGACATACTACTGTCAGCAGTCATACT CCACCCCTCTGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGA TCAAG
配列番号 63	リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
配列番号 72	scFv (VH-リンカー-VL)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARREWWYDDWYLDYWGQGTLVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKV EIK

【０２８７】

【表１６】

配列番号 73	DNA scFv	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAG CCCGGAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCT TTACCTTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGC TCCCGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGG TTCCGGCGGAAGCACTTACTATGCCGACTCTGTGAAGGG CCGCTTCACTATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTG TATCTCCAAATGAATTCCCTGAGGGCCGAAGATACCGCGG TGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGTGGTACGACGAT TGGTACCTGGACTACTGGGGACAGGGCACTCTCGTGACT GTGTCCTCCGGTGGTGGTGGATCGGGGGGTGGTGGTTCG GGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGGGTCGGACATTCA AATGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCCGTGGGA GATCGCGTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAGAGCATC TCCAGCTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAG GCACCGAAGCTCCTGATCTACGCCGCTAGCTCGCTGCAGT CCGGCGTCCCTTCACGGTTCTCGGGATCGGGCTCAGGCAC CGACTTCACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAGGA CTTCGCGACATACTACTGTCAGCAGTCATACTCCACCCCT CTGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAG
配列番号 74	全 CAR アミノ酸 配列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARREWWYDDWYLDYWGQGTLVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKV EIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQ PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALPPR

【０２８８】

【表１７】

配列番号 75	全 CAR DNA 配列	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAG CCCGGAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCT TTACCTTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGC TCCCGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGG TTCCGGCGGAAGCACTTACTATGCCGACTCTGTGAAGGG CCGCTTCACTATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTG TATCTCCAAATGAATTCCCTGAGGGCCGAAGATACCGCG GTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGTGGTACGACGAT TGGTACCTGGACTACTGGGGACAGGGCACTCTCGTGACT GTGTCCTCCGGTGGTGGTGGATCGGGGGGTGGTGGTTCG GGCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGGGTCGGACATTCA AATGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCCGTGGGA GATCGCGTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAGAGCATC TCCAGCTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAG GCACCGAAGCTCCTGATCTACGCCGCTAGCTCGCTGCAGT CCGGCGTCCCTTCACGGTTCTCGGGATCGGGCTCAGGCAC CGACTTCACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAGGA CTTCGCGACATACTACTGTCAGCAGTCATACTCCACCCCT CTGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAGACC ACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACC ATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTA GACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTG ACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGG TACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTT ACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTA AGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGG AGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAG GCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAG ATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACA ACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGC TGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGG AAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAAC GAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAG ATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCA CGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGA CACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
R1G5		
配列番号 44	HCDR1 (Kabat)	SYAMS

【０２８９】

【表１８】

配列番号 45	HCDR2 (Kabat)	AISGSGGSTYYADSVKG
配列番号 76	HCDR3 (Kabat)	REWWGESWLFDY
配列番号 47	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
配列番号 48	HCDR2 (Chothia)	SGSGGS
配列番号 76	HCDR3 (Chothia)	REWWGESWLFDY
配列番号 49	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYA
配列番号 50	HCDR2 (IMGT)	ISGSGGST
配列番号 77	HCDR3 (IMGT)	ARREWGESWLFDY
配列番号 78	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARREWWGESWLFDYWGQGTLVTVSS
配列番号 79	DNA VH	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAG CCCGGAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCT TTACCTTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGC TCCCGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGG TTCCGGCGGAAGCACTTACTATGCCGACTCTGTGAAGGGC CGCTTCACTATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTG TATCTCCAAATGAATTCCCTGAGGGCCGAAGATACCGCG GTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGTGGGGAGAAAGC TGGCTGTTCGACTACTGGGGACAGGGCACTCTCGTGACTG TGTCCTCC
配列番号 54	LCDR1 (Kabat)	RASQSISSYLN
配列番号 55	LCDR2 (Kabat)	AASSLQS
配列番号 56	LCDR3 (Kabat)	QQSYSTPLT
配列番号 57	LCDR1 (Chothia)	SQSISSY

【０２９０】

【表１９】

配列番号 58	LCDR2 (Chothia)	AAS
配列番号 59	LCDR3 (Chothia)	SYSTPL
配列番号 60	LCDR1 (IMGT)	QSISSY
配列番号 58	LCDR2 (IMGT)	AAS
配列番号 56	LCDR3 (IMGT)	QQSYSTPLT
配列番号 61	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIK
配列番号 62	DNA VL	GACATTCAAATGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCT CCGTGGGAGATCGCGTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCC AGAGCATCTCCAGCTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGC CAGGGAAGGCACCGAAGCTCCTGATCTACGCCGCTAGCT CGCTGCAGTCCGGCGTCCCTTCACGGTTCTCGGGATCGGG CTCAGGCACCGACTTCACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAG CCGGAGGACTTCGCGACATACTACTGTCAGCAGTCATACT CCACCCCTCTGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGA TCAAG
配列番号 63	リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
配列番号 80	scFv (VH-リンカー-VL)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARREWWGESWLFDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEI K

【０２９１】

【表２０】

配列番号 81	DNA scFv	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAG CCCGGAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCT TTACCTTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGC TCCCGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGG TTCCGGCGGAAGCACTTACTATGCCGACTCTGTGAAGGG CCGCTTCACTATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTG TATCTCCAAATGAATTCCCTGAGGGCCGAAGATACCGCG GTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGTGGGGAGAAAGC TGGCTGTTCGACTACTGGGGACAGGGCACTCTCGTGACTG TGTCCTCCGGTGGTGGTGGATCGGGGGGTGGTGGTTCGG GCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGGGTCGGACATTCAA ATGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCCGTGGGAG ATCGCGTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAGAGCATCT CCAGCTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAGG CACCGAAGCTCCTGATCTACGCCGCTAGCTCGCTGCAGTC CGGCGTCCCTTCACGGTTCTCGGGATCGGGCTCAGGCACC GACTTCACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAGGAC TTCGCGACATACTACTGTCAGCAGTCATACTCCACCCCTC TGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAG
配列番号 82	全 CAR アミノ酸 配列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARREWWGESWLFDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEI KTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD FACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAY QQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ GLSTATKDTYDALHMQALPPR

【０２９２】

【表２１】

配列番号 83	全 CAR DNA 配列	GAAGTGCAGTTGCTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAG CCCGGAGGATCGCTTCGCTTGAGCTGCGCAGCCTCAGGCT TTACCTTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACAGGC TCCCGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGG TTCCGGCGGAAGCACTTACTATGCCGACTCTGTGAAGGG CCGCTTCACTATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTG TATCTCCAAATGAATTCCCTGAGGGCCGAAGATACCGCG GTGTACTACTGCGCTAGACGGGAGTGGTGGGGAGAAAGC TGGCTGTTCGACTACTGGGGACAGGGCACTCTCGTGACTG TGTCCTCCGGTGGTGGTGGATCGGGGGGTGGTGGTTCGG GCGGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGGGTCGGACATTCAA ATGACTCAGTCCCCGTCCTCCCTCTCCGCCTCCGTGGGAG ATCGCGTCACGATCACGTGCAGGGCCAGCCAGAGCATCT CCAGCTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAAGG CACCGAAGCTCCTGATCTACGCCGCTAGCTCGCTGCAGTC CGGCGTCCCTTCACGGTTCTCGGGATCGGGCTCAGGCACC GACTTCACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAGGAC TTCGCGACATACTACTGTCAGCAGTCATACTCCACCCCTC TGACCTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAGACCA CTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCA TCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAG ACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGA CTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGT ACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTT TACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTA AGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGG AGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAG GCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAG ATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACA ACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGC TGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGG AAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAAC GAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAG ATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCA CGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGA CACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG

【０２９３】

【表２２】

表 3. 例示的な PALLAS 由来の抗 BCMA 分子の KabatCDR

Kabat	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
R1B6	SYAMS (配列番号 44)	AISGSGGSTYYADSVKG (配列番号 45)	REWVPYDVSWYFDY (配列番号 46)	RASQSISSYLN(配列番号 54)	AASSLQS (配列番号 55)	QQSYSTPLT (配列番号 56)
R1F2	SYAMS (配列番号 44)	AISGSGGSTYYADSVKG (配列番号 45)	REWWYDDWYLDY (配列番号 68)	RASQSISSYLN(配列番号 54)	AASSLQS (配列番号 55)	QQSYSTPLT (配列番号 56)
R1G5	SYAMS (配列番号 44)	AISGSGGSTYYADSVKG (配列番号 45)	REWWGESWLFDY (配列番号 76)	RASQSISSYLN(配列番号 54)	AASSLQS (配列番号 55)	QQSYSTPLT (配列番号 56)
コンセンサス	SYAMS (配列番号 44)	AISGSGGSTYYADSVKG (配列番号 45)	REWX$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$X$_6$WX$_7$X$_8$DY (X_1 は存在しないか、又はVであり;X_2は存在しないか、又はPであり;X_3はW又はYであり;X_4はG、Y、又はDであり;X_5はE、D、又はVであり;X_6はS又はDであり;X_7はL又はYであり;X_8はF又はLである)(配列番号 84)	RASQSISSYLN(配列番号 54)	AASSLQS (配列番号 55)	QQSYSTPLT (配列番号 56)

【０２９４】

【表２３】

表 4. 例示的な PALLAS 由来の抗 BCMA 分子の ChothiaCDR

Chothia	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
R1B6	GFTFSSY (配列番号 47)	SGSGGS (配列番号 48)	REWVPYDV SWYFDY (配列番号 46)	(SQSISSY 配列番号 57)	AAS (配列番号 58)	SYSTPL (配列番号 59)
R1F2	GFTFSSY (配列番号 47)	SGSGGS (配列番号 48)	REWWYDD WYLDY (配列番号 68)	SQSISSY (配列番号 57)	AAS (配列番号 58)	SYSTPL (配列番号 59)
R1G5	GFTFSSY (配列番号 47)	SGSGGS (配列番号 48)	REWWGES WLFDY (配列番号 76)	SQSISSY (配列番号 57)	AAS (配列番号 58)	SYSTPL (配列番号 59)
コンセンサス	GFTFSSY (配列番号 47)	SGSGGS (配列番号 48)	REWX_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6W$X_7$$X_8$DY ($X_1$ は存在しないか、又は V であり;X_2 は存在しないか、又は P であり;X_3 は W 又は Y であり;X_4 は G、Y、又は D であり;X_5 は E、D、又は V であり;X_6 は S 又は D であり;X_7 は L 又は Y であり; X_8 は F 又は L である)(配列番号 84)	SQSISSY (配列番号 57)	AAS (配列番号 58)	SYSTPL (配列番号 59)

【０２９５】

【表２４】

表 5. 例示的な PALLAS 由来の抗 BCMA 分子の IMGT CDR

IMGT	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
R1B6	GFTFSSYA (配列番号 49)	ISGSGGST (配列番号 50)	ARREWVPY DVSWYFDY (配列番号 51)	QSISSY (配列番号 60)	AAS (配列番号 58)	QQSYST PLT (配列番号 56)
R1F2	GFTFSSYA (配列番号 49)	ISGSGGST (配列番号 50)	ARREWWY DDWYLDY (配列番号 69)	QSISSY (配列番号 60)	AAS (配列番号 58)	QQSYST PLT (配列番号 56)
R1G5	GFTFSSYA (配列番号 49)	ISGSGGST (配列番号 50)	ARREWWGE SWLFDY (配列番号 77)	QSISSY (配列番号 60)	AAS (配列番号 58)	QQSYST PLT (配列番号 56)
コンセンサス	GFTFSSYA (配列番号 49)	ISGSGGST (配列番号 50)	ARREWX$_1$ X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$X$_6$WX$_7$X$_8$DY (X_1 は存在しないか V であり;X_2は存在しないか、又は P であり;X_3 は W 又は Y であり;X_4 は G、Y、又は D であり;X_5 は E、D、又は V であり;X_6はS 又は D であり;X_7 は L 又は Y であり、X_8 は F 又は L である)(配列番号 85)	QSISSY (配列番号 60)	AAS (配列番号 58)	QQSYST PLT (配列番号 56)

【０２９６】

【表２５】

表 6. 例示的な B 細胞由来抗 BCMA 分子のアミノ酸配列及び核酸配列

配列番号	名称/記述	配列
PI61		
配列番号 86	HCDR1 (Kabat)	SYGMH

【０２９７】

【表２６】

配列番号 87	HCDR2 (Kabat)	VISYDGSNKYYADSVKG
配列番号 88	HCDR3 (Kabat)	SGYALHDDYYGLDV
配列番号 47	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
配列番号 89	HCDR2 (Chothia)	SYDGSN
配列番号 88	HCDR3 (Chothia)	SGYALHDDYYGLDV
配列番号 90	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYG
配列番号 91	HCDR2 (IMGT)	ISYDGSNK
配列番号 92	HCDR3 (IMGT)	GGSGYALHDDYYGLDV
配列番号 93	VH	QVQLQESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTV SS
配列番号 94	DNA VH	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCCGGTGGCGGAGTCGTGCAG CCTGGAAGGAGCCTGAGACTCTCATGCGCCGCGTCAGGGT TCACCTTTTCCTCCTACGGGATGCATTGGGTCAGACAGGC CCCCGGAAAGGGACTCGAATGGGTGGCTGTGATCAGCTAC GACGGCTCCAACAAGTACTACGCCGACTCCGTGAAAGGCC GGTTCACTATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACGCTGTA TCTGCAAATGAATTCACTGCGCGCGGAGGATACCGCTGTG TACTACTGCGGTGGCTCCGGTTACGCCCTGCACGATGACT ATTACGGCCTTGACGTCTGGGGCCAGGGAACCCTCGTGAC TGTGTCCAGC
配列番号 95	LCDR1 (Kabat)	TGTSSDVGGYNYVS
配列番号 96	LCDR2 (Kabat)	DVSNRPS
配列番号 97	LCDR3 (Kabat)	SSYTSSSTLYV
配列番号 98	LCDR1 (Chothia)	TSSDVGGYNY
配列番号 99	LCDR2 (Chothia)	DVS
配列番号 100	LCDR3 (Chothia)	YTSSSTLY
配列番号 101	LCDR1 (IMGT)	SSDVGGYNY

【０２９８】

【表２７】

配列番号 99	LCDR2 (IMGT)	DVS
配列番号 97	LCDR3 (IMGT)	SSYTSSSTLYV
配列番号 102	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHP GKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAED EADYYCSSYTSSSTLYVFGSGTKVTVL
配列番号 103	DNA VL	CAGAGCGCACTGACTCAGCCGGCATCCGTGTCCGGTAGCC CCGGACAGTCGATTACCATCTCCTGTACCGGCACCTCCTC CGACGTGGGAGGGTACAACTACGTGTCGTGGTACCAGCA GCACCCAGGAAAGGCCCCTAAGTTGATGATCTACGATGTG TCAAACCGCCCGTCTGGAGTCTCCAACCGGTTCTCCGGCT CCAAGTCCGGCAACACCGCCAGCCTGACCATTAGCGGGCT GCAAGCCGAGGATGAGGCCGACTACTACTGCTCGAGCTAC ACATCCTCGAGCACCCTCTACGTGTTCGGCTCGGGGACTA AGGTCACCGTGCTG
配列番号 104	リンカー	GGGGSGGGGGGGGS
配列番号 105	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLQESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTS SDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGSGTKVT VL
配列番号 106	DNA scFv	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCCGGTGGCGGAGTCGTGCAG CCTGGAAGGAGCCTGAGACTCTCATGCGCCGCGTCAGGGT TCACCTTTTCCTCCTACGGGATGCATTGGGTCAGACAGGC CCCCGGAAAGGGACTCGAATGGGTGGCTGTGATCAGCTAC GACGGCTCCAACAAGTACTACGCCGACTCCGTGAAAGGCC GGTTCACTATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACGCTGTA TCTGCAAATGAATTCACTGCGCGCGGAGGATACCGCTGTG TACTACTGCGGTGGCTCCGGTTACGCCCTGCACGATGACT ATTACGGCCTTGACGTCTGGGGCCAGGGAACCCTCGTGAC TGTGTCCAGCGGTGGAGGAGGTTCGGGCGGAGGAGGATC AGGAGGGGGTGGATCGCAGAGCGCACTGACTCAGCCGGC ATCCGTGTCCGGTAGCCCCGGACAGTCGATTACCATCTCC TGTACCGGCACCTCCTCCGACGTGGGAGGGTACAACTACG TGTCGTGGTACCAGCAGCACCCAGGAAAGGCCCCTAAGTT GATGATCTACGATGTGTCAAACCGCCCGTCTGGAGTCTCC AACCGGTTCTCCGGCTCCAAGTCCGGCAACACCGCCAGCC TGACCATTAGCGGGCTGCAAGCCGAGGATGAGGCCGACT ACTACTGCTCGAGCTACACATCCTCGAGCACCCTCTACGT GTTCGGCTCGGGGACTAAGGTCACCGTGCTG

【０２９９】

【表２８】

配列番号 107	全 CAR アミノ酸配列	QVQLQESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTS SDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGSGTKVT VLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD FACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPF MRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQ QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLS TATKDTYDALHMQALPPR
配列番号 108	全 CAR DNA 配列	CAAGTGCAGCTGCAGGAATCCGGTGGCGGAGTCGTGCAG CCTGGAAGGAGCCTGAGACTCTCATGCGCCGCGTCAGGGT TCACCTTTTCCTCCTACGGGATGCATTGGGTCAGACAGGC CCCCGGAAAGGGACTCGAATGGGTGGCTGTGATCAGCTAC GACGGCTCCAACAAGTACTACGCCGACTCCGTGAAAGGCC GGTTCACTATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACGCTGTA TCTGCAAATGAATTCACTGCGCGCGGAGGATACCGCTGTG TACTACTGCGGTGGCTCCGGTTACGCCCTGCACGATGACT ATTACGGCCTTGACGTCTGGGGCCAGGGAACCCTCGTGAC TGTGTCCAGCGGTGGAGGAGGTTCGGGCGGAGGAGGATC AGGAGGGGGTGGATCGCAGAGCGCACTGACTCAGCCGGC ATCCGTGTCCGGTAGCCCCGGACAGTCGATTACCATCTCC TGTACCGGCACCTCCTCCGACGTGGGAGGGTACAACTACG TGTCGTGGTACCAGCAGCACCCAGGAAAGGCCCCTAAGTT GATGATCTACGATGTGTCAAACCGCCCGTCTGGAGTCTCC AACCGGTTCTCCGGCTCCAAGTCCGGCAACACCGCCAGCC TGACCATTAGCGGGCTGCAAGCCGAGGATGAGGCCGACT ACTACTGCTCGAGCTACACATCCTCGAGCACCCTCTACGT GTTCGGCTCGGGGACTAAGGTCACCGTGCTGACCACTACC CCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCT CCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGC AGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCC TGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGG GGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGC GCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTT CATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTG TTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGA ACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCC TACCAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAAT CTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGG AGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAG AAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAG GATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAA GGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTAC

【０３００】

【表２９】

		CAGGGACTCAGCACCGCCACcaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
B61-02		
配列番号 86	HCDR1 (Kabat)	SYGMH
配列番号 109	HCDR2 (Kabat)	VISYKGSNKYYADSVKG
配列番号 88	HCDR3 (Kabat)	SGYALHDDYYGLDV
配列番号 47	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
配列番号 110	HCDR2 (Chothia)	SYKGSN
配列番号 88	HCDR3 (Chothia)	SGYALHDDYYGLDV
配列番号 90	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYG
配列番号 111	HCDR2 (IMGT)	ISYKGSNK
配列番号 92	HCDR3 (IMGT)	GGSGYALHDDYYGLDV
配列番号 112	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYKGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTVSS
配列番号 113	DNH VH	CAAGTGCAGCTTGTCGAATCGGGAGGCGGAGTGGTGCAGCCTGGACGATCGCTCCGGCTCTCATGTGCCGCGAGCGGATTCACCTTCTCGAGCTACGGCATGCACTGGGTCAGACAAGCCCCAGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGGCTGTCATCTCGTACAAGGGCTCAAACAAGTACTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGCGATAACTCCAAGAATACCCTCTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGATACTGCAGTGTACTACTGCGGGGGTTCAGGCTACGCGCTGCACGACGACTACTACGGATTGGACGTCTGGGGCCAAGGAACTCTTGTGACCGTGTCCTCT
配列番号 95	LCDR1 (Kabat)	TGTSSDVGGYNYVS
配列番号 114	LCDR2 (Kabat)	EVSNRLR
配列番号 115	LCDR3 (Kabat)	SSYTSSSALYV

【０３０１】

【表３０】

配列番号 98	LCDR1 (Chothia)	TSSDVGGYNY
配列番号 116	LCDR2 (Chothia)	EVS
配列番号 117	LCDR3 (Chothia)	YTSSSALY
配列番号 101	LCDR1 (IMGT)	SSDVGGYNY
配列番号 116	LCDR2 (IMGT)	EVS
配列番号 115	LCDR3 (IMGT)	SSYTSSSALYV
配列番号 118	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHP GKAPKLMIYEVSNRLRGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAED EADYYCSSYTSSSALYVFGSGTKVTVL
配列番号 119	DNA VL	CAGAGCGCGCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGAGCGGTTCGC CGGGACAGTCCATTACCATTTCGTGCACCGGGACCTCCTC CGACGTGGGAGGCTACAACTACGTGTCCTGGTACCAGCAG CATCCCGGAAAGGCCCCGAAGCTGATGATCTACGAAGTGT CGAACAGACTGCGGGGAGTCTCCAACCGCTTTTCCGGGTC CAAGTCCGGCAACACCGCCAGCCTGACCATCAGCGGGCTC CAGGCAGAAGATGAGGCTGACTATTACTGCTCCTCCTACA CGTCAAGCTCCGCCCTCTACGTGTTCGGGTCCGGGACCAA AGTCACTGTGCTG
配列番号 63	リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
配列番号 120	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVISYKGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITI SCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYEVSNRLRGVS NRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSALYVFGS GTKVTVL

【０３０２】

【表３１】

配列 番号 121	DNA scFv	CAAGTGCAGCTTGTCGAATCGGGAGGCGGAGTGGTGCAG CCTGGACGATCGCTCCGGCTCTCATGTGCCGCGAGCGGAT TCACCTTCTCGAGCTACGGCATGCACTGGGTCAGACAAGC CCCAGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGGCTGTCATCTCGTAC AAGGGCTCAAACAAGTACTACGCCGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCCGCGATAACTCCAAGAATACCCTCT ATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGATACTGCAG TGTACTACTGCGGGGGTTCAGGCTACGCGCTGCACGACGA CTACTACGGATTGGACGTCTGGGGCCAAGGAACTCTTGTG ACCGTGTCCTCTGGTGGAGGCGGATCAGGGGGTGGCGGAT CTGGGGGTGGTGGTTCCGGGGGAGGAGGATCGCAGAGCG CGCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGAGCGGTTCGCCGGGACA GTCCATTACCATTTCGTGCACCGGGACCTCCTCCGACGTG GGAGGCTACAACTACGTGTCCTGGTACCAGCAGCATCCCG GAAAGGCCCCGAAGCTGATGATCTACGAAGTGTCGAACA GACTGCGGGGAGTCTCCAACCGCTTTTCCGGGTCCAAGTC CGGCAACACCGCCAGCCTGACCATCAGCGGGCTCCAGGC AGAAGATGAGGCTGACTATTACTGCTCCTCCTACACGTCA AGCTCCGCCCTCTACGTGTTCGGGTCCGGGACCAAAGTCA CTGTGCTG
配列 番号 122	全 CAR アミノ酸 配列	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVISYKGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITI SCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYEVSNRLRGVS NRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSALYVFGS GTKVTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVH TRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADA PAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALPPR

【０３０３】

【表３２】

配列番号 123	全 CAR DNA 配列	CAAGTGCAGCTTGTCGAATCGGGAGGCGGAGTGGTGCAG CCTGGACGATCGCTCCGGCTCTCATGTGCCGCGAGCGGAT TCACCTTCTCGAGCTACGGCATGCACTGGGTCAGACAAGC CCCAGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGGCTGTCATCTCGTAC AAGGGCTCAAACAAGTACTACGCCGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCCGCGATAACTCCAAGAATACCCTCT ATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGATACTGCAG TGTACTACTGCGGGGGTTCAGGCTACGCGCTGCACGACGA CTACTACGGATTGGACGTCTGGGGCCAAGGAACTCTTGTG ACCGTGTCCTCTGGTGGAGGCGGATCAGGGGGTGGCGGAT CTGGGGGTGGTGGTTCCGGGGGAGGAGGATCGCAGAGCG CGCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGAGCGGTTCGCCGGGACA GTCCATTACCATTTCGTGCACCGGGACCTCCTCCGACGTG GGAGGCTACAACTACGTGTCCTGGTACCAGCAGCATCCCG GAAAGGCCCCGAAGCTGATGATCTACGAAGTGTCGAACA GACTGCGGGGAGTCTCCAACCGCTTTTCCGGGTCCAAGTC CGGCAACACCGCCAGCCTGACCATCAGCGGGCTCCAGGC AGAAGATGAGGCTGACTATTACTGCTCCTCCTACACGTCA AGCTCCGCCCTCTACGTGTTCGGGTCCGGGACCAAAGTCA CTGTGCTGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCC GGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGG AGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCG GGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTC TGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATC ACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACA TCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCA AGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGA GGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAG CGCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCAGAACCAGCT CTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGA CGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGG CGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTA CAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAG CGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGG CCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAA GGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCT CGG
B61-10		
配列番号 86	HCDR1 (Kabat)	SYGMH
配列番号 109	HCDR2 (Kabat)	VISYKGSNKYYADSVKG
配列番号 88	HCDR3 (Kabat)	SGYALHDDYYGLDV

【０３０４】

【表３３】

配列番号 47	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
配列番号 110	HCDR2 (Chothia)	SYKGSN
配列番号 88	HCDR3 (Chothia)	SGYALHDDYYGLDV
配列番号 90	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYG
配列番号 111	HCDR2 (IMGT)	ISYKGSNK
配列番号 92	HCDR3 (IMGT)	GGSGYALHDDYYGLDV
配列番号 112	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVISYKGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTV SS
配列番号 113	DNA VH	CAAGTGCAGCTTGTCGAATCGGGAGGCGGAGTGGTGCAG CCTGGACGATCGCTCCGGCTCTCATGTGCCGCGAGCGGAT TCACCTTCTCGAGCTACGGCATGCACTGGGTCAGACAAGC CCCAGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGGCTGTCATCTCGTAC AAGGGCTCAAACAAGTACTACGCCGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCCGCGATAACTCCAAGAATACCCTCT ATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGATACTGCAG TGTACTACTGCGGGGGTTCAGGCTACGCGCTGCACGACGA CTACTACGGATTGGACGTCTGGGGCCAAGGAACTCTTGTG ACCGTGTCCTCT
配列番号 95	LCDR1 (Kabat)	TGTSSDVGGYNYVS
配列番号 114	LCDR2 (Kabat)	EVSNRLR
配列番号 97	LCDR3 (Kabat)	SSYTSSSTLYV
配列番号 98	LCDR1 (Chothia)	TSSDVGGYNY
配列番号 116	LCDR2 (Chothia)	EVS
配列番号 100	LCDR3 (Chothia)	YTSSSTLY

【０３０５】

【表３４】

配列番号 101	LCDR1 (IMGT)	SSDVGGYNY
配列番号 116	LCDR2 (IMGT)	EVS
配列番号 97	LCDR3 (IMGT)	SSYTSSSTLYV
配列番号 124	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHP GKAPKLMIYEVSNRLRGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAED EADYYCSSYTSSSTLYVFGSGTKVTVL
配列番号 125	DNA VL	CAGAGCGCGCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGAGCGGTTCGC CGGGACAGTCCATTACCATTTCGTGCACCGGGACCTCCTC CGACGTGGGAGGCTACAACTACGTGTCCTGGTACCAGCAG CATCCCGGAAAGGCCCCGAAGCTGATGATCTACGAAGTGT CGAACAGACTGCGGGGAGTCTCCAACCGCTTTTCCGGGTC CAAGTCCGGCAACACCGCCAGCCTGACCATCAGCGGGCTC CAGGCAGAAGATGAGGCTGACTATTACTGCTCCTCCTACA CGTCAAGCTCCACCCTCTACGTGTTCGGGTCCGGGACCAA AGTCACTGTGCTG
配列番号 63	リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
配列番号 126	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVISYKGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITI SCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYEVSNRLRGVS NRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGS GTKVTVL
配列番号 127	DNA scFv	CAAGTGCAGCTTGTCGAATCGGGAGGCGGAGTGGTGCAG CCTGGACGATCGCTCCGGCTCTCATGTGCCGCGAGCGGAT TCACCTTCTCGAGCTACGGCATGCACTGGGTCAGACAAGC CCCAGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGGCTGTCATCTCGTAC AAGGGCTCAAACAAGTACTACGCCGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCCGCGATAACTCCAAGAATACCCTCT ATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGATACTGCAG TGTACTACTGCGGGGGTTCAGGCTACGCGCTGCACGACGA CTACTACGGATTGGACGTCTGGGGCCAAGGAACTCTTGTG ACCGTGTCCTCTGGTGGAGGCGGATCAGGGGGTGGCGGAT CTGGGGGTGGTGGTTCCGGGGGAGGAGGATCGCAGAGCG CGCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGAGCGGTTCGCCGGGACA GTCCATTACCATTTCGTGCACCGGGACCTCCTCCGACGTG GGAGGCTACAACTACGTGTCCTGGTACCAGCAGCATCCCG GAAAGGCCCCGAAGCTGATGATCTACGAAGTGTCGAACA GACTGCGGGGAGTCTCCAACCGCTTTTCCGGGTCCAAGTC CGGCAACACCGCCAGCCTGACCATCAGCGGGCTCCAGGC AGAAGATGAGGCTGACTATTACTGCTCCTCCTACACGTCA AGCTCCACCCTCTACGTGTTCGGGTCCGGGACCAAAGTCA CTGTGCTG

【０３０６】

【表３５】

配列 番号 128	全 CAR アミノ酸 配列	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVISYKGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCGGSGYALHDDYYGLDVWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITI SCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYEVSNRLRGVS NRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGS GTKVTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVH TRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADA PAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALPPR
配列 番号 129	全 CAR DNA 配列	CAAGTGCAGCTTGTCGAATCGGGAGGCGGAGTGGTGCAG CCTGGACGATCGCTCCGGCTCTCATGTGCCGCGAGCGGAT TCACCTTCTCGAGCTACGGCATGCACTGGGTCAGACAAGC CCCAGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGGCTGTCATCTCGTAC AAGGGCTCAAACAAGTACTACGCCGACTCCGTGAAGGGC CGGTTCACCATCTCCCGCGATAACTCCAAGAATACCCTCT ATCTGCAAATGAACAGCCTGAGGGCCGAGGATACTGCAG TGTACTACTGCGGGGGTTCAGGCTACGCGCTGCACGACGA CTACTACGGATTGGACGTCTGGGGCCAAGGAACTCTTGTG ACCGTGTCCTCTGGTGGAGGCGGATCAGGGGGTGGCGGAT CTGGGGGTGGTGGTTCCGGGGGAGGAGGATCGCAGAGCG CGCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGAGCGGTTCGCCGGGACA GTCCATTACCATTTCGTGCACCGGGACCTCCTCCGACGTG GGAGGCTACAACTACGTGTCCTGGTACCAGCAGCATCCCG GAAAGGCCCCGAAGCTGATGATCTACGAAGTGTCGAACA GACTGCGGGGAGTCTCCAACCGCTTTTCCGGGTCCAAGTC CGGCAACACCGCCAGCCTGACCATCAGCGGGCTCCAGGC AGAAGATGAGGCTGACTATTACTGCTCCTCCTACACGTCA AGCTCCACCCTCTACGTGTTCGGGTCCGGGACCAAAGTCA CTGTGCTGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCC GGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGG AGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCG GGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTC TGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATC ACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACA TCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCA AGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGA GGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAG CGCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCAGAACCAGCT CTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGA CGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGG CGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTA CAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAG CGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGG CCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAA GGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCT CGG

【０３０７】

【表３６】

表 7. 例示的な B 細胞由来抗 BCMA 分子の Kabat CDR

Kabat	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
PI61	SYGMH (配列番号 86)	VISYDGSNKYYADSVKG (配列番号 87)	SGYALHDDYYGLDV (配列番号 88)	TGTSSDVGGYNYVS (配列番号 95)	DVSNRPS (配列番号 96)	SSYTSSSTLYV (配列番号 97)
B61-02	SYGMH (配列番号 86)	VISYKGSNKYYADSVKG (配列番号 109)	SGYALHDDYYGLDV (配列番号 88)	TGTSSDVGGYNYVS (配列番号 95)	EVSNRLR (配列番 114)	SSYTSSSALYV (配列番号 115)
B61-10	SYGMH (配列番号 86)	VISYKGSNKYYADSVKG (配列番号 109)	SGYALHDDYYGLDV (配列番号 88)	TGTSSDVGGYNYVS (配列番号 95)	EVSNRLR (配列番 114)	SSYTSSSTLYV (配列番号 97)
コンセンサス	SYGMH (配列番号 86)	VISYXGSNKYYADSVKG (X は D 又は K である)(配列番号 130)	SGYALHDDYYGLDV (配列番号 88)	TGTSSDVGGYNYVS (配列番号 95)	X_1VSNRX_2X_3 (X_1 は D 又は E であり; X_2 は P 又は L であり; X_3 は S 又は R である)(配列番号 131)	SSYTSSSXLYV (X は T 又は A である) (配列番号 132)

【０３０８】

【表３７】

表 8. 例示的な B 細胞由来抗 BCMA 分子の Chothia CDR

Chothia	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
PI61	GFTFSSY (配列番号 47)	SYDGSN (配列番号 89)	SGYALHDDYYGLDV (配列番号 88)	TSSDVGGYNY (配列番号 98)	DVS (配列番号 99)	YTSSSTLY (配列番号 100)
B61-02	GFTFSSY (配列番号 47)	SYKGSN (配列番号 110)	SGYALHDDYYGLDV (配列番号 88)	TSSDVGGYNY (配列番号 98)	EVS (配列番号 116)	YTSSSALY (配列番号 117)
B61-10	GFTFSSY (配列番号 47)	SYKGSN (配列番号 110)	SGYALHDDYYGLDV (配列番号 88)	TSSDVGGYNY (配列番号 98)	EVS (配列番号 116)	YTSSSTLY (配列番号 100)
コンセンサス	GFTFSSY (配列番号 47)	SYXGSN (X は D 又は K である) (配列番号 133)	SGYALHDDYYGLDV (配列番号 88)	TSSDVGGYNY (配列番号 98)	XVS (X は D 又は E である) (配列番号 134)	YTSSSXLY (X は T 又は A である) (配列番号 135)

【０３０９】

【表３８】

表 9. 例示的な B 細胞由来抗 BCMA 分子の IMGT CDR

IMGT	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
PI61	GFTFSSYG (配列番号 90)	ISYDGSNK (配列番号 91)	GGSGYALHDDYYGLDV (配列番号 92)	SSDVGGYNY (配列番号 101)	DVS (配列番号 99)	SSYTSSSTLYV (配列番号 97)
B61-02	GFTFSSYG (配列番号 90)	ISYKGSNK (配列番号 111)	GGSGYALHDDYYGLDV (配列番号 92)	SSDVGGYNY (配列番号 101)	EVS (配列番号 116)	SSYTSSSALYV (配列番号 115)
B61-10	GFTFSSYG (配列番号 90)	ISYKGSNK (配列番号 111)	GGSGYALHDDYYGLDV (配列番号 92)	SSDVGGYNY (配列番号 101)	EVS (配列番号 116)	SSYTSSSTLYV (配列番号 97)
コンセンサス	GFTFSSYG (配列番号 90)	ISYXGSNK (X は D 又は K である) (配列番号 136)	GGSGYALHDDYYGLDV (配列番号 92)	SSDVGGYNY (配列番号 101)	XVS (X は D 又は E である) (配列番号 134)	SSYTSSSXLYV (X は T 又は A である) (配列番号 132)

【０３１０】

【表３９】

表14. PI61に基づく例示的な抗BCMA分子のアミノ酸配列及び核酸配列

同定	タンパク質配列	DNA配列(5'-3')
シグナルペプチド	MALPVTALLLPLALLLHA ARP (配列番号2)	Atggccctccctgtcaccgctctgttgctgccgcttgctct gctgctccacgcagcgcgaccg (配列番号 252)
ScFv PI61	QVQLQESGGGVVQPGRS LRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVAVIS YDGSNKYYADSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCGGSGYALH DDYYGLDVWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGG SQSALTQPASVSGSPGQSI TISCTGTSSDVGGYNYVS WYQQHPGKAPKLMIYDV SNRPSGVSNRFSGSKSGN TASLTISGLQAEDEADYY CSSYTSSSTLYVFGSGTK VTVL (配列番号105)	CaggtacaattgcaggagtctggaggcggtgtgGtgca acccggtcgcagcttgcgcctgagttgtGctgcgtctgg atttacattttcatcttacggaAtgcattgggtacgccagg caccggggaaaggcCttgaatgggtggctgtaatttcat acgatggtTccaacaaatactatgctgactcagtcaagg gtCgatttacaattagtcgggacaactccaagaacAccc tttatcttcaaatgaattcccttagagcaGaggatacggcg gtctattactgtggtggcagtGgttatgcacttcatgatgat tactatggcttgGatgtctgggggcaagggacgcttgtaa ctgtaTcctctggtggtggtggtagtggtgggggaggc TccggcggtggcggctctcaatctgctctgactCaacca gcaagcgtatcagggtcaccgggacagAgtattaccat aagttgcacggggacctctagcGatgtaggggggtata attatgtatcttggtatCaacaacaccccgggaaagcccc taaattgatgAtctacgacgtgagcaatcgacctagtggc gtaTcaaatcgcttctctggtagcaagagtgggaatAcg gcgtcccttactattagcggattgcaagcaGaagatgag gccgattactactgcagctcctatActagctcttctacattg tacgtctttgggagcggaacaaaagtaacagtactc (配列番号253)
膜貫通ドメイン及びヒンジ	TTTPAPRPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGT CGVLLLSLVITLYC (配列番号202)	AcaacaacacctgccccgagaccgcctacaccaGccc cgactattgccagccagcctctgagcctcAggcctgag gcctgtaggcccgcagcgggcggcGcagttcatacac ggggcttggatttcgcttgtGatatttatatttgggctcctttt ggcggggacaTgtggcgtgctgcttctgtcacttgttatta cactgtactgt (配列番号254)
4-1BB	KRGRKKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEE EGGCEL (配列番号14)	AaacgcgggcgaaaaaaattgctgtatatttttAagcag ccatttatgaggcccgttcagacgacgCaggaggagga cggttgctcttgcaggttcccagaagaggaagaaggggg gctgtgaattg (配列番号255)

【０３１１】

【表４０】

CD3ゼータ	RVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDV LDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR (配列番号 20)	CgggttaaattttcaagatccgcagacgctccaGcatac caacagggacaaaaccaactctataacGagctgaatctt ggaagaagggaggaatatgatGtgctggataaacggcg cggtagagatccggagAtgggcggaaaaccaaggcg aaaaaaccctcagGagggactctacaacgaactgcaga aagacaaaAtggcggaggcttattccgaaataggcatg aagGgcgagcggaggcgagggaaagggcacgacgg aCtgtatcaaggcctctcaaccgcgactaaggatAcgta cgacgccctgcacatgcaggccctgcctccgaga (配列番号256)
PI61全CAR 構築物	MALPVTALLLPLALLLHA ARPQVQLQESGGGVVQP GRSLRLSCAASGFTFSSY GMHWVRQAPGKGLEWV AVISYDGSNKYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCGGSG YALHDDYYGLDVWGQG TLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQSALTQPASVSGS PGQSITISCTGTSSDVGGY NYVSWYQQHPGKAPKL MIYDVSNRPSGVSNRFSG SKSGNTASLTISGLQAED EADYYCSSYTSSSTLYVF GSGTKVTVLTTTPAPRPP TPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACD IYIWAPLAGTCGVLLLSL VITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSR SADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEI GMKGERRRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR (配列番号257)	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCTCTGT TGCTGCCGCTTGCTCTGCTGCTCCA CGCAGCGCGACCGCAGGTACAATT GCAGGAGTCTGGAGGCGGTGTGGT GCAACCCGGTCGCAGCTTGCGCCT GAGTTGTGCTGCGTCTGGATTTACA TTTTCATCTTACGGAATGCATTGGG TACGCCAGGCACCGGGGAAAGGCC TTGAATGGGTGGCTGTAATTTCATA CGATGGTTCCAACAAATACTATGCT GACTCAGTCAAGGGTCGATTTACA ATTAGTCGGGACAACTCCAAGAAC ACCCTTTATCTTCAAATGAATTCCC TTAGAGCAGAGGATACGGCGGTCT ATTACTGTGGTGGCAGTGGTTATGC ACTTCATGATGATTACTATGGCTTG GATGTCTGGGGGCAAGGGACGCTT GTAACTGTATCCTCTGGTGGTGGTG GTAGTGGTGGGGGAGGCTCCGGCG GTGGCGGCTCTCAATCTGCTCTGAC TCAACCAGCAAGCGTATCAGGGTC ACCGGGACAGAGTATTACCATAAG TTGCACGGGGACCTCTAGCGATGT AGGGGGGTATAATTATGTATCTTGG TATCAACAACACCCCGGGAAAGCC CCTAAATTGATGATCTACGACGTGA GCAATCGACCTAGTGGCGTATCAA ATCGCTTCTCTGGTAGCAAGAGTGG GAATACGGCGTCCCTTACTATTAGC GGATTGCAAGCAGAAGATGAGGCC GATTACTACTGCAGCTCCTATACTA GCTCTTCTACATTGTACGTCTTTGG GAGCGGAACAAAAGTAACAGTACT CACAACAACACCTGCCCCGAGACC GCCTACACCAGCCCCGACTATTGCC AGCCAGCCTCTGAGCCTCAGGCCT

【０３１２】

【表４１】

		GAGGCCTGTAGGCCCGCAGCGGGC GGCGCAGTTCATACACGGGGCTTG GATTTCGCTTGTGATATTTATATTT GGGCTCCTTTGGCGGGGACATGTG GCGTGCTGCTTCTGTCACTTGTTAT TACACTGTACTGTAAACGCGGGCG AAAAAAATTGCTGTATATTTTTAAG CAGCCATTTATGAGGCCCGTTCAGA CGACGCAGGAGGAGGACGGTTGCT CTTGCAGGTTCCCAGAAGAGGAAG AAGGGGGCTGTGAATTGCGGGTTA AATTTTCAAGATCCGCAGACGCTCC AGCATACCAACAGGGACAAAACCA ACTCTATAACGAGCTGAATCTTGGA AGAAGGGAGGAATATGATGTGCTG GATAAACGGCGCGGTAGAGATCCG GAGATGGGCGGAAAACCAAGGCGA AAAAACCCTCAGGAGGGACTCTAC AACGAACTGCAGAAAGACAAAATG GCGGAGGCTTATTCCGAAATAGGC ATGAAGGGCGAGCGGAGGCGAGG GAAAGGGCACGACGGACTGTATCA AGGCCTCTCAACCGCGACTAAGGA TACGTACGACGCCCTGCACATGCA GGCCCTGCCTCCGAGA (配列番号258)
PI61成熟 CARタンパク質	QVQLQESGGGVVQPGRS LRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVAVIS YDGSNKYYADSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCGGSGYALH DDYYGLDVWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGG SQSALTQPASVSGSPGQSI TISCTGTSSDVGGYNYVS WYQQHPGKAPKLMIYDV SNRPSGVSNRFSGSKSGN TASLTISGLQAEDEADYY CSSYTSSSTLYVFGSGTK VTVLTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAP LAGTCGVLLLSLVITLYC KRGRKKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEE	

【０３１３】

【表４２】

	EGGCELRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (配列番号107)	

【０３１４】
【表４３】

表 10. 例示的なハイブリドーマ由来抗 BCMA 分子のアミノ酸配列及び核酸配列

配列番号	名称/記述	配列
Hy03		
配列番号 137	HCDR1 (Kabat)	GFWMS
配列番号 138	HCDR2 (Kabat)	NIKQDGSEKYYVDSVRG
配列番号 139	HCDR3 (Kabat)	ALDYYGMDV
配列番号 140	HCDR1 (Chothia)	GFTFSGF
配列番号 141	HCDR2 (Chothia)	KQDGSE
配列番号 139	HCDR3 (Chothia)	ALDYYGMDV
配列番号 142	HCDR1 (IMGT)	GFTFSGFW
配列番号 143	HCDR2 (IMGT)	IKQDGSEK
配列番号 144	HCDR3 (IMGT)	ARALDYYGMDV
配列番号 145	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGFWMSWVRQA PGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVRGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARALDYYGMDVWGQGTTVTVSS

【０３１５】

【表４４】

配列番号 146	DNA VH	GAAGTGCAACTGGTGGAGAGCGGTGGAGGGCTTGTCCAG CCCGGAGGATCGCTGCGGCTGTCCTGTGCTGCGTCCGGGT TCACCTTCTCCGGCTTCTGGATGTCCTGGGTCAGACAGGC ACCGGGAAAGGGCCTCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCA GGATGGCTCCGAGAAGTACTACGTCGACTCCGTGAGAGG CCGCTTCACCATCTCCCGGGACAACGCCAAGAACTCGCT GTACCTCCAAATGAATAGCCTCAGGGCGGAAGATACTGC TGTGTATTACTGCGCACGCGCCCTTGACTACTACGGCATG GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACTGTGACCGTGTCTAGC
配列番号 147	LCDR1 (Kabat)	RSSQSLLDSDDGNTYLD
配列番号 148	LCDR2 (Kabat)	TLSYRAS
配列番号 149	LCDR3 (Kabat)	TQRLEFPSIT
配列番 150	LCDR1 (Chothia)	SQSLLDSDDGNTY
配列番号 151	LCDR2 (Chothia)	TLS
配列番号 152	LCDR3 (Chothia)	RLEFPSI
配列番号 153	LCDR1 (IMGT)	QSLLDSDDGNTY
配列番号 151	LCDR2 (IMGT)	TLS
配列番号 149	LCDR3 (IMGT)	TQRLEFPSIT
配列番号 154	VL	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWY LQKPGQSPRLLIYTLSYRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGLYYCTQRLEFPSITFGQGTRLEIK
配列番号 155	DNA VL	GATATCGTGATGACCCAGACTCCCCTGTCCCTGCCTGTGA CTCCCGGAGAACCAGCCTCCATTTCCTGCCGGTCCTCCCA GTCCCTGCTGGACAGCGACGACGGCAACACTTACCTGGA CTGGTACTTGCAGAAGCCGGGCCAATCGCCTCGCCTGCTG ATCTATACCCTGTCATACCGGGCCTCAGGAGTGCCTGACC GCTTCTCGGGATCAGGGAGCGGGACCGATTTCACCCTGA AAATTTCCCGAGTGGAAGCCGAGGACGTCGGACTGTACT ACTGCACCCAGCGCCTCGAATTCCCGTCGATTACGTTTGG ACAGGGTACCCGGCTTGAGATCAAG

【０３１６】

【表４５】

配列番63	リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
配列番号156	scFv (VH-リンカー-VL)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGFWMSWVRQA PGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVRGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARALDYYGMDVWGQGTTVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISC RSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQKPGQSPRLLIYTLSYRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCTQRLEFPSITFGQ GTRLEIK
配列番号157	DNA scFv	GAAGTGCAACTGGTGGAGAGCGGTGGAGGGCTTGTCCAG CCCGGAGGATCGCTGCGGCTGTCCTGTGCTGCGTCCGGGT TCACCTTCTCCGGCTTCTGGATGTCCTGGGTCAGACAGGC ACCGGGAAAGGGCCTCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCA GGATGGCTCCGAGAAGTACTACGTCGACTCCGTGAGAGG CCGCTTCACCATCTCCCGGGACAACGCCAAGAACTCGCT GTACCTCCAAATGAATAGCCTCAGGGCGGAAGATACTGC TGTGTATTACTGCGCACGCGCCCTTGACTACTACGGCATG GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACTGTGACCGTGTCTAGC GGAGGCGGAGGTTCAGGGGGCGGTGGATCAGGCGGAGG AGGATCGGGGGGTGGTGGATCGGATATCGTGATGACCCA GACTCCCCTGTCCCTGCCTGTGACTCCCGGAGAACCAGC CTCCATTTCCTGCCGGTCCTCCCAGTCCCTGCTGGACAGC GACGACGGCAACACTTACCTGGACTGGTACTTGCAGAAGC CGGGCCAATCGCCTCGCCTGCTGATCTATACCCTGTCATA CCGGGCCTCAGGAGTGCCTGACCGCTTCTCGGGATCAGG GAGCGGGACCGATTTCACCCTGAAAATTTCCCGAGTGGA AGCCGAGGACGTCGGACTGTACTACTGCACCCAGCGCCT CGAATTCCCGTCGATTACGTTTGGACAGGGTACCCGGCTT GAGATCAAG
配列番号158	全 CAR アミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGFWMSWVRQA PGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVRGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARALDYYGMDVWGQGTTVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISC RSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQKPGQSPRLLIYTLSYRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCTQRLEFPSITFGQ GTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVH TRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLY IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSAD APAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHD GLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

【０３１７】

【表４６】

配列番号 159	全 CAR DNA 配列	GAAGTGCAACTGGTGGAGAGCGGTGGAGGGCTTGTCCAG CCCGGAGGATCGCTGCGGCTGTCCTGTGCTGCGTCCGGGT TCACCTTCTCCGGCTTCTGGATGTCCTGGGTCAGACAGGC ACCGGGAAAGGGCCTCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCA GGATGGCTCCGAGAAGTACTACGTCGACTCCGTGAGAGG CCGCTTCACCATCTCCCGGGACAACGCCAAGAACTCGCT GTACCTCCAAATGAATAGCCTCAGGGCGGAAGATACTGC TGTGTATTACTGCGCACGCGCCCTTGACTACTACGGCATG GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACTGTGACCGTGTCTAGC GGAGGCGGAGGTTCAGGGGGCGGTGGATCAGGCGGAGG AGGATCGGGGGGTGGTGGATCGGATATCGTGATGACCCA GACTCCCCTGTCCCTGCCTGTGACTCCCGGAGAACCAGCC TCCATTTCCTGCCGGTCCTCCCAGTCCCTGCTGGACAGCG ACGACGGCAACACTTACCTGGACTGGTACTTGCAGAAGC CGGGCCAATCGCCTCGCCTGCTGATCTATACCCTGTCATA CCGGGCCTCAGGAGTGCCTGACCGCTTCTCGGGATCAGG GAGCGGGACCGATTTCACCCTGAAAATTTCCCGAGTGGA AGCCGAGGACGTCGGACTGTACTACTGCACCCAGCGCCT CGAATTCCCGTCGATTACGTTTGGACAGGGTACCCGGCTT GAGATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACC CCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTC CGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATA CCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGC CCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTC GTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTG CTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGA CTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAG AGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCA GCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCAGA ACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGG AGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCA GAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGA GGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGA AGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAG AGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCAC CGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGC CCTGCCGCCTCGG

【０３１８】

【表４７】

Hy52		
配列番号 160	HCDR1 (Kabat)	SFRMN
配列番号 161	HCDR2 (Kabat)	SISSSSSYIYYADSVKG
配列番号 162	HCDR3 (Kabat)	WLSYYGMDV
配列番号 163	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSF
配列番号 164	HCDR2 (Chothia)	SSSSY
配列番号 162	HCDR3 (Chothia)	WLSYYGMDV
配列番号 165	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSFR
配列番号 166	HCDR2 (IMGT)	ISSSSSYI
配列番号 167	HCDR3 (IMGT)	ARWLSYYGMDV
配列番号 168	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSFRMNWVRQAP GKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNANSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARWLSYYGMDVWGQGTTVTVSS
配列番号 169	DNA VH	GAAGTGCAACTGGTGGAGAGCGGTGGAGGGCTTGTCAAG CCCGGAGGATCGCTGCGGCTGTCCTGTGCTGCGTCCGGGT TCACCTTCTCCTCGTTCCGCATGAACTGGGTCAGACAGGC ACCGGGAAAGGGCCTCGAATGGGTGTCCTCAATCTCATC GTCCTCGTCCTACATCTACTACGCCGACTCCGTGAAAGGC CGCTTCACCATCTCCCGGGACAACGCCAAGAACTCGCTGT ACCTCCAAATGAATAGCCTCAGGGCGGAAGATACTGCTG TGTATTACTGCGCACGCTGGCTTTCCTACTACGGCATGGA CGTCTGGGGCCAAGGGACCACTGTGACCGTGTCTAGC

【０３１９】

【表４８】

配列番号 147	LCDR1 (Kabat)	RSSQSLLDSDDGNTYLD
配列番号 170	LCDR2 (Kabat)	TLSFRAS
配列番号 171	LCDR3 (Kabat)	MQRIGFPIT
配列番号 150	LCDR1 (Chothia)	SQSLLDSDDGNTY
配列番号 151	LCDR2 (Chothia)	TLS
配列番号 172	LCDR3 (Chothia)	RIGFPI
配列番号 153	LCDR1 (IMGT)	QSLLDSDDGNTY
配列番号 151	LCDR2 (IMGT)	TLS
配列番 171	LCDR3 (IMGT)	MQRIGFPIT
配列番号 173	VL	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWY LQKPGQSPQLLIYTLSFRASGVPDRFSGSSGTDFTLKIRRVE AEDVGVYYCMQRIGFPITFGQGTRLEIK
配列番号 174	DNA VL	GATATCGTGATGACCCAGACTCCCCTGTCCCTGCCTGTGA CTCCCGGAGAACCAGCCTCCATTTCCTGCCGGTCCTCCCA GTCCCTGCTGGACAGCGACGACGGCAACACTTACCTGGA CTGGTACTTGCAGAAGCCGGGCCAATCGCCTCAGCTGCT GATCTATACCCTGTCATTCCGGGCCTCAGGAGTGCCTGAC CGCTTCTCGGGATCAGGGAGCGGGACCGATTTCACCCTG AAAATTAGGCGAGTGGAAGCCGAGGACGTCGGAGTGTAC TACTGCATGCAGCGCATCGGCTTCCCGATTACGTTTGGACA GGGTACCCGGCTTGAGATCAAG

【０３２０】

【表４９】

配列番号 63	リンカー	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
配列番号 175	scFv (VH-リンカー-VL)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSFRMNWVRQAP GKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARWLSYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSS QSLLDSDDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTLSFRASGVPDR FSGSGSGTDFTLKIRRVEAEDVGVYYCMQRIGFPITFGQGTR LEIK
配列番号 176	DNA scFv	GAAGTGCAACTGGTGGAGAGCGGTGGAGGGCTTGTCAAG CCCGGAGGATCGCTGCGGCTGTCCTGTGCTGCGTCCGGGT TCACCTTCTCCTCGTTCCGCATGAACTGGGTCAGACAGGC ACCGGGAAAGGGCCTCGAATGGGTGTCCTCAATCTCATC GTCCTCGTCCTACATCTACTACGCCGACTCCGTGAAAGGC CGCTTCACCATCTCCCGGGACAACGCCAAGAACTCGCTGT ACCTCCAAATGAATAGCCTCAGGGCGGAAGATACTGCTG TGTATTACTGCGCACGCTGGCTTTCCTACTACGGCATGGA CGTCTGGGGCCAAGGGACCACTGTGACCGTGTCTAGCGG AGGCGGAGGTTCAGGGGGCGGTGGATCAGGCGGAGGAG GATCGGGGGGTGGTGGATCGGATATCGTGATGACCCAGA CTCCCCTGTCCCTGCCTGTGACTCCCGGAGAACCAGCCTC CATTTCCTGCCGGTCCTCCCAGTCCCTGCTGGACAGCGAC GACGGCAACACTTACCTGGACTGGTACTTGCAGAAGCCG GGCCAATCGCCTCAGCTGCTGATCTATACCCTGTCATTCC GGGCCTCAGGAGTGCCTGACCGCTTCTCGGGATCAGGGA GCGGGACCGATTTCACCCTGAAAATTAGGCGAGTGGAAG CCGAGGACGTCGGAGTGTACTACTGCATGCAGCGCATCG GCTTCCCGATTACGTTTGGACAGGGTACCCGGCTTGAGAT CAAG
配列番号 177	全 CAR アミノ酸配列	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSFRMNWVRQAP GKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARWLSYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSS QSLLDSDDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTLSFRASGVPDR FSGSGSGTDFTLKIRRVEAEDVGVYYCMQRIGFPITFGQGTR LEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAP AYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

【０３２１】

【表５０】

配列番号 178	全 CAR DNA 配列	GAAGTGCAACTGGTGGAGAGCGGTGGAGGGCTTGTCAAG CCCGGAGGATCGCTGCGGCTGTCCTGTGCTGCGTCCGGGT TCACCTTCTCCTCGTTCCGCATGAACTGGGTCAGACAGGC ACCGGGAAAGGGCCTCGAATGGGTGTCCTCAATCTCATC GTCCTCGTCCTACATCTACTACGCCGACTCCGTGAAAGGC CGCTTCACCATCTCCCGGGACAACGCCAAGAACTCGCTGT ACCTCCAAATGAATAGCCTCAGGGCGGAAGATACTGCTG TGTATTACTGCGCACGCTGGCTTTCCTACTACGGCATGGA CGTCTGGGGCCAAGGGACCACTGTGACCGTGTCTAGCGG AGGCGGAGGTTCAGGGGGCGGTGGATCAGGCGGAGGAG GATCGGGGGGTGGTGGATCGGATATCGTGATGACCCAGA CTCCCCTGTCCCTGCCTGTGACTCCCGGAGAACCAGCCTC CATTTCCTGCCGGTCCTCCCAGTCCCTGCTGGACAGCGAC GACGGCAACACTTACCTGGACTGGTACTTGCAGAAGCCG GGCCAATCGCCTCAGCTGCTGATCTATACCCTGTCATTCC GGGCCTCAGGAGTGCCTGACCGCTTCTCGGGATCAGGGA GCGGGACCGATTTCACCCTGAAAATTAGGCGAGTGGAAG CCGAGGACGTCGGAGTGTACTACTGCATGCAGCGCATCG GCTTCCCGATTACGTTTGGACAGGGTACCCGGCTTGAGAT CAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGC TCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAG GCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGG GGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTC TGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGAT CACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTAC ATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTC AAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGG AGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCA GCGCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCAGAACCAGC TCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACG ACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATG GGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCT GTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTA TAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCA AAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCA CCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCC GCCTCGG

【０３２２】

【表５１】

表 11. 例示的なハイブリドーマ由来の抗 BCMA 分子の Kabat CDR

Kabat	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
Hy03	GFWMS (配列番号 137)	NIKQDGSEKYYVDSVRG (配列番号 138)	ALDYYGMDV (配列番号 139)	RSSQSLLDSDDGNTYLD (配列番号 147)	TLSYRAS (配列番号 148)	TQRLEFPSIT (配列番号 149)
Hy52	SFRMN (配列番号 160)	SISSSSYIYYADSVKG (配列番号 161)	WLSYYGMDV (配列番号 162)	RSSQSLLDSDDGNTYLD (配列番号 147)	TLSFRAS (配列番号 170)	MQRIGFPIT (配列番号 171)
コンセンサス	$X_1FX_2MX_3$ (X_1 は G 又は S であり;X_2 は W 又は R であり; X_3 は S 又は N である)(配列番号 179)	$X_1IX_2X_3X_4X_5SX_6X_7YYX_8DSVX_9G$ (X_1 は N 又は S であり;X_2 は K 又は S であり;X_3 は Q 又は S であり;X_4 は D 又は S であり;X_5 は G 又は S であり;X_6 は E 又は Y であり;X_7 は K 又は I であり;X_8 は V 又は A であり;X_9 は R 又は K である)(配列番号 180)	$X_1LX_2YYGMDV$ (X_1 は A 又は W であり; X_2 は D 又は S である)(配列番号 181)	RSSQSLLDSDDGNTYLD (配列番号 147)	TLSXRAS (X は Y 又は F である) (配列番号 182)	$X_1QRX_2X_3FPX_4IT$ (X_1 は T 又は M であり; X_2 は L 又は I であり; X_3 は E 又は G であり; X_4 は S であるか、又は存在しない)(配列番号 183)

【０３２３】

【表５２】

表 12. 例示的なハイブリドーマ由来の抗 BCMA 分子の Chothia CDR

Chothia	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
Hy03	GFTFSGF (配列番号 140)	KQDGSE (配列番号 141)	ALDYYGM DV(配列番号 139)	SQSLLDS DDGNTY (配列番号 150)	TLS (配列番号 151)	RLEFPSI (配列番号 152)
Hy52	GFTFSSF (配列番号 163)	SSSSSY (配列番号 164)	WLSYYGM DV(配列番号 162)	SQSLLDS DDGNTY (配列番号 150)	TLS (配列番号 151)	RIGFPI (配列番号 172)
コンセンサス	GFTFSXF (X はG又はSである)(配列番号 184)	$X_1X_2X_3X_4SX_5$ (X_1 はK又はSであり;X_2 はQ又はSであり;X_3 はD又はSであり;X_4 はG又はSであり、X_5 はE又はYである(配列番号 185)	X_1LX_2YYGM DV (X_1 はA又はWであり; X_2 はD又はSである)(配列番号 181)	SQSLLDS DDGNTY (配列番号 150)	TLS (配列番号 151)	RX_1X_2FP X_3I (X_1 はL又はIであり; X_2 はE又はGであり;X_3 はSであるか、又は存在しない)(配列番号 186)

【０３２４】

【表５３】

表 13. 例示的なハイブリドーマ由来の抗 BCMA 分子の IMGT CDR

IMGT	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
Hy03	GFTFSGF W (配列番号 142)	IKQDGSEK (配列番 143)	ARALDYY GMDV (配列番号 144)	QSLLDSD DGNTY(配列番号 153)	TLS (配列番号 151)	TQRLEFP SIT (配列番号 149)
IIy52	GFTFSSF R(配列番号 165)	ISSSSSYI (配列番号 166)	ARWLSYY GMDV (配列番号 167)	QSLLDSD DGNTY (配列番号 153)	TLS (配列番号 151)	MQRIGFP IT (配列番号 171)
コンセンサス	$GFTFSX_1$ FX_2 (X はG又はSであり; X_2 はW又はRである)(配列番号 187)	$IX_2X_3X_4S$ X_5X_6 (X_1 はK又はSであり; X_2 はQ又はSであり; X_3 はD又はSであり; X_4 はG又はSであり; X_5 はE又はYであり; X_6 はK又はIである)(配列番号 188)	ARX_1LX_2Y YGMDV (X_1 はA又はWであり; X_2 はD又はSである)(配列番号 189)	QSLLDSD DGNTY (配列番号 153)	TLS (配列番号 151)	$X_1QRX_2X_3$ FPX_4IT (X_1 はT又はMであり;X_2 はL又はIであり;X_3 はE又はGであり; X_4 はSであるか、又は存在しない)(配列番号 183)

【０３２５】

いくつかの実施形態において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、国際公開第２０１２／０１６３８０５号パンフレットからのＶＨ及びＶＬ配列を使用して生成され得る（その内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。いくつかの実施形態において、ＢＣＭＡ　ＣＡＲは、国際公開第２０１９／２４１４２６号パンフレットからのＣＤＲ、ＶＨ、ＶＬ、ｓｃＦｖ又は全長ＣＡＲ配列を使用して生成され得る（その内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【０３２６】

他の例示的な標的

更なる非限定的な例示的な腫瘍抗原には、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＥＧＦＲ、ＣＤ１２３及びＣＬＬ－１が含まれる。

【０３２７】

ＣＤ２０に結合するＣＡＲは、当技術分野で公知である。例えば、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１８／０６７９９２号パンフレット又は国際公開第２０１６／１６４７３１号パンフレットに開示されているものである。当技術分野において、任意の公知のＣＤ２０　ＣＡＲ、例えば任意の公知のＣＤ２０　ＣＡＲのＣＤ２０抗原結合ドメインは、本開示に従って使用され得る。例示的なＣＤ２０結合配列又はＣＤ２０　ＣＡＲ配列は、例えば、参照により組み込まれる国際公開第２０１８／０６７９９２号パンフレットの表１～５に開示されている。いくつかの実施形態において、ＣＤ２０　ＣＡＲは、国際公開第２０１８／０６７９９２号パンフレット又は国際公開第２０１６／１６４７３１号パンフレット（いずれも参照により本明細書に組み込まれる）に開示されているＣＤ２０　ＣＡＲのＣＤＲ、可変領域、ｓｃＦｖ又は全長配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＤ２０ＣＡＲは、以下の表２３に開示される配列、例えば、ＣＤＲ、ＶＨ、ＶＬ、ｓｃＦｖ若しくは全ＣＡＲ配列又はそれらに対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含む。

【０３２８】

【表５４】

表 23. 例示的な抗 CD20 分子のアミノ酸配列

配列番号	領域	配列
CD20-C3H2		
769	HCDR1 (Kabat)	NYNLH
770	HCDR2 (Kabat)	AIYPGNYDTSYNQKFKG
771	HCDR3 (Kabat)	VDFGHSRYWYFDV
772	HCDR1 (Chothia)	GYTFTNY
773	HCDR2 (Chothia)	YPGNYD
771	HCDR3 (Chothia)	VDFGHSRYWYFDV
774	HCDR1 (IMGT)	GYTFTNYN
775	HCDR2 (IMGT)	IYPGNYDT
776	HCDR3 (IMGT)	ARVDFGHSRYWYFDV
777	HCDR1 (組合せ)	GYTFTNYNLH

【０３２９】

【表５５】

770	HCDR2 (組合せ)	AIYPGNYDTSYNQKFKG
771	HCDR3 (組合せ)	VDFGHSRYWYFDV
778	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYNLHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNYDTSYNQKFKGRVTMTADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARVDFGHSRYWYFDVWGQGTTVTVSS
779	DNA VH	CAAGTCCAACTCGTCCAGTCCGGTGCAGAAGTCAAGAAACC TGGAGCATCCGTGAAAGTGTCTTGCAAAGCCTCCGGCTACA CCTTCACCAACTACAACCTCCATTGGGTCAGACAGGCCCCC GGACAAGGACTCGAATGGATGGGAGCGATCTACCCGGGAA ACTACGACACCAGCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCCGCGTG ACTATGACCGCCGATAAGAGCACCTCCACCGCCTACATGGA ACTGTCCTCGCTGAGGTCCGAGGACACTGCGGTGTACTACT GCGCCCGCGTGGACTTCGGACACTCACGGTATTGGTACTTC GACGTCTGGGGACAGGGCACTACCGTGACCGTGTCGAGC
780	LCDR1 (Kabat)	RATSSVSSMN
781	LCDR2 (Kabat)	ATSNLAS
782	LCDR3 (Kabat)	QQWTFNPPT
783	LCDR1 (Chothia)	TSSVSS
784	LCDR2 (Chothia)	ATS
785	LCDR3 (Chothia)	WTFNPP
786	LCDR1 (IMGT)	SSVSS
784	LCDR2 (IMGT)	ATS
782	LCDR3 (IMGT)	QQWTFNPPT
780	LCDR1 (組合せ)	RATSSVSSMN
781	LCDR2 (組合せ)	ATSNLAS
782	LCDR3 (組合せ)	QQWTFNPPT
787	VL	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRATSSVSSMNWYQQKPGKAP KPLIHATSNLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQ QWTFNPPTFGQGTKLEIK

【０３３０】

【表５６】

788	DNA VL	GATATCCAGCTGACTCAGTCCCCGTCATTCCTGTCCGCCTCC GTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCACTTCCTC CGTGTCAAGCATGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGGAAGG CCCCAAAGCCGCTGATTCACGCGACGTCCAACCTGGCTTCC GGCGTGCCGAGCCGGTTCTCCGGCTCGGGGAGCGGGACTGA GTACACCCTGACTATTTCCTCGCTTCAACCCGAGGACTTTGC TACCTACTACTGCCAACAGTGGACCTTCAATCCTCCGACATT CGGACAGGGTACCAAGTTGGAAATCAAG
789	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYNLHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNYDTSYNQKFKGRVTMTADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARVDFGHSRYWYFDVWGQGTTVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRA TSSVSSMNWYQQKPGKAPKPLIHATSNLASGVPSRFSGSGSGT EYTLTISSLQPEDFATYYCQQWTFNPPTFGQGTKLEIK
790	DNA scFv (VH-リンカー-VL)	caagtccaactcgtccagtccggtgcagaagtcaagaaacctggagcatccgtgaaagtgtcttgc aaagcctccggctacaccttcaccaactacaacctccattgggtcagacaggccccggacaagg actcgaatggatgggagcgatctacccgggaaactacgacaccagctacaaccagaagttcaagg gccgcgtgactatgaccgccgataagagcacctccaccgcctacatggaactgtcctcgctgaggt ccgaggacactgcggtgtactactgcgcccgcgtggacttcggacactcacggtattggtacttcga cgtctggggacagggcactaccgtgaccgtgtcgagcggcggaggaggttcgggaggggggcgg atcagggggcggcggcagcggtggaggggggctcggatatccagctgactcagtccccgtcattcc tgtccgcctccgtgggagacagagtgaccatcacctgtcgggccacttcctccgtgtcaagcatgaa ctggtatcagcagaagccccgggaaggccccaaagccgctgattcacgcgacgtccaacctggctt ccggcgtgccgagccggttctccggctcggggagcgggactgagtacaccctgactatttcctcgc ttcaaccccgaggactttgctacctactactgccaacagtggaccttcaatcctccgacattcggacag ggtaccaagttggaaatcaag
791	全 CAR アミノ酸配列	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTNYNLHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNYDTSYNQ KFKGRVTMTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVDFGHS RYWYFDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ LTQSPSFLSASVGDRVTITCRATSSVSSMNWYQQKPGKAPKPLI HATSNLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQWT FNPPTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRS ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

【０３３１】

【表５７】

792	全 CAR ヌクレオチド配列	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTT CTGCTCCACGCCGCTCGGCCCCAAGTCCAACTCGTCCAGTCC GGTGCAGAAGTCAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAGTGTC TTGCAAAGCCTCCGGCTACACCTTCACCAACTACAACCTCCA TTGGGTCAGACAGGCCCCCGGACAAGGACTCGAATGGATGG GAGCGATCTACCCGGGAAACTACGACACCAGCTACAACCAG AAGTTCAAGGGCCGCGTGACTATGACCGCCGATAAGAGCAC CTCCACCGCCTACATGGAACTGTCCTCGCTGAGGTCCGAGG ACACTGCGGTGTACTACTGCGCCCGCGTGGACTTCGGACAC TCACGGTATTGGTACTTCGACGTCTGGGGACAGGGCACTAC CGTGACCGTGTCGAGCGGCGGAGGAGGTTCGGGAGGGGGC GGATCAGGGGGCGGCGGCAGCGGTGGAGGGGGCTCGGATA TCCAGCTGACTCAGTCCCCGTCATTCCTGTCCGCCTCCGTGG GAGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCACTTCCTCCGTG TCAAGCATGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGGAAGGCCCC AAAGCCGCTGATTCACGCGACGTCCAACCTGGCTTCCGGCG TGCCGAGCCGGTTCTCCGGCTCGGGGAGCGGGACTGAGTAC ACCCTGACTATTTCCTCGCTTCAACCCGAGGACTTTGCTACC TACTACTGCCAACAGTGGACCTTCAATCCTCCGACATTCGGA CAGGGTACCAAGTTGGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACC GAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCT GTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGG CCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACA TTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTT CACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAG CTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAG ACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGA GGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCC GCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCAGAACCA GCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACG ACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGG CGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTAC AACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCG AGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCA CGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACA CCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
CD20-C5H1		
793	HCDR1 (Kabat)	SYNMH
794	HCDR2 (Kabat)	AIYPGNGDTSYNPKFKG
795	HCDR3 (Kabat)	SYFYGSSSWYFDV
523	HCDR1 (Chothia)	GYTFTSY
796	HCDR2 (Chothia)	YPGNGD
795	HCDR3 (Chothia)	SYFYGSSSWYFDV
797	HCDR1 (IMGT)	GYTFTSYN
798	HCDR2 (IMGT)	IYPGNGDT

【０３３２】

【表５８】

799	HCDR3 (IMGT)	ARSYFYGSSSWYFDV
800	HCDR1 (組合せ)	GYTFTSYNMH
794	HCDR2 (組合せ)	AIYPGNGDTSYNPKFKG
795	HCDR3 (組合せ)	SYFYGSSSWYFDV
801	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNGDTSYNPKFKGRVTMTADKSTRTAYME LSSLRSEDTAVYYCARSYFYGSSSWYFDVWGQGTTVTVSS
802	DNA VH	CAAGTGCAGCTCGTCCAGTCCGGTGCAGAAGTCAAGAAACC CGGTGCTTCAGTGAAAGTGTCCTGCAAGGCCTCCGGTTACA CCTTCACCTCCTACAACATGCACTGGGTCCGCCAAGCCCCG GGCCAGGGACTCGAATGGATGGGAGCCATCTACCCTGGCAA CGGGGACACCTCATACAACCCTAAGTTCAAGGGCAGAGTGA CCATGACTGCGGACAAGTCCACTAGAACAGCGTACATGGAG CTGAGCAGCCTGCGGTCCGAGGATACTGCCGTGTACTACTG CGCCCGCTCCTACTTCTACGGAAGCTCGTCGTGGTACTTCGA TGTCTGGGGACAGGGCACCACTGTGACTGTGTCCTCC
803	LCDR1 (Kabat)	RASSSVSSMH
781	LCDR2 (Kabat)	ATSNLAS
804	LCDR3 (Kabat)	QQWIFNPPT
805	LCDR1 (Chothia)	SSSVSS
784	LCDR2 (Chothia)	ATS
806	LCDR3 (Chothia)	WIFNPP
786	LCDR1 (IMGT)	SSVSS
784	LCDR2 (IMGT)	ATS
804	LCDR3 (IMGT)	QQWIFNPPT
803	LCDR1 (組合せ)	RASSSVSSMH
781	LCDR2 (組合せ)	ATSNLAS
804	LCDR3 (組合せ)	QQWIFNPPT
807	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSMHWYQQKPGQAPR PLIFATSNLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDAAVYYCQQ WIFNPPTFGGGTKVEIK
808	DNA VL	GAAATTGTGCTGACTCAGAGCCCCGCCACCCTGAGCTTGTC CCCCGGGGAAAGGGCAACGCTGTCATGCCGCGCCTCGTCAT CCGTGTCCTCCATGCATTGGTACCAGCAGAAGCCGGGACAG GCCCCTCGGCCGCTGATCTTCGCCACCTCCAATCTCGCTTCC GGCATTCCGGCCCGGTTCTCGGGAAGCGGGTCGGGGACCG ACTATACCCTGACCATCTCTAGCCTTGAACCTGAGGACGCCG CGGTGTACTATTGTCAACAGTGGATCTTTAACCCCCCAACCTT CGGTGGAGGCACCAAAGTGGAGATTAAG

【０３３３】

【表５９】

809	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNGDTSYNPKFKGRVTMTADKSTRTAYME LSSLRSEDTAVYYCARSYFYGSSSWYFDVWGQGTTVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS SSVSSMHWYQQKPGQAPRPLIFATSNLASGIPARFSGSGSGTDY TLTISSLEPEDAAVYYCQQWIFNPPTFGGGTKVEIK
810	DNA scFv (VH-リンカー-VL)	Caagtgcagctcgtccagtccggtgcagaagtcaagaaacccggtgcttcagtgaaagtgtcctgc aaggcctccggttacaccttcacctcctacaacatgcactgggtccgccaagcccccgggccaggg actcgaatggatgggagccatctaccctggcaacggggacacctcatacaacccctaagttcaaggg cagagtgaccatgactgcggacaagtccactagaacagcgtacatggagctgagcagcctgcggt ccgaggatactgccgtgtactactgcgcccgctcctacttctacggaagctcgtcgtggtacttcgat gtctggggacagggcaccactgtgactgtgtcctccggtggcggaggctcgggcggaggcggaa gcggcggcgggggatcgggaggaggagggtccgaaattgtgctgactcagagccccgccaccc tgagcttgtccccccggggaaagggcaacgctgtcatgccgcgcctcgtcatccgtgtcctccatgc attggtaccagcagaagccgggacaggccccctcggccgctgatcttcgccacctccaatctcgctt ccggcattccggccccggttctcgggaagcgggtcggggaccgactatccctgaccatctctagcc ttgaacctgaggacgccgcggtgtactattgtcaacagtggatctttaacccccccaaccttcggtgga ggcaccaaagtggagattaag
811	全CAR アミノ酸配列	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNP KFKGRVTMTADKSTRTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYFYGS SSWYFDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVL TQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSMHWYQQKPGQAPRPLIF ATSNLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDAAVYYCQQWIF NPPTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRS ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

【０３３４】

【表６０】

812	全 CAR ヌクレオチド配列	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTT CTGCTCCACGCCGCTCGGCCCCAAGTGCAGCTCGTCCAGTCC GGTGCAGAAGTCAAGAAACCCGGTGCTTCAGTGAAAGTGTC CTGCAAGGCCTCCGGTTACACCTTCACCTCCTACAACATGCA CTGGGTCCGCCAAGCCCCGGGCCAGGGACTCGAATGGATGG GAGCCATCTACCCTGGCAACGGGGACACCTCATACAACCCT AAGTTCAAGGGCAGAGTGACCATGACTGCGGACAAGTCCAC TAGAACAGCGTACATGGAGCTGAGCAGCCTGCGGTCCGAGG ATACTGCCGTGTACTACTGCGCCCGCTCCTACTTCTACGGAA GCTCGTCGTGGTACTTCGATGTCTGGGGACAGGGCACCACT GTGACTGTGTCCTCCGGTGGCGGAGGCTCGGGCGGAGGCGG AAGCGGCGGCGGGGGATCGGGAGGAGGAGGGTCCGAAATT GTGCTGACTCAGAGCCCCGCCACCCTGAGCTTGTCCCCCGG GGAAAGGGCAACGCTGTCATGCCGCGCCTCGTCATCCGTGT CCTCCATGCATTGGTACCAGCAGAAGCCGGGACAGGCCCCT CGGCCGCTGATCTTCGCCACCTCCAATCTCGCTTCCGGCATT CCGGCCCGGTTCTCGGGAAGCGGGTCGGGGACCGACTATAC CCTGACCATCTCTAGCCTTGAACCTGAGGACGCCGCGGTGT ACTATTGTCAACAGTGGATCTTTAACCCCCCAACCTTCGGTG GAGGCACCAAAGTGGAGATTAAGACCACTACCCCAGCACCG AGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTG TCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGC CGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACAT TTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTC ACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGC TGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGA CTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAG GAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCC GCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACCAGCAGGGGCAGAACCA GCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACG ACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGG CGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTAC AACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCG AGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCA CGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACA CCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
CD20-C3H1		
896	HCDR1 (Kabat)	NYNLH
897	HCDR2 (Kabat)	AIYPGNYDTSYNQKFKG
898	HCDR3 (Kabat)	VDFGHSRYWYFDV
899	HCDR1 (Chothia)	GYTFTNY

【０３３５】

【表６１】

900	HCDR2 (Chothia)	YPGNYD
901	HCDR3 (Chothia)	VDFGHSRYWYFDV
903	HCDR1 (IMGT)	GYTFTNYN
904	HCDR2 (IMGT)	IYPGNYDT
905	HCDR3 (IMGT)	ARVDFGHSRYWYFDV
906	HCDR1 (組合せ)	GYTFTNYNLH
907	HCDR2 (組合せ)	AIYPGNYDTSYNQKFKG
908	HCDR3 (組合せ)	VDFGHSRYWYFDV
909	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYNLHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNYDTSYNQKFKGRVTMTADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARVDFGHSRYWYFDVWGQGTTVTVSS
910	LCDR1 (Kabat)	RATSSVSSMN
911	LCDR2 (Kabat)	ATSNLAS
912	LCDR3 (Kabat)	QQWTFNPPT
913	LCDR1 (Chothia)	TSSVSS
914	LCDR2 (Chothia)	ATS
915	LCDR3 (Chothia)	WTFNPP
916	LCDR1 (IMGT)	SSVSS
917	LCDR2 (IMGT)	ATS
918	LCDR3 (IMGT)	QQWTFNPPT
919	LCDR1 (組合せ)	RATSSVSSMN
920	LCDR2 (組合せ)	ATSNLAS
921	LCDR3 (組合せ)	QQWTFNPPT
922	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRATSSVSSMNWYQQKPGQAPR PLIHATSNLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDAAVYYCQQ WTFNPPTFGQGTKLEIK

【０３３６】

【表６２】

923	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYNLHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNYDTSYNQKFKGRVTMTADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARVDFGHSRYWYFDVWGQGTTVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAT SSVSSMNWYQQKPGQAPRPLIHATSNLASGIPARFSGSGSGTD YTLTISSLEPEDAAVYYCQQWTFNPPTFGQGTKLEIK
924	全 CAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTNYNLHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNYDTSYNQ KFKGRVTMTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVDFGHS RYWYFDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIV LTQSPATLSLSPGERATLSCRATSSVSSMNWYQQKPGQAPRPLI HATSNLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDAAVYYCQQWT FNPPTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRS ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CD20-3H3		
925	HCDR1 (Kabat)	NYNLH
926	HCDR2 (Kabat)	AIYPGNYDTSYNQKFKG
927	HCDR3 (Kabat)	VDFGHSRYWYFDV
928	HCDR1 (Chothia)	GYTFTNY
929	HCDR2 (Chothia)	YPGNYD
930	HCDR3 (Chothia)	VDFGHSRYWYFDV
931	HCDR1 (IMGT)	GYTFTNYN
932	HCDR2 (IMGT)	IYPGNYDT
933	HCDR3 (IMGT)	ARVDFGHSRYWYFDV
934	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYNLHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNYDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARVDFGHSRYWYFDVWGQGTTVTVSS

【０３３７】

【表６３】

935	LCDR1 (Kabat)	RATSSVSSMN
936	LCDR2 (Kabat)	ATSNLAS
937	LCDR3 (Kabat)	QQWTFNPPT
938	LCDR1 (Chothia)	TSSVSS
939	LCDR2 (Chothia)	ATS
940	LCDR3 (Chothia)	WTFNPP
941	LCDR1 (IMGT)	SSVSS
942	LCDR2 (IMGT)	ATS
943	LCDR3 (IMGT)	QQWTFNPPT
944	LCDR1 (組合せ)	RATSSVSSMN
945	LCDR2 (組合せ)	ATSNLAS
946	LCDR3 (組合せ)	QQWTFNPPT
947	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRATSSVSSMNWYQQKPGQAPR PLIHATSNLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDAAVYYCQQ WTFNPPTFGQGTKLEIK
948	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYNLHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNYDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARVDFGHSRYWYFDVWGQGTTVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAT SSVSSMNWYQQKPGQAPRPLIHATSNLASGIPARFSGSGSGTD YTLTISSLEPEDAAVYYCQQWTFNPPTFGQGTKLEIK
949	全 CAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYTFTNYNLHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNYDTSYNQ KFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVDFGHSR YWYFDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVL TQSPATLSLSPGERATLSCRATSSVSSMNWYQQKPGQAPRPLIH ATSNLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDAAVYYCQQWTF NPPTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRS ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CD20-C3H4		
950	HCDR1 (Kabat)	NYNLH
951	HCDR2 (Kabat)	AIYPGNYDTSYNQKFKG

【０３３８】

【表６４】

952	HCDR3 (Kabat)	VDFGHSRYWYFDV
953	HCDR1 (Chothia)	GYTFTNY
954	HCDR2 (Chothia)	YPGNYD
955	HCDR3 (Chothia)	VDFGHSRYWYFDV
956	HCDR1 (IMGT)	GYTFTNYN
957	HCDR2 (IMGT)	IYPGNYDT
958	HCDR3 (IMGT)	ARVDFGHSRYWYFDV
959	HCDR1 (組合せ)	GYTFTNYNLH
960	HCDR2 (組合せ)	AIYPGNYDTSYNQKFKG
961	HCDR3 (組合せ)	VDFGHSRYWYFDV
962	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYNLHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNYDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARVDFGHSRYWYFDVWGQGTTVTVSS
963	LCDR1 (Kabat)	RATSSVSSMN
964	LCDR2 (Kabat)	ATSNLAS
965	LCDR3 (Kabat)	QQWTFNPPT
966	LCDR1 (Chothia)	TSSVSS
967	LCDR2 (Chothia)	ATS
968	LCDR3 (Chothia)	WTFNPP
969	LCDR1 (IMGT)	SSVSS
970	LCDR2 (IMGT)	ATS
971	LCDR3 (IMGT)	QQWTFNPPT
972	LCDR1 (組合せ)	RATSSVSSMN
973	LCDR2 (組合せ)	ATSNLAS
974	LCDR3 (組合せ)	QQWTFNPPT
975	VL	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRATSSVSSMNWYQQKPGKAP KPLIHATSNLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQ QWTFNPPTFGQGTKLEIK

【０３３９】

【表６５】

976	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYNLHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNYDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARVDFGHSRYWYFDVWGQGTTVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRA TSSVSSMNWYQQKPGKAPKPLIHATSNLASGVPSRFSGSGSGT EYTLTISSLQPEDFATYYCQQWTFNPPTFGQGTKLEIK
977	全 CAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYTFTNYNLHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNYDTSYNQ KFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVDFGHSR YWYFDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQL TQSPSFLSASVGDRVTITCRATSSVSSMNWYQQKPGKAPKPLIH ATSNLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQWTF NPPTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRS ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CD20-C2H1		
978	HCDR1 (Kabat)	NYWMH
979	HCDR2 (Kabat)	FITPTTGYPEYNQKFKD
980	HCDR3 (Kabat)	RKVGKGVYYALDY
981	HCDR1 (Chothia)	GYTFTNY
982	HCDR2 (Chothia)	TPTTGY
983	HCDR3 (Chothia)	RKVGKGVYYALDY
984	HCDR1 (IMGT)	GYTFTNYW
985	HCDR2 (IMGT)	ITPTTGYP
986	HCDR3 (IMGT)	ARRKVGKGVYYALDY
987	HCDR1 (組合せ)	GYTFTNYWMH
988	HCDR2 (組合せ)	FITPTTGYPEYNQKFKD
989	HCDR3 (組合せ)	RKVGKGVYYALDY
990	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQA PGQGLEWMGFITPTTGYPEYNQKFKDRVTMTADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARRKVGKGVYYALDYWGQGTTVTVSS
991	LCDR1 (Kabat)	RASGNIHNYLA
992	LCDR2 (Kabat)	NTKTLAD

【０３４０】

【表６６】

993	LCDR3 (Kabat)	QHFWSSPWT
994	LCDR1 (Chothia)	SGNIHNY
995	LCDR2 (Chothia)	NTK
996	LCDR3 (Chothia)	FWSSPW
997	LCDR1 (IMGT)	GNIHNY
998	LCDR2 (IMGT)	NTK
999	LCDR3 (IMGT)	QHFWSSPWT
1000	LCDR1 (組合せ)	RASGNIHNYLA
1001	LCDR2 (組合せ)	NTKTLAD
1002	LCDR3 (組合せ)	QHFWSSPWT
1003	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLAWYQQKPGKV PKLLIYNTKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYY CQHFWSSPWTFGGGTKVEIK
1004	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQA PGQGLEWMGFITPTTGYPEYNQKFKDRVTMTADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARRKVGKGVYYALDYWGQGTTVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASGNIHNYLAWYQQKPGKVPKLLIYNTKTLADGVPSRFSGSGS GTDYTLTISSLQPEDVATYYCQHFWSSPWTFGGGTKVEIK
1005	全 CAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGFITPTTGYPEYNQ KFKDRVTMTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRKVGKG VYYALDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLAWYQQKPGKVPKL LIYNTKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQH FWSSPWTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CD20-C2H2		
1006	HCDR1 (Kabat)	NYWMH
1007	HCDR2 (Kabat)	FITPTTGYPEYNQKFKD
1008	HCDR3 (Kabat)	RKVGKGVYYALDY
1009	HCDR1 (Chothia)	GYTFTNY

【０３４１】

【表６７】

1010	HCDR2 (Chothia)	TPTTGY
1011	HCDR3 (Chothia)	RKVGKGVYYALDY
1012	HCDR1 (IMGT)	GYTFTNYW
1013	HCDR2 (IMGT)	ITPTTGYP
1014	HCDR3 (IMGT)	ARRKVGKGVYYALDY
1015	HCDR1 (組合せ)	GYTFTNYWMH
1016	HCDR2 (組合せ)	FITPTTGYPEYNQKFKD
1017	HCDR3 (組合せ)	RKVGKGVYYALDY
1018	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAP GQGLEWMGFITPTTGYPEYNQKFKDRVTITADKSTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCARRKVGKGVYYALDYWGQGTTVSS
1019	LCDR1 (Kabat)	RASGNIHNYLA
1020	LCDR2 (Kabat)	NTKTLAD
1021	LCDR3 (Kabat)	QHFWSSPWT
1022	LCDR1 (Chothia)	SGNIHNY
1023	LCDR2 (Chothia)	NTK
1024	LCDR3 (Chothia)	FWSSPW
1025	LCDR1 (IMGT)	GNIHNY
1026	LCDR2 (IMGT)	NTK
1027	LCDR3 (IMGT)	QHFWSSPWT
1028	LCDR1 (組合せ)	RASGNIHNYLA
1029	LCDR2 (組合せ)	NTKTLAD
1030	LCDR3 (組合せ)	QHFWSSPWT
1031	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLAWYQQKPGKV PKLLIYNTKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYY CQHFWSSPWTFGGGTKVEIK
1032	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAP GQGLEWMGFITPTTGYPEYNQKFKDRVTITADKSTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCARRKVGKGVYYALDYWGQGTTVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS GNIHNYLAWYQQKPGKVPKLLIYNTKTLADGVPSRFSGSGSGT DYTLTISSLQPEDVATYYCQHFWSSPWTFGGGTKVEIK

【０３４２】

【表６８】

1033	全 CAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGFITPTTGYPEYNQ KFKDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRKVGKG VYYALDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLAWYQQKPGKVPKL LIYNTKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQH FWSSPWTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CD20-C2H3		
1034	HCDR1 (Kabat)	NYWMH
1035	HCDR2 (Kabat)	FITPTTGYPEYNQKFKD
1036	HCDR3 (Kabat)	RKVGKGVYYALDY
1037	HCDR1 (Chothia)	GYTFTNY
1038	HCDR2 (Chothia)	TPTTGY
1039	HCDR3 (Chothia)	RKVGKGVYYALDY
1040	HCDR1 (IMGT)	GYTFTNYW
1041	HCDR2 (IMGT)	ITPTTGYP
1042	HCDR3 (IMGT)	ARRKVGKGVYYALDY
1043	HCDR1 (組合せ)	GYTFTNYWMH
1044	HCDR2 (組合せ)	FITPTTGYPEYNQKFKD
1045	HCDR3 (組合せ)	RKVGKGVYYALDY
1046	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQA PGQGLEWMGFITPTTGYPEYNQKFKDRVTMTADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARRKVGKGVYYALDYWGQGTTVTVSS
1047	LCDR1 (Kabat)	RASGNIHNYLA
1048	LCDR2 (Kabat)	NTKTLAD
1049	LCDR3 (Kabat)	QHFWSSPWT
1050	LCDR1 (Chothia)	SGNIHNY

【０３４３】

【表６９】

1051	LCDR2 (Chothia)	NTK
1052	LCDR3 (Chothia)	FWSSPW
1053	LCDR1 (IMGT)	GNIHNY
1054	LCDR2 (IMGT)	NKT
1055	LCDR3 (IMGT)	QHFWSSPWT
1056	LCDR1 (組合せ)	RASGNIHNYLA
1057	LCDR2 (組合せ)	NTKTLAD
1058	LCDR3 (組合せ)	QHFWSSPWT
1059	VL	AIRMTQSPFSLSASVGDRVTITCRASGNYNNYLAWYQQKPAKA PKLFIYNTKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC QHFWSSPWTFGGGTKVEIK
1060	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQA PGQGLEWMGFITPTTGYPEYNQKFKDRVTMTADKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCARRKVGKGVYYALDYWGQGTTVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSAIRMTQSPFSLSASVGDRVTITCR ASGNIHNYLAWYQQKPAKAPKLFIYNTKTLADGVPSRFSGSGS GTDYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWSSPWTFGGGTKVEIK
1061	全 CAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGFITPTTGYPEYNQ KFKDRVTMTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRKVGKG VYYALDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAIR MTQSPFSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLAWYQQKPAKAPKL FIYNTKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQH FWSSPWTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CD20-C2H4		
1062	HCDR1 (Kabat)	NYWMH
1063	HCDR2 (Kabat)	FITPTTGYPEYNQKFKD
1064	HCDR3 (Kabat)	RKVGKGVYYALDY
1065	HCDR1 (Chothia)	GYTFTNY
1066	HCDR2 (Chothia)	TPTTGY
1067	HCDR3 (Chothia)	RKVGKGVYYALDY

【０３４４】

【表７０】

1068	HCDR1 (IMGT)	GYTFTNYW
1069	HCDR2 (IMGT)	ITPTTGYP
1070	HCDR3 (IMGT)	ARRKVGKGVYYALDY
1071	HCDR1 (組合せ)	GYTFTNYWMH
1072	HCDR2 (組合せ)	FITPTTGYPEYNQKFKD
1073	HCDR3 (組合せ)	RKVGKGVYYALDY
1074	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAP GQGLEWMGFITPTTGYPEYNQKFKDRVTITADKSTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCARRKVGKGVYYALDYWGQGTTVSS
1075	LCDR1 (Kabat)	RASGNIHNYLA
1076	LCDR2 (Kabat)	NTKTLAD
1077	LCDR3 (Kabat)	QHFWSSPWT
1078	LCDR1 (Chothia)	SGNIHNY
1079	LCDR2 (Chothia)	NTK
1080	LCDR3 (Chothia)	FWSSPW
1081	LCDR1 (IMGT)	GNIHNY
1082	LCDR2 (IMGT)	NTK
1083	LCDR3 (IMGT)	QHFWSSPWT
1084	LCDR1 (組合せ)	RASGNIHNYLA
1085	LCDR2 (組合せ)	NTKTLAD
1086	LCDR3 (組合せ)	QHFWSSPWT
1087	VL	AIRMTQSPFSLSASVGDRVTITCRASGNYNNYLAWYQQKPAKA PKLFIYNTKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC QHFWSSPWTFGGGTKVEIK
1088	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAP GQGLEWMGFITPTTGYPEYNQKFKDRVTITADKSTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCARRKVGKGVYYALDYWGQGTTVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSAIRMTQSPFSLSASVGDRVTITCRAS GNIHNYLAWYQQKPAKAPKLFIYNTKTLADGVPSRFSGSGSGT DYTLTISSLQPEDFATYYCQHFWSSPWTFGGGTKVEIK

【０３４５】

【表７１】

1089	全 CAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGFITPTTGYPEYNQ KFKDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRKVGKG VYYALDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAIR MTQSPFSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLAWYQQKPAKAPKL FIYNTKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQH FWSSPWTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CD20-C5H2		
1090	HCDR1 (Kabat)	SYNMH
1091	HCDR2 (Kabat)	AIYPGNGDTSYNPKFKG
1092	HCDR3 (Kabat)	SYFYGSSSWYFDV
1093	HCDR1 (Chothia)	GYTFTSY
1094	HCDR2 (Chothia)	YPGNGD
1095	HCDR3 (Chothia)	SYFYGSSSWYFDV
1096	HCDR1 (IMGT)	GYTFTSYN
1097	HCDR2 (IMGT)	IYPGNGDT
1098	HCDR3 (IMGT)	ARSYFYGSSSWYFDV
1099	HCDR1 (組合せ)	GYTFTSYNMH
1100	HCDR2 (組合せ)	AIYPGNGDTSYNPKFKG
1101	HCDR3 (組合せ)	SYFYGSSSWYFDV
1102	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNGDTSYNPKFKGRVTMTADKSTRTAYME LSSLRSEDTAVYYCARSYFYGSSSWYFDVWGQGTTVTVSS
1103	LCDR1 (Kabat)	RASSSVSSMH
1104	LCDR2 (Kabat)	ATSNLAS

【０３４６】

【表７２】

1105	LCDR3 (Kabat)	QQWIFNPPT
1106	LCDR1 (Chothia)	SSSVSS
1107	LCDR2 (Chothia)	ATS
1108	LCDR3 (Chothia)	WIFNPP
1109	LCDR1 (IMGT)	SSVSS
1110	LCDR2 (IMGT)	ATS
1111	LCDR3 (IMGT)	QQWIFNPPT
1112	LCDR1 (組合せ)	RASSSVSSMH
1113	LCDR2 (組合せ)	ATSNLAS
1114	LCDR3 (組合せ)	QQWIFNPPT
1115	VL	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASSSVSSMHWYQQKPGKAP KPLIFATSNLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQ QWIFNPPTFGGGTKVEIK
1116	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNGDTSYNPKFKGRVTMTADKSTRTAYME LSSLRSEDTAVYYCARSYFYGSSSWYFDVWGQGTTVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRAS SSVSSMHWYQQKPGKAPKPLIFATSNLASGVPSRFSGSGSGTE YTLTISSLQPEDFATYYCQQWIFNPPTFGGGTKVEIK
1117	全 CAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNP KFKGRVTMTADKSTRTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYFYGS SSWYFDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQL TQSPSFLSASVGDRVTITCRASSSVSSMHWYQQKPGKAPKPLIF ATSNLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQWIF NPPTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRS ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CD20-C5H3		

【０３４７】

【表７３】

1118	HCDR1 (Kabat)	SYNMH
1119	HCDR2 (Kabat)	AIYPGNGDTSYNPKFKG
1120	HCDR3 (Kabat)	SYFYGSSSWYFDV
1121	HCDR1 (Chothia)	GYTFTSY
1122	HCDR2 (Chothia)	YPGNGD
1123	HCDR3 (Chothia)	SYFYGSSSWYFDV
1124	HCDR1 (IMGT)	GYTFTSYN
1125	HCDR2 (IMGT)	IYPGNGDT
1126	HCDR3 (IMGT)	ARSYFYGSSSWYFDV
1127	HCDR1 (組合せ)	GYTFTSYNMH
1128	HCDR2 (組合せ)	AIYPGNGDTSYNPKFKG
1129	HCDR3 (組合せ)	SYFYGSSSWYFDV
1130	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNGDTSYNPKFKGRVTITADKSTRTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARSYFYGSSSWYFDVWGQGTTVTVSS
1131	LCDR1 (Kabat)	RASSSVSSMH
1132	LCDR2 (Kabat)	ATSNLAS
1133	LCDR3 (Kabat)	QQWIFNPPT
1134	LCDR1 (Chothia)	SSSVSS
1135	LCDR2 (Chothia)	ATS
1136	LCDR3 (Chothia)	WIFNPP
1137	LCDR1 (IMGT)	SSVSS
1138	LCDR2 (IMGT)	ATS
1139	LCDR3 (IMGT)	QQWIFNPPT

【０３４８】

【表７４】

1140	LCDR1 (組合せ)	RASSSVSSMH
1141	LCDR2 (組合せ)	ATSNLAS
1142	LCDR3 (組合せ)	QQWIFNPPT
1143	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSMHWYQQKPGQAPR PLIFATSNLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDAAVYYCQQ WIFNPPTFGGGTKVEIK
1144	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNGDTSYNPKFKGRVTITADKSTRTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARSYFYGSSSWYFDVWGQGTTVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASS SVSSMHWYQQKPGQAPRPLIFATSNLASGIPARFSGSGSGTDYT LTISSLEPEDAAVYYCQQWIFNPPTFGGGTKVEIK
1145	全 CAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNP KFKGRVTITADKSTRTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYFYGSSS WYFDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLT QSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSSMHWYQQKPGQAPRPLIFA TSNLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDAAVYYCQQWIFNP PTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSAD APAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ GLSTATKDTYDALHMQALPPR
CD20-C5H4		
1146	HCDR1 (Kabat)	SYNMH
1147	HCDR2 (Kabat)	AIYPGNGDTSYNPKFKG
1148	HCDR3 (Kabat)	SYFYGSSSWYFDV
1149	HCDR1 (Chothia)	GYTFTSY
1150	HCDR2 (Chothia)	YPGNGD
1151	HCDR3 (Chothia)	SYFYGSSSWYFDV
1152	HCDR1 (IMGT)	GYTFTSYN

【０３４９】

【表７５】

1153	HCDR2 (IMGT)	IYPGNGDT
1154	HCDR3 (IMGT)	ARSYFYGSSSWYFDV
1155	HCDR1 (組合せ)	GYTFTSYNMH
1156	HCDR2 (組合せ)	AIYPGNGDTSYNPKFKG
1157	HCDR3 (組合せ)	SYFYGSSSWYFDV
1158	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNGDTSYNPKFKGRVTITADKSTRTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARSYFYGSSSWYFDVWGQGTTVTVSS
1159	LCDR1 (Kabat)	RASSSVSSMH
1160	LCDR2 (Kabat)	ATSNLAS
1161	LCDR3 (Kabat)	QQWIFNPPT
1162	LCDR1 (Chothia)	SSSVSS
1163	LCDR2 (Chothia)	ATS
1164	LCDR3 (Chothia)	WIFNPP
1165	LCDR1 (IMGT)	SSVSS
1166	LCDR2 (IMGT)	ATS
1167	LCDR3 (IMGT)	QQWIFNPPT
1168	LCDR1 (組合せ)	RASSSVSSMH
1169	LCDR2 (組合せ)	ATSNLAS
1170	LCDR3 (組合せ)	QQWIFNPPT
1171	VL	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASSSVSSMHWYQQKPGKAP KPLIFATSNLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQ QWIFNPPTFGGGTKVEIK
1172	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAP GQGLEWMGAIYPGNGDTSYNPKFKGRVTITADKSTRTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARSYFYGSSSWYFDVWGQGTTVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASS SVSSMHWYQQKPGKAPKPLIFATSNLASGVPSRFSGSGSGTEY TLTISSLQPEDFATYYCQQWIFNPPTFGGGTKVEIK

【０３５０】

【表７６】

1173	全CAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGNGDTSYNP KFKGRVTITADKSTRTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSYFYGSS SWYFDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQL TQSPSFLSASVGDRVTITCRASSSVSSMHWYQQKPGKAPKPLIF ATSNLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYCQQWIF NPPTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRS ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CD20-C3		
1174	VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTNYNLHWVKQTP GQGLEWIGAIYPGNYDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMLL SSLTSEDSAVYFCARVDFGHSRYWYFDVWGAGTTVSS
1175	VL	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRATSSVSSMNWYQQKPGSFPR PWIHATSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQ QWTFNPPTFGAGAKLELK
CD20-C5		
1176	VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTP GQGLEWIGAIYPGNGDTSYNPKFKGKATLTADKSSRTAYIHLS SLTSEDSVVYYCARSYFYGSSSWYFDVWGAGTTVTVSS
1177	VL	QIILSQSPAILSASPGEKVTLTCRASSSVSSMHWYQQKPGSSPKP WIFATSNLASGVPARFTGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQ WIFNPPTFGGGTSLEIK
CD20-C2		
1178	VH	QVHLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTFTNYWMHWVKQR PGQGLEWIGFITPTTGYPEYNQKFKDKATLTADKSSSTAYMQL SSLTSEDSAVYYCARRKVGKGVYYALDYWGQGTSVTVSS
1179	VL	DILMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGNS PQLLVYNTKTLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQTEDFGTYY CQHFWSSPWTFGGGTKLEIK

【０３５１】

ＣＤ２２に結合するＣＡＲは、当技術分野で公知である。例えば、国際公開第２０１８／０６７９９２号パンフレット又は国際公開第２０１６／１６４７３１号パンフレットに開示されているものである。当技術分野において、任意の公知のＣＤ２２　ＣＡＲ、例えば任意の公知のＣＤ２２　ＣＡＲのＣＤ２２抗原結合ドメインは、本開示に従って使用され得る。

【０３５２】

例示的なＣＤ２２結合配列又はＣＤ２２　ＣＡＲ配列は、例えば、国際公開第２０１６１６４７３１号パンフレットの表６Ａ、６Ｂ、７Ａ、７Ｂ、７Ｃ、８Ａ、８Ｂ、９Ａ、９Ｂ、１０Ａ及び１０Ｂ並びに国際公開第２０１８０６７９９２号パンフレットの表６～１０に開示されている。いくつかの実施形態において、ＣＤ２２　ＣＡＲ配列は、国際公開第２０１８０６７９９２号パンフレット又は国際公開第２０１６１６４７３１号パンフレットに開示されているＣＤ２２　ＣＡＲのＣＤＲ、可変領域、ｓｃＦｖ又は全長配列を含む。

【０３５３】
実施形態において、ＣＡＲは、ＣＤ２２に結合する抗原結合ドメイン（ＣＤ２２　ＣＡＲ）を含む。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、ヒトＣＤ２２を標的とする。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、本明細書に記載されるような単鎖Ｆｖ配列を含む。
【０３５４】
ヒトＣＤ２２　ＣＡＲの配列を以下に提供する。いくつかの実施形態において、ヒトＣＤ２２　ＣＡＲは、ＣＡＲ２２－６５である。
ヒトＣＤ２２　ＣＡＲ　ｓｃＦｖ配列
【化５】

EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTW
YDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDV
WGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGY
NYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCS
SYTSSSTLYVFGTGTQLTVL (配列番号753)

ヒトＣＤ２２　ＣＡＲ重鎖可変領域
【化６】

EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTW
YDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDV
WGQGTMVTVSS (配列番号754)

ヒトＣＤ２２　ＣＡＲ軽鎖可変領域
ＱＳＡＬＴＱＰＡＳＡＳＧＳＰＧＱＳＶＴＩＳＣＴＧＴＳＳＤＶＧＧＹＮＹＶＳＷＹＱＱ
ＨＰＧＫＡＰＫＬＭＩＹＤＶＳＮＲＰＳＧＶＳＮＲＦＳＧＳＫＳＧＮＴＡＳＬＴＩＳＧＬ
ＱＡＥＤＥＡＤＹＹＣＳＳＹＴＳＳＳＴＬＹＶＦＧＴＧＴＱＬＴＶＬ（配列番号７５５）
【０３５５】
いくつかの実施形態では、ＣＤ２２ＣＡＲは、以下の表１５～１６及び表２４に開示される配列、例えば、ＣＤＲ、ＶＨ、ＶＬ、ｓｃＦｖ若しくは全ＣＡＲ配列又はそれらに対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含む。
【０３５６】

【表７７】

表 15. CD22 CAR の重鎖可変ドメイン CDR (CAR22-65)

候補	HCDR1	配列番号	HCDR2	配列番号	HCDR3	配列番号
CAR22-65 組合せ	GDSMLSNSDTWN	744	RTYHRSTWYDDYASSVRG	746	VRLQDGNSWSDAFDV	748
CAR22-65 Kabat	SNSDTWN	745	RTYHRSTWYDDYASSVRG	747	VRLQDGNSWSDAFDV	749
CD22-65 Chothia	GDSMLSNSD	1180	YHRSTWY	1181	VRLQDGNSWSDAFDV	1182
CD22-65 IMGT	GDSMLSNSDT	1183	TYHRSTWYD	1184	ARVRLQDGNSWSDAFDV	1185

【０３５７】

【表７８】

表 16. CD22 CAR (CAR22-65)の軽鎖可変ドメイン CDR。この表の LC CDR 配列は、Kabat 又は組合せた定義の下で同じ配列を有する。

候補	LCDR1	配列番号	LCDR2	配列番号	LCDR3	配列番号
CAR22-65 組合せ	TGTSSDVGGYNYVS	750	DVSNRPS	751	SSYTSSSTLYV	752
CD22-65 Kabat	TGTSSDVGGYNYVS	1186	DVSNRPS	1189	SSYTSSSTLYV	1192
CD22-65 Chothia	TSSDVGGYNY	1187	DVS	1190	YTSSSTLY	1193
CD22-65 IMGT	SSDVGGYNY	1188	DVS	1191	SSYTSSSTLYV	1194

【０３５８】

【表７９】

表 24. 例示的な抗 CD22 分子のアミノ酸配列

配列番号	領域	配列
CD22-65		
1195	scFv (VH-リンカー-VL) (リンカーは斜体及び下線で示す)	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSS*GGGGS*QSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVL
CD22-65ss		

【０３５９】

【表８０】

1196	scFv (VH - VL) (VH-VL 間にリンカーなし)	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSSQSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQ QHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQA EDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVL
CD22-65sKD		
1197	VH	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRKSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSS
1198	VL	QSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQDHP GKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDE ADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVL
1199	scFv (VH-リンカー-VL)	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRKSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSSGGGGSQSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYV SWYQDHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTIS GLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVL
CD22-64		
1200	HC CDR1 (Kabat)	SNSDTWN
1201	HC CDR2 (Kabat)	RTYHRSTWYDDYASSVRG
1202	HC CDR3 (Kabat)	VRLQDGNSWSDAFDV
1203	HC CDR1 (Chothia)	GDSVLSNSD
1204	HC CDR2 (Chothia)	YHRSTWY
1205	HC CDR3 (Chothia)	VRLQDGNSWSDAFDV
1206	HC CDR1 (IMGT)	GDSVLSNSDT
1207	HC CDR2 (IMGT)	TYHRSTWYD
1208	HC CDR3 (IMGT)	ARVRLQDGNSWSDAFDV
1209	HC CDR1 (組合せ)	GDSVLSNSDTWN
1210	HC CDR2 (組合せ)	RTYHRSTWYDDYASSVRG
1211	HC CDR3 (組合せ)	VRLQDGNSWSDAFDV
1212	VH	EVQLQQSGPGLVKPSQTLPLTCAISGDSVLSNSDTWNWIRQSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSS

【０３６０】

【表８１】

1213	LC CDR1 (Kabat)	TGTSSDVGGYNYVS
1214	LC CDR2 (Kabat)	DVSNRPS
1215	LC CDR3 (Kabat)	SSYTSSSTLYV
1216	LC CDR1 (Chothia)	TSSDVGGYNY
1217	LC CDR2 (Chothia)	DVS
1218	LC CDR3 (Chothia)	YTSSSTLY
1219	LC CDR1 (IMGT)	SSDVGGYNY
1220	LC CDR2 (IMGT)	DVS
1221	LC CDR3 (IMGT)	SSYTSSSTLYV
1222	LC CDR1 (組合せ)	TGTSSDVGGYNYVS
1223	LC CDR2 (組合せ)	DVSNRPS
1224	LC CDR3 (組合せ)	SSYTSSSTLYV
1225	VL	QSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHP GKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDE ADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVL
1226	scFv (VH-リンカー-VL)	EVQLQQSGPGLVKPSQTLPLTCAISGDSVLSNSDTWNWIRQSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSSGGGGSGGGGSGGGGPQSALTQPASASGSPGQSVTISCTGT SSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSG SKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLT VL
CD22-57		
1227	HC CDR1 (Kabat)	NNNAAWN
1228	HC CDR2 (Kabat)	RTYHRSTWYNDYVGSVKS
1229	HC CDR3 (Kabat)	ETDYGDYGAFDI
1230	HC CDR1 (Chothia)	GDSVSNNNA
1231	HC CDR2 (Chothia)	YHRSTWY
1232	HC CDR3 (Chothia)	ETDYGDYGAFDI
1233	HC CDR1 (IMGT)	GDSVSNNNAA

【０３６１】

【表８２】

1234	HC CDR2 (IMGT)	TYHRSTWYN
1235	HC CDR3 (IMGT)	ARETDYGDYGAFDI
1236	HC CDR1 (組合せ)	GDSVSNNNAAWN
1237	HC CDR2 (組合せ)	RTYHRSTWYNDYVGSVKS
1238	HC CDR3 (組合せ)	ETDYGDYGAFDI
1239	VH	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSNNNAAWNWIRQS PSRGLEWLGRTYHRSTWYNDYVGSVKSRITINPDTSKNQFSL QLNSVTPEDTAVYYCARETDYGDYGAFDIWGQGTTVTVSS
1240	LC CDR1 (Kabat)	TGSRNDIGAYESVS
1241	LC CDR2 (Kabat)	GVNNRPS
1242	LC CDR3 (Kabat)	SSHTTTSTLYV
1243	LC CDR1 (Chothia)	SRNDIGAYES
1244	LC CDR2 (Chothia)	GVN
1245	LC CDR3 (Chothia)	HTTTSTLY
1246	LC CDR1 (IMGT)	RNDIGAYES
1247	LC CDR2 (IMGT)	GVN
1248	LC CDR3 (IMGT)	SSHTTTSTLYV
1249	LC CDR1 (組合せ)	TGSRNDIGAYESVS
1250	LC CDR2 (組合せ)	GVNNRPS
1251	LC CDR3 (組合せ)	SSHTTTSTLYV
1252	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSRNDIGAYESVSWYQQHPG NAPKLIIHGVNNRPSGVFDRFSVSQSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCSSHTTTSTLYVFGTGTKVTVL
1253	scFv (VH-リンカー-VL)	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSNNNAAWNWIRQS PSRGLEWLGRTYHRSTWYNDYVGSVKSRITINPDTSKNQFSL QLNSVTPEDTAVYYCARETDYGDYGAFDIWGQGTTVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSRNDIG AYESVSWYQQHPGNAPKLIIHGVNNRPSGVFDRFSVSQSGNT ASLTISGLQAEDEADYYCSSHTTTSTLYVFGTGTKVTVL
CD22-58		
1254	HC CDR1 (Kabat)	SNSAAWN

【０３６２】

【表８３】

1255	HC CDR2 (Kabat)	RTFYRSKWYNDYAVSVKG
1256	HC CDR3 (Kabat)	GDYYYGLDV
1257	HC CDR1 (Chothia)	GDSVSSNSA
1258	HC CDR2 (Chothia)	FYRSKWY
1259	HC CDR3 (Chothia)	GDYYYGLDV
1260	HC CDR1 (IMGT)	GDSVSSNSAA
1261	HC CDR2 (IMGT)	TFYRSKWYN
1262	HC CDR3 (IMGT)	AGGDYYYGLDV
1263	HC CDR1 (組合せ)	GDSVSSNSAAWN
1264	HC CDR2 (組合せ)	RTFYRSKWYNDYAVSVKG
1265	HC CDR3 (組合せ)	GDYYYGLDV
1266	VH	EVQLQQSGPGLVNPSQTLSITCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSP SRGLEWLGRTFYRSKWYNDYAVSVKGRITISPDTSKNQFSLQ LNSVTPEDTAVYYCAGGDYYYGLDVWGQGTTVTVSS
1267	LC CDR1 (Kabat)	TGSSSDVGGYNSVS
1268	LC CDR2 (Kabat)	EVINRPS
1269	LC CDR3 (Kabat)	SSYTSSSTYV
1270	LC CDR1 (Chothia)	SSSDVGGYNS
1271	LC CDR2 (Chothia)	EVI
1272	LC CDR3 (Chothia)	YTSSSTY
1273	LC CDR1 (IMGT)	SSDVGGYNS
1274	LC CDR2 (IMGT)	EVI
1275	LC CDR3 (IMGT)	SSYTSSSTYV
1276	LC CDR1 (組合せ)	TGSSSDVGGYNSVS
1277	LC CDR2 (組合せ)	EVINRPS
1278	LC CDR3 (組合せ)	SSYTSSSTYV

【０３６３】

【表８４】

1279	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGGYNSVSWYQQHPG KAPKLMIYEVINRPSGVSHRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEA DYYCSSYTSSSTYVFGTGTKVTVL
1280	scFv (VH-リンカー-VL)	EVQLQQSGPGLVNPSQTLSITCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSP SRGLEWLGRTFYRSKWYNDYAVSVKGRITISPDTSKNQFSLQ LNSVTPEDTAVYYCAGGDYYYGLDVWGQGTTVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGGYN SVSWYQQHPGKAPKLMIYEVINRPSGVSHRFSGSKSGNTASLT ISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTYVFGTGTKVTVL
CD22-59		
1281	HC CDR1 (Kabat)	SNSDTWN
1282	HC CDR2 (Kabat)	RTYHRSTWYDDYASSVRG
1283	HC CDR3 (Kabat)	DRLQDGNSWSDAFDV
1284	HC CDR1 (Chothia)	GDSVLSNSD
1285	HC CDR2 (Chothia)	YHRSTWY
1286	HC CDR3 (Chothia)	DRLQDGNSWSDAFDV
1287	HC CDR1 (IMGT)	GDSVLSNSDT
1288	HC CDR2 (IMGT)	TYHRSTWYD
1289	HC CDR3 (IMGT)	ARDRLQDGNSWSDAFDV
1290	HC CDR1 (組合せ)	GDSVLSNSDTWN
1291	HC CDR2 (組合せ)	RTYHRSTWYDDYASSVRG
1292	HC CDR3 (組合せ)	DRLQDGNSWSDAFDV
1293	VH	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVLSNSDTWNWIRQSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARDRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSS
1294	LC CDR1 (Kabat)	TGSSSDIGGFNYVS
1295	LC CDR2 (Kabat)	EVTNRPS
1296	LC CDR3 (Kabat)	SSYASGSPLYV
1297	LC CDR1 (Chothia)	SSSDIGGFNY
1298	LC CDR2 (Chothia)	EVT
1299	LC CDR3 (Chothia)	YASGSPLY

【０３６４】

【表８５】

1300	LC CDR1 (IMGT)	SSDIGGGFNY
1301	LC CDR2 (IMGT)	EVT
1302	LC CDR3 (IMGT)	SSYASGSPLYV
1303	LC CDR1 (組合せ)	TGSSSDIGGFNYVS
1304	LC CDR2 (組合せ)	EVTNRPS
1305	LC CDR3 (組合せ)	SSYASGSPLYV
1306	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSSDIGGFNYVSWYQQHAGE APKLMIYEVTNRPSGVSDRFSGSKSDNTASLTISGLQAEDEAD YYCSSYASGSPLYVFGTGTKVTVL
1307	scFv (VH-リンカー-VL)	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVLSNSDTWNWIRQSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARDRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSS SDIGGFNYVSWYQQHAGEAPKLMIYEVTNRPSGVSDRFSGSK SDNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYASGSPLYVFGTGTKVTVL
CD22-60		
1308	HC CDR1 (Kabat)	SNSDTWN
1309	HC CDR2 (Kabat)	RTYHRSTWYDDYASSVRG
1310	HC CDR3 (Kabat)	DRLQDGNSWSDAFDV
1311	HC CDR1 (Chothia)	GDSVLSNSD
1312	HC CDR2 (Chothia)	YHRSTWY
1313	HC CDR3 (Chothia)	DRLQDGNSWSDAFDV
1314	HC CDR1 (IMGT)	GDSVLSNSDT
1315	HC CDR2 (IMGT)	TYHRSTWYD
1316	HC CDR3 (IMGT)	ARDRLQDGNSWSDAFDV
1317	HC CDR1 (組合せ)	GDSVLSNSDTWN
1318	HC CDR2 (組合せ)	RTYHRSTWYDDYASSVRG
1319	HC CDR3 (組合せ)	DRLQDGNSWSDAFDV
1320	VH	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVLSNSDTWNWIRQSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARDRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSS

【０３６５】

【表８６】

1321	LC CDR1 (Kabat)	TGTSSDIGGYNYVS
1322	LC CDR2 (Kabat)	EVSNRPS
1323	LC CDR3 (Kabat)	SSYTSSSTLYV
1324	LC CDR1 (Chothia)	TSSDIGGYNY
1325	LC CDR2 (Chothia)	EVS
1326	LC CDR3 (Chothia)	YTSSSTLY
1327	LC CDR1 (IMGT)	SSDIGGYNY
1328	LC CDR2 (IMGT)	EVS
1329	LC CDR3 (IMGT)	SSYTSSSTLYV
1330	LC CDR1 (組合せ)	TGTSSDIGGYNYVS
1331	LC CDR2 (組合せ)	EVSNRPS
1332	LC CDR3 (組合せ)	SSYTSSSTLYV
1333	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITFSCTGTSSDIGGYNYVSWYQQHPG KAPKLMIYEVSNRPSGVSNRFSGTKSGNTASLTISGLQAEDEA DYYCSSYTSSSTLYVFGTGTKLTVL
1334	scFv (VH-リンカー-VL)	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVLSNSDTWNWIRQSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARDRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSSGGGGSGGGGSGSGGSQSALTQPASVSGSPGQSITFSCTGT SSDIGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYEVSNRPSGVSNRFSGT KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTKLTV L
CD22-61		
1335	HC CDR1 (Kabat)	SNSDTWN
1336	HC CDR2 (Kabat)	RTYHRSTWYDDYASSVRG
1337	HC CDR3 (Kabat)	DRLQDGNSWSDAFDV
1338	HC CDR1 (Chothia)	GDSVLSNSD
1339	HC CDR2 (Chothia)	YHRSTWY
1340	HC CDR3 (Chothia)	DRLQDGNSWSDAFDV
1341	HC CDR1 (IMGT)	GDSVLSNSDT

【０３６６】

【表８７】

1342	HC CDR2 (IMGT)	TYHRSTWYD
1343	HC CDR3 (IMGT)	ARDRLQDGNSWSDAFDV
1344	HC CDR1 (組合せ)	GDSVLSNSDTWN
1345	HC CDR2 (組合せ)	RTYHRSTWYDDYASSVRG
1346	HC CDR3 (組合せ)	DRLQDGNSWSDAFDV
1347	VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVLSNSDTWNWIRQSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARDRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSS
1348	LC CDR1 (Kabat)	TGTSSDVGGYNYVS
1349	LC CDR2 (Kabat)	EVSNRPS
1350	LC CDR3 (Kabat)	SSYTSSSTLYV
1351	LC CDR1 (Chothia)	TSSDVGGYNY
1352	LC CDR2 (Chothia)	EVS
1353	LC CDR3 (Chothia)	YTSSSTLY
1354	LC CDR1 (IMGT)	SSDVGGYNY
1355	LC CDR2 (IMGT)	EVS
1356	LC CDR3 (IMGT)	SSYTSSSTLYV
1357	LC CDR1 (組合せ)	TGTSSDVGGYNYVS
1358	LC CDR2 (組合せ)	EVSNRPS
1359	LC CDR3 (組合せ)	SSYTSSSTLYV
1360	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPG KAPKLMIYEVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEA DYYCSSYTSSSTLYVFGTGTKVTVL
1361	scFv (VH-リンカー-VL)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVLSNSDTWNWIRQSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARDRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSSGGGGSGGGGSGSGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTS SDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYEVSNRPSGVSNRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTKVTV L
CD22-62		

【０３６７】

【表８８】

1362	HC CDR1 (Kabat)	SNSDTWN
1363	HC CDR2 (Kabat)	RTYHRSTWYDDYASSVRG
1364	HC CDR3 (Kabat)	DRLQDGNSWSDAFDV
1365	HC CDR1 (Chothia)	GDSVLSNSD
1366	HC CDR2 (Chothia)	YHRSTWY
1367	HC CDR3 (Chothia)	DRLQDGNSWSDAFDV
1368	HC CDR1 (IMGT)	GDSVLSNSDT
1369	HC CDR2 (IMGT)	TYHRSTWYD
1370	HC CDR3 (IMGT)	ARDRLQDGNSWSDAFDV
1371	HC CDR1 (組合せ)	GDSVLSNSDTWN
1372	HC CDR2 (組合せ)	RTYHRSTWYDDYASSVRG
1373	HC CDR3 (組合せ)	DRLQDGNSWSDAFDV
1374	VH	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVLSNSDTWNWIRQSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARDRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSS
1375	LC CDR1 (Kabat)	TGTSSDVGGYNYVS
1376	LC CDR2 (Kabat)	DVSNRPS
1377	LC CDR3 (Kabat)	SSYTSSSTLYV
1378	LC CDR1 (Chothia)	TSSDVGGYNY
1379	LC CDR2 (Chothia)	DVS
1380	LC CDR3 (Chothia)	YTSSSTLY
1381	LC CDR1 (IMGT)	SSDVGGYNY
1382	LC CDR2 (IMGT)	DVS
1383	LC CDR3 (IMGT)	SSYTSSSTLYV
1384	LC CDR1 (組合せ)	TGTSSDVGGYNYVS
1385	LC CDR2 (組合せ)	DVSNRPS

【０３６８】

【表８９】

1386	LC CDR3 (組合せ)	SSYTSSSTLYV
1387	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPG KAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEA DYYCSSYTSSSTLYVFGTGTKVTVL
1388	scFv (VH-リンカー-VL)	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVLSNSDTWNWIRQSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARDRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTS SDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTKVTV L
CD22-63		
1389	HC CDR1 (Kabat)	SNSDTWN
1390	HC CDR2 (Kabat)	RTYHRSTWYDDYASSVRG
1391	HC CDR3 (Kabat)	DRLQDGNSWSDAFDV
1392	HC CDR1 (Chothia)	GDSVLSNSD
1393	HC CDR2 (Chothia)	YHRSTWY
1394	HC CDR3 (Chothia)	DRLQDGNSWSDAFDV
1395	HC CDR1 (IMGT)	GDSVLSNSDT
1396	HC CDR2 (IMGT)	TYHRSTWYD
1397	HC CDR3 (IMGT)	ARDRLQDGNSWSDAFDV
1398	HC CDR1 (組合せ)	GDSVLSNSDTWN
1399	HC CDR2 (組合せ)	RTYHRSTWYDDYASSVRG
1400	HC CDR3 (組合せ)	DRLQDGNSWSDAFDV
1401	VH	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVLSNSDTWNWIRQSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARDRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSS
1402	LC CDR1 (Kabat)	TGTSSDVGGYNYVS
1403	LC CDR2 (Kabat)	EVSNRPS
1404	LC CDR3 (Kabat)	SSYTSSSTLY1
1405	LC CDR1 (Chothia)	TSSDVGGYNY

【０３６９】

【表９０】

1406	LC CDR2 (Chothia)	EVS
1407	LC CDR3 (Chothia)	YTSSSTLY
1408	LC CDR1 (IMGT)	SSDVGGYNY
1409	LC CDR2 (IMGT)	EVS
1410	LC CDR3 (IMGT)	SSYTSSSTLYI
1411	LC CDR1 (組合せ)	TGTSSDVGGYNYVS
1412	LC CDR2 (組合せ)	EVSNRPS
1413	LC CDR3 (組合せ)	SSYTSSSTLYI
1414	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPG KAPKLMIYEVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEA DYYCSSYTSSSTLYIFGTGTKVTVL
1415	scFv (VH-リンカー-VL)	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVLSNSDTWNWIRQSP SRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSL QLNAVTPEDTGVYYCARDRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTS SDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYEVSNRPSGVSNRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYIFGTGTKVTVL

【０３７０】

ＥＧＦＲに結合するＣＡＲは、当技術分野で公知である。例えば、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１４／１３０６５７号パンフレットに開示されているものである。当技術分野において、任意の公知のＥＧＦＲ　ＣＡＲ、例えば任意の公知のＥＧＦＲ　ＣＡＲのＥＧＦＲ抗原結合ドメインは、本開示に従って使用され得る。例示的なＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲは、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１４／１３０６５７号パンフレット、例えば国際公開第２０１４／１３０６５７号パンフレットの表２に開示される、ＣＤＲ、可変領域、ｓｃＦｖ又は全長ＣＡＲ配列を含み得る。

【０３７１】

ＣＤ１２３に結合するＣＡＲは、当技術分野で公知である。例えば、国際公開第２０１４／１３０６３５号パンフレット又は国際公開第２０１６／０２８８９６号パンフレットに開示されているものである。当技術分野において、任意の公知のＣＤ１２３　ＣＡＲ、例えば任意の公知のＣＤ１２３　ＣＡＲのＣＤ１２３抗原結合ドメインは、本開示に従って使用され得る。例えば、国際公開第２０１４／１３０６３５号パンフレットに開示されているＣＡＲ１～ＣＡＲ８；又は国際公開第２０１６／０２８８９６号パンフレットに開示されているＣＡＲ１２３－１～ＣＡＲ１２３－４及びｈｚＣＡＲ１２３－１～ｈｚＣＡＲ１２３－３２である。ＣＤ１２３　ＣＡＲ分子及び抗原結合ドメイン（例えば、Ｋａｂａｔ又はＣｈｏｔｈｉａによる１つ、２つ、３つのＶＨ　ＣＤＲ及び１つ、２つ、３つのＶＬ　ＣＤＲを含む）をコードするアミノ酸及びヌクレオチド配列は、国際公開第２０１４／１３０６３５号パンフレット及び国際公開第２０１６／０２８８９６号パンフレットに指定される。

【０３７２】

ＣＬＬ－１に結合するＣＡＲは、当技術分野で公知である。例えば、参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第２０１６／００５１６５１Ａ１号明細書に開示されているものである。当技術分野において、任意の公知のＣＬＬ－１　ＣＡＲ、例えば任意の公知のＣＬＬ－１　ＣＡＲのＣＬＬ－１抗原結合ドメインは、本開示に従って使用され得る。

【０３７３】
いくつかの実施形態において、ＣＡＲは、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１６／０１４５３５号パンフレットの表２によるＣＬＬ－１　ＣＡＲ又は抗原結合ドメインを含む。ＣＬＬ－１　ＣＡＲ分子及び抗原結合ドメイン（例えば、Ｋａｂａｔ又はＣｈｏｔｈｉａによる１つ、２つ、３つのＶＨ　ＣＤＲ及び１つ、２つ、３つのＶＬ　ＣＤＲを含む）をコードするアミノ酸及びヌクレオチド配列は、国際公開第２０１６／０１４５３５号パンフレットに指定される。
【０３７４】
ＣＤ３３に結合するＣＡＲは、当技術分野で公知である。例えば、参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第２０１６／００９６８９２Ａ１号明細書及び国際公開第２０１６／０１４５７６号パンフレットに開示されているものである。当技術分野において、任意の公知のＣＤ３３　ＣＡＲ、例えば任意の公知のＣＤ３３　ＣＡＲのＣＤ３３抗原結合ドメインは、本開示に従って使用され得る。例えば、国際公開２０１６／０１４５７６号パンフレットに開示されているＣＡＲ３３－１～ＣＡＲ３３－９である。
【０３７５】
いくつかの実施形態において、ＣＡＲは、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１６／０１４５７６号パンフレットの表２又は９によるＣＤ３３　ＣＡＲ又は抗原結合ドメインを含む。ＣＤ３３　ＣＡＲ分子及び抗原結合ドメイン（例えば、Ｋａｂａｔ又はＣｈｏｔｈｉａによる１つ、２つ、３つのＶＨ　ＣＤＲ及び１つ、２つ、３つのＶＬ　ＣＤＲを含む）をコードするアミノ酸及びヌクレオチド配列は、国際公開第２０１６／０１４５７６号パンフレットに指定される。
【０３７６】
メソテリンに結合するＣＡＲは、当技術分野で公知である。例えば、ヒトメソテリンに結合する、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１５０９０２３０号パンフレット及び国際公開第２０１７１１２７４１号パンフレット、例えば国際公開第２０１７１１２７４１号パンフレットの表２、３、４及び５に開示されているものである。当技術分野において、任意の公知のメソテリンＣＡＲ、例えば任意の公知のメソテリンＣＡＲのメソテリン抗原結合ドメインは、本開示に従って使用され得る。
【０３７７】
ＧＦＲ　ＡＬＰＨＡ－４に結合するＣＡＲは、当技術分野で公知である。例えば、国際公開第２０１６／０２５８８０号パンフレットに開示されているものである。当技術分野において、任意の公知のＧＦＲ　ＡＬＰＨＡ－４　ＣＡＲ、例えば任意の公知のＧＦＲ　ＡＬＰＨＡ－４　ＣＡＲのＧＦＲ　ＡＬＰＨＡ－４抗原結合ドメインは、本開示に従って使用され得る。ＧＦＲ　ＡＬＰＨＡ－４　ＣＡＲ分子及び抗原結合ドメイン（例えば、Ｋａｂａｔ又はＣｈｏｔｈｉａによる１つ、２つ、３つのＶＨ　ＣＤＲ及び１つ、２つ、３つのＶＬ　ＣＤＲを含む）をコードするアミノ酸及びヌクレオチド配列は、国際公開第２０１６／０２５８８０号パンフレットに指定される。
【０３７８】
抗原結合ドメイン構造
いくつかの実施形態において、コードされたＣＡＲ分子の抗原結合ドメインは、抗体、抗体フラグメント、ｓｃＦｖ、Ｆｖ、Ｆａｂ、（Ｆａｂ’）２、単一ドメイン抗体（ＳＤＡＢ）、ＶＨ又はＶＬドメイン、ラクダ科動物のＶＨＨドメイン又は二機能性（例えば二特異性）ハイブリッド抗体（例えば、Ｌａｎｚａｖｅｃｃｈｉａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１７，１０５（１９８７））を含む。
【０３７９】
ある例において、ｓｃＦｖは、当技術分野で知られる方法により製造できる（例えば、Ｂｉｒｄ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４２：４２３－４２６及びＨｕｓｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８５：５８７９－５８８３を参照されたい）。ＳｃＦｖ分子は、可動性ポリペプチドリンカーを使用して、ＶＨ領域とＶＬ領域とを一緒に連結することにより産生できる。ｓ

ｃＦｖ分子は、最適長及び／又はアミノ酸組成を有するリンカー（例えば、Ｓｅｒ－Ｇｌｙリンカー）を含む。リンカー長は、ｓｃＦｖの可変領域がどのように折りたたまれ、相互作用するかに大きく影響し得る。実際に、短ポリペプチドリンカーを用いる場合、（例えば、５～１０アミノ酸）、鎖内折りたたみは、阻止される。鎖内折りたたみは、２つの可変領域が一体となって機能的エピトープ結合部位を形成させるためにも必要である。リンカー方向及びサイズの例は、例えば、参照により本明細書に組み込まれる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号明細書、米国特許出願公開第２００５／０１７５６０６号明細書、米国特許出願公開第２００７／００１４７９４号明細書並びに国際公開第２００６／０２０２５８号パンフレット及び国際公開第２００７／０２４７１５号パンフレットを参照されたい。

【０３８０】

ｓｃＦｖは、そのＶＬ領域とＶＨ領域との間に少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０又はそれを超えるアミノ酸残基のリンカーを含み得る。リンカー配列は、あらゆる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において、リンカー配列は、アミノ酸グリシン及びセリンを含む。別の実施形態において、リンカー配列は、（Ｇｌｙ４Ｓｅｒ）ｎ（ここで、ｎは、１つ以上の正の整数である）などの一連のグリシン及びセリン反復を含む（配列番号２２）。いくつかの実施形態において、リンカーは、（Ｇｌｙ４Ｓｅｒ）４（配列番号２９）又は（Ｇｌｙ４Ｓｅｒ）３（配列番号３０）であり得る。リンカー長の変動は、活性を維持又は増強し、活性試験において優れた有効性を生じ得る。

【０３８１】

別の態様において、抗原結合ドメインは、Ｔ細胞受容体（「ＴＣＲ」）又はそのフラグメント、例えば単鎖ＴＣＲ（ｓｃＴＣＲ）である。そのようなＴＣＲを作製する方法は、当技術分野において公知である。例えば、Ｗｉｌｌｅｍｓｅｎ ＲＡ ｅｔ ａｌ，Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ７：１３６９－１３７７（２０００）；Ｚｈａｎｇ Ｔ ｅｔ ａｌ，Ｃａｎｃｅｒ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ １１：４８７－４９６（２００４）；Ａｇｇｅｎ ｅｔ ａｌ，Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．１９（４）：３６５－７４（２０１２）（参考文献は、その全体が本明細書に組み込まれる）を参照されたい。例えば、リンカー（例えば、柔軟なペプチド）によって連結されたＴ細胞クローン由来のＶα及びＶβ遺伝子を含むｓｃＴＣＲを操作することができる。このアプローチは、それ自体が細胞内にある癌関連標的にとって非常に有用であるが、そのような抗原（ペプチド）のフラグメントは、ＭＨＣによって癌細胞の表面に提示される。

【０３８２】

特定の実施形態において、コードされた抗原結合ドメインは、10^{-4}Ｍ～10^{-8}Ｍの結合親和性ＫＤを有する。

【０３８３】

いくつかの実施形態において、コードされたＣＡＲ分子は、標的抗原について、10^{-4}Ｍ～10^{-8}Ｍ、例えば10^{-5}Ｍ～10^{-7}Ｍ、例えば10^{-6}Ｍ又は10^{-7}Ｍの結合親和性K_Dを有する抗原結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、参照抗体、例えば本明細書に記載の抗体より少なくとも５倍、１０倍、２０倍、３０倍、５０倍、１００倍又は１０００倍小さい結合親和性を有する。いくつかの実施形態において、コードされた抗原結合ドメインは、参照抗体（例えば、抗原結合ドメインが由来する抗体）より少なくとも５倍小さい結合親和性を有する。いくつかの態様において、このような抗体フラグメントは、当業者に理解されるように、免疫応答活性化、その標的抗原からのシグナル伝達開始阻害を含むが、これらに限定されない生物学的応答を提供する点で機能的である。

【０３８４】

いくつかの態様において、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、それが由来するｓｃＦｖのマ

ウス配列と比較してヒト化されたｓｃＦｖ抗体フラグメントである。
【０３８５】
いくつかの態様において、本明細書に記載のＣＡＲの抗原結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）は、その配列が哺乳動物細胞における発現のためにコドン最適化されている核酸分子によってコードされる。いくつかの態様において、本発明のＣＡＲ構築物全体は、その配列全体が哺乳動物細胞での発現のためにコドン最適化されている核酸分子によってコードされる。コドン最適化とは、コードＤＮＡにおける同義コドン（即ち同じアミノ酸をコードするコドン）の出現頻度が異なる種で偏っているという発見を指す。そのようなコドン縮重は、同一のポリペプチドが様々なヌクレオチド配列によってコードされることを可能にする。様々なコドン最適化方法が当技術分野で知られており、例えば少なくとも米国特許第５，７８６，４６４号明細書及び第６，１１４，１４８号明細書に開示される方法が含まれる。
【０３８６】
特定の抗原抗体対は、当技術分野で公知である。抗原抗体対及びその成分の非限定的な例示的な実施形態は、本明細書の上記の「標的」という名称のセクション及び以下に提供される。
【０３８７】
ＣＤ１９
いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、ＣＤ１９に結合し、Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎ．３４（１６－１７）：１１５７－１１６５（１９９７）に記載のＦＭＣ６３　ｓｃＦｖフラグメントと同一又は類似の結合特異性を有する。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、ＣＤ１９に結合し、Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎ．３４（１６－１７）：１１５７－１１６５（１９９７）に記載のｓｃＦｖフラグメントを含む。
【０３８８】
いくつかの実施形態において、抗原結合ドメイン（例えば、ヒト化抗原結合ドメイン）は、ＣＤ１９に結合し、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１４／１５３２７０号パンフレットの表３からの配列を含む。国際公開第２０１４／１５３２７０号パンフレットは、様々なＣＡＲ構築物の結合及び有効性をアッセイする方法も記載している。
【０３８９】
マウスＣＤ１９抗体のヒト化は、ＣＡＲ　Ｔ１９処置、即ちＣＡＲ１９構築物が形質導入されたＴ細胞での処置を受けている患者において、マウス特異的な残基がヒト抗マウス抗原（ＨＡＭＡ）応答を誘導することが可能な臨床条件にとって望ましい。ヒト化ＣＤ１９　ＣＡＲ配列の産生、特徴付け及び効能は、実施例１～５（１１５～１５９頁）を含め、その全体が参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１４／１５３２７０号パンフレットにおいて説明されている。
【０３９０】
いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、国際公開第２０１２／０７９０００号パンフレット（参照により本明細書に組み込まれる）に提供されるＣＡＲ１９構築物の親ネズミｓｃＦｖ配列を含む。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、ＣＤ１９に結合し、国際公開第２０１２／０７９０００号パンフレットに記載されているｓｃＦｖを含む。
【０３９１】
ＢＣＭＡ
ＢＣＭＡに結合する例示的な抗原結合ドメインは、国際公開第２０１２／０１６３８０５号パンフレット、国際公開第２０１７／０２１４５０号パンフレット、国際公開第２０１７／０１１８０４号パンフレット、国際公開第２０１７／０２５０３８号パンフレット、国際公開第２０１６／０９０３２７号パンフレット、国際公開第２０１６／１３０５９８号パンフレット、国際公開第２０１６／２１０２９３号パンフレット、国際公開第２０

１６／０９０３２０号パンフレット、国際公開第２０１６／０１４７８９号パンフレット、国際公開第２０１６／０９４３０４号パンフレット、国際公開第２０１６／１５４０５５号パンフレット、国際公開第２０１５／１６６０７３号パンフレット、国際公開第２０１５／１８８１１９号パンフレット、国際公開第２０１５／１５８６７１号パンフレット、米国特許第９，２４３，０５８号明細書、米国特許第８，９２０，７７６号明細書、米国特許第９，２７３，１４１号明細書、米国特許第７，０８３，７８５号明細書、米国特許第９，０３４，３２４号明細書、米国特許出願公開第２００７／００４９７３５号明細書、米国特許出願公開第２０１５／０２８４４６７号明細書、米国特許出願公開第２０１５／００５１２６６号明細書、米国特許出願公開第２０１５／０３４４８４４号明細書、米国特許出願公開第２０１６／０１３１６５５号明細書、米国特許出願公開第２０１６／０２９７８８４号明細書、米国特許出願公開第２０１６／０２９７８８５号明細書、米国特許出願公開第２０１７／００５１３０８号明細書、米国特許出願公開第２０１７／００５１２５２号明細書、米国特許出願公開第２０１７／００５１２５２号明細書、国際公開第２０１６／０２０３３２号パンフレット、国際公開第２０１６／０８７５３１号パンフレット、国際公開第２０１６／０７９１７７号パンフレット、国際公開第２０１５／１７２８００号パンフレット、国際公開第２０１７／００８１６９号パンフレット、米国特許第９，３４０，６２１号明細書、米国特許出願公開第２０１３／０２７３０５５号明細書、米国特許出願公開第２０１６／０１７６９７３号明細書、米国特許出願公開第２０１５／０３６８３５１号明細書、米国特許出願公開第２０１７／００５１０６８号明細書、米国特許出願公開第２０１６／０３６８９８８号明細書及び米国特許出願公開第２０１５／０２３２５５７号明細書に開示され、これらは、参照によりそ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、そこに開示される１つ以上のＢＣＭＡ抗原結合ドメインの抗原結合ドメインである。

【０３９２】

いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、ＢＣＭＡに結合するヒト抗体又はヒト抗体フラグメントを含む。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、本明細書（例えば、表２～１４）に記載のヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインのＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３の１つ以上（例えば、３つ全て）及び／又は本明細書（例えば、表２～１４）に記載のヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインのＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３の１つ以上（例えば、３つ全て）を含む。いくつかの実施形態において、ヒト抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、本明細書（例えば、表２、６及び１０）に記載のヒトＶＬ及び／又は本明細書（例えば、表２、６及び１０）に記載のヒトＶＨを含む。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、表２、６及び１０のアミノ酸配列のＶＬ及びＶＨを含むｓｃＦｖである。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）は、表２、６及び１０に提供するアミノ酸配列に少なくとも１、２若しくは３つの修飾（例えば、置換、例えば保存的置換）を有するが、修飾（例えば、置換、例えば保存的置換）が３０、２０若しくは１０を超えないアミノ酸配列又は表２、６及び１０のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含むＶＬ；及び／又は表２、６及び１０に提供するアミノ酸配列に少なくとも１、２若しくは３つの修飾（例えば、置換、例えば保存的置換）を有するが、修飾（例えば、置換、例えば保存的置換）が３０、２０若しくは１０を超えないアミノ酸配列又は表２、６及び１０のアミノ酸配列と９５～９９％の同一性を有する配列を含むＶＨを含む。

【０３９３】

特定の実施形態において、本明細書に記載の抗原結合ドメインは、

（１）以下から選択される１つ、２つ又は３つの軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ：

（ｉ）配列番号５４のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号５５のＬＣ　ＣＤＲ２及び配列番号５６のＬＣ　ＣＤＲ３；及び／又は

（２）以下の１つからの１つ、２つ又は３つの重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ：

（ｉ）配列番号４４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号４５のＨＣ　ＣＤＲ２及び配列番号８４のＨＣ　ＣＤＲ３；

（ｉｉ）配列番号４４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号４５のＨＣ　ＣＤＲ２及び配列番号４６のＨＣ　ＣＤＲ３；
（ｉｉｉ）配列番号４４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号４５のＨＣ　ＣＤＲ２及び配列番号６８のＨＣ　ＣＤＲ３；又は
（ｉｖ）配列番号４４のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号４５のＨＣ　ＣＤＲ２及び配列番号７６のＨＣ　ＣＤＲ３
を含む。
【０３９４】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載の抗原結合ドメインは、
（１）以下の１つからの１つ、２つ又は３つの軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ：
（ｉ）配列番号９５のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１３１のＬＣ　ＣＤＲ２及び配列番号１３２のＬＣ　ＣＤＲ３；
（ｉｉ）配列番号９５のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号９６のＬＣ　ＣＤＲ２及び配列番号９７のＬＣ　ＣＤＲ３；
（ｉｉｉ）配列番号９５のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１１４のＬＣ　ＣＤＲ２及び配列番号１１５のＬＣ　ＣＤＲ３；又は
（ｉｖ）配列番号９５のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１１４のＬＣ　ＣＤＲ２及び配列番号９７のＬＣ　ＣＤＲ３；及び／又は
（２）以下の１つからの１つ、２つ又は３つの重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ：
（ｉ）配列番号８６のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号１３０のＨＣ　ＣＤＲ２及び配列番号８８のＨＣ　ＣＤＲ３；
（ｉｉ）配列番号８６のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号８７のＨＣ　ＣＤＲ２及び配列番号８８のＨＣ　ＣＤＲ３；又は
（ｉｉｉ）配列番号８６のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号１０９のＨＣ　ＣＤＲ２及び配列番号８８のＨＣ　ＣＤＲ３
を含む。
【０３９５】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載の抗原結合ドメインは、
（１）以下の１つからの１つ、２つ又は３つの軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ：
（ｉ）配列番号１４７のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１８２のＬＣ　ＣＤＲ２及び配列番号１８３のＬＣ　ＣＤＲ３；
（ｉｉ）配列番号１４７のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１４８のＬＣ　ＣＤＲ２及び配列番号１４９のＬＣ　ＣＤＲ３；又は
（ｉｉｉ）配列番号１４７のＬＣ　ＣＤＲ１、配列番号１７０のＬＣ　ＣＤＲ２及び配列番号１７１のＬＣ　ＣＤＲ３；及び／又は
（２）以下の１つからの１つ、２つ又は３つの重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ：
（ｉ）配列番号１７９のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号１８０のＨＣ　ＣＤＲ２及び配列番号１８１のＨＣ　ＣＤＲ３；
（ｉｉ）配列番号１３７のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号１３８のＨＣ　ＣＤＲ２及び配列番号１３９のＨＣ　ＣＤＲ３；又は
（ｉｉｉ）配列番号１６０のＨＣ　ＣＤＲ１、配列番号１６１のＨＣ　ＣＤＲ２及び配列番号１６２のＨＣ　ＣＤＲ３
を含む。
【０３９６】
いくつかの実施形態において、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３は、それぞれ配列番号４４、４５、８４、５４、５５及び５６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３は、それぞれ配列番号４４、４５、４６、５４、５５及び５６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３

、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３は、それぞれ配列番号４４、４５、６８、５４、５５及び５６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３は、それぞれ配列番号４４、４５、７６、５４、５５及び５６のアミノ酸配列を含む。

【０３９７】

いくつかの実施形態において、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３は、それぞれ配列番号４７、４８、８４、５７、５８及び５９のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３は、それぞれ配列番号４７、４８、４６、５７、５８及び５９のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３は、それぞれ配列番号４７、４８、６８、５７、５８及び５９のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３は、それぞれ配列番号４７、４８、７６、５７、５８及び５９のアミノ酸配列を含む。

【０３９８】

いくつかの実施形態において、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３は、それぞれ配列番号４９、５０、８５、６０、５８及び５６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３は、それぞれ配列番号４９、５０、５１、６０、５８及び５６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３は、それぞれ配列番号４９、５０、６９、６０、５８及び５６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３は、それぞれ配列番号４９、５０、７７、６０、５８及び５６のアミノ酸配列を含む。

【０３９９】

他の例示的な標的

ＣＤ２０に結合する例示的な抗原結合ドメインは、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１６／１６４７３１号パンフレット及び国際公開第２０１８／０６７９９２号パンフレットに記載されている。いくつかの実施形態では、そこに開示される１つ以上のＣＤ２０抗原結合ドメインの抗原結合ドメインである。

【０４００】

ＣＤ２２に結合する例示的な抗原結合ドメインは、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１６／１６４７３１号パンフレット及び国際公開第２０１８／０６７９９２号パンフレットに記載されている。

【０４０１】

いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、表１５に列挙する重鎖結合ドメインアミノ酸配列のいずれかのＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３を含む。実施形態において、抗原結合ドメインは、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３を更に含む。実施形態において、抗原結合ドメインは、表１６に列挙されるＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３アミノ酸配列を含む。

【０４０２】

いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、表１６に記載する軽鎖結合ドメインアミノ酸配列のいずれかのＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３の１、２つ又は全て及び表１５に記載する重鎖結合ドメインアミノ酸配列のいずれかのＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３の１、２つ又は全てを含む。

【０４０３】
ＥＧＦＲｖＩＩＩに結合する例示的な抗原結合ドメインは、国際公開第２０１４／１３０６５７号パンフレットに記載されている。
【０４０４】
ＣＤ１２３に結合する例示的な抗原結合ドメインは、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１４／１３０６３５号パンフレット及び国際公開第２０１６／０２８８９６号パンフレットに記載されている。
【０４０５】
いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１４／１３０６３５号パンフレットの表１～２からの配列を含む。
【０４０６】
いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１６／０２８８９６号パンフレットの表２、６及び９からの配列を含む。
【０４０７】
ＣＬＬ－１に結合する例示的な抗原結合ドメインは、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１６／０１４５３５号パンフレットに開示されている。
【０４０８】
いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、本明細書に記載される抗体（例えば、国際公開第２０１５／１４２６７５号パンフレット、米国特許出願公開第２０１５－０２８３１７８－Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１６－００４６７２４－Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１４／０３２２２１２Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１６／００６８６０１Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１６／００５１６５１Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１６／００９６８９２Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１４／０３２２２７５Ａ１号明細書又は国際公開第２０１５／０９０２３０号パンフレット（参照により本明細書に援用される）に記載される抗体）からの１つ、２つ、３つの（例えば、３つ全ての）重鎖ＣＤＲ、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３及び／又は本明細書に記載される抗体（例えば、国際公開第２０１５／１４２６７５号パンフレット、米国特許出願公開第２０１５－０２８３１７８－Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１６－００４６７２４－Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１４／０３２２２１２Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１６／００６８６０１Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１６／００５１６５１Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１６／００９６８９２Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１４／０３２２２７５Ａ１号明細書又は国際公開第２０１５／０９０２３０号パンフレット（参照により本明細書に援用される）に記載される抗体）からの１つ、２つ、３つの（例えば、３つ全ての）軽鎖ＣＤＲ、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、上に列挙した抗体の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域を含む。
【０４０９】
実施形態において、抗原結合ドメインは、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１５／１４２６７５号パンフレット、米国特許出願公開第２０１５－０２８３１７８－Ａ１号明細書、２０１６－００４６７２４－Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１４／０３２２２１２Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１６／００６８６０１Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１６／００５１６５１Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１６／００９６８９２Ａ１号明細書、米国特許出願公開第２０１４／０３２２２７５Ａ１号明細書又は国際公開第２０１５／０９０２３０号パンフレットに記載の抗原結合ドメインである。
【０４１０】
ＣＡＲ発現細胞を使用して標的とすることができる例示的な標的抗原には、例えば、それぞれ参照によりその全体が本明細書に組み込まれる国際公開第２０１４／１５３２７０

号パンフレット、国際公開第２０１４／１３０６３５号パンフレット、国際公開第２０１６／０２８８９６号パンフレット、国際公開第２０１４／１３０６５７号パンフレット、国際公開第２０１６／０１４５７６号パンフレット、国際公開第２０１５／０９０２３０号パンフレット、国際公開第２０１６／０１４５６５号パンフレット、国際公開第２０１６／０１４５３５号パンフレット及び国際公開第２０１６／０２５８８０号パンフレットに記載されるように、とりわけＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＣＤ３３、メソテリン、ＢＣＭＡ及びＧＦＲ　ＡＬＰＨＡ－４が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【０４１１】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるＣＡＲのいずれか（例えば、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＣＤ３３、メソテリン、ＢＣＭＡ及びＧＦＲ　ＡＬＰＨＡ－４のいずれか）の抗原結合ドメインは、上記に挙げた抗体からの１つ、２つ、３つの（例えば、３つ全ての）重鎖ＣＤＲ、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３及び／又は上記に挙げた抗原結合ドメインからの１つ、２つ、３つの（例えば、３つ全ての）軽鎖ＣＤＲ、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、上に列挙又は記載した抗体の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域を含む。

【０４１２】

いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、上に列挙した抗体からの１つ、２つ、３つ（例えば、３つ全て）の重鎖ＣＤＲ、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３並びに／又は上に列挙した抗体からの１つ、２つ、３つ（例えば、３つ全て）の軽鎖ＣＤＲ、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインは、上に列挙又は記載した抗体の重鎖可変領域及び／又は軽鎖可変領域を含む。

【０４１３】

二特異性ＣＡＲ

特定の実施形態において、抗原結合ドメインは、二又は多特異的分子（例えば、多特異的抗体分子）である。いくつかの実施形態において、多特異性抗体分子は、二特異性抗体分子である。二特異性抗体は、２つ以下の抗原に特異性を有する。二特異性抗体分子は、第１エピトープに対する結合特異性を有する第１免疫グロブリン可変ドメイン配列及び第２エピトープに対する結合特異性を有する第２免疫グロブリン可変ドメイン配列により特徴付けられる。いくつかの実施形態において、第１及び第２エピトープは、同じ抗原、例えば同じタンパク質（又は多量体タンパク質のサブユニット）である。いくつかの実施形態において、第１及び第２エピトープは、オーバーラップする。いくつかの実施形態において、第１及び第２エピトープは、オーバーラップしない。いくつかの実施形態において、第１及び第２エピトープは、異なる抗原、例えば異なるタンパク質（又は多量体タンパク質の異なるサブユニット）にある。いくつかの実施形態において、二特異性抗体分子は、第１エピトープに結合特異性を有する重鎖可変ドメイン配列及び軽鎖可変ドメイン配列並びに第２エピトープに結合特異性を有する重鎖可変ドメイン配列及び軽鎖可変ドメイン配列を含む。いくつかの実施形態において、二特異性抗体分子は、第１エピトープに結合特異性を有する半抗体及び第２エピトープに結合特異性を有する半抗体を含む。いくつかの実施形態において、二特異性抗体分子は、第１エピトープに結合特異性を有する半抗体又はそのフラグメント及び第２エピトープに結合特異性を有する半抗体又はそのフラグメントを含む。いくつかの実施形態において、二特異性抗体分子は、第１エピトープに結合特異性を有するｓｃＦｖ又はそのフラグメント及び第２エピトープに結合特異性を有するｓｃＦｖ又はそのフラグメントを含む。

【０４１４】

いくつかの実施形態において、抗体分子は、多特異性（例えば、二特異性又は三特異性）抗体分子である。このような分子は、例えば、二特異性融合タンパク質、例えば２つのｓｃＦｖとその間の親水性ヘリックスペプチドリンカー及び完全定常領域とを含む発現構

築物、例えば米国特許第５６３７４８１号明細書に記載のもの；二量体化して二特異性／多価分子を形成することができる、抗体ヒンジ領域及びＣＨ３領域にペプチドスペーサーで更に結合した、連結したＶＬ及びＶＨ鎖を有するミニボディ構築物、例えば米国特許第５８３７８２１号明細書に記載のもの；ペプチド結合により架橋性基とＣ末端で結合し、更にＶＬドメインと会合して一連のＦＶ（又はｓｃＦｖ）を形成するＶＨドメイン（又はファミリーメンバーのＶＬドメイン）のストリング、例えば米国特許第５８６４０１９号明細書に記載のもの；及び両方のｓｃＦＶ又は二特異性抗体型フォーマットを使用して、例えばホモ二価、ヘテロ二価、三価及び四価構造を形成する、非共有結合又は化学架橋により多価構造に組み合わされたペプチドリンカーにより連結したＶＨ及びＶＬドメインの両方を有する単鎖結合ポリペプチド、例えば米国特許第５８６９６２０号明細書に記載のものを含む。上に参照した出願の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０４１５】

二特異性抗体分子の各抗体又は抗体フラグメント（例えば、ｓｃＦｖ）内において、ＶＨは、ＶＬの上流又は下流であり得る。いくつかの実施形態において、上流抗体又は抗体フラグメント（例えば、ｓｃＦｖ）は、そのＶＬ（ＶＬ１）の上流のそのＶＨ（ＶＨ１）と共に配置され、下流抗体又は抗体フラグメント（例えば、ｓｃＦｖ）は、そのＶＬ（ＶＬ２）の上流のそのＶＨ（ＶＨ２）と共に配置され、その結果、全体的二特異性抗体分子は、配置ＶＨ１－ＶＬ１－ＶＬ２－ＶＨ２を有する。他の実施形態において、上流抗体又は抗体フラグメント（例えば、ｓｃＦｖ）は、そのＶＨ（ＶＨ１）の上流のそのＶＬ（ＶＬ１）と共に配置され、下流抗体又は抗体フラグメント（例えば、ｓｃＦｖ）は、そのＶＨ（ＶＨ２）の上流のそのＶＬ（ＶＬ２）と共に配置され、その結果、全体的二特異性抗体分子は、配置ＶＬ１－ＶＨ１－ＶＨ２－ＶＬ２を有する。任意選択により、リンカーは、２つの抗体又は抗体フラグメント（例えば、ｓｃＦｖ）間、例えば構築物がＶＨ１－ＶＬ１－ＶＬ２－ＶＨ２として配列される場合にＶＬ１とＶＬ２との間又は構築物がＶＬ１－ＶＨ１－ＶＨ２－ＶＬ２として配置される場合にＶＨ１とＶＨ２との間に配置される。リンカーは、本明細書に記載のリンカー、例えば（Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ）ｎリンカー（ここで、ｎは、１、２、３、４、５又は６、好ましくは４である）であり得る（配列番号６９１）。一般に、２つのｓｃＦｖ間のリンカーは、２つのｓｃＦｖのドメイン間の誤対合を避けるのに十分長くなければならない。任意選択により、リンカーは、第１のｓｃＦｖのＶＬとＶＨとの間に配置される。任意選択により、リンカーは、第２のｓｃＦｖのＶＬとＶＨとの間に配置される。複数リンカーを有する構築物において、リンカーの任意の２つ以上は、同一であるか又は異なり得る。従って、いくつかの実施形態において、二特異性ＣＡＲは、本明細書に記載のような配置でＶＬ、ＶＨ及び任意選択により１つ以上のリンカーを含む。

【０４１６】

１．膜貫通ドメイン

膜貫通ドメインに関して、種々の実施形態において、本明細書に記載のキメラ分子（例えば、ＣＡＲ）は、キメラ分子の細胞外ドメインに結合する膜貫通ドメインを含むように設計できる。膜貫通ドメインは、膜貫通領域に隣接した１つ以上の更なるアミノ酸、例えば膜貫通が由来するタンパク質の細胞外領域と関連する１つ以上のアミノ酸（例えば、細胞外領域の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０から最大１５アミノ酸）及び／又は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関連する１つ以上の更なるアミノ酸（例えば、細胞内領域の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０から最大１５アミノ酸）を含み得る。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、キメラタンパク質（例えば、ＣＡＲ）の他のドメインの１つと関連するものであり、例えばいくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、シグナル伝達ドメイン、共刺激ドメイン又はヒンジドメインが由来するのと同じタンパク質由来であり得る。別の態様において、膜貫通ドメインは、キメラタンパク質（例えば、ＣＡＲ）の任意の別のドメインが由来するものと同じタンパク質に由来しない。いくつかの例において、膜貫通ドメインは、このようなドメイン

が、同一又は異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインと結合するのを避けるように、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化するように選択又はアミノ酸置換による修飾ができる。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、ＣＡＲ発現細胞の細胞表面上の別のＣＡＲとホモ二量体化できる。異なる態様において、膜貫通ドメインのアミノ酸配列は、同じＣＡＲ発現細胞に存在する天然結合パートナーの結合ドメインとの相互作用を最小化するように修飾又は置換され得る。

【０４１７】

膜貫通ドメインは、天然由来又は組み換え源由来であり得る。源が天然であるとき、ドメインは、あらゆる膜結合又は膜貫通タンパク質由来であり得る。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、ＣＡＲが標的に結合したときには常に細胞内ドメインにシグナル伝達できる。本発明において特に有用な膜貫通ドメインは、例えば、Ｔ細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖又はゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ２７、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を含み得る。いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、例えば、ＫＩＲＤＳ２、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ２７、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ、ＣＤ１８）、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＧＩＴＲ、ＣＤ４０、ＢＡＦＦＲ、ＨＶＥＭ（ＬＩＧＨＴＲ）、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０（ＫＬＲＦ１）、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４６、ＣＤ１６０、ＣＤ１９、ＩＬ２Ｒβ、ＩＬ２Ｒγ、ＩＬ７Ｒα、ＩＴＧＡ１、ＶＬＡ１、ＣＤ４９ａ、ＩＴＧＡ４、ＩＡ４、ＣＤ４９Ｄ、ＩＴＧＡ６、ＶＬＡ－６、ＣＤ４９ｆ、ＩＴＧＡＤ、ＣＤ１１ｄ、ＩＴＧＡＥ、ＣＤ１０３、ＩＴＧＡＬ、ＣＤ１１ａ、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＡＭ、ＣＤ１１ｂ、ＩＴＧＡＸ、ＣＤ１１ｃ、ＩＴＧＢ１、ＣＤ２９、ＩＴＧＢ２、ＣＤ１８、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＢ７、ＴＮＦＲ２、ＤＮＡＭ１（ＣＤ２２６）、ＳＬＡＭＦ４（ＣＤ２４４、２Ｂ４）、ＣＤ８４、ＣＤ９６（Ｔａｃｔｉｌｅ）、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＲＴＡＭ、Ｌｙ９（ＣＤ２２９）、ＣＤ１６０（ＢＹ５５）、ＰＳＧＬ１、ＣＤ１００（ＳＥＭＡ４Ｄ）、ＳＬＡＭＦ６（ＮＴＢ－Ａ、Ｌｙ１０８）、ＳＬＡＭ（ＳＬＡＭＦ１、ＣＤ１５０、ＩＰＯ－３）、ＢＬＡＭＥ（ＳＬＡＭＦ８）、ＳＥＬＰＬＧ（ＣＤ１６２）、ＬＴＢＲ、ＰＡＧ／Ｃｂｐ、ＮＫＧ２Ｄ又はＮＫＧ２Ｃの少なくとも膜貫通領域を含み得る。

【０４１８】

いくつかの例において、膜貫通ドメインは、ヒンジ、例えばヒトタンパク質からのヒンジを介してＣＡＲの細胞外領域、例えばＣＡＲの抗原結合ドメインに結合できる。例えば、いくつかの実施形態において、ヒンジは、ヒトＩｇ（免疫グロブリン）ヒンジ（例えば、ＩｇＧ４ヒンジ又はＩｇＤヒンジ）、ＧＳリンカー（例えば、本明細書に記載のＧＳリンカー）、ＫＩＲ２ＤＳ２ヒンジ又はＣＤ８ａヒンジであり得る。いくつかの実施形態において、ヒンジ又はスペーサーは、配列番号４のアミノ酸配列を含む（例えば、これからなる）。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、配列番号１２の膜貫通ドメインを含む（例えば、これからなる）。

【０４１９】

いくつかの実施形態において、コードされた膜貫通ドメインは、配列番号１２のアミノ酸配列に少なくとも１、２又は３つの修飾を有するが、修飾が２０、１０又は５を超えないＣＤ８膜貫通ドメインのアミノ酸配列又は配列番号１２のアミノ酸配列と９５～９９％同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、コードされた膜貫通ドメインは、配列番号１２の配列を含む。

【０４２０】

他の実施形態において、ＣＡＲ分子をコードする核酸は、例えば、配列番号１３の配列又はそれと９５～９９％の同一性を有する配列を含むＣＤ８膜貫通ドメインのヌクレオチド配列を含む。

【０４２１】

いくつかの実施形態において、コードされた抗原結合ドメインは、膜貫通ドメインにヒ

ンジ領域によって結合されている。いくつかの実施形態において、コードされたヒンジ領域は、ＣＤ８ヒンジのアミノ酸配列、例えば配列番号４；又はＩｇＧ４ヒンジのアミノ酸配列、例えば配列番号６又は配列番号４又は６と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。他の実施形態において、ヒンジ領域をコードする核酸配列は、それぞれＣＤ８ヒンジ又はＩｇＧ４ヒンジに対応する、配列番号５又は配列番号７の配列又は配列番号５又は７と９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【０４２２】

いくつかの態様において、ヒンジ又はスペーサーは、ＩｇＧ４ヒンジを含む。例えば、いくつかの実施形態において、ヒンジ又はスペーサーは、アミノ酸配列

【化７】

ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKM (配列
番号6)

のヒンジを含む。いくつかの実施形態において、ヒンジ又はスペーサーは、

【化８】

GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGA
CCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACC
CCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTT
CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAG
GAGCAGTTCAATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA
CTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCA
GCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTAC
ACCCTGCCCCCTAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCT
GGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGC
CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTC
CTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAG
CTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCC
TGTCCCTGGGCAAGATG (配列番号7)

のヌクレオチド配列によりコードされたヒンジを含む。

【０４２３】

いくつかの態様において、ヒンジ又はスペーサーは、ＩｇＤヒンジを含む。例えば、いくつかの実施形態において、ヒンジ又はスペーサーは、アミノ酸配列

【化９】

RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEEQEERETK
TPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGV
EEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPVK
LSLNLLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTF
WAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH (配列番号8)

のヒンジを含む。いくつかの実施形態において、ヒンジ又はスペーサーは、

【化１０】

AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCCAGGCATCTAGTGTTCCTACTGCACAGCCCCA
GGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTACTACTGCACCTGCCACTACGCGCAATACTG
GCCGTGGCGGGGAGGAGAAGAAAAAGGAGAAAGAGAAAGAAGAACAGGAAGAGA
GGGAGACCAAGACCCCTGAATGTCCATCCCATACCCAGCCGCTGGGCGTCTATCTCT
TGACTCCCGCAGTACAGGACTTGTGGCTTAGAGATAAGGCCACCTTTACATGTTTCG
TCGTGGGCTCTGACCTGAAGGATGCCCATTTGACTTGGGAGGTTGCCGGAAAGGTAC
CCACAGGGGGGGTTGAGGAAGGGTTGCTGGAGCGCCATTCCAATGGCTCTCAGAGC
CAGCACTCAAGACTCACCCTTCCGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTCACA
TGTACTCTAAATCATCCTAGCCTGCCCCCACAGCGTCTGATGGCCCTTAGAGAGCCA
GCCGCCCAGGCACCAGTTAAGCTTAGCCTGAATCTGCTCGCCAGTAGTGATCCCCCA
GAGGCCGCCAGCTGGCTCTTATGCGAAGTGTCCGGCTTTAGCCCGCCCAACATCTTG
CTCATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGTGAACACCAGCGGCTTCGCTCCAGCCCG
GCCCCCACCCCAGCCGGGTTCTACCACATTCTGGGCCTGGAGTGTCTTAAGGGTCCC
AGCACCACCTAGCCCCCAGCCAGCCACATACACCTGTGTTGTGTCCCATGAAGATAG
CAGGACCCTGCTAAATGCTTCTAGGAGTCTGGAGGTTTCCTACGTGACTGACCATT
(配列番号9)

のヌクレオチド配列によりコードされたヒンジを含む。

【０４２４】

いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、組み換えであり得、その場合、ロイシン及びバリンなどの疎水性残基を優勢に含む。いくつかの態様において、フェニルアラニン、トリプトファン及びバリンのトリプレットを組み換え膜貫通ドメインの各末端に見ることができる。

【０４２５】

任意選択により、２～１０アミノ酸長の短オリゴ又はポリペプチドリンカーがＣＡＲの膜貫通ドメインと細胞質領域との間に結合を形成し得る。グリシン－セリンダブレットは、特に適当なリンカーを提供する。例えば、いくつかの態様において、リンカーは、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号１０）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、リンカーは、ＧＧＴＧＧＣＧＧＡＧＧＴＴＣＴＧＧＡＧＧＴＧＧＡＧＧＴＴＣＣ（配列番号１１）のヌクレオチド配列によりコードされる。いくつかの実施形態では、リンカーは、アミノ酸配列ＧＧＧＧＳ（配列番号８７７）を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、配列番号８７６）のヌクレオチド配列によりコードされる。

【０４２６】

いくつかの態様において、ヒンジ又はスペーサーは、ＫＩＲ２ＤＳ２ヒンジを含む。

【０４２７】

２．シグナル伝達ドメイン

細胞内シグナル伝達ドメインを有する本発明の実施形態において、このようなドメインは、例えば、一次シグナル伝達ドメイン及び／又は共刺激シグナル伝達ドメインの１つ以上を含み得る。いくつかの実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達ドメインをコードする配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達ドメイン及び共刺激シグナル伝達ドメインを含む。

【０４２８】

本発明のＣＡＲの細胞質部分内の細胞内シグナル伝達配列は、互いに無作為に又は特定の順序で連結し得る。任意選択により、例えば２～１０アミノ酸（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９又は１０アミノ酸）長の短オリゴ又はポリペプチドリンカーは、細胞内シグナル伝達配列間に結合を形成し得る。いくつかの実施形態において、グリシン－セリンダブレットを適当なリンカーとして使用できる。いくつかの実施形態において、単一アミノ酸、例えばアラニン、グリシンを適当なリンカーとして使用できる。

【０４２９】

いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、２つ以上、例えば２、３、４、５つ又はそれを超える共刺激性シグナル伝達ドメインを含むように設計される。いくつかの実施形態において、２つ以上、例えば２、３、４、５つ又はそれを超える共刺激性シグナル伝達ドメインは、リンカー分子、例えば本明細書に記載のリンカー分子により分けられる。いくつかの実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、２つの共刺激性シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施形態において、リンカー分子は、グリシン残基である。いくつかの実施形態において、リンカーは、アラニン残基である。

【０４３０】

一次シグナル伝達ドメイン

一次シグナル伝達ドメインは、ＴＣＲ複合体の一次活性化を刺激性方向又は阻害性方向のいずれかで制御する。刺激性方向で作用する初代細胞内シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフ又はＩＴＡＭとして知られるシグナル伝達モチーフを含み得る。ＣＡＲにおいて、このようなドメインは同じ目的で使用される。

【０４３１】

本発明において特に有用であるＩＴＡＭ含有初代細胞内シグナル伝達ドメインの例は、ＣＤ３ゼータ、共通ＦｃＲγ（ＦＣＥＲ１Ｇ）、ＦｃガンマＲＩＩａ、ＦｃＲベータ（ＦｃイプシロンＲ１ｂ）、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＤＡＰ１０及びＤＡＰ１２のものを含む。いくつかの実施形態において、本発明のＣＡＲは、細胞内シグナル伝達ドメイン、例えばＣＤ３ゼータの一次シグナル伝達ドメインを含む。

【０４３２】

いくつかの実施形態において、コードされた一次シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ゼータの機能的シグナル伝達ドメインを含む。コードされたＣＤ３ゼーター次シグナル伝達ドメインは、配列番号１８若しくは配列番号２０に少なくとも１、２若しくは３つの修飾を有するが、修飾が２０、１０又は５を超えないアミノ酸配列又は配列番号１８若しくは配列番号２０と９５～９９％同一性を有する配列を含み得る。いくつかの実施形態において、コードされた一次シグナル伝達ドメインは、配列番号１８又は配列番号２０の配列を含む。他の実施形態において、一次シグナル伝達ドメインをコードする核酸配列は、配列番号１９若しくは配列番号２１の配列又はそれと９５～９９％同一性を有する配列を含む。

【０４３３】

共刺激シグナル伝達ドメイン

いくつかの実施形態において、コードされた細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激シ

グナル伝達ドメインを含む。例えば、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次シグナル伝達ドメイン及び共刺激シグナル伝達ドメインを含み得る。いくつかの実施形態において、コードされた共刺激シグナル伝達ドメインは、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＰＤ－１、ＩＣＯＳ、リンパ球機能関連抗原－１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤ８３と特異的に結合するリガンド、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＧＩＴＲ、ＢＡＦＦＲ、ＨＶＥＭ（ＬＩＧＨＴＲ）、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０（ＫＬＲＦ１）、ＣＤ１６０、ＣＤ１９、ＣＤ４、ＣＤ８アルファ、ＣＤ８ベータ、ＩＬ２Ｒベータ、ＩＬ２Ｒガンマ、ＩＬ７Ｒアルファ、ＩＴＧＡ４、ＶＬＡ１、ＣＤ４９ａ、ＩＴＧＡ４、ＩＡ４、ＣＤ４９Ｄ、ＩＴＧＡ６、ＶＬＡ－６、ＣＤ４９ｆ、ＩＴＧＡＤ、ＣＤ１１ｄ、ＩＴＧＡＥ、ＣＤ１０３、ＩＴＧＡＬ、ＣＤ１１ａ、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＡＭ、ＣＤ１１ｂ、ＩＴＧＡＸ、ＣＤ１１ｃ、ＩＴＧＢ１、ＣＤ２９、ＩＴＧＢ２、ＣＤ１８、ＬＦＡ－１、ＩＴＧＢ７、ＴＮＦＲ２、ＴＲＡＮＣＥ／ＲＡＮＫＬ、ＤＮＡＭ１（ＣＤ２２６）、ＳＬＡＭＦ４（ＣＤ２４４、２Ｂ４）、ＣＤ８４、ＣＤ９６（Ｔａｃｔｉｌｅ）、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＲＴＡＭ、Ｌｙ９（ＣＤ２２９）、ＣＤ１６０（ＢＹ５５）、ＰＳＧＬ１、ＣＤ１００（ＳＥＭＡ４Ｄ）、ＣＤ６９、ＳＬＡＭＦ６（ＮＴＢ－Ａ、Ｌｙ１０８）、ＳＬＡＭ（ＳＬＡＭＦ１、ＣＤ１５０、ＩＰＯ－３）、ＢＬＡＭＥ（ＳＬＡＭＦ８）、ＳＥＬＰＬＧ（ＣＤ１６２）、ＬＴＢＲ、ＬＡＴ、ＧＡＤＳ、ＳＬＰ－７６、ＰＡＧ／Ｃｂｐ、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４６及びＮＫＧ２Ｄの１つ以上から選択されるタンパク質の機能的シグナル伝達ドメインを含む。

【０４３４】

いくつかの実施形態において、コードされた共刺激シグナル伝達ドメインは、配列番号１４若しくは配列番号１６に少なくとも１、２若しくは３つの修飾を有するが、修飾が２０、１０又は５を超えないアミノ酸配列又は配列番号１４若しくは配列番号１６と９５～９９％同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、コードされた共刺激シグナル伝達ドメインは、配列番号１４又は配列番号１６の配列を含む。他の実施形態において、共刺激シグナル伝達ドメインをコードする核酸配列は、配列番号１５若しくは配列番号１７の配列又はそれと９５～９９％同一性を有する配列を含む。

【０４３５】

他の実施形態において、コードされる細胞内ドメインは、配列番号１４又は配列番号１６の配列及び配列番号１８又は配列番号２０の配列を含み、ここで、これら細胞内シグナル伝達ドメインを含む配列は、同じフレームに且つ単一ポリペプチド鎖として発現される。

【０４３６】

いくつかの実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインをコードする核酸配列は、配列番号１５若しくは配列番号１７の配列又はそれと９５～９９％同一性を有する配列及び配列番号１９若しくは配列番号２１の配列又はそれと９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【０４３７】

いくつかの実施形態において、核酸分子は、リーダー配列を更にコードする。いくつかの実施形態において、リーダー配列は、配列番号２の配列を含む。

【０４３８】

いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ゼータのシグナル伝達ドメイン及びＣＤ２８のシグナル伝達ドメインを含むように設計される。いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ゼータのシグナル伝達ドメイン及び４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインを含むように設計される。いくつかの態様において、４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインは、配列番号１４のシグナル伝達ドメインである。いくつかの態様において、ＣＤ３ゼータのシグナル伝達ドメインは、配列番号１８のシグナル伝達ドメインである。

【０４３９】

いくつかの態様において、細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ゼータのシグナル伝達ドメイン及びＣＤ２７のシグナル伝達ドメインを含むように設計される。いくつかの態様において、ＣＤ２７のシグナル伝達ドメインは、ＱＲＲＫＹＲＳＮＫＧＥＳＰＶＥＰＡＥＰＣＲＹＳＣＰＲＥＥＥＧＳＴＩＰＩＱＥＤＹＲＫＰＥＰＡＣＳＰ（配列番号１６）のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、ＣＤ２７のシグナル伝達ドメインは、

【化１１】

AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCG
CCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGC
CTATCGCTCC (配列番号17)

の核酸配列によりコードされる。

【０４４０】

阻害性ドメイン

いくつかの実施形態において、ベクターは、ＣＡＲ、例えば本明細書に記載のＣＡＲをコードする核酸配列及びｉｎｈＫＩＲ細胞質ドメイン；膜貫通ドメイン、例えばＫＩＲ膜貫通ドメイン；及び阻害剤細胞質ドメイン、例えばＩＴＩＭドメイン、例えばｉｎｈＫＩＲ　ＩＴＩＭドメインを含む阻害分子をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、阻害分子は、天然に存在するｉｎｈＫＩＲであるか、又は天然に存在するｉｎｈＫＩＲと少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％又は９９％の相同性を共有するか、又は１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５又は２０残基を超えて異ならない配列である。

【０４４１】

いくつかの実施形態において、阻害分子をコードする核酸配列は、ＳＬＡＭファミリー細胞質ドメイン；膜貫通ドメイン、例えばＳＬＡＭファミリー膜貫通ドメイン；及び阻害剤細胞質ドメイン、例えばＳＬＡＭファミリードメイン、例えばＳＬＡＭファミリーＩＴＩＭドメインを含む。いくつかの実施形態において、阻害分子は、天然に存在するＳＬＡＭファミリーメンバーであるか、又は天然に存在するＳＬＡＭファミリーメンバーと少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％又は９９％の相同性を共有するか、又は１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５又は２０残基を超えて異ならない配列である。

【０４４２】

いくつかの実施形態において、ベクターは、インビトロ転写ベクター、例えば本明細書に記載の核酸分子のＲＮＡを転写するベクターである。いくつかの実施形態において、ベクターの核酸配列は、ポリ（Ａ）テール、例えばポリＡテールを更に含む。いくつかの実施形態において、ベクターの核酸配列は、３’ＵＴＲ、例えば本明細書に記載される、例えばヒトβ－グロブリンに由来する３’ＵＴＲの少なくとも１つのリピートを含む３’ＵＴＲを更に含む。いくつかの実施形態において、ベクターの核酸配列は、プロモーター、例えばＴ２Ａプロモーターを更に含む。

【０４４３】

プロモーター

いくつかの実施形態において、ベクターは、プロモーターを更に含む。いくつかの実施形態において、プロモーターは、ＥＦ－１プロモーター、ＣＭＶ　ＩＥ遺伝子プロモーター、ＥＦ－１αプロモーター、ユビキチンＣプロモーター又はホスホグリセリン酸キナーゼ（ＰＧＫ）プロモーターから選択される。いくつかの実施形態において、プロモーターは、ＥＦ－１プロモーターである。いくつかの実施形態において、ＥＦ－１プロモーターは、配列番号１の配列を含む。

【０４４４】

本発明のいくつかの態様において、免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞を、Ｆｉｃｏ

ｌｌ（商標）分離など、当業者に知られるあらゆる技術を使用して、対象から採取した血液の単位から得ることができる。いくつかの態様において、個体の循環血液からの細胞をアフェレーシスにより得る。アフェレーシス産物は、典型的にはＴ細胞、単球、顆粒球、Ｂ細胞、他の有核白血球を含むリンパ球、赤血球及び血小板を含む。いくつかの態様において、アフェレーシスにより採取した細胞は、血漿画分を除去するために洗浄し、任意選択により細胞を続くプロセシング過程のために緩衝液又は媒体に懸濁させることができる。いくつかの実施形態において、細胞をリン酸緩衝化食塩水（ＰＢＳ）で洗浄する。代替的な実施形態において、洗浄溶液は、カルシウムを欠き、マグネシウムを欠き得るか、又は全てではないにしても多くの二価カチオンを欠き得る。

【０４４５】

【表９１】

表 17: CAR の様々な成分の配列(aa – アミノ酸, na – 対応するタンパク質をコードする核酸)

配列番号	記述	配列
1	EF-1 プロモーター	CGTGAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCG CCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTG AACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAA GTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGG GAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTT TTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGT GTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTT GCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTC TTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCG AGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTT GAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTG GTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTA GCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCT GGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACT GGTATTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGT GCGTCCCAGCGCACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGC GCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCC GGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCC CGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCG TGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAG CTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTG AGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCC GTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGG CACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAG GTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTG AGTGGGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATG TAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGT TCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTTCTTCC ATTTCAGGTGTCGTGA
2	リーダー (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARP
3	リーダー (na)	ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTG CTGCTGCATGCCGCTAGACCC
4	CD 8 ヒンジ (aa)	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD

【０４４６】

【表９２】

5	CD8 ヒンジ (na)	ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCAC CATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCG GCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACT TCGCCTGTGAT
6	Ig4 ヒンジ (aa)	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLGKM
7	Ig4 ヒンジ (na)	GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCC GAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAG CCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAGGTGAC CTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCC AGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCC AAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTACCG GGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAA CGGCAAGGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGC CCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG CCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCAAGA GGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGA AGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGT GCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTGAC CGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCT GCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAG AAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATG
8	IgD ヒンジ (aa)	RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEE KKKEKEKEEQEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRD KATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNG SQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAA QAPVKLSLNLLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQR EVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVV SHEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH

【０４４７】

【表９３】

9	IgD ヒンジ (na)	AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCCAGGCATCTAGTGTTCCT ACTGCACAGCCCCAGGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTAC TACTGCACCTGCCACTACGCGCAATACTGGCCGTGGCGGGG AGGAGAAGAAAAAGGAGAAAGAGAAAGAAGAACAGGAAG AGAGGGAGACCAAGACCCCTGAATGTCCATCCCATACCCAG CCGCTGGGCGTCTATCTCTTGACTCCCGCAGTACAGGACTTG TGGCTTAGAGATAAGGCCACCTTTACATGTTTCGTCGTGGGC TCTGACCTGAAGGATGCCCATTTGACTTGGGAGGTTGCCGGA AAGGTACCCACAGGGGGGGTTGAGGAAGGGTTGCTGGAGCG CCATTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACTCAAGACTCACCCT TCCGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTCACATGTAC TCTAAATCATCCTAGCCTGCCCCCACAGCGTCTGATGGCCCT TAGAGAGCCAGCCGCCCAGGCACCAGTTAAGCTTAGCCTGA ATCTGCTCGCCAGTAGTGATCCCCCAGAGGCCGCCAGCTGGC TCTTATGCGAAGTGTCCGGCTTTAGCCCGCCCAACATCTTGC TCATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGTGAACACCAGCGGC TTCGCTCCAGCCCGGCCCCCACCCCAGCCGGGTTCTACCACA TTCTGGGCCTGGAGTGTCTTAAGGGTCCCAGCACCACCTAGC CCCCAGCCAGCCACATACACCTGTGTTGTGTCCCATGAAGAT AGCAGGACCCTGCTAAATGCTTCTAGGAGTCTGGAGGTTTCC TACGTGACTGACCATT
10	GS ヒンジ/リンカー(aa)	GGGGSGGGGS
11	GS ヒンジ/リンカー(na)	GGTGGCGGAGGTTCTGGGGGGGGGTGTTCC
12	CD8 TM (aa)	IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
13	CD8 TM (na)	ATCTACATCTGGGCGCCTTGGCCGGGACTTGGGGTCCTT CTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
14	4-1BB 細胞内ドメイン (aa)	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
15	4-1BB 細胞内ドメイン (na)	AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACC ATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCT GTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAA CTG

【０４４８】

【表９４】

16	CD27 (aa)	QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPA CSP
17	CD27 (na)	AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAA CATGACTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCA GCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC
18	CD3-ゼータ (aa)	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
19	CD3-ゼータ (na)	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAA GCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGAC GAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGG GACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTC AGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCG GAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAG GGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAG CCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTG CCCCCTCGC
20	CD3-ゼータ (aa)	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
21	CD3-ゼータ (na)	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGAGACGCCCCCGCGTACCA GCAGGGCCAG AACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGA GTACGATGTTT TGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAA GCCGAGAAGGA AGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGAT AAGATGGCGG AGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGG GGCAAGGGGC ACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGAC ACCTACGACGC CCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC
22	リンカー	GGGGS
23	リンカー	GGTGGCGGAGGTTCTGGGGGGGGGTGTTCC
24	PD-1 細胞外ドメイン(aa)	Pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedr sqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevpta hpspsprpagqfqtlv
25	PD-1 細胞外ドメイン(na)	Cccggatggtttctggactctccggatcgcccgtggaatcccccaaccttctcaccggcactcttggt tgtgactgagggcgataatgcgaccttcacgtgctcgttctccaacacctccgaatcattcgtgctgaa ctggtaccgcatgagcccgtcaaaccagaccgacaagctcgccgcgtttccggaagatcggtcgca accgggacaggattgtcggttccgcgtgactcaactgccgaatggcagagacttccacatgagcgt ggtccgcgctaggcgaaacgactccgggacctacctgtgcggagccatctcgctggcgcctaagg cccaaatcaaagagagcttgagggccgaactgagagtgaccgagcgcagagctgaggtgccaact gcacatccatccccatcgcctcggcctgcggggcagtttcagaccctggtc

【０４４９】

【表９５】

26	PD-1 CAR (aa)シグナルあり	Malpvtalllplalllhaarppgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnw yrmspsnqtdklaafpedrsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapka qikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlvtttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaag gavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrf peeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknp qeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
27	PD-1 CAR (na)	Atggccctccctgtcactgccctgcttctccccctcgcactcctgctccacgccgctagaccacccg gatggtttctggactctccggatcgcccgtggaatccccccaaccttctcaccggcactcttggttgtga ctgagggcgataatgcgaccttcacgtgctcgttctccaacacctccgaatcattcgtgctgaactggt accgcatgagcccgtcaaaccagaccgacaagctcgccgcgtttccggaagatcggtcgcaaccg ggacaggattgtcggttccgcgtgactcaactgccgaatggcagagacttccacatgagcgtggtcc gcgctaggcgaaacgactccgggacctacctgtgcggagccatctcgctggcgcctaaggcccaa atcaaagagagcttgagggccgaactgagagtgaccgagcgcagagctgaggtgccaactgcac atccatccccatcgcctcggcctgcggggcagtttcagaccctggtcacgaccactccggcgccgc gcccaccgactccggccccaactatcgcgagccagccccctgtcgctgaggccggaagcatgccgc cctgccgccggaggtgctgtgcatacccggggattggacttcgcatgcgacatctacatttgggctcc tctcgccggaacttgtggcgtgctccttctgtccctggtcatcaccctgtactgcaagcggggtcgga aaaagcttctgtacattttcaagcagcccttcatgaggcccgtgcaaaccacccaggaggaggacgg ttgctcctgccggttccccgaagaggaagaaggaggttgcgagctgcgcgtgaagttctccggag cgccgacgcccccgcctataagcagggccagaaccagctgtacaacgaactgaacctgggacgg cgggaagagtacgatgtgctggacaagcggcgcggccgggaccccgaaatgggcgggaagcct agaagaaagaaccctcaggaaggcctgtataacgagctgcagaaggacaagatggccgaggcct actccgaaattgggatgaagggagagcggcggaggggaaaggggcacgacggcctgtaccaag gactgtccaccgccaccaaggacacatacgatgccctgcacatgcaggcccttccccctcgc
28	リンカー	(Gly-Gly-Gly-Ser)n, (n = 1-10)
29	リンカー	(Gly4 Ser)4
30	リンカー	(Gly4 Ser)3
31	リンカー	(Gly3 Ser)
39	PD1 CAR (aa)	Pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedr sqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevpta hpspsprpagqfqtlvtttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwapl agtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsada paykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeays eigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr

【０４５０】

インビトロＣＡＲ－Ｔ製造

本明細書で企図される方法は、細胞のインビボ形質導入に関連する一方、インビトロ製造の課題も認められる。

【０４５１】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるようにウイルスベクターを形質導入された細胞は、例えば、本明細書に記載される方法によって増殖される。いくつかの実施形態において、細胞を数時間（例えば、約２時間、３時間、４時間、５時間、６時間、７時間、８時間、９時間、１０時間、１５時間、１８時間、２１時間）～約１４日（例えば、１日、２日、３日、４日、５日、６日、７日、８日、９日、１０日、１１日、１２日、１３日又は１４日）の期間の培養により増殖する。いくつかの実施形態において、細胞は、４～９日の期間増殖される。いくつかの実施形態において、細胞は、８日以下、例えば７日、６日又は５日の期間増殖される。いくつかの実施形態において、細胞は、培養物

中で５日間増殖させ、得られた細胞は、同じ培養条件下で９日間培養して増殖させた同じ細胞より強力である。効力は、例えば、多様なＴ細胞機能、例えば増殖、標的細胞死滅、サイトカイン産生、活性化、遊走又はそれらの組み合わせにより規定され得る。いくつかの実施形態において、細胞は、５日間増殖させ、同じ培養条件下において培養物中で９日間増殖させた同じ細胞と比較して、抗原刺激による細胞倍加の少なくとも１倍、２倍、３倍又は４倍増加を示す。いくつかの実施形態において、細胞は、培養物中で５日間増殖させ、得られた細胞は、同じ培養条件下において培養物中で９日間増殖させた同じ細胞と比較して、高い炎症誘発性サイトカイン産生、例えばＩＦＮ－γ及び／又はＧＭ－ＣＳＦレベルを示す。いくつかの実施形態において、５日間増殖させた細胞は、同じ培養条件下において培養物中で９日間増殖させた同じ細胞と比較して、炎症誘発性サイトカイン産生、例えばＩＦＮ－γ及び／又はＧＭ－ＣＳＦレベルのｐｇ／ｍｌでの少なくとも１倍、２倍、３倍、４倍、５倍、１０倍又はそれを超える増加を示す。

【０４５２】

カルシウム非存在下の初期活性化過程は、活性化の増強に至り得る。当業者に容易に認識されるように、洗浄工程は、製造業者の指示に従う半自動化「フロースルー」遠心分離（例えば、Ｃｏｂｅ ２９９１ ｃｅｌｌ ｐｒｏｃｅｓｓｏｒ、Ｂａｘｔｅｒ ＣｙｔｏＭａｔｅ又はＨａｅｍｏｎｅｔｉｃｓ Ｃｅｌｌ Ｓａｖｅｒ ５）により達成され得る。洗浄後、細胞を、例えば無Ｃａ、無ＭｇＰＢＳ、ＰｌａｓｍａＬｙｔｅ Ａ又は他の緩衝剤を含む又は含まない食塩水溶液など、多様な生体適合性緩衝液に再懸濁し得る。代わりに、アフェレーシスサンプルの望ましくない要素を除去し、細胞を培養培地に直接再懸濁し得る。

【０４５３】

本出願のインビトロ方法は、５％以下、例えば２％の、ヒトＡＢ血清を含む培養培地条件を利用でき、既知培養培地条件及び組成物、例えばＳｍｉｔｈ ｅｔ ａｌ．，“Ｅｘ ｖｉｖｏ ｅｘｐａｎｓｉｏｎ ｏｆ ｈｕｍａｎ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｆｏｒ ａｄｏｐｔｉｖｅ ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ ｕｓｉｎｇ ｔｈｅ ｎｏｖｅｌ Ｘｅｎｏ－ｆｒｅｅ ＣＴＳ Ｉｍｍｕｎｅ Ｃｅｌｌ Ｓｅｒｕｍ Ｒｅｐｌａｃｅｍｅｎｔ”Ｃｌｉｎｉｃａｌ＆Ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（２０１５）４，ｅ３１；ｄｏｉ：１０．１０３８／ｃｔｉ．２０１４．３１に記載のものを用い得ることが認識される。

【０４５４】

いくつかの態様において、Ｔ細胞は、赤血球を溶解し、例えばＰＥＲＣＯＬＬ（商標）勾配による遠心分離又は向流遠心溶出法により単球を枯渇させることにより、末梢血リンパ球から単離する。単離されたＴ細胞は、本明細書に記載の方法で更に使用され得る。

【０４５５】

本明細書に記載の方法は、例えば、本明細書に記載の例えば陰性選択技術を使用する、例えばＴ制御性細胞枯渇集団、ＣＤ２５＋枯渇細胞である、免疫エフェクター細胞の特異的亜集団、例えばＴ細胞の選択を含み得る。好ましくは、Ｔ制御性枯渇細胞集団は、３０％、２５％、２０％、１５％、１０％、５％、４％、３％、２％、１％未満のＣＤ２５＋細胞を含む。

【０４５６】

いくつかの実施形態において、Ｔ制御性細胞、例えばＣＤ２５＋Ｔ細胞を、抗ＣＤ２５抗体又はそのフラグメント又はＣＤ２５結合リガンド、ＩＬ－２を使用して集団から除去する。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ２５抗体又はそのフラグメント又はＣＤ２５結合リガンドを基質、例えばビーズにコンジュゲートするか又は他に基質、例えばビーズ上に被覆させる。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ２５抗体又はそのフラグメントを本明細書に記載の基質にコンジュゲートさせる。

【０４５７】

いくつかの実施形態において、Ｔ制御性細胞、例えばＣＤ２５＋Ｔ細胞を、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ（商標）からのＣＤ２５枯渇剤を使用して集団から除去する。いくつかの実施形態

において、細胞対ＣＤ２５枯渇剤の比は、１×１０^{7}細胞対２０μＬ、又は１×１０^{7}細胞対１５μＬ、又は１×１０^{7}細胞対１０μＬ、又は１×１０^{7}細胞対５μＬ、又は１×１０^{7}細胞対２．５μＬ、又は１×１０^{7}細胞対１．２５μＬである。いくつかの実施形態において、例えばＴ制御性細胞、例えばＣＤ２５＋枯渇のために５億細胞／ｍｌを使用する。更なる態様において、６億、７億、８億又は９億細胞／ｍｌの細胞濃度を使用する。

【０４５８】

いくつかの実施形態において、枯渇すべき免疫エフェクター細胞集団は、約６×１０^{9}ＣＤ２５＋Ｔ細胞を含む。他の態様において、枯渇すべき免疫エフェクター細胞集団は、約１×１０^{9}～１×１０^{10}（及びその間の任意の整数値）ＣＤ２５＋Ｔ細胞を含む。いくつかの実施形態において、得られたＴ制御性枯渇細胞集団は、２×１０^{9}Ｔ制御性細胞、例えばＣＤ２５＋細胞又はそれ未満（例えば、１×１０^{9}、５×１０^{8}、１×１０^{8}、５×１０^{7}、１×１０^{7}又はそれ未満のＣＤ２５＋細胞）を含む。

【０４５９】

いくつかの実施形態において、Ｔ制御性細胞、例えばＣＤ２５＋細胞を、例えばチュービング１６２－０１など、枯渇チュービングセットと共にＣｌｉｎｉＭＡＣ系を使用して集団から除去する。いくつかの実施形態において、ＣｌｉｎｉＭＡＣ系を例えばＤＥＰＬＥＴＩＯＮ２．１などの枯渇設定において動かす。

【０４６０】

特定の理論に拘束されることを望まないが、アフェレーシス前又はＣＡＲ発現細胞産物の製造中の対象における免疫細胞の負のレギュレーターのレベルの減少（例えば、望まない免疫細胞、例えばＴ$_{REG}$細胞の数の減少）は、対象の再発リスクを減らし得る。例えば、Ｔ$_{REG}$細胞を枯渇する方法は、当技術分野で知られている。例えば、Ｔ$_{REG}$細胞を減少させる方法は、シクロホスファミド、抗ＧＩＴＲ抗体（抗ＧＩＴＲ本明細書に記載の抗体）、ＣＤ２５枯渇及びそれらの組み合わせを含むが、これらに限定されない。

【０４６１】

いくつかの実施形態において、製造法は、ＣＡＲ発現細胞製造前のＴ$_{REG}$細胞の数の減少（例えば、枯渇）を含む。例えば、製造法は、例えば、サンプル、例えばアフェレーシスサンプルを抗ＧＩＴＲ抗体及び／又は抗ＣＤ２５抗体（又はそのフラグメント又はＣＤ２５結合リガンド）と接触させ、ＣＡＲ発現細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）産物の製造前にＴ$_{REG}$細胞を枯渇させることを含む。

【０４６２】

いくつかの実施形態において、対象は、ＣＡＲ発現細胞産物製造のための細胞採取前にＴ$_{REG}$細胞を減らす１つ以上の治療で前処置されており、それにより対象がＣＡＲ発現細胞処置を再び必要とするリスクを軽減する。いくつかの実施形態において、Ｔ$_{REG}$細胞を低減する方法は、対象へのシクロホスファミド、抗ＧＩＴＲ抗体、ＣＤ２５枯渇又はそれらの組み合わせの１つ以上の投与を含むが、これらに限定されない。シクロホスファミド、抗ＧＩＴＲ抗体、ＣＤ２５枯渇又はそれらの組み合わせの１つ以上の投与は、ＣＡＲ発現細胞産物注入前、注入中又は注入後に行われ得る。

【０４６３】

いくつかの実施形態において、対象は、ＣＡＲ発現細胞産物製造のための細胞の採取前にシクロホスファミドで前処置され、それにより対象がＣＡＲ発現細胞処置を再発するリスクを軽減する。いくつかの実施形態において、対象は、ＣＡＲ発現細胞産物製造のための細胞の採取前に抗ＧＩＴＲ抗体で前処置され、それにより対象がＣＡＲ発現細胞処置を再発するリスクを軽減する。

【０４６４】

いくつかの実施形態において、除去すべき細胞集団は、制御性Ｔ細胞又は腫瘍細胞ではなく、ＣＡＲ　Ｔ細胞の増殖及び／又は機能に他に負に影響する細胞、例えばＣＤ１４、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ３３、ＣＤ１５又は潜在的免疫抑制性細胞により発現される他のマーカーを発現する細胞である。いくつかの実施形態において、このような細胞は、制御性Ｔ細

胞及び／又は腫瘍細胞と同時に、又は前記枯渇後に、又は別の順番で除去することが意図される。

【０４６５】

本明細書に記載の方法は、２つ以上の選択工程、例えば２つ以上の枯渇工程を含み得る。陰性選択によるＴ細胞集団の富化は、例えば、陰性に選択される細胞に独特な表面マーカーを指向する抗体の組み合わせにより達成できる。１つの方法は、陰性に選択される細胞に存在する細胞表面マーカーを指向するモノクローナル抗体のカクテルを使用する陰性磁気免疫粘着又はフローサイトメトリーによる細胞選別及び／又は選択である。例えば、陰性選択によりＣＤ４＋細胞を富化するために、モノクローナル抗体カクテルは、ＣＤ１４、ＣＤ２０、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ１６、ＨＬＡ－ＤＲ及びＣＤ８に対する抗体を含み得る。

【０４６６】

本明細書に記載の方法は、腫瘍抗原、例えばＣＤ２５を含まない腫瘍抗原、例えばＣＤ１９、ＣＤ３０、ＣＤ３８、ＣＤ１２３、ＣＤ２０、ＣＤ１４又はＣＤ１１ｂを発現する細胞集団からの除去を更に含み、それによりＣＡＲ、例えば本明細書に記載のＣＡＲの発現に適するＴ制御性枯渇、例えばＣＤ２５＋枯渇及び腫瘍抗原枯渇細胞集団を提供する。いくつかの実施形態において、腫瘍抗原発現細胞は、Ｔ制御性、例えばＣＤ２５＋細胞と同時に除去される。例えば、抗ＣＤ２５抗体又はそのフラグメント及び抗腫瘍抗原抗体又はそのフラグメントを同じ基質、例えばビーズに結合でき、これを細胞の除去に使用できるか、又は抗ＣＤ２５抗体又はそのフラグメント及び抗腫瘍抗原抗体又はそのフラグメントを別のビーズに結合でき、その混合物を細胞の除去に使用できる。他の実施形態において、Ｔ制御性細胞、例えばＣＤ２５＋細胞の除去及び腫瘍抗原発現細胞の除去は、逐次的であり、例えばいずれの順番でも生じ得る。

【０４６７】

チェックポイント阻害剤、例えば本明細書に記載のチェックポイント阻害剤を発現する細胞、例えばＰＤ１＋細胞、ＬＡＧ３＋細胞及びＴＩＭ３＋細胞の１つ以上の集団からの除去を含み、それによりＴ制御性枯渇、例えばＣＤ２５＋枯渇細胞及びチェックポイント阻害剤枯渇細胞、例えばＰＤ１＋、ＬＡＧ３＋及び／又はＴＩＭ３＋枯渇細胞集団を提供する方法も提供される。例示的なチェックポイント阻害剤は、Ｂ７－Ｈ１、Ｂ７－１、ＣＤ１６０、Ｐ１Ｈ、２Ｂ４、ＰＤ１、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ（例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及び／又はＣＥＡＣＡＭ－５）、ＬＡＧ３、ＴＩＧＩＴ、ＣＴＬＡ－４、ＢＴＬＡ及びＬＡＩＲ１を含む。いくつかの実施形態において、チェックポイント阻害剤発現細胞は、Ｔ制御性、例えばＣＤ２５＋細胞と同時に除去される。例えば、抗ＣＤ２５抗体又はそのフラグメント及び抗チェックポイント阻害剤抗体又はそのフラグメントを同じビーズに結合でき、それを細胞の除去に使用できるか、又は抗ＣＤ２５抗体又はそのフラグメント及び抗チェックポイント阻害剤抗体又はそのフラグメントを別のビーズに結合でき、その混合物を細胞の除去に使用できる。他の実施形態において、Ｔ制御性細胞、例えばＣＤ２５＋細胞の除去及びチェックポイント阻害剤発現細胞の除去は、逐次的であり、例えばいずれ順序でも生じ得る。

【０４６８】

本明細書に記載の方法は、陽性選択工程を含み得る。例えば、Ｔ細胞を所望のＴ細胞の陽性選択に十分な時間にわたり、ＤＹＮＡＢＥＡＤＳ（登録商標）Ｍ－４５０　ＣＤ３／ＣＤ２８　Ｔなどの抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８（例えば、３×２８）コンジュゲートビーズとインキュベーションすることにより単離することができる。いくつかの実施形態において、時間は、約３０分である。更なる実施形態において、時間は、３０分～３６時間又はそれより長い範囲及びその間の任意の整数値である。更なる実施形態において、時間は、少なくとも１時間、２時間、３時間、４時間、５時間又は６時間である。更に別の実施形態において、時間は、１０～２４時間、例えば２４時間である。腫瘍組織又は免疫不全状態個体から腫瘍浸潤性リンパ球（ＴＩＬ）を単離するような、他の細胞型と比較してＴ細胞が少ないあらゆる状況において、Ｔ細胞を単離するために長いインキュベーション時間が

使用され得る。更に、長いインキュベーション時間の使用は、ＣＤ８＋Ｔ細胞の捕獲効率を高め得る。従って、単にＴ細胞をＣＤ３／ＣＤ２８ビーズと結合させる時間を短くする又は長くし、且つ／又はビーズ対Ｔ細胞比を増加又は減少させる（更に本明細書に記載のとおり）ことにより、Ｔ細胞の亜集団が培養開始時又は工程中の他の時点で優先的に選択される。更に、ビーズ又は他の表面上の抗ＣＤ３及び／又は抗ＣＤ２８抗体比を増加又は減少させることにより、Ｔ細胞の亜集団が培養開始時又は工程中の他の所望の時点で優先的に選択される。いくつかの実施形態において、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦα、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、グランザイムＢ及びパーフォリン又は他の適切な分子、例えば他のサイトカインの１つ以上を発現するＴ細胞集団を選択できる。細胞発現についてスクリーニングする方法は、例えば、国際公開第２０１３／１２６７１２号パンフレットに記載する方法により決定できる。

【０４６９】

陽性又は陰性選択により所望の細胞集団を単離するために、細胞及び表面（例えば、ビーズなどの粒子）の濃度は、変わり得る。いくつかの態様において、細胞とビーズとの最大接触を確実にするために、ビーズと細胞とを一緒に混合する体積を有意に低下させる（例えば、細胞濃度を増加させる）ことが望まれ得る。例えば、いくつかの態様において、１００億細胞／ｍｌ、９０億細胞／ｍｌ、８０億細胞／ｍｌ、７０億細胞／ｍｌ、６０億細胞／ｍｌ又は５０億細胞／ｍｌの濃度を使用する。いくつかの態様において、１０億細胞／ｍｌの濃度を使用する。更なるいくつかの態様において、細胞の７５００万、８０００万、８５００万、９０００万、９５００万又は１億細胞／ｍｌの濃度を使用する。更なる態様において、１億２５００万又は１億５０００万細胞／ｍｌの濃度を使用できる。

【０４７０】

高濃度を使用して細胞収率、細胞活性化及び細胞増殖を増加できる。更に、高細胞濃度の使用は、ＣＤ２８陰性Ｔ細胞などの目的の標的抗原を弱く発現し得る細胞の又は多くの腫瘍細胞が存在するサンプル（例えば、白血病性血液、腫瘍組織など）からのより効率的な捕獲を可能にする。このような細胞集団は、治療的価値を有し得、取得することが望ましい。例えば、高濃度細胞の使用は、通常ＣＤ２８発現が弱いＣＤ８＋Ｔ細胞のより効率的な選択を可能にする。

【０４７１】

いくつかの実施形態において、低濃度の細胞を使用することが望ましいことがある。Ｔ細胞と表面（例えば、ビーズなどの粒子）との混合物を有意に希釈することにより、粒子と細胞との相互作用が最小化される。これは、粒子に結合する所望の抗原を高量で発現する細胞で選択する。例えば、ＣＤ４＋Ｔ細胞は、高レベルのＣＤ２８を発現し、希釈濃度でＣＤ８＋Ｔ細胞より効率的に捕獲される。いくつかの態様において、使用する細胞の濃度は5×10^{6}／ｍｌである。他の態様において、使用する濃度は約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。

【０４７２】

他の態様において、細胞を、種々の長さの時間、種々の速度で２～１０℃又は室温においてローテータでインキュベートし得る。

【０４７３】

刺激のためのＴ細胞は、洗浄工程後にも凍結され得る。理論に拘束されることを望まないが、凍結と続く解凍工程は、細胞集団から顆粒球及びある程度単球を除去することにより、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工程後、細胞を凍結溶液に懸濁し得る。多くの凍結溶液及びパラメータが当技術分野で知られ、これに関連して有用であるが、ある方法は、２０％ＤＭＳＯ及び８％ヒト血清アルブミンを含むＰＢＳ又は１０％Ｄｅｘｔｒａｎ　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又は３１．２５％Ｐｌａｓｍａｌｙｔｅ－Ａ、３１．２５％デキストロース５％、０．４５％ＮａＣｌ、１０％Ｄｅｘｔｒａｎ　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を含む培養培地又は例えばＨｅｓｐａｎ及びＰｌａｓｍａＬｙｔｅ　Ａを含む他の適当な細胞凍結媒体を使用し、次いで細胞を１°

／分の速度で－８０℃に凍結し、気相の液体窒素貯蔵タンクに保存する。制御凍結の他の方法並びに直接－２０℃又は液体窒素の非制御凍結も使用できる。

【０４７４】

いくつかの態様において、凍結保存細胞を本明細書に記載のように解凍し、洗浄し、本発明の方法を使用する活性化前に室温で１時間休息させる。

【０４７５】

本発明に関連して、本明細書に記載の増殖細胞が必要となり得る時点の前の期間における対象からの血液サンプル又はアフェレーシス産物の収集も企図されている。従って、増殖する細胞の供給源を必要な任意の時点で採取でき、Ｔ細胞などの所望の細胞を、本明細書に記載のものなどの免疫エフェクター細胞療法からの利益があるであろう任意の数の疾患及び状態について、免疫エフェクター細胞療法におけるその後の使用のために単離及び凍結できる。いくつかの態様において、血液サンプル又はアフェレーシスを一般に健常対象から採取する。いくつかの態様において、血液サンプル又はアフェレーシスを、一般に、疾患を発症するリスクにあるが、依然として疾患を発症していない健常対象から採取し、目的の細胞をその後の使用のために単離及び凍結する。いくつかの態様において、Ｔ細胞をその後の時点で増殖、凍結及び使用し得る。いくつかの態様において、サンプルを、本明細書に記載の特定の疾患の診断の直後に、しかし、何らかの処置前に患者から採取する。更なる態様において、ナタリズマブ、エファリズマブ、抗ウイルス剤、化学療法剤、放射線、シクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキサート、ミコフェノレート及びＦＫ５０６などの免疫抑制剤、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及び照射などの抗体又は他の免疫除去剤による処置を含むが、これらに限定されない、任意の数の関連する処置モダリティ前に対象からの血液サンプル又はアフェレーシスから細胞を単離する。

【０４７６】

本発明の更なる態様において、Ｔ細胞を、対象に機能的Ｔ細胞を残す処置後、患者から直接得る。ある癌処置、特に免疫系を損傷させる薬物での処置後、処置の直後、患者が、通常、その処置から回復するまでの間、得られるＴ細胞の品質がエクスビボで増殖する能力について最適であり得るか又は改善され得ることが観察されている。同様に、本明細書に記載の方法を使用するエクスビボ操作後、これらの細胞は、生着及びインビボ増殖増強について好ましい状態であり得る。そのため、本発明に関連して、Ｔ細胞、樹状細胞又は造血細胞系統の他の細胞を含む血液細胞をこの回復期に採取することが企図される。更に、いくつかの態様において、可動化（例えば、ＧＭ－ＣＳＦでの可動化）及びコンディショニングレジメンを使用して、特定の細胞型の再増殖、再循環、再生及び／又は増殖に好都合である条件を、特に治療後の定められた時間枠中に対象に形成できる。細胞型の例は、Ｔ細胞、Ｂ細胞、樹状細胞及び免疫系の他の細胞を含む。

【０４７７】

いくつかの実施形態において、Ｔ細胞集団は、ジアシルグリセロールキナーゼ（ＤＧＫ）欠損である。ＤＧＫ欠損細胞は、ＤＧＫ　ＲＮＡ又はタンパク質を発現しないか、又はＤＧＫ活性が低下した又は阻害された細胞である。ＤＧＫ欠損細胞は、ＤＧＫ発現を低減又は阻止するための遺伝的方法、例えばＲＮＡ干渉剤、例えばｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、ｍｉＲＮＡの投与により産生できる。代わりに、ＤＧＫ欠損細胞は、本明細書に記載のＤＧＫ阻害剤での処理により産生できる。

【０４７８】

いくつかの実施形態において、Ｔ細胞集団は、イカロス欠損である。イカロス欠損細胞は、イカロスＲＮＡ又はタンパク質を発現しないか、又はイカロス活性が低下した又は阻害された細胞を含み、イカロス欠損細胞は、イカロス発現を低減又は阻止するための遺伝的方法、例えばＲＮＡ干渉剤、例えばｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、ｍｉＲＮＡの投与により産生できる。代わりに、イカロス欠損細胞は、イカロス阻害剤、例えばレナリドマイドでの処理により産生できる。

【０４７９】
実施形態において、Ｔ細胞集団は、ＤＧＫ欠損及びイカロス欠損であり、例えばＤＧＫ及びイカロスを発現しないか、又はＤＧＫ及びイカロス活性が低下又は阻害されている。このようなＤＧＫ及びイカロス欠損細胞は、本明細書に記載の方法のいずれかにより産生できる。
【０４８０】
いくつかの実施形態において、ＮＫ細胞を対象から得る。別の実施形態において、ＮＫ細胞は、ＮＫ細胞株、例えばＮＫ－９２細胞株（Ｃｏｎｋｗｅｓｔ）である。
【０４８１】
特定の例示的態様において、対象を白血球除去に付し、ここで、白血球を採取し、エクスビボで富化又は枯渇して、目的の細胞、例えばＴ細胞を選択及び／又は単離する。これらのＴ細胞単離物は、本明細書に記載の方法によって増殖され得る。処置を必要とする対象を、その後、高用量の化学療法剤と続く末梢血幹細胞移植の標準的処置に付し得る。いくつかの態様において、移植後又は同時に、対象は、本発明の方法により調整された、増殖させたＣＡＲ　Ｔ細胞の注入を受ける。更なる態様において、増殖細胞を手術前又は後に投与する。
【０４８２】
更に発現される薬剤
ＣＡＲ活性を増強する薬剤の共発現
本明細書で企図される実施形態において、追加の薬剤は、上記で本明細書に記載されたベクター中にコードされ得ることが理解される。従って、これらの薬剤は、ＣＡＲ発現細胞に関連して以下に記載される。
【０４８３】
別の実施形態において、本明細書に記載のＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞は、別の薬剤、例えばＣＡＲ発現細胞の活性を増強する薬剤を更に発現できる。例えば、いくつかの実施形態において、薬剤は、阻害分子を阻害する薬剤であり得る。阻害分子の例は、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４、ＴＩＭ－３、ＣＥＡＣＡＭ（例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及び／又はＣＥＡＣＡＭ－５）、ＬＡＧ－３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４並びにＴＧＦＲベータ、例えば本明細書に記載のものを含む。いくつかの実施形態において、阻害分子を阻害する薬剤は、細胞に正のシグナルを提供する第２のポリペプチド、例えば本明細書に記載の細胞内シグナル伝達ドメインに結合した第１のポリペプチド、例えば阻害分子を含む。いくつかの実施形態において、薬剤は、例えば、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４、ＴＩＭ－３、ＣＥＡＣＡＭ（例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及び／又はＣＥＡＣＡＭ－５）、ＬＡＧ－３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４若しくはＴＧＦＲベータ又はこれらのいずれかのフラグメントなどの阻害分子の第１のポリペプチド及び本明細書に記載の細胞内シグナル伝達ドメインである第２のポリペプチド（例えば、共刺激ドメイン（例えば、本明細書に記載の例えば４１ＢＢ、ＣＤ２７又はＣＤ２８）及び／又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２のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態において、薬剤は、ＰＤ－１又はそのフラグメントの第１のポリペプチド並びに本明細書に記載する細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載するＣＤ２８、ＣＤ２７、ＯＸ４０又は４－ＩＢＢシグナル伝達ドメイン及び／又は本明細書に記載するＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメイン）の第２のポリペプチドを含む。
【０４８４】
第２のＣＡＲの共発現
いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるＣＡＲ発現細胞は、例えば、同じ標的（例えば、ＣＤ１９）又は異なる標的（例えば、ＣＤ１９以外の標的、例えば、本明細書に記載される標的）に対する、第２のＣＡＲ、例えば異なる抗原結合ドメインを含む第２のＣＡＲを更に含み得る。

【０４８５】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載のＣＡＲ発現細胞、例えば、本明細書に記載の方法を用いて製造されたＣＡＲ発現細胞は、（ｉ）ＢＣＭＡに結合する第１のＣＡＲをコードする第１の核酸分子、及び（ｉｉ）ＣＤ１９に結合する第２のＣＡＲをコードする第２の核酸分子を含む。いくつかの実施形態において、第１のＣＡＲは、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、第１の膜貫通ドメイン及び第１の細胞内シグナル伝達ドメインを含み、上記抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、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）を含む重鎖可変領域（ＶＨ）と、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）を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）とを含み、上記ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３は、それぞれ配列番号８６、８７、８８、９５、９６及び９７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第２のＣＡＲは、抗ＣＤ１９結合ドメイン、第２の膜貫通ドメイン及び第２の細胞内シグナル伝達ドメインを含み、上記ＣＤ１９結合ドメインは、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３を含むＶＨと、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３を含むＶＬとを含み、上記ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３は、それぞれ配列番号７６０、６８７、７６２、７６３、７６４及び７６５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、（ｉ）抗ＢＣＭＡ結合ドメインのＶＨ及びＶＬは、それぞれ配列番号９３及び１０２のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ１９結合ドメインのＶＨ及びＶＬは、それぞれ配列番号２５０Ａ及び２５１Ａのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号１０５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ１９結合ドメインは、配列番号７５８のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第１のＣＡＲは、配列番号１０７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第２のＣＡＲは、配列番号２２５のアミノ酸配列を含む。

【０４８６】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載のＣＡＲ発現細胞、例えば、本明細書に記載の方法を用いて製造されたＣＡＲ発現細胞は、（ｉ）ＣＤ２２に結合する第１のＣＡＲをコードする第１の核酸分子と、（ｉｉ）ＣＤ１９に結合する第２のＣＡＲをコードする第２の核酸分子とを含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ２２　ＣＡＲは、ＣＤ２２抗原結合ドメイン及び第１の膜貫通ドメイン；第１の共刺激シグナル伝達ドメイン；並びに／又は第１の一次シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ１９　ＣＡＲは、ＣＤ１９抗原結合ドメイン及び第２の膜貫通ドメイン；第２の共刺激シグナル伝達ドメイン；並びに／又は第２の一次シグナル伝達ドメインを含む。

【０４８７】
いくつかの実施形態において、ＣＤ２２抗原結合ドメインは、例えば、表１５、１６、３０、３１若しくは３２で、本明細書に記載されるＣＤ２２結合ドメインの１つ以上（例えば、３つ全て）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）；並びに／又は例えば、表１５、１６、３０、３１若しくは３２で、本明細書に記載されるＣＤ２２結合ドメインの１つ以上（例えば、３つ全て）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）を含む。実施形態では、ＣＤ２２抗原結合ドメインは、例えば、表１５、１６、３０、３１若しくは３２で、本明細書に記載されるＣＤ２２結合ドメインのＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３；並びに／又は表１５、１６、３０、３１若しくは３２で、本明細書に記載されるＣＤ２２結合ドメインのＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ１９抗原結合ドメインは、例えば、表１、３０、３１若しくは３２で、本明細書に記載されるＣＤ１９結合ドメインの１つ以上（例えば、３つ全て）のＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３；並びに／又

は例えば、表１、３０、３１若しくは３２で、本明細書に記載されるＣＤ１９結合ドメインの１つ以上（例えば、３つ全て）のＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ１９抗原結合ドメインは、例えば、表１、３０、３１及び３２で、本明細書に記載されるＣＤ１９結合ドメインのＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３；並びに／又は例えば、表１、３０、３１及び３２で、本明細書に記載されるＣＤ１９結合ドメインのＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３を含む。

【０４８８】

いくつかの実施形態において、ＣＤ２２抗原結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）は、例えば、表３０若しくは３２で、本明細書に記載されるＣＤ２２結合ドメインの軽鎖可変（ＶＬ）領域；及び／又は表３０若しくは３２で、本明細書に記載されるＣＤ２２結合ドメインの重鎖可変（ＶＨ）領域を含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ２２抗原結合ドメインは、表３０又は３２に提供されるＣＤ２２　ＶＬ領域配列の少なくとも１つ、２つ又は３つの修飾（例えば、置換）、但し３０、２０又は１０以下の修飾（例えば、置換）を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域を含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ２２抗原結合ドメインは、表３０若しくは３２に提供されるアミノ酸配列又は上記配列のいずれかに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列を含むＶＬ領域を含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ２２抗原結合ドメインは、表３０又は３２に提供されるＣＤ２２　ＶＨ領域配列の少なくとも１つ、２つ又は３つの修飾（例えば、置換）、但し３０、２０又は１０以下の修飾（例えば、置換）を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域を含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ２２抗原結合ドメインは、表３０若しくは３２に提供されるＣＤ２２　ＶＨ領域配列のアミノ酸配列又は上記配列のいずれかに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列を含むＶＨ領域を含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ１９抗原結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）は、例えば、表１、３０若しくは３２で、本明細書に記載されるＣＤ１９結合ドメインのＶＬ領域；及び／又は例えば、表１、３０若しくは３２で、本明細書に記載されるＣＤ１９結合ドメインのＶＨ領域を含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ１９抗原結合ドメインは、表１、３０又は３２に提供されるＣＤ１９　ＶＬ領域配列の少なくとも１つ、２つ若しくは３つの修飾（例えば、置換）、但し３０、２０若しくは１０以下の修飾（例えば、置換）を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域を含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ１９抗原結合ドメインは、表１、３０若しくは３２に提供されるＣＤ１９　ＶＬ領域配列のアミノ酸配列又は上記配列のいずれかに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列を含むＶＬ領域を含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ１９抗原結合ドメインは、表１、３０又は３２に提供されるＣＤ１９　ＶＨ領域配列の少なくとも１つ、２つ若しくは３つの修飾（例えば、置換）、但し３０、２０若しくは１０以下の修飾（例えば、置換）を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域を含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ１９抗原結合ドメインは、表１、３０若しくは３２に提供されるＣＤ１９　ＶＨ領域配列のアミノ酸配列又は上記配列のいずれかに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列を含むＶＨ領域を含む。

【０４８９】

いくつかの実施形態において、ＣＤ２２抗原結合は、表３０又は３２に提供されるＣＤ２２　ｓｃＦｖ配列の少なくとも１つ、２つ若しくは３つの修飾（例えば、置換）、但し３０、２０若しくは１０以下の修飾（例えば、置換）を有するアミノ酸配列を含むｓｃＦｖを含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ２２抗原結合は、表３０若しくは３２に提供されるＣＤ２２　ｓｃＦｖ配列のアミノ酸配列又は上記配列のいずれかに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列を含むｓｃＦｖを含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ１９抗原

結合ドメインは、表１、３０又は３２に提供されるＣＤ１９　ｓｃＦｖ配列の少なくとも１つ、２つ若しくは３つの修飾（例えば、置換）、但し３０、２０若しくは１０以下の修飾（例えば、置換）を有するアミノ酸配列を含むｓｃＦｖを含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ１９抗原結合ドメインは、表１、３０又は３２に提供されるＣＤ１９　ｓｃＦｖ配列のアミノ酸配列又は上記配列のいずれかに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列含むｓｃＦｖを含む。

【０４９０】

いくつかの実施形態において、ＣＤ２２　ＣＡＲ分子及び／又はＣＤ１９　ＣＡＲ分子は、表３３に提供されるアミノ酸配列又は上記配列のいずれかに対して少なくとも約７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する、追加の構成要素、例えば、シグナルペプチド、ヒンジ、膜貫通ドメイン、共刺激シグナル伝達ドメイン及び／又は第１の一次シグナル伝達ドメイン、Ｐ２Ａ部位及び／又はリンカーを含むか；又は表３３に提供されるヌクレオチド配列又は上記配列のいずれかに対して少なくとも約７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列によってコードされる。

【０４９１】

ＣＡＲ分子の例示的なヌクレオチド及びアミノ酸配列、例えば、（ｉ）ＣＤ２２に結合する第１のＣＡＲ及び（ｉｉ）本明細書に開示されるＣＤ１９に結合する第２のＣＡＲを含む二重ＣＡＲ分子を表３０に提供する。

【０４９２】

【表９６】

表30: デュアル及びタンデムCD19-CD22 CAR 配列

識別子	配列番号	配列
タンデムCD19-CD22 CAR		
CG#c171	813	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggcccgaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcaccccggtgagcgcgcaaccctgtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggctccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccctcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaagggaacaccctgccctacaccttttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtgagcggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccaccggggaagggtctggaatggattggagtgatttggggctctgagactacttactaccaatcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactgggacagggtactctggtcaccgtgtccagcttggcagaagccgccgcgaaagaagtgcag

【０４９３】

【表９７】

		cttcaacaatcaggaccaggactcgtcaaaccatcacagaccctctccctcacatgtgccatct ccggggactccatgttgagcaattccgacacttggaattggattagacaaagcccgtcccggg gtctggaatggttgggacgcacctaccaccggtctacttggtacgacgactacgcgtcatccg tgcggggaagagtgtccatcaacgtggacacctccaagaaccagtacagcctgcagcttaat gccgtgactcctgaggatacgggcgtctactactgcgcccgcgtccgcctgcaagacgggga acagctggagcgatgcattcgatgtctggggccagggaactatggtcaccgtgtcgtctggg ggcggtggatcgggtggcgggggttcgggggggcggcggctctcagtccgctcttacccaac cggcctcagcctcggggagccccggccagagcgtgaccatttcctgcaccggcacttcatcc gacgtgggcggctacaactacgtgtcctggtaccaacagcacccgggaaaggcccccaag ctcatgatctacgacgtgtccaacaggccctcgggagtgtccaaccggttctcgggttcgaaa tcgggaaacacagccagcctgaccatcagcggactgcaggctgaagatgaagccgactact actgctcctcctacacctcgtcatccacgctctacgtgttcggcactggaactcagctgactgtg ctgaccactaccccagcaccgaggccacccaccccggctcctaccatcgcctcccagcctct gtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctggtgggccgtgcataccgggggtctt gacttcgcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttca ctcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaaccctt catgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggag gaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctac cagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacg tgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaa tccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgag attggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactc agcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
	814	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPAR FSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGT KLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSS LKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYG GSYAMDYWGQGTLVTVSSLAEAAAKEVQLQQSGPGLVKP SQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTY HRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDT GVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSQSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVL TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF ACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPF MRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAY QQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ GLSTATKDTYDALHMQALPPR
CG#c182	815	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggcccg aagtgcagcttcaacaatcaggaccaggactcgtcaaaccatcacagaccctctccctcacat gtgccatctccggggactccatgttgagcaattccgacacttggaattggattagacaaagccc gtcccggggtctggaatggttgggacgcacctaccaccggtctacttggtacgacgactacg

【０４９４】

【表９８】

		cgtcatccgtgcggggaagagtgtccatcaacgtggacacctccaagaaccagtacagcctg cagcttaatgccgtgactcctgaggatacgggcgtctactactgcgcccgcgtccgcctgcaa gacgggaacagctggagcgatgcattcgatgtctggggccagggaactatggtcaccgtgtc gtctgggggcggtggatcgggtggcgggggttcgggggggcggcggctctcagtccgctctt acccaaccggcctcagcctcggggagccccggccagagcgtgaccatttcctgcaccggc acttcatccgacgtgggcggctacaactacgtgtcctggtaccaacagcacccgggaaaggc ccccaagctcatgatctacgacgtgtccaacaggccctcgggagtgtccaaccggttctcgg gttcgaaatcgggaaacacagccagcctgaccatcagcggactgcaggctgaagatgaagc cgactactactgctcctcctacacctcgtcatccacgctctacgtgttcggcactggaactcagc tgactgtgctgggaggggggagggagtgaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagc ctttcacccggtgagcgcgcaaccctgtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaatacctta attggtatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggctcc attctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccctcactatca gctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaagggaacaccctgccctaca cctttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggaggtggcagcggaggaggtgggt ccggcggtggaggaagccaggtccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccat cagaaactctttcactgacttgtactgtgagcggagtgtctctccccgattacggggtgtcttgg atcagacagccaccggggaagggtctggaatggattggagtgatttggggctctgagactac ttactaccaatcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtg tcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattact attatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggtactctggtcaccgtgtccagca ccactaccccagcaccgaggccacccaccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtcc ctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgactt cgcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcactcgt gatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatga ggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggagga aggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctaccagcag gggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctgg acaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaatcccca agagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggt atgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcagcac cgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
	816	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLQQSGPGLVKPSQTLSL TCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWY DDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCA RVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSQSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVS WYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLT ISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVLGGGGSE IVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQ APRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAV YFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQ LQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKG LEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSV TAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSSTTT PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC

【０４９５】

【表９９】

		DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFM RPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQ GQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR
CG#c188	817	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggcccc agtccgctcttacccaaccggcctcagcctcggggagccccggccagagcgtgaccatttcc tgcaccggcacttcatccgacgtgggcggctacaactacgtgtcctggtaccaacagcaccc gggaaaggcccccaagctcatgatctacgacgtgtccaacaggccctcgggagtgtccaac cggttctcgggttcgaaatcgggaaacacagccagcctgaccatcagcggactgcaggctg aagatgaagccgactactactgctcctcctacacctcgtcatccacgctctacgtgttcggcact ggaactcagctgactgtgctgggcggaggaggctccgaagtgcagcttcaacaatcaggac caggactcgtcaaaccatcacagaccctctccctcacatgtgccatctccggggactccatgtt gagcaattccgacacttggaattggattagacaaagcccgtcccggggtctggaatggttggg acgcacctaccaccggtctacttggtacgacgactacgcgtcatccgtgcggggaagagtgt ccatcaacgtggacacctccaagaaccagtacagcctgcagcttaatgccgtgactcctgag gatacgggcgtctactactgcgcccgcgtccgcctgcaagacgggaacagctggagcgatg cattcgatgtctggggccagggaactatggtcaccgtgtcgtctggaggggagggagtgaa attgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcacccggtgagcgcgcaaccctgtctt gcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccggacaggctc ctcgccttctgatctaccacaccagccggctccattctggaatccctgccaggttcagcggtag cggatctgggaccgactacaccctcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtcta tttctgtcagcaagggaacaccctgccctacacctttggacagggcaccaagctcgagattaa aggtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagccaggtccaactcc aagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtgagcg gagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccaccggggaagggtctggaa tggattggagtgatttggggctctgagactacttactaccaatcatccctcaagtcacgcgtcac catctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccga caccgccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactgg ggacagggtactctggtcaccgtgtccagcaccactaccccagcaccgaggccacccaccc cggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagct ggtggggccgtgcataccccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttgggccctctgg ctggtacttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaag aagctgctgtacatctttaagcaaccccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggac ggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattca gccgcagcgcagatgctccagcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaactca atcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaa tgggcgggaagccgcgcagaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaag gataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaa ggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttc acatgcaggccctgccgcctcgg
	818	MALPVTALLLPLALLLHAARPQSALTQPASASGSPGQSVTI SCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSG VSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLY VFGTGTQLTVLGGGGSEVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAIS GDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDYA

【０４９６】

【表１００】

		SSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRL QDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSSGGGGSEIVMTQSPATL SLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTS RLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTL PYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLV KPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWG SETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGT CGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDA LHMQALPPR
CG#c224	819	atggccctgcccgtgactgcgctcctgcttccgttggccctgctcctgcatgccgccagacctc agtccgctctgactcagccggcctcagcttcggggtcccctggtcaaagcgtcactatttcctg taccggaacctcatcagacgtgggcggctacaattacgtgtcctggtaccaacagcaccccg gaaaggctcctaagcttatgatctacgacgtgtccaaccggccgtcaggagtgtccaacagat tctccggctccaagagcggaaacactgccagcttgaccattagcggcttgcaggccgaggga cgaagccgactactactgctctagctacacatcctcgtctaccctctacgtgtttggaacgggg acccagctgactgtgctcgggggtggaggatcagaggtgcaactccagcagtccggtcctg gcctcgtgaaaccgtcccaaaccctgtccctgacttgcgccatctcgggcgactccatgctgt ccaattccgacacctggaactggattagacaatcgcctagccggggactcgaatggctgggc cggacctaccaccggtccacgtggtatgacgactacgcaagctccgtccggggaagggtgt ccattaacgtcgatacctccaagaaccagtacagccttcagctgaacgctgtgacccccgag gataccggcgtctactactgtgcaagagtgcgattgcaggatggaaactcgtggtcggacgc attcgatgtctggggacagggaactatggtgaccgtgtcctcgggcggaggcgggagcgga ggaggaggctctggcggaggaggaagcgagattgtcatgactcagtccccggccacactct ccctgtcacccggagaaagagcaaccctgagctgcagggcgtcccaggacatctcgaagta cctgaactggtaccagcagaagcctggacaagcaccccgcctcctgatctaccacacctcgc ggctgcattcgggaatccccgccagattctcagggagcggatcaggaaccgactacaccct gactatctcgagcctgcaaccagaggatttcgccgtgtacttctgccagcaaggaaacaccct gccctacacctttggacagggaaccaagctcgagattaaggggggtggtggatcgggaggg ggtggatcaggaggaggcggctcacaagtccagctgcaagaatccggtccgggacttgtga agccgtccgaaaccctgtcactgacttgcactgtgtccggggtgtcattgcccgactacggcg tgagctggattcggcagccccctggaaagggattggaatggatcggcgtgatctggggttcg gaaactacctactatcagtcctcactgaagtcccgcgtgaccatcagcaaggataattccaaaa accaagtgtctctgaagctctccagcgtcactgccgccgatactgccgtgtactactgcgcca agcactactattacggcggttcgtacgccatggactactggggccaagggacactcgtgacc gtgtcatccaccactaccccagcaccgaggccacccaccccggctcctaccatcgcctccca gcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccgg ggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgct gctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagca acccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccaga ggaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagc ctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtac

【０４９７】

【表１０１】

		gacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaa agaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatag cgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagg gactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
	820	MALPVTALLLPLALLLHAARPQSALTQPASASGSPGQSVTI SCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSG VSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLY VFGTGTQLTVLGGGGSEVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAIS GDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDYA SSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRL QDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPG QAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFA VYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQV QLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGK GLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSS VTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSSTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFM RPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQ GQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR
CG#c227	821	atggccctgcccgtgactgcgctcctgcttccgttggccctgctcctgcatgccgccagacctc agtccgctctgactcagccggcctcagcttcggggtcccctggtcaaagcgtcactatttcctg taccggaacctcatcagacgtgggcggctacaattacgtgtcctggtaccaacagcaccccg gaaaggctcctaagcttatgatctacgacgtgtccaaccggccgtcaggagtgtccaacagat tctccggctccaagagcggaaacactgccagcttgaccattagcggcttgcaggccgaggga cgaagccgactactactgctctagctacacatcctcgtctaccctctacgtgtttggaacgggg acccagctgactgtgctcgggggtggaggatcagaggtgcaactccagcagtccggtcctg gcctcgtgaaaccgtcccaaaccctgtccctgacttgcgccatctcgggcgactccatgctgt ccaattccgacacctggaactggattagacaatcgcctagccggggactcgaatggctgggc cggacctaccaccggtccacgtggtatgacgactacgcaagctccgtccggggaagggtgt ccattaacgtcgatacctccaagaaccagtacagccttcagctgaacgctgtgacccccgag gataccggcgtctactactgtgcaagagtgcgattgcaggatggaaactcgtggtcggacgc attcgatgtctggggacagggaactatggtcactgtgtcctccggcggtggaggctcgggggg ggggcggctcaggaggaggcggctcacaagtccagctgcaagaatccggtccgggacttg tgaagccgtccgaaaccctgtcactgacttgcactgtgtccggggtgtcattgcccgactacg gcgtgagctggattcggcagcccccctggaaagggattggaatggatcggcgtgatctggggt tcggaaactacctactatcagtcctcactgaagtcccgcgtgaccatcagcaaggataattcca aaaaccaagtgtctctgaagctctccagcgtcactgccgccgatactgccgtgtactactgcg ccaagcactactattacggcggttcgtacgccatggactactggggacaaggcactcttgtga ctgtgtcaagcggcggtggagggagcggtgggggcggttcaggaggaggcggatcagag atcgtgatgacccaatccccagccaccctgtccctcagccctggagaaagagccaccctgag ctgccgggcctcccaggatatcagcaagtacttgaactggtaccaacaaaagccggggcag gcgccccggctcctgatctaccacacctcgcgcctccactcaggtatccccgccagattctca

【０４９８】

【表１０２】

		gggagcggctccggtactgactacaccctgactatttcctcactgcagccagaggactttgcc gtgtacttctgccagcagggaaacactctgccgtacaccttcgggcagggaacgaagcttga aattaagaccactaccccagcaccgaggccacccaccccggctcctaccatcgcctcccag cctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggg gtcttgacttcgcctgcgatatctacatttgggccctctggctggtacttgcggggtcctgctg ctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaa cccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccaga ggaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagc ctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtac gacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaa agaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatag cgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagg gactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
	822	MALPVTALLLPLALLLHAARPQSALTQPASASGSPGQSVTI SCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSG VSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLY VFGTGTQLTVLGGGGSEVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAIS GDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDYA SSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRL QDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPP GKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKL SSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRAS QDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGS GTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFM RPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQ GQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR
デュアルCD19-CD22 CAR		
CG#c201		
完全長 CD19-CD22 デュアルCAR 核酸	823	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggcccg aagtgcagctgcagcagtcagggcctggcctggtcaagccgtcgcagaccctctccctgac atgcgccattagcggggactccatgctgagcaactcggacacctggaactggattcggcagt ccccttcccggggactcgagtggctcggacgcacctaccatcggagcacttggtacgacga ctacgcctcctccgtgagaggtcgcgtgtcgatcaacgtggatacctcgaagaaccagtatag cttgcaactgaacgccgtgacccctgaggataccggagtgtactattgtgcgagagtcaggct gcaagacggaaactcctggtccgacgcatttgatgtctggggacagggtactatggtcacggt gtcatctggaggcggaggatcgcaaagcgccctgactcagccggcttcggctagcggttca ccggggcagtccgtgactatctcctgcaccgggacttcctccgacgtgggaggctacaattac gtgtcctggtaccagcaacaccccggcaaagccccaaagctgatgatctacgacgtcagcaa cagacccagcggagtgtccaaccggttcagcggctccaagtccggcaacaccgcctccctg accatcagcgggcttcaggccgaagatgaggcggattactactgctcctcgtacacctcaag

【０４９９】

【表１０３】

		ctcaactctgtacgtgttcggcaccggtactcagctcaccgtgctgaccactaccccagcacc gaggccacccaccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggaggcat gtagacccgcagctggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctaca tttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaa gcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcctgtgcagactac tcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaact gcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctaccagcaggggcagaaccagct ctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagagga cgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaatccccaagagggcctgtacaa cgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgc agaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacac ctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcggggaagcggagctactaacttcagcct gctgaagcaggctggagacgtggaggagaaccctggacctatggccttaccagtgaccgcc ttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccgccaggccggaaattgtgatgacccagtca cccgccactcttagcctttcacccggtgagcgcgcaaccctgtcttgcagagcctcccaagac atctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctacca caccagccggctccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgact acaccctcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaagggaa caccctgccctacacctttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggaggtggcagc ggaggaggtgggtccggcggtggaggaagccaggtccaactccaagaaagcggaccgg gtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtgagcggagtgtctctccccgatt acggggtgtcttggatcagacagccaccggggaagggtctggaatggattggagtgatttgg ggctctgagactacttactaccaatcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaact ctaagaatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattg cgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggtactctggt caccgtgtccagcaccacgacgccagcgccgcgaccaccaacaccggcgcccaccatcg cgtcgcagcccctgtccctgcgcccagaggcgtgccggccagcggcgggggggcgcagtg cacacgaggggggctggacttcgcctgtgatatctacatctgggcgcccttggccgggacttgt ggggtccttctcctgtcactggttatcacccctttactgcaaacggggcagaaagaaactcctgt atatattcaaacaaccatttatgagaccagtacaaactactcaagaggaagatggctgtagctg ccgatttccagaagaagaagaaggaggatgtgaactgagagtgaagttcagcaggagcgca gacgccccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaa gagaggagtacgatgttttggacaagagacgtggccgggaccctgagatgggggggaaagc cgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcgg aggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggc ctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgcaggccct gcccctcgc
完全長 CD19-CD22 デュアルCAR アミノ酸	824	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLQQSGPGLVKPSQTLSL TCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWY DDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCA RVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSSGGGGSQSALTQP ASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADY YCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPL SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL LSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF

【０５００】

【表１０４】

		PEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMALPVTALLLPLAL LLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLN WYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTIS SLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVS WIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKN QVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGT LVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVH TRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRS ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CD22 CAR (P2A部位を含む)	825	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLQQSGPGLVKPSQTLSL TCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWY DDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCA RVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSSGGGGSQSALTQP ASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADY YCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPL SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL LSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF PEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPRGSGATNFSLLKQAGDVEENPG
CD19 CAR	826	PMALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERA TLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPA RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQG TKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSL TCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQS SLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYY GGSYAMDYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSL RPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLS LVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR
CG#c203		
完全長 CD19-CD22	827	atggccttaccagtgaccgccttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccgccaggccg gaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcacccggtgagcgcgcaaccctg tcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccggacag

【０５０１】

【表１０５】

デュアルCAR核酸		gctcctcgccttctgatctaccacaccagccggctccattctggaatccctgccaggttcagcg gtagcggatctgggaccgactacaccctcactatcagctcactgcagccagaggacttcgct gtctatttctgtcagcaagggaacaccctgccctacacctttggacagggcaccaagctcgag attaaaggtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagccaggtcca actccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtg agcggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccaccggggaagggtct ggaatggattggagtgatttggggctctgagactacttactaccaatcatccctcaagtcacgc gtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcag ccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggatta ctggggacagggtactctggtcaccgtgtccagcaccacgacgccagcgccgcgaccacc aacaccggcgcccaccatcgcgtcgcagcccctgtccctgcgcccagaggcgtgccggcc agcggcgggggcgcagtgcacacgaggggctggacttcgcctgtgatatctacatctgg gcgcccttggccgggacttgtggggtccttctcctgtcactggttatcacccttactgcaaacg gggcagaaagaaactcctgtatatattcaaacaaccatttatgagaccagtacaaactactcaa gaggaagatggctgtagctgccgatttccagaagaagaagaaggaggatgtgaactgagag tgaagttcagcaggagcgcagacgcccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctata acgagctcaatctaggacgaagagaggagtacgatgttttggacaagagacgtggccgggga ccctgagatgggggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaact gcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagcgccgga ggggcaaggggcacgatggccttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacctacga cgcccttcacatgcaggccctgccccctcgcggaagcggagctactaacttcagcctgctga agcaggctggagacgtggaggagaaccctggacctatggccctccctgtcaccgccctgct gcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggcccgaagtgcagctgcagcagtcagggc ctggcctggtcaagccgtcgcagaccctctccctgacatgcgccattagcggggactccatg ctgagcaactcggacacctggaactggattcggcagtccccttcccggggactcgagtggct cggacgcacctaccatcggagcacttggtacgacgactacgcctcctccgtgagaggtcgc gtgtcgatcaacgtggatacctcgaagaaccagtatagcttgcaactgaacgccgtgaccct gaggataccggagtgtactattgtgcgagagtcaggctgcaagacggaaactcctggtccga cgcatttgatgtctggggacagggtactatggtcacggtgtcatctggaggcggaggatcgca aagcgccctgactcagccggcttcggctagcggttcaccggggcagtccgtgactatctcct gcaccgggacttcctccgacgtgggaggctacaattacgtgtcctggtaccagcaacacccc ggcaaagccccaaagctgatgatctacgacgtcagcaacagacccagcggagtgtccaacc ggttcagcggctccaagtccggcaacaccgcctccctgaccatcagcgggcttcaggccga agatgaggcggattactactgctcctcgtacacctcaagctcaactctgtacgtgttcggcacc ggtactcagctcaccgtgctgaccactaccccagcaccgaggccacccaccccggctccta ccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctggtggggcc gtgcataccccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttg cggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgt acatctttaagcaacccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatg ccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgc agatgctccagcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcgga gagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaa gccgcgcagaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggc agaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacg gactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggcc ctgccgcctcgg

【０５０２】

【表１０６】

完全長 CD19-CD22 デュアルCAR アミノ酸	828	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPAR FSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGT KLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSS LKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYG GSYAMDYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSL VITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEE EEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMALPVTALLLPLALLL HAARPEVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDT WNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSIN VDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDA FDVWGQGTMVTVSSGGGGSQSALTQPASASGSPGQSVTIS CTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGV SNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVF GTGTQLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CD19 CAR (P2A部位を含む)	829	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPAR FSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGT KLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSS LKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYG GSYAMDYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSL VITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEE EEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPRGSGATNFSLLKQAGDVEENPG
CD22 CAR	830	PMALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLQQSGPGLVKPSQTLS LTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTW YDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYC ARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSSGGGGSQSALT QPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKA PKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEA DYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVLTTTPAPRPPTPAPTIAS QPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCG

【０５０３】

【表１０７】

		VLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR
CG#c230		
完全長 CD19-CD22 デュアルCAR 核酸	831	atggcacttccgtcaccgccctgctgctcccactcgccctccttctgcacgccgcccgcccc gaagtgcagctgcagcagtcaggaccgggcctggtcaaaccttcgcagactctgtccctgac ttgcgctataagcggggactccatgctgagcaattcggacacttggaactggattcgccaaag ccccagccggggtctggaatggctgggaaggacctaccatcgctctacttggtacgacgact acgccagctccgtgcgaggacgcgtgtccatcaacgtggacacctccaagaaccagtactc gcttcaactcaacgcagtgacccctgaagataccggagtctactattgcgcccgcgtgcggct ccaggacgggaactcctggtcggacgctttcgatgtctggggacagggcactatggtcaccg tcagctccggcggcggcggtagccaatcggcgctgacacagccggcttccgcctcgggatc gcctggacagtcggtgaccatctcgtgcactggaacctcctccgacgtgggcggctacaatta tgtgtcatggtaccagcagcacccgggaaaggcccctaagctgatgatctacgacgtgtcca atagacctagcggggtgtcaaacagattctccggatccaaatccggaaacactgcctccctga ccatttccggactgcaggccgaggacgaagccgattactactgctcctcttacacctcctcatc cacctctacgtgtttgggactgggacccagctgaccgtcctcactaccacccccggccccgc ggcccccctacaccggcaccgactattgccagccagcctctctcgctgcggccggaggcctg ccgcccagccgccggcggagccgtgcacacccgcggtctggacttcgcgtgcgatatctac atctgggctccgctggccgggacttgtggcgtgctgctgctgtctctggtcatcacactgtact gcaagcgcggaagaaagaagctgctctacatcttcaagcaacccttcatgcggcctgtgcag accacccaggaagaggatggctgctcctgccggttcccggaggaagaagagggcggatgc gaactgcgcgtgaagttcagccgaagcgccgacgccccggcctaccagcagggccagaa ccaactgtacaacgaactcaacctgggtcggagagaagagtacgacgtgctggacaaaaga cgcggcagggaccccgagatgggcggaaagcctcgccgcaagaacccgcaggagggcc tctacaacgagctgcagaaggacaagatggccgaagcctactcagagatcggcatgaaggg ggagcggaggcgcgggaagggccacgacggtttgtaccaaggactttccactgcgaccaa ggacacctacgatgccctccatatgcaagccctgccgccccggggttccggagctaccaact tctcgctgttgaagcaggccggagatgtcgaggaaaacccgggacctatggccctgccagt gaccgcgctcctgctgccccttggctctgctgcttcacgcggcccggcctgagattgtgatgac tcagagcccggcgaccctgtccctgtccccgggggagagagcaaccctgtcgtgccgggc ctcccaagacatctcaaagtacctcaattggtatcagcagaagccaggacaggctccacggtt gctgatctaccacacttcgagactgcactcaggaatccccgcgcggttttccggttccggctcc gggaccgactacaccctgaccatcagctcgctccagcctgaggatttcgcagtgtacttctgtc agcaaggaaacaccttccatacaccttcggacagggtaccaagctggaaatcaagggagg aggaggatctgggggcggtggttccggaggcggtggaagccaagtgcagctccaggaaa gcggacccgggctggtcaagccgagcgaaaccctctcactgacttgtactgtgtccggagtg tccctgcctgactatggagtgtcctggatccgacagccccccggaaagggtctggagtggatt ggggtcatctggggctccgaaactacctactaccagagcagcctcaagagccgggtcaccat ttcaaaggataactccaagaatcaagtgtccctgaagctgtcctcagtgacagccgcagacac cgccgtgtactactgcgccaagcactactactacggaggctcctacgcaatggactactggg gacaaggcactttggtcactgtgtcaagcaccaccaccctgcgcctcggcctcctaccccg gctcccactatcgcgagccagccgctgagcctgcggcctgaggcttgccgaccggccgctg gcggcgccgtgcatactcggggcctcgactttgcctgtgacatctacatctgggcccccctgg

【０５０４】

【表１０８】

		ccggaacgtgcggagtgctgctgctgtcgctggtcattaccctgtattgcaaacgcggaagga agaagctgttgtacattttcaagcagcccttcatgcgcccggtgcaaactactcaggaggaag atggctgttcctgtcggttccccgaagaggaagaaggcggctgcgagttgagggtcaagttct cccggtccgccgatgctcccgcctaccaacaggggcagaaccagctttataacgaactgaac ctgggcaggagggaggaatatgatgtgttggataagcgccggggccgggacccagaaatg gggggaaagcccagaagaaagaaccctcaagagggactttacaacgaattgcagaaagac aaaatggccgaggcctactccgagattgggatgaagggcgaaagacggagaggaaagggg gcacgacgggctctaccagggactcagcaccgccaccaaagatacctacgacgccctgcat atgcaggcgctgccgccgcgc
完全長 CD19-CD22 デュアルCAR アミノ酸	824	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLQQSGPGLVKPSQTLSL TCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWY DDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCA RVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSSGGGGSQSALTQP ASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADY YCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPL SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL LSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF PEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMALPVTALLLPLAL LLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLN WYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTIS SLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVS WIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKN QVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGT LVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVH TRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRS ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CD22 CAR (P2Aサイトを 含む)	825	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLQQSGPGLVKPSQTLSL TCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWY DDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCA RVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSSGGGGSQSALTQP ASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADY YCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPL SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL LSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF PEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA

【０５０５】

【表１０９】

		EAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPRGSGATNFSLLKQAGDVEENPG
CD19 CAR	826	PMALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERA TLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPA RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQG TKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSL TCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQS SLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYY GGSYAMDYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSL RPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLS LVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR

【０５０６】

本開示の二重ＣＡＲのＣＤ２２及びＣＤ１９ＣＤＲ（例えば、（ｉ）ＣＤ２２に結合する第１のＣＡＲと（ｉｉ）ＣＤ１９に結合する第２のＣＡＲを含む二重ＣＡＲ分子）を表３１に提供する。

【０５０７】

【表１１０】

表 31: CD22 及び CD19 CDR 配列

識別子	配列番号	配列
CD22 CDR		
HCDR1 (Kabat)	745	SNSDTWN
HCDR2 (Kabat)	746	RTYHRSTWYDDYASSVRG
HCDR3 (Kabat)	748	VRLQDGNSWSDAFDV
HCDR1 (Chothia)	832	GDSMLSNSD
HCDR2 (Chothia)	833	YHRSTWY
HCDR3 (Chothia)	748	VRLQDGNSWSDAFDV
HCDR1 (IMGT)	834	GDSMLSNSDT
HCDR2 (IMGT)	835	TYHRSTWYD
HCDR3 (IMGT)	836	ARVRLQDGNSWSDAFDV
LCDR1 (Kabat)	95	TGTSSDVGGYNYVS

【０５０８】

【表１１１】

LCDR2 (Kabat)	96	DVSNRPS
LCDR3 (Kabat)	97	SSYTSSSTLYV
LCDR1 (Chothia)	98	TSSDVGGYNY
LCDR2 (Chothia)	99	I.E
LCDR3 (Chothia)	100	YTSSSTLY
LCDR1 (IMGT)	101	SSDVGGYNY
LCDR2 (IMGT)	99	I.E
LCDR3 (IMGT)	97	SSYTSSSTLYV
CD19 CDR		
HCDR1 (Kabat)	837	GVSLPDYGVS
HCDR2 (Kabat)	838	VIWGSETTYY SSSLKS
	687	VIWGSETTYYQSSLKS
	839	VIWGSETTYYNSSLKS
HCDR3 (Kabat)	762	HYYYGGSYAMDY
LCDR1	763	RASQDISKYLN
LCDR2	764	HTSRLHS
LCDR3	300	QQGNTLPYT

【０５０９】

表３２は、本明細書に開示される二重ＣＡＲ又はタンデムＣＡＲ、例えば、（ｉ）ＣＤ２２に結合する第１のＣＡＲと（ｉｉ）ＣＤ１９に結合する第２のＣＡＲを含む二重ＣＡＲ又はタンデムＣＡＲのＣＤ１９及びＣＤ２２結合ドメインのヌクレオチド及びアミノ酸配列を提供する。

【０５１０】

【表１１２】

表32: CD19及びCD22結合ドメイン

識別子	配列番号	配列
c201, c203及びタンデムCAR c171, c182, c188におけるscFv CAR19	840	gaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcacccggtgagcgcgcaaccctgt cttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattggtatcaacagaagcccggacaggc tcctcgccttctgatctaccacaccagccggctccattctggaatccctgccaggttcagcggta gcggatctgggaccgactacaccctcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtcta tttctgtcagcaagggaacaccctgccctacacctttggacagggcaccaagctcgagattaaa ggtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagccaggtccaactccaa gaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtgagcggag tgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccaccggggaagggtctggaatggat

【０５１１】
【表１１３】

		tggagtgatttggggctctgagactacttactaccaatcatccctcaagtcacgcgtcaccatctc aaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgc cgtgtactattgcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactggggacagg gtactctggtcaccgtgtccagc
	758	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPG QAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFA VYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQV QLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKG LEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVT AADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSS
c224における scFv CAR19	841	gagattgtcatgactcagtccccggccacactctccctgtcacccggagaaagagcaaccctg agctgcagggcgtcccaggacatctcgaagtacctgaactggtaccagcagaagcctggaca agcaccccgcctcctgatctaccacacctcgcggctgcattcgggaatccccgccagattctca gggagcggatcaggaaccgactacaccctgactatctcgagcctgcaaccagaggatttcgc cgtgtacttctgccagcaaggaaacaccctgccctacacctttggacagggaaccaagctcga gattaaggggggtggtggatcgggagggggtggatcaggaggaggcggctcacaagtcca gctgcaagaatccggtccgggacttgtgaagccgtccgaaaccctgtcactgacttgcactgtg tccggggtgtcattgcccgactacggcgtgagctggattcggcagccccctggaaagggattg gaatggatcggcgtgatctggggttcggaaactacctactatcagtcctcactgaagtcccgcg tgaccatcagcaaggataattccaaaaaccaagtgtctctgaagctctccagcgtcactgccgc cgatactgccgtgtactactgcgccaagcactactattacggcggttcgtacgccatggactact ggggccaagggacactcgtgaccgtgtcatcc
	758	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPG QAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFA VYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQV QLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKG LEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVT AADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSS
c227における scFv CAR19	842	caagtccagctgcaagaatccggtccgggacttgtgaagccgtccgaaaccctgtcactgactt gcactgtgtccggggtgtcattgcccgactacggcgtgagctggattcggcagccccctggaaa agggattggaatggatcggcgtgatctggggttcggaaactacctactatcagtcctcactgaa gtcccgcgtgaccatcagcaaggataattccaaaaaccaagtgtctctgaagctctccagcgtc actgccgccgatactgccgtgtactactgcgccaagcactactattacggcggttcgtacgccat ggactactggggacaaggcactcttgtgactgtgtcaagcggcggtggagggagcggtggg ggcggttcaggaggaggcggatcagagatcgtgatgacccaatccccagccaccctgtccct cagccctggagaaagagccaccctgagctgccgggcctcccaggatatcagcaagtacttga actggtaccaacaaaagccggggcaggcgccccggctcctgatctaccacacctcgcgcctc cactcaggtatccccgccagattctcagggagcggctccggtactgactacaccctgactatttc ctcactgcagccagaggactttgccgtgtacttctgccagcagggaaacactctgccgtacacc ttcgggcagggaacgaagcttgaaattaag
	843	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPG KGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSS VTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDI

【０５１２】

【表１１４】

		SKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTD YTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIK
c230における scFv CAR19	844	gagattgtgatgactcagagcccggcgaccctgtccctgtccccggggagagagcaaccct gtcgtgccgggcctcccaagacatctcaaagtacctcaattggtatcagcagaagccaggaca ggctccacggttgctgatctaccacacttcgagactgcactcaggaatccccgcgcggttttcc ggttccggctccgggaccgactacaccctgaccatcagctcgctccagcctgaggatttcgca gtgtacttctgtcagcaaggaaacaccccttccatacaccttcggacagggtaccaagctggaaa tcaagggaggaggaggatctgggggcggtggttccggaggcggtggaagccaagtgcagc tccaggaaagcggacccgggctggtcaagccgagcgaaaccctctcactgacttgtactgtgt ccggagtgtccctgcctgactatggagtgtcctggatccgacagccccccggaaagggtctgg agtggattggggtcatctggggctccgaaactacctactaccagagcagcctcaagagccgg gtcaccatttcaaaggataactccaagaatcaagtgtccctgaagctgtcctcagtgacagccg cagacaccgccgtgtactactgcgccaagcactactactacggaggctcctacgcaatggact actggggacaaggcactttggtcactgtgtcaagc
	758	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPG QAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFA VYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQV QLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKG LEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVT AADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSS
c201及び c203における ScFVCAR22	845	gaagtgcagctgcagcagtcagggcctggcctggtcaagccgtcgcagaccctctccctgac atgcgccattagcggggactccatgctgagcaactcggacacctggaactggattcggcagtc ccctttcccggggactcgagtggctcggacgcacctaccatcggagcacttggtacgacgacta cgcctcctccgtgagaggtcgcgtgtcgatcaacgtggatacctcgaagaaccagtatagcttg caactgaacgccgtgacccctgaggataccggagtgtactattgtgcgagagtcaggctgcaa gacggaaactcctggtccgacgcatttgatgtctggggacagggtactatggtcacggtgtcat ctggaggcggaggatcgcaaagcgccctgactcagccggcttcggctagcggttcaccggg gcagtccgtgactatctcctgcaccgggacttcctccgacgtgggaggctacaattacgtgtcct ggtaccagcaacaccccggcaaagccccaaagctgatgatctacgacgtcagcaacagacc cagcggagtgtccaaccggttcagcggctccaagtccggcaacaccgcctccctgaccatca gcgggcttcaggccgaagatgaggcggattactactgctcctcgtacacctcaagctcaactct gtacgtgttcggcaccggtactcagctcaccgtgctg
	846	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQ SPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQ YSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQG TMVTVSSGGGGSQSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVG GYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVL
230における ScFVCAR22	847	gaagtgcagctgcagcagtcaggaccgggcctggtcaaaccttcgcagactctgtccctgact tgcgctataagcggggactccatgctgagcaattcggacacttggaactggattcgccaaagc cccagccggggtctggaatggctgggaaggacctaccatcgctctacttggtacgacgactac gccagctccgtgcgaggacgcgtgtccatcaacgtggacacctccaagaaccagtactcgctt caactcaacgcagtgacccctgaagataccggagtctactattgcgcccgcgtgcggctccag gacgggaactcctggtcggacgctttcgatgtctggggacagggcactatggtcaccgtcagc tccggcggcggcggtagccaatcggcgctgacacagccggcttccgcctcgggatcgcctg gacagtcggtgaccatctcgtgcactggaacctcctccgacgtgggcggctacaattatgtgtc

【０５１３】

【表１１５】

		atggtaccagcagcacccgggaaaggcccctaagctgatgatctacgacgtgtccaatagacc tagcggggtgtcaaacagattctccggatccaaatccggaaacactgcctccctgaccatttcc ggactgcaggccgaggacgaagccgattactactgctcctcttacacctcctcatccaccctcta cgtgtttgggactgggacccagctgaccgtcctc
	846	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQ SPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQ YSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQG TMVTVSSGGGGSQSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVG GYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVL
171, c182 における ScFVCAR22	848	gaagtgcagcttcaacaatcaggaccaggactcgtcaaaccatcacagaccctctccctcacat gtgccatctccggggactccatgttgagcaattccgacacttggaattggattagacaaagccc gtcccggggtctggaatggttgggacgcacctaccaccggtctacttggtacgacgactacgc gtcatccgtgcggggaagagtgtccatcaacgtggacacctccaagaaccagtacagcctgc agcttaatgccgtgactcctgaggatacgggcgtctactactgcgcccgcgtccgcctgcaag acgggaacagctggagcgatgcattcgatgtctggggccagggaactatggtcaccgtgtcgt ctgggggcggtggatcgggtggcgggggttcgggggggcggcggctctcagtccgctcttac ccaaccggcctcagcctcggggagccccggccagagcgtgaccatttcctgcaccggcactt catccgacgtgggcggctacaactacgtgtcctggtaccaacagcacccgggaaaggccccc aagctcatgatctacgacgtgtccaacaggccctcgggagtgtccaaccggttctcgggttcga aatcgggaaacacagccagcctgaccatcagcggactgcaggctgaagatgaagccgacta ctactgctcctcctacacctcgtcatccacgctctacgtgttcggcactggaactcagctgactgt gctg
	753	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQ SPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQ YSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQG TMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASASGSPGQSV TISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSG VSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYV FGTGTQLTVL
c188における ScFVCAR22	849	cagtccgctcttacccaaccggcctcagcctcggggagccccggccagagcgtgaccatttcc tgcaccggcacttcatccgacgtgggcggctacaactacgtgtcctggtaccaacagcacccg ggaaaggccccccaagctcatgatctacgacgtgtccaacaggccctcgggagtgtccaaccg gttctcgggttcgaaatcgggaaacacagccagcctgaccatcagcggactgcaggctgaag atgaagccgactactactgctcctcctacacctcgtcatccacgctctacgtgttcggcactgga actcagctgactgtgctgggcggaggaggctccgaagtgcagcttcaacaatcaggaccagg actcgtcaaaccatcacagaccctctccctcacatgtgccatctccggggactccatgttgagca attccgacacttggaattggattagacaaagcccgtcccggggtctggaatggttgggacgca cctaccaccggtctacttggtacgacgactacgcgtcatccgtgcggggaagagtgtccatcaa cgtggacacctccaagaaccagtacagcctgcagcttaatgccgtgactcctgaggatacggg cgtctactactgcgcccgcgtccgcctgcaagacgggaacagctggagcgatgcattcgatgt ctggggccagggaactatggtcaccgtgtcgtct
	850	QSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQH PGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAE DEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVLGGGGSEVQLQQSG PGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEW

【０５１４】

【表１１６】

		LGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAV TPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSS
c224における ScFVCAR22	851	cagtccgctctgactcagccggcctcagcttcggggtcccctggtcaaagcgtcactatttcctg taccggaacctcatcagacgtgggcggctacaattacgtgtcctggtaccaacagcaccccgg aaaggctcctaagcttatgatctacgacgtgtccaaccggccgtcaggagtgtccaacagattct ccggctccaagagcggaaacactgccagcttgaccattagcggcttgcaggccgaggacga agccgactactactgctctagctacacatcctcgtctaccctctacgtgtttggaacggggaccc agctgactgtgctcgggggtggaggatcagaggtgcaactccagcagtccggtcctggcctc gtgaaaccgtcccaaaccctgtccctgacttgcgccatctcgggcgactccatgctgtccaattc cgacacctggaactggattagacaatcgcctagccggggactcgaatggctgggccggacct accaccggtccacgtggtatgacgactacgcaagctccgtccggggaagggtgtccattaacg tcgatacctccaagaaccagtacagccttcagctgaacgctgtgacccccgaggatacggcg tctactactgtgcaagagtgcgattgcaggatggaaactcgtggtcggacgcattcgatgtctg gggacagggaactatggtgaccgtgtcctcg
	850	QSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQH PGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAE DEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVLGGGGSEVQLQQSG PGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEW LGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAV TPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSS
c227における ScFVCAR22	852	cagtccgctctgactcagccggcctcagcttcggggtcccctggtcaaagcgtcactatttcctg taccggaacctcatcagacgtgggcggctacaattacgtgtcctggtaccaacagcaccccgg aaaggctcctaagcttatgatctacgacgtgtccaaccggccgtcaggagtgtccaacagattct ccggctccaagagcggaaacactgccagcttgaccattagcggcttgcaggccgaggacga agccgactactactgctctagctacacatcctcgtctaccctctacgtgtttggaacggggaccc agctgactgtgctcgggggtggaggatcagaggtgcaactccagcagtccggtcctggcctc gtgaaaccgtcccaaaccctgtccctgacttgcgccatctcgggcgactccatgctgtccaattc cgacacctggaactggattagacaatcgcctagccggggactcgaatggctgggccggacct accaccggtccacgtggtatgacgactacgcaagctccgtccggggaagggtgtccattaacg tcgatacctccaagaaccagtacagccttcagctgaacgctgtgacccccgaggatacggcg tctactactgtgcaagagtgcgattgcaggatggaaactcgtggtcggacgcattcgatgtctg gggacagggaactatggtcactgtgtcctcc
	850	QSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQH PGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAE DEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVLGGGGSEVQLQQSG PGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEW LGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAV TPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSS

【０５１５】

表３３は、ＣＡＲ分子、例えば本明細書に記載の二重ＣＡＲ分子（例えば、（ｉ）ＣＤ２２に結合する第１のＣＡＲと（ｉｉ）ＣＤ１９に結合する第２のＣＡＲを含む二重ＣＡＲ分子）に使用することができる追加のＣＡＲ成分、例えば、シグナルペプチド、リンカー及びＰ２Ａ部位用のヌクレオチド及びアミノ酸配列を提供する。

【０５１６】

【表１１７】

表33: 追加のCAR成分

識別子	配列番号	配列
c201, c203, 及びタンデムCARC171, c182, c188におけるCAR22のシグナルペプチド	853	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggcc
	2	MALPVTALLLPLALLLHAARP
シグナルペプチドタンデムCAR C224, C227における	854	atggccctgcccgtgactgcgctcctgcttccgttggccctgctcctgcatgccgccagacct
	2	MALPVTALLLPLALLLHAARP
シグナルペプチドc201及びc203におけるCAR19	855	atggccttaccagtgaccgccttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccgccaggccg
	2	MALPVTALLLPLALLLHAARP
シグナルペプチドc230におけるCAR22	856	atggcacttcccgtcaccgccctgctgctcccactcgccctccttctgcacgccgcccgccc
	2	MALPVTALLLPLALLLHAARP
シグナルペプチドc230におけるCAR19	857	atggccctgccagtgaccgcgctcctgctgcccctggctctgctgcttcacgcggcccggcct
	2	MALPVTALLLPLALLLHAARP
c201及びc203, 並びにタンデムCAR c171, c182, c188, c224, c227におけるCD8ヒンジ及び膜貫通CAR22	858	accactaccccagcaccgaggccacccaccccggctcctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcataccccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttactgt
	202	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
c230におけるCD8ヒンジ及び膜貫通CAR22	859	actaccaccccggccccgcggcccctacaccggcaccgactattgccagccagcctctctcgctgcggccggaggcctgccgcccagccgccggcggagccgtgcacacccgcggtctggacttcgcgtgcgatatctacatctgggctccgctggccgggacttgtggcgtgctgctgctgtctctggtcatcacactgtactgc
	202	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
c201及びc203におけるCD8ヒンジ及び膜貫通CAR19	860	accacgacgccagcgccgcgaccaccaacaccggcgcccaccatcgcgtcgcagcccctgtccctgcgcccagaggcgtgccggccagcggcgggggggcgcagtgcacacgaggggggctggacttcgcctgtgatatctacatctgggcgcccttggccgggacttgtggggtccttctcctgtcactggttatcacccttactgc
	202	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
c230におけるCD8ヒンジ及び膜貫通CAR19	861	accaccacccctgcgcctcggcctcctaccccggctcccactatcgcgagccagccgctgagcctgcggcctgaggcttgccgaccggccgctggcggcgccgtgcatactcggggcctcgactttgcctgtgacatctacatctgggccccctggccggaacgtgcggagtgctgctgctgtcgctggtcattaccctgtattgc
	202	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC

【０５１７】

【表１１８】

c201及びc203, 並びにタンデムCAR c171, c182, c188, c224, c227における4-1BB CAR22	862	aagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcctgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaactg
	14	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
c201及びc203における4-1BB CAR19	15	aaacggggcagaaagaaactcctgtatatattcaaacaaccatttatgagaccagtacaaactactcaagaggaagatggctgtagctgccgatttccagaagaagaagaaggaggatgtgaactg
	14	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
c230における4-1BB CAR22	863	aagcgcggaagaaagaagctgctctacatcttcaagcaacccttcatgcggcctgtgcagaccacccaggaagaggatggctgctcctgccggttcccggaggaagaagagggcggatgcgaactg
	14	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
c230における4-1BB CAR19	864	aaacgcggaaggaagaagctgttgtacattttcaagcagcccttcatgcgcccggtgcaaactactcaggaggaagatggctgttcctgtcggttccccgaagaggaagaaggcggctgcgagttg
	14	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
c201及びc203, 並びにタンデムCAR 171, c182, c188, c224, c227におけるCD3ゼータCAR22	865	cgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctcgg
	20	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
c201及びc203におけるCD3ゼータCAR19	21	agagtgaagttcagcaggagcgcagacgccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtacgatgttttggacaagagacggtggccgggaccctgagatgggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgcaggccctgcccccgc
	20	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
c230におけるCD3ゼータCAR22	866	cgcgtgaagttcagccgaagcgccgacgccccggcctaccagcagggccagaaccaactgtacaacgaactcaacctgggtcggagagaagagtacgacgtgctggacaaaagacgcggcagggaccccgagatgggcggaaagcctcgccgcaagaacccgcaggagggcctctacaacgagctgcagaaggacaagatggccgaagcctactcagagatcggcatgaaggggagcggaggcgcgggaagggccacgacggtttgtaccaaggactttccactgcgaccaaggacacctacgatgccctccatatgcaagccctgccgccccgg

【０５１８】

【表１１９】

	20	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
c230における CD3ゼータ CAR19	867	agggtcaagttctcccggtccgccgatgctcccgcctaccaacaggggcagaaccagct ttataacgaactgaacctgggcaggagggaggaatatgatgtgttggataagcgccggg gccgggacccagaaatgggggggaaagcccagaagaaagaaccctcaagagggacttt acaacgaattgcagaaagacaaaatggccgaggcctactccgagattgggatgaaggg cgaaagacggagaggaaaggggcacgacgggctctaccagggactcagcaccgcca ccaaagatacctacgacgccctgcatatgcaggcgctgccgccgcgc
	20	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
c171における scFV間のリンカー	868	ttggcagaagccgccgcgaaa
	869	LAEAAAK
C182, C188に おける scFV間のリンカー	870	ggtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagc
	104	GGGGSGGGGSGGGGS
c224における scFV間のリンカー	871	ggcggaggcgggagcggaggaggaggctctggcggaggaggaagc
	104	GGGGSGGGGSGGGGS
c227における scFV間のリンカー	872	ggcggtggaggctcgggggggggcggctcaggaggaggcggctca
	104	GGGGSGGGGSGGGGS
c201, c203に おけるP2A	873	ggaagcggagctactaacttcagcctgctgaagcaggctggagacgtggaggagaacc ctggacct
	874	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
c230におけるP2A	875	ggttccggagctaccaacttctcgctgttgaagcaggccggagatgtcgaggaaaaccc gggacct
	874	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
Gly4Serリンカー	876	Ggtggaggtggcagc
	877	GGGGS

【０５１９】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載のＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞は、第２のＣＡＲ、例えば同じ標的（例えば、上記した標的）又は異なる標的に対する例えば第２のＣＡＲの異なる抗原結合ドメインを更に含み得る。いくつかの実施形態において、第２のＣＡＲは、第１のＣＡＲの標的と同じ癌細胞型で発現される標的に対する抗原結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、ＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞は、第１の抗原を標的とし、共刺激シグナル伝達ドメインを有するが、一次シグナル伝達ドメインを有しない細胞内シグナル伝達ドメインを含む第１のＣＡＲ及び第２の異なる抗原を標的とし、一次シグナル伝達ドメインを有するが、共刺激シグナル伝達ドメインを有しない細胞内シグナル伝達ドメインを含む第２のＣＡＲを含む。理論に拘束されることを望まないが、第１のＣＡＲへの共刺激シグナル伝達ドメイン、例えば４－１ＢＢ、ＣＤ２８、ＣＤ２７又はＯＸ－４０及び一次シグナル伝達ドメイン、例えばＣＤ３ゼータの第２のＣＡＲへの配置は、両方の標的が発現される細胞に対してＣＡＲ活性を制限する。いくつかの実施形態において、ＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞は、例えば、上記の標的を標的とする抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び共刺激ドメインを含む第１のＣＡＲ及び第１のＣＡＲが標的とする抗原以外の抗原（例えば、第１の標的と同一の癌細胞型に発現される抗原）を標的とし、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び一次シグナル伝達ドメインを含む第２のＣＡＲを含む。別の実施形態において、ＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞は、例えば、上記の標的を標的とする抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び一次シグナル伝

達ドメインを含む第１のＣＡＲ及び第１のＣＡＲが標的とする抗原以外の抗原（例えば、第１の標的と同一の癌細胞型に発現される抗原）を標的とし、抗原に対する抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び共刺激シグナル伝達ドメインを含む第２のＣＡＲを含む。

【０５２０】

いくつかの実施形態において、ＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞は、本明細書に記載のＣＡＲ、例えば上記の標的に対するＣＡＲ及び阻害性ＣＡＲを含む。いくつかの実施形態において、阻害性ＣＡＲは、正常細胞、例えばまた標的を発現する正常細胞で見られるが、癌細胞で見られない抗原と結合する抗原結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、阻害性ＣＡＲは、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び阻害分子の細胞内ドメインを含む。例えば、阻害性ＣＡＲの細胞内ドメインは、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４、ＴＩＭ－３、ＣＥＡＣＡＭ（例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及び／又はＣＥＡＣＡＭ－５）、ＬＡＧ－３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４又はＴＧＦＲベータの細胞内ドメインであり得る。

【０５２１】

いくつかの実施形態において、免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）は、本明細書に記載の腫瘍抗原に結合する抗原結合ドメインを含む第１のＣＡＲ及びＰＤ１細胞外ドメイン又はそのフラグメントを含む第２のＣＡＲを含む。

【０５２２】

いくつかの実施形態において、細胞は、上記の阻害分子を更に含む。

【０５２３】

いくつかの実施形態において、細胞内の第２のＣＡＲは、阻害性ＣＡＲであり、阻害性ＣＡＲは、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び阻害分子の細胞内ドメインを含む。阻害分子は、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４、ＴＩＭ－３、ＬＡＧ－３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＴＧＦＲベータ、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及びＣＥＡＣＡＭ－５の１つ以上から選択され得る。いくつかの実施形態において、第２のＣＡＲ分子は、ＰＤ１の細胞外ドメイン又はそのフラグメントを含む。

【０５２４】

実施形態において、細胞内の第２のＣＡＲ分子は、一次シグナル伝達ドメイン及び／又は細胞内シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを更に含む。

【０５２５】

他の実施形態において、細胞における細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ゼータの機能的ドメインを含む一次シグナル伝達ドメイン及び４－１ＢＢの機能的ドメインを含む共刺激シグナル伝達ドメインを含む。

【０５２６】

いくつかの実施形態において、第１のＣＡＲ分子の抗原結合ドメインは、ｓｃＦｖを含み、第２のＣＡＲ分子の抗原結合ドメインは、ｓｃＦｖを含まない。例えば、第１のＣＡＲ分子の抗原結合ドメインは、ｓｃＦｖを含み、第２のＣＡＲ分子の抗原結合ドメインは、ラクダ科動物のＶＨＨドメインを含む。

【０５２７】

ＣＡＲの立体構造

本明細書で企図される実施形態において、１つ以上のＣＡＲの立体構造は、本明細書で上記に記載されたベクターによって調節され得ることが理解される。従って、これらの立体構造は、ＣＡＲ発現細胞に関連して以下に記載されている。

【０５２８】

スプリットＣＡＲ

いくつかの実施形態において、ＣＡＲ発現細胞は、スプリットＣＡＲを使用する。スプリットＣＡＲアプローチは、国際公開第２０１４／０５５４４２号パンフレット及び国際公開第２０１４／０５５６５７号パンフレットにより詳細に記載されている。簡潔には、スプリットＣＡＲ系は、第１の抗原結合ドメイン及び共刺激ドメイン（例えば、４１ＢＢ

）を有する第１のＣＡＲを発現する細胞を含み、細胞は、第２の抗原結合ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、ＣＤ３ゼータ）を有する第２のＣＡＲも発現する。細胞が第１の抗原に遭遇したとき、共刺激ドメインが活性化され、細胞が増殖する。細胞が第２の抗原に遭遇したとき、細胞内シグナル伝達ドメインが活性化され、細胞死滅活性が開始される。従って、ＣＡＲ発現細胞は、両方の抗原存在下でのみ完全活性化される。

【０５２９】

複数のＣＡＲ

いくつかの態様において、本明細書に記載のＣＡＲ発現細胞は、第２のＣＡＲ、例えば同じ標的又は異なる標的（例えば、本明細書に記載の癌関連抗原以外の標的又は本明細書に記載の異なる癌関連抗原）に対する、例えば第２のＣＡＲの異なる抗原結合ドメインを更に含み得る。いくつかの実施形態において、第２のＣＡＲは、癌関連抗原と同じ癌細胞型を発現する標的に対する抗原結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、ＣＡＲ発現細胞は、第１の抗原を標的とし、共刺激性シグナル伝達ドメインを有するが、一次シグナル伝達ドメインを有しない細胞内シグナル伝達ドメインを含む第１のＣＡＲ及び第２の異なる抗原を標的とし、一次シグナル伝達ドメインを有するが、共刺激性シグナル伝達ドメインを有しない細胞内シグナル伝達ドメインを含む第２のＣＡＲを含む。理論に拘束されることを望まないが、第１のＣＡＲへの共刺激シグナル伝達ドメイン、例えば４－１ＢＢ、ＣＤ２８、ＣＤ２７又はＯＸ－４０及び一次シグナル伝達ドメイン、例えばＣＤ３ゼータの第２のＣＡＲへの配置は、両方の標的が発現される細胞に対してＣＡＲ活性を制限する。いくつかの実施形態において、ＣＡＲ発現細胞は、本明細書に記載の標的抗原に結合する抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び共刺激ドメインを含む第１の癌関連抗原ＣＡＲ及び異なる標的抗原（例えば、第１の標的抗原と同一の癌細胞型に発現される抗原）を標的とし、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び一次シグナル伝達ドメインを含む第２のＣＡＲを含む。別の実施形態において、ＣＡＲ発現細胞は、本明細書に記載の標的抗原に結合する抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び一次シグナル伝達ドメインを含む第１のＣＡＲ及び第１の標的抗原以外の抗原（例えば、第１の標的抗原と同一の癌細胞型に発現される抗原）を標的とし、抗原に対する抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び共刺激シグナル伝達ドメインを含む第２のＣＡＲを含む。

【０５３０】

いくつかの実施形態において、本発明は、第１及び第２のＣＡＲを含み、ここで、前記第１のＣＡＲ及び前記第２のＣＡＲの一方の抗原結合ドメインは、可変軽鎖ドメイン及び可変重鎖ドメインを含まない。いくつかの実施形態において、前記第１のＣＡＲ及び前記第２のＣＡＲの一方の抗原結合ドメインは、ｓｃＦｖであり、他方は、ｓｃＦｖではない。いくつかの実施形態において、前記第１のＣＡＲ及び前記第２のＣＡＲの一方の抗原結合ドメインは、単一ＶＨドメイン、例えばラクダ科、サメ若しくはヤツメウナギ単一ＶＨドメイン又はヒト若しくはマウス配列由来の単一ＶＨドメインを含む。いくつかの実施形態において、前記第１のＣＡＲ及び前記第２のＣＡＲの一方の抗原結合ドメインは、ナノボディを含む。いくつかの実施形態において、前記第１のＣＡＲ及び前記第２のＣＡＲの一方の抗原結合ドメインは、ラクダ科ＶＨＨドメインを含む。

【０５３１】

本明細書に記載の方法が実施されると、例えば適切なインビトロ及び動物モデルにおける抗原刺激後にＴ細胞を増殖させる能力、再刺激の非存在下でのＴ細胞増殖の持続及び抗癌活性についての活性を評価するために様々なアッセイが使用され得る。本発明のＣＡＲの効果を評価するためのアッセイは、当業者に知られており、以下に一般的に記載される。

【０５３２】

初代Ｔ細胞におけるＣＡＲ発現のウェスタンブロット分析を、単量体及び二量体の存在を検出するために使用できる。例えば、Ｍｉｌｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔｈｅｒａｐｙ １７（８）：１４５３－１４６４（２００９）を参照されたい。極めて簡潔には、ＣＡＲを発現するＴ細胞（ＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の１：１混合物）

をインビトロで１０日超増殖させ、続いて溶解及び還元条件下のＳＤＳ－ＰＡＧＥを行う。全長ＴＣＲ－ゼータ細胞質ドメイン及び内因性ＴＣＲ－ゼータ鎖を含むＣＡＲを、ＴＣＲ－ゼータ鎖に対する抗体を使用するウェスタンブロッティングにより検出する。同じＴ細胞サブセットを、共有結合性二量体形成の評価を可能とするために非還元条件下のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析に使用する。

【０５３３】

抗原刺激後のＣＡＲ＋Ｔ細胞のインビトロ増殖をフローサイトメトリーによって測定することができる。

【０５３４】

再刺激非存在下の持続するＣＡＲ＋Ｔ細胞増殖も測定できる。例えば、Ｍｉｌｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔｈｅｒａｐｙ １７（８）：１４５３－１４６４（２００９）を参照されたい。簡潔には、平均Ｔ細胞体積（ｆｌ）を、０日目のαＣＤ３／αＣＤ２８被覆磁気ビーズでの刺激及び１日目の記載するＣＡＲの形質導入後、培養８日目にＣｏｕｌｔｅｒ Ｍｕｌｔｉｓｉｚｅｒ ＩＩＩ粒子カウンター、Ｎｅｘｃｅｌｏｍ Ｃｅｌｌｏｍｅｔｅｒ Ｖｉｓｉｏｎ又はＭｉｌｌｉｐｏｒｅ Ｓｃｅｐｔｅｒを使用して測定する。

【０５３５】

動物モデルも、ＣＡＲ Ｔ活性の測定に使用できる。例えば、免疫不全マウスにおける初代ヒトプレＢ ＡＬＬを処置するための、本明細書に記載のヒト癌関連抗原に特異的なＣＡＲ＋Ｔ細胞を使用する異種移植モデルを使用できる。例えば、Ｍｉｌｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔｈｅｒａｐｙ １７（８）：１４５３－１４６４（２００９）を参照されたい。

【０５３６】

用量依存的ＣＡＲ処置応答を評価できる。例えば、Ｍｉｌｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔｈｅｒａｐｙ １７（８）：１４５３－１４６４（２００９）を参照されたい。例えば、２１日目にＣＡＲ Ｔ細胞、等しい数の偽形質導入Ｔ細胞で処置した又はＴ細胞処置なしのマウスにおいて白血病が確立した後、３５～７０日後に末梢血を得る。各群からのマウスを本明細書に記載の末梢血癌関連抗原ＡＬＬ芽細胞数の決定のために無作為に採血し、３５日目及び４９日目に　殺する。残りの動物を５７日目及び７０日目に評価する。

【０５３７】

細胞増殖及びサイトカイン産生の評価は、例えば、Ｍｉｌｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔｈｅｒａｐｙ １７（８）：１４５３－１４６４（２００９）に以前に記載されている。

【０５３８】

細胞毒性は、標準的５１Ｃｒ放出アッセイにより評価できる。例えば、Ｍｉｌｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔｈｅｒａｐｙ １７（８）：１４５３－１４６４（２００９）を参照されたい。

【０５３９】

造影技術を使用して、腫瘍担持動物モデルにおけるＣＡＲの特異的輸送及び増殖を評価できる。このようなアッセイは、例えば、Ｂａｒｒｅｔｔ ｅｔ ａｌ．，Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ２２：１５７５－１５８６（２０１１）に記載されている。

【０５４０】

本明細書の実施例の項に記載のもの並びに当技術分野で公知のものを含む他のアッセイも本発明に記載のＣＡＲの評価に使用できる。

【０５４１】

抗ＣＤ２８抗体分子

いくつかの実施形態において、抗ＣＤ２８抗体、例えば、本明細書に記載の多重特異性結合分子に用いようとする抗ＣＤ２８抗体は、表１９に記載されるような抗ＣＤ２８（２）からの少なくとも１つの抗原結合領域、例えば、可変領域又はその抗原結合フラグメン

トを含む。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ２８抗体分子は、表１９に記載されるように、抗ＣＤ２８（２）からの１つ又は２つの可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ２８抗体は、重鎖相補性決定領域１（ＨＣＤＲ１）、ＨＣＤＲ２及びＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域（ＶＨ）と、軽鎖相補性決定領域１（ＬＣＤＲ１）、ＬＣＤＲ２及びＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）とを含み、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２及びＬＣＤＲ３は、それぞれ配列番号５３８、５３９、５４０、５３０、５３１及び５３２のアミノ酸配列を含み；ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２及びＬＣＤＲ３は、それぞれ配列番号５４１、５３９、５４０、５３０、５３１及び５３２のアミノ酸配列を含み；ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２及びＬＣＤＲ３は、それぞれ配列番号５４２、５４３、５４０、５３３、５３４及び５３５のアミノ酸配列を含むか；又はＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２及びＬＣＤＲ３は、それぞれ配列番号５４４、５４５、５４６、５３６、５３４及び５３２のアミノ酸配列を含む。

【０５４２】

いくつかの実施形態において、抗ＣＤ２８抗体分子は、配列番号５４７若しくは５４８のアミノ酸配列又は配列番号５４７若しくは５４８に対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列を含むＶＨを含む。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ２８抗体は、配列番号５３７のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列を含むＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ２８抗体は、それぞれ配列番号５４７及び５３７のアミノ酸配列を含むＶＨ及びＶＬ又は上記配列のいずれかに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％又は９９％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ２８抗体は、それぞれ配列番号５４８及び５３７のアミノ酸配列又は上記配列のいずれかに対して少なくとも約８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列を含むＶＨ及びＶＬを含む。

【０５４３】

本明細書に記載の抗ＣＤ２８抗体は、多重特異性結合分子に関連して、例えば、追加の結合ドメイン、例えば、本明細書に記載される抗ＣＤ３結合ドメインと一緒に、使用することができることが理解される。本明細書に記載の抗ＣＤ２８抗体は、他の状況において、例えば、単一特異性抗体として使用され得ることも理解される。

【０５４４】

細胞活性化剤

いくつかの実施形態において、細胞活性化剤は、Ｔ細胞刺激化合物、ＣＡＲ抗原結合ドメイン及び／又は腫瘍抗原に対する抗イディオタイプ抗体である。いくつかの実施形態において、Ｔ細胞刺激化合物は、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、抗ＣＤ２ｍＡｂ、抗ＣＤ３ｍＡｂ、抗ＣＤ２８ｍＡｂ、ネオ抗原ペプチド、共有抗原由来のペプチド、例えばＴＲＰ２、ｇｐ１００、腫瘍細胞溶解物、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＲＯＲ１、メソテリン、ＣＤ３３／ＩＬ３Ｒａ、ｃ－Ｍｅｔ、ＰＳＭＡ、糖脂質Ｆ７７、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ－２、ＮＹ－ＥＳＯ－１　ＴＣＲ及び／又はＭＡＧＥ　Ａ３　ＴＣＲである。いくつかの実施形態において、細胞活性化剤は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体を刺激する薬剤並びに／又は共刺激分子及び／若しくは増殖因子受容体を刺激する薬剤を含み、任意選択により、細胞活性化剤は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体を刺激する薬剤と、共刺激分子及び／又は増殖因子受容体を刺激する薬剤を含む多重特異性結合分子である。

【０５４５】

いくつかの実施形態では、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体を刺激する薬剤は、ＣＤ３を刺激する薬剤である。いくつかの実施形態では、ＣＤ３を刺激する薬剤は、抗ＣＤ３又は抗ＴＣＲ抗原結合ドメインの１つ以上、例えば、限定されないが、抗ＣＤ３若しくは抗ＴＣＲ抗体又は１つ以上のそのＣＤＲ、重鎖及び／若しくはその軽鎖を含む抗体フラグメントを含む。

【０５４６】
抗ＣＤ３抗体配列及びそのような抗体を作製する方法は、当技術分野において公知である。抗ＣＤ３抗体配列の非限定的な例を、関連するＣＤＲ、重鎖及び軽鎖配列と共に、表１９に提供する。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ３結合ドメインは、それぞれ配列番号４３７及び４２７のアミノ酸配列を含むＶＨ及びＶＬを含む。いくつかの実施形態では、抗ＣＤ３結合ドメインは、それぞれ配列番号４５６及び４４５のアミノ酸配列を含むＶＨ及びＶＬを含む。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ３結合ドメインは、それぞれ配列番号４５７及び４４６のアミノ酸配列を含むＶＨ及びＶＬを含む。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ３結合ドメインは、それぞれ配列番号４７５及び４６７のアミノ酸配列を含むＶＨ及びＶＬを含む。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ３結合ドメインは、それぞれ配列番号４７６及び４６８のアミノ酸配列を含むＶＨ及びＶＬを含む。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ３結合ドメインは、それぞれ配列番号４９４及び４８４のアミノ酸配列を含むＶＨ及びＶＬを含む。

【０５４７】
抗ＴＣＲ抗体配列及びそのような抗体を作製する方法は、当技術分野において公知である。抗ＴＣＲ抗体配列の非限定的な例を、関連するＣＤＲ、重鎖及び軽鎖配列と共に、表１９に提供する。

【０５４８】
いくつかの実施形態では、共刺激分子及び／又は増殖因子受容体を刺激する薬剤は、ＣＤ２８、ＩＣＯＳ、ＣＤ２７、ＣＤ２５、４－１ＢＢ、ＩＬ６ＲＡ、ＩＬ６ＲＢ又はＣＤ２を刺激する薬剤である。いくつかの実施形態において、共刺激分子及び／又は増殖因子受容体を刺激する薬剤は、ＣＤ２８、ＩＣＯＳ、ＣＤ２７、ＣＤ２５、４－１ＢＢ、ＩＬ６ＲＢ及び／又はＣＤ２抗原結合ドメインの１つ以上、例えば、限定されないが、抗ＣＤ２８、抗ＩＣＯＳ、抗ＣＤ２７、抗ＣＤ２５、抗４－１ＢＢ、抗ＩＬ６ＲＡ、抗ＩＬ６ＲＢ若しくは抗ＣＤ２抗体又はその１つ以上のＣＤＲ、重鎖及び／若しくは軽鎖を含む抗体フラグメントを含む。

【０５４９】
抗ＣＤ２８抗体配列及びそのような抗体を作製する方法は、当技術分野において公知である。抗ＣＤ２８抗体配列の非限定的な例を、関連するＣＤＲ、ＶＨ、ＶＬ、ＨＣ及びＬＣ配列と共に表１９に提供する。

【０５５０】
抗ＩＣＯＳ抗体配列及びそのような抗体を作製する方法は、当技術分野において公知である。抗ＩＣＯＳ抗体配列の非限定的な例を、関連するＣＤＲ、ＶＨ、ＶＬ及びＬＣ配列と共に、表１９に提供する。

【０５５１】
抗ＣＤ２７抗体配列及びそのような抗体を作製する方法は、当技術分野において公知である。抗ＣＤ２７抗体配列の非限定的な例を、関連するＣＤＲ、ＶＨ及びＶＬ配列と共に表１９に提供する。

【０５５２】
抗ＣＤ２５抗体配列及びそのような抗体を作製する方法は、当技術分野において公知である。抗ＣＤ２５抗体配列の非限定的な例を、関連するＣＤＲ、ＶＨ、ＶＬ、ＨＣ及びＬＣ配列と共に表１９に提供する。

【０５５３】
抗４－１ＢＢ抗体配列及びそのような抗体を作製する方法は、当技術分野において公知である。抗４－ＩＢＢ抗体配列の非限定的な例を、関連するＣＤＲ、ＶＨ及びＶＬ配列と共に表１９に提供する。

【０５５４】
抗ＩＬ６ＲＡ抗体配列及びそのような抗体を作製する方法は、当技術分野において公知である。ＩＬ６ＲＡ抗体配列の非限定的な例を、関連するＣＤＲ、ＶＨ及びＶＬ配列と共に表１９に提供する。

【０５５５】
抗ＩＬ６ＲＢ抗体配列及びそのような抗体を作製する方法は、当技術分野において公知である。ＩＬ６ＲＢ抗体配列の非限定的な例を、関連するＣＤＲ、ＶＨ及びＶＬ配列と共に表１９に提供する。
【０５５６】
抗ＣＤ２抗体配列及びそのような抗体を作製する方法は、当技術分野において公知である。抗ＣＤ２抗体配列の非限定的な例を、関連するＣＤＲ、ＶＨ、ＶＬ、ＨＣ及びＬＣ配列と共に、表１９に提供する。
【０５５７】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載の抗体分子は、表１９に開示されるＣＤＲ、ＶＨ、ＶＬ、ＨＣ及び／若しくはＬＣ又はそれらに対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％の同一性を有する配列を含む。
【０５５８】
【表１２０】

表 19 – 標的抗原別の例示的な抗体、CDR、重鎖可変領域(VH)、軽鎖可変領域(VL)、重鎖(HC)、及び軽鎖(LC)配列

配列番号	記述	アミノ酸配列
抗 CD3 (1)		

【０５５９】

【表１２１】

配列番号 420 (組合せ)	LCDR1	SASSSVSYMN
配列番号 421 (組合せ)	LCDR2	DTSKLAS
配列番号 422 (組合せ)	LCDR3	QQWSSNPFT
配列番号 420(Kabat)	LCDR1	SASSSVSYMN
配列番号 421(Kabat)	LCDR2	DTSKLAS
配列番号 422(Kabat)	LCDR3	QQWSSNPFT
配列番号 423(Chothia)	LCDR1	SSSVSY
配列番 424(Chothia)	LCDR2	DTS
配列番 425(Chothia)	LCDR3	WSSNPF
配列番号 426(IMGT)	LCDR1	SSVSY
配列番号 424(IMGT)	LCDR2	DTS
配列番号 422(IMGT)	LCDR3	QQWSSNPFT
配列番号 427	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYM NWYQQTPGKAPKRWIYDTSKLASGVPSRFSG SGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWSSNPFT FGQGTKLQIT
配列番号 428 (組合せ)	HCDR1	GYTFTRYTMH
配列番号 429 (組合せ)	HCDR2	YINPSRGYTNYNQKVKD
配列番号 430 (組合せ)	HCDR3	YYDDHYSLDY
配列番号 431(Kabat)	HCDR1	RYTMH
配列番号 429(Kabat)	HCDR2	YINPSRGYTNYNQKVKD
配列番号 430(Kabat)	HCDR3	YYDDHYSLDY
配列番号 432(Chothia)	HCDR1	GYTFTRY
配列番号 433(Chothia)	HCDR2	NPSRGY
配列番号 430(Chothia)	HCDR3	YYDDHYSLDY

【０５６０】

【表１２２】

配列番号 434(IMGT)	HCDR1	GYTFTRYT
配列番号 435(IMGT)	HCDR2	INPSRGYT
配列番号 436(IMGT)	HCDR3	ARYYDDHYSLDY
配列番号 437	VH	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTR YTMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYN QKVKDRFTISRDNSKNTAFLQMDSLRPEDTG VYFCARYYDDHYSLDYWGQGTPVTVSS
抗 CD3 (2)		
配列番号 438 (組合せ)	LCDR1	GSSTGAVTSGNYPN
配列番号 439 (組合せ)	LCDR2	GTKFLAP
配列番号 440 (組合せ)	LCDR3	VLWYSNRWV
配列番号 438(Kabat)	LCDR1	GSSTGAVTSGNYPN
配列番号 439(Kabat)	LCDR2	GTKFLAP
配列番号 440(Kabat)	LCDR3	VLWYSNRWV
配列番号 441(Chothia)	LCDR1	STGAVTSGNY
配列番号 442(Chothia)	LCDR2	GTK
配列番号 443(Chothia)	LCDR3	WYSNRW
配列番号 444(IMGT)	LCDR1	TGAVTSGNY
配列番号 442(IMGT)	LCDR2	GTK
配列番号 440(IMGT)	LCDR3	VLWYSNRWV
配列番号 445	VL	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSG NYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVL
配列番号 446	VL	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSG NYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPAR FSSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGCGTKLTVL
配列番号 447 (組合せ)	HCDR1	GFTFNKYAMN

【０５６１】

【表１２３】

配列番号 448 (組合せ)	HCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKD
配列番号 449 (組合せ)	HCDR3	HGNFGNSYISYWAY
配列番号 450(Kabat)	HCDR1	KYAMN
配列番号 448(Kabat)	HCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKD
配列番号 449(Kabat)	HCDR3	HGNFGNSYISYWAY
配列番号 451(Chothia)	HCDR1	GFTFNKY
配列番号 452(Chothia)	HCDR2	RSKYNNYA
配列番号 449(Chothia)	HCDR3	HGNFGNSYISYWAY
配列番号 453(IMGT)	HCDR1	GFTFNKYA
配列番号 454(IMGT)	HCDR2	IRSKYNNYAT
配列番号 455(IMGT)	HCDR3	VRHGNFGNSYISYWAY
配列番号 456	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTE DTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLV TVSS
配列番号 457	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTE DTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLV TVSS
抗 CD3 (3)		
配列番号 458 (組合せ)	LCDR1	RSSTGAVTTSNYAN
配列番号 459 (組合せ)	LCDR2	GTNKRAP
配列番号 460 (組合せ)	LCDR3	ALWYSNLWV
配列番号 458(Kabat)	LCDR1	RSSTGAVTTSNYAN
配列番号 459(Kabat)	LCDR2	GTNKRAP
配列番号 460(Kabat)	LCDR3	ALWYSNLWV

【０５６２】

【表１２４】

配列番号 461(Chothia)	LCDR1	STGAVTTSNY
配列番号 462(Chothia)	LCDR2	GTN
配列番号 463(Chothia)	LCDR3	WYSNLW
配列番号 464(IMGT)	LCDR1	TGAVTTSNY
配列番号 465(IMGT)	LCDR2	GGT
配列番号 466(IMGT)	LCDR3	ALWYSNL
配列番号 467	VL	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTS NYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPWTPA RFSGSLLGDKAALTLSGAQPEDEAEYFCALW YSNLWVFGGGTKLTVL
配列番号 468	VL	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTS NYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPWTPA RFSGSLLGDKAALTLSGAQPEDEAEYFCALW YSNLWVFGCGTKLTVL
配列番号 469 (組合せ)	HCDR1	GFTFNTYAMN
配列番号 448 (組合せ)	HCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKD
配列番号 470 (組合せ)	HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY
配列番号 471(Kabat)	HCDR1	TYAMN
配列番号 448(Kabat)	HCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKD
配列番号 470(Kabat)	HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY
配列番号 472(Chothia)	HCDR1	GFTFNTY
配列番号 452(Chothia)	HCDR2	RSKYNNYA
配列番号 470(Chothia)	HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY
配列番号 473(IMGT)	HCDR1	GFTFNTYA
配列番号 454(IMGT)	HCDR2	IRSKYNNYAT
配列番号 474(IMGT)	HCDR3	VRHGNFGNSYVSWFAY
配列番号 475	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNT YAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTE DTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTL VTVSS

【０５６３】

【表１２５】

配列番号 476	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNT YAMNWVRQASGKCLEWVGRIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKSTLYLQMNSLKTE DTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTL VTVSS
抗 CD3 (4)		
配列番号 477 (組合せ)	LCDR1	RSSQSLVRSEGTTYFN
配列番号 478 (組合せ)	LCDR2	RVSNRFS
配列番号 479 (組合せ)	LCDR3	LQSSHFPWT
配列番号 477(Kabat)	LCDR1	RSSQSLVRSEGTTYFN
配列番号 478(Kabat)	LCDR2	RVSNRFS
配列番号 479(Kabat)	LCDR3	LQSSHFPWT
配列番号 480(Chothia)	LCDR1	SQSLVRSEGTTY
配列番号 481(Chothia)	LCDR2	RVS
配列番号 482(Chothia)	LCDR3	SSHFPW
配列番号 483(IMGT)	LCDR1	QSLVRSEGTTY
配列番号 481(IMGT)	LCDR2	RVS
配列番号 479(IMGT)	LCDR3	LQSSHFPWT
配列番号 484	VL	DILVTQTPVSLPVSLGGHVSISCRSSQSLVRSE GTTYFNWYLQKPGQSPQLLIYRVSNRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEPEDLGVYYCLQS SHFPWTFGGGTKLELK
配列番号 485 (組合せ)	HCDR1	GFTFSKQGMH
配列番号 486 (組合せ)	HCDR2	MIYYDSSKMYYADTVKG
配列番号 487 (組合せ)	HCDR3	FWWDLDFDH
配列番号 488(Kabat)	HCDR1	KQGMH

【０５６４】

【表１２６】

配列番号 486(Kabat)	HCDR2	MIYYDSSKMYYADTVKG
配列番号 487(Kabat)	HCDR3	FWWDLDFDH
配列番号 489(Chothia)	HCDR1	GFTFSKQ
配列番号 490(Chothia)	HCDR2	YYDSSK
配列番号 487(Chothia)	HCDR3	FWWDLDFDH
配列番号 491(IMGT)	HCDR1	GFTFSKQG
配列番号 492(IMGT)	HCDR2	IYYDSSKM
配列番号 493(IMGT)	HCDR3	ASFWWDLDFDH
配列番号 494	VH	EVKLVESGGDLVQPGDSLTLSCVASGFTFSKQ GMHWIRQAPKKGLEWIAMIYDSSKMYYAD TVKGRFTISRDNSKNTLYLEMNSLRSEDTAM YYCASFWWDLDFDHWGQGVMVTVSS
抗 TCR		
配列番号 495 (組合せ)	LCDR1	SATSSVSYMH
配列番号 421 (組合せ)	LCDR2	DTSKLAS
配列番号 496 (組合せ)	LCDR3	QQWSSNPLT
配列番号 495(Kabat)	LCDR1	SATSSVSYMH
配列番号 421(Kabat)	LCDR2	DTSKLAS
配列番号 496(Kabat)	LCDR3	QQWSSNPLT
配列番号 497(Chothia)	LCDR1	TSSVSY
配列番号 424(Chothia)	LCDR2	DTS
配列番号 498(Chothia)	LCDR3	WSSNPL
配列番号 426(IMGT)	LCDR1	SSVSY
配列番号 424(IMGT)	LCDR2	DTS
配列番号 496(IMGT)	LCDR3	QQWSSNPLT

【０５６５】

【表１２７】

配列番号 499	VL	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSATSSVSYM HWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPARFSG SGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPL TFGAGTKLELK
配列番号 500 (組合せ)	HCDR1	GYKFTSYVMH
配列番号 501 (組合せ)	HCDR2	YINPYNDVTKYNEKFKG
配列番号 502 (組合せ)	HCDR3	GSYYDYDGFVY
配列番号 503(Kabat)	HCDR1	SYVMH
配列番号 501(Kabat)	HCDR2	YINPYNDVTKYNEKFKG
配列番号 502(Kabat)	HCDR3	GSYYDYDGFVY
配列番号 504(Chothia)	HCDR1	GYKFTSY
配列番号 505(Chothia)	HCDR2	NPYNDV
配列番号 502(Chothia)	HCDR3	GSYYDYDGFVY
配列番号 506(IMGT)	HCDR1	GYKFTSYV
配列番号 507(IMGT)	HCDR2	INPYNDVT
配列番号 508(IMGT)	HCDR3	ARGSYYDYDGFVY
配列番号 509	VH	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYKFTS YVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDVTKYN EKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAV HYCARGSYYDYDGFVYWGQGTLVTVSA
抗 CD28 (1)		
配列番号 510 (組合せ)	LCDR1	HASQNIYVWLN
配列番号 511 (組合せ)	LCDR2	KASNLHT
配列番号 512 (組合せ)	LCDR3	QQGQTYPYT
配列番号 510(Kabat)	LCDR1	HASQNIYVWLN
配列番号 511(Kabat)	LCDR2	KASNLHT
配列番号 512(Kabat)	LCDR3	QQGQTYPYT

【０５６６】

【表１２８】

配列番号 513(Chothia)	LCDR1	SQNIYVW
配列番号 514(Chothia)	LCDR2	KAS
配列番号 515(Chothia)	LCDR3	GQTYPY
配列番号 516(IMGT)	LCDR1	QNIYVW
配列番号 514(IMGT)	LCDR2	KAS
配列番号 512(IMGT)	LCDR3	QQGQTYPYT
配列番号 517	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIYVW LNWYQQKPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGQTYP YTFGGGTKVEIK
配列番号 518	LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIYVW LNWYQQKPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGQTYP YTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
配列番号 519 (組合せ)	HCDR1	GYTFTSYYIH
配列番号 520 (組合せ)	HCDR2	CIYPGNVNTNYNEKFKD
配列番号 521 (組合せ)	HCDR3	SHYGLDWNFDV
配列番号 522(Kabat)	HCDR1	SYYIH
配列番号 520(Kabat)	HCDR2	CIYPGNVNTNYNEKFKD
配列番号 521(Kabat)	HCDR3	SHYGLDWNFDV
配列 523(Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
配列番 524(Chothia)	HCDR2	YPGNVN
配列番号 521(Chothia)	HCDR3	SHYGLDWNFDV
配列番号 525(IMGT)	HCDR1	GYTFTSY
配列番号 526(IMGT)	HCDR2	IYPGNVNT

【０５６７】

【表１２９】

配列番号 527(IMGT)	HCDR3	TRSHYGLDWNFDV
配列番号 528	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YYIHWVRQAPGQGLEWIGCIYPGNVNTNYNE KFKDRATLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAV YFCTRSHYGLDWNFDVWGQGTTVSS
配列番号 529	HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YYIHWVRQAPGQGLEWIGCIYPGNVNTNYNE KFKDRATLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAV YFCTRSHYGLDWNFDVWGQGTTVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSC
抗 CD28 (2)		
配列番号 530 (組合せ)	LCDR1	SGSSSNIVSNYVN
配列番号 531 (組合せ)	LCDR2	DNNKRPS
配列番号 532 (組合せ)	LCDR3	QSYAIGSYSVV
配列番号 530(Kabat)	LCDR1	SGSSSNIVSNYVN
配列番号 531(Kabat)	LCDR2	DNNKRPS
配列番号 532(Kabat)	LCDR3	QSYAIGSYSVV
配列番号 533(Chothia)	LCDR1	SSSNIVSNY
配列番号 534(Chothia)	LCDR2	DNN
配列番号 535(Chothia)	LCDR3	YAIGSYSV
配列番号 536(IMGT)	LCDR1	SSNIVSNY
配列番号 534(IMGT)	LCDR2	DNN
配列番号 532(IMGT)	LCDR3	QSYAIGSYSVV
配列番号 537	VL	DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSNIVSNY VNWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGVPDRFS GSKSGTSASLAITGLQSEDEADYYCQSYAIGS YSVVFGGGTKLTVL
配列番号 538 (組合せ)	HCDR1	GFTFSTYGMS

【０５６８】

【表１３０】

配列番号 539 (組合せ)	HCDR2	SIFYTGSSTYYADSVKG
配列番号 540 (組合せ)	HCDR3	IGYAGDSKYAI
配列番号 541(Kabat)	HCDR1	TYGMS
配列番号 539(Kabat)	HCDR2	SIFYTGSSTYYADSVKG
配列番号 540(Kabat)	HCDR3	IGYAGDSKYAI
配列番号 542(Chothia)	HCDR1	GFTFSTY
配列番号 543(Chothia)	HCDR2	FYTGSS
配列番号 540(Chothia)	HCDR3	IGYAGDSKYAI
配列番号 544(IMGT)	HCDR1	GFTFSTYG
配列番号 545(IMGT)	HCDR2	IFYTGSST
配列番号 546(IMGT)	HCDR3	ARIGYAGDSKYAI
配列番号 547	VH	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFST YGMSWVRQAPGKGLEWVSSIFYTGSSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARIGYAGDSKYAIWGQGTLVTVSS
配列番号 548	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTY GMSWVRQAPGKGLEWVSSIFYTGSSTYYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARIGYAGDSKYAIWGQGTLVTVSS
抗 ICOS		
配列番号 549 (組合せ)	LCDR1	KSSQSLLSGSFNYLT
配列番号 550 (組合せ)	LCDR2	YASTRHT
配列番号 551 (組合せ)	LCDR3	HHHYNAPPT
配列番号 549(Kabat)	LCDR1	KSSQSLLSGSFNYLT
配列番号 550(Kabat)	LCDR2	YASTRHT
配列番号 551(Kabat)	LCDR3	HHHYNAPPT
配列番号 552(Chothia)	LCDR1	SQSLLSGSFNY

【０５６９】

【表１３１】

配列番号 553(Chothia)	LCDR2	YAS
配列番号 554(Chothia)	LCDR3	HYNAPP
配列番号 555(IMGT)	LCDR1	QSLLSGSFNY
配列番号 553(IMGT)	LCDR2	YAS
配列番号 551(IMGT)	LCDR3	HHHYNAPPT
配列番号 556	VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLSGS FNYLTWYQQKPGQPPKLLIFYASTRHTGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHHHY NAPPTFGPGTKVDIK
配列番号 557	VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLSGS FNYLTWYQQKPGQPPKLLIFYASTRHTGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHHHY NAPPTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
配列番号 558 (組合せ)	HCDR1	GFTFSDYWMD
配列番号 559 (組合せ)	HCDR2	NIDEDGSITEYSPFVKG
配列番号 560 (組合せ)	HCDR3	WGRFGFDS
配列番号 561(Kabat)	HCDR1	DYWMD
配列番号 559(Kabat)	HCDR2	NIDEDGSITEYSPFVKG
配列番号 560(Kabat)	HCDR3	WGRFGFDS
配列番号 562(Chothia)	HCDR1	GFTFSDY
配列番号 563(Chothia)	HCDR2	DEDGSI
配列番号 560(Chothia)	HCDR3	WGRFGFDS
配列番号 564(IMGT)	HCDR1	GFTFSDYW
配列番号 565(IMGT)	HCDR2	IDEDGSIT
配列番号 566(IMGT)	HCDR3	TRWGRFGFDS

【０５７０】

【表１３２】

配列番号 567	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSD YWMDWVRQAPGKGLVWVSNIDEDGSITEYS PFVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCTRWGRFGFDSWGQGTLVTVSS
抗 CD27		
配列番号 568 (組合せ)	LCDR1	RASQGISRWLA
配列番号 55(組合せ)	LCDR2	AASSLQS
配列番号 569 (組合せ)	LCDR3	QQYNTYPRT
配列番号 568(Kabat)	LCDR1	RASQGISRWLA
配列番号 55(Kabat)	LCDR2	AASSLQS
配列番号 569(Kabat)	LCDR3	QQYNTYPRT
配列番号 570(Chothia)	LCDR1	SQGISRW
配列番号 58(Chothia)	LCDR2	AAS
配列番号 571(Chothia)	LCDR3	YNTYPR
配列番号 572(IMGT)	LCDR1	QGISRW
配列番号 58(IMGT)	LCDR2	AAS
配列番号 569(IMGT)	LCDR3	QQYNTYPRT
配列番号 573	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISRW LAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNTYPR TFGQGTKVEIK
配列番号 574 (組合せ)	HCDR1	GFTFSSYDMH
配列番号 575 (組合せ)	HCDR2	VIWYDGSNKYYADSVKG
配列番号 576 (組合せ)	HCDR3	GSGNWGFFDY
配列番号 577(Kabat)	HCDR1	SYDMH
配列番号 575(Kabat)	HCDR2	VIWYDGSNKYYADSVKG
配列番号 576(Kabat)	HCDR3	GSGNWGFFDY

【０５７１】

【表１３３】

配列番号 47(Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
配列番号 578(Chothia)	HCDR2	WYDGSN
配列番号 576(Chothia)	HCDR3	GSGNWGFFDY
配列番号 579(IMGT)	HCDR1	GFTFSSYD
配列番号 580(IMGT)	HCDR2	IWYDGSNK
配列番号 581(IMGT)	HCDR3	ARGSGNWGFFDY
配列番号 582	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSS YDMHWVRQAPGGLEWVAVIWYDGSNKYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGSGNWGFFDYWGQGTLVTVSS
抗 CD25 (1)		
配列番号 583 (組合せ)	LCDR1	SASSSRSYMQ
配列番号 421 (組合せ)	LCDR2	DTSKLAS
配列番号 584 (組合せ)	LCDR3	HQRSSYT
配列番号 583(Kabat)	LCDR1	SASSSRSYMQ
配列番号 421(Kabat)	LCDR2	DTSKLAS
配列番号 584(Kabat)	LCDR3	HQRSSYT
配列番号 585(Chothia)	LCDR1	SSSRSY
配列番号 424(Chothia)	LCDR2	DTS
配列番号 586(Chothia)	LCDR3	RSSY
配列番号 587(IMGT)	LCDR1	SSRSY
配列番号 424(IMGT)	LCDR2	DTS
配列番号 584(IMGT)	LCDR3	HQRSSYT
配列番号 588	VL	QIVSTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSRSYM QWYQQKPGTSPKRWIYDTSKLASGVPARFSG SGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYTF GGGTKLEIK

【０５７２】

【表１３４】

配列番号 589 (組合せ)	HCDR1	GYSFTRYWMH
配列番号 590 (組合せ)	HCDR2	AIYPGNSDTSYNQKFEG
配列番号 591 (組合せ)	HCDR3	DYGYYFDF
配列番号 592(Kabat)	HCDR1	RYWMH
配列番号 590(Kabat)	HCDR2	AIYPGNSDTSYNQKFEG
配列番号 591(Kabat)	HCDR3	DYGYYFDF
配列番号 593(Chothia)	HCDR1	GYSFTRY
配列番号 594(Chothia)	HCDR2	YPGNSD
配列番号 591(Chothia)	HCDR3	DYGYYFDF
配列番号 595(IMGT)	HCDR1	GYSFTRYW
配列番号 596(IMGT)	HCDR2	IYPGNSDT
配列番号 597(IMGT)	HCDR3	SRDYGYYFDF
配列番号 598	VH	EVQLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYSFTR YWMHWIKQRPGQGLEWIGAIYPGNSDTSYN QKFEGKAKLTAVTSASTAYMELSSLTHEDSA VYYCSRDYGYYFDFWGQGTTLTVSS
抗 CD25 (2)		
配列番号 599 (組合せ)	LCDR1	KASQSVDYDGDSYMN
配列番号 600 (組合せ)	LCDR2	AASNLES
配列番号 601 (組合せ)	LCDR3	QQSNEDPYT
配列番号 599(Kabat)	LCDR1	KASQSVDYDGDSYMN
配列番号 600(Kabat)	LCDR2	AASNLES
配列番号 601(Kabat)	LCDR3	QQSNEDPYT
配列番号 602(Chothia)	LCDR1	SQSVDYDGDSY
配列番号 58(Chothia)	LCDR2	AAS

【０５７３】

【表１３５】

配列番号 603(Chothia)	LCDR3	SNEDPY
配列番号 604(IMGT)	LCDR1	QSVDYDGDSY
配列番号 58(IMGT)	LCDR2	AAS
配列番号 601(IMGT)	LCDR3	QQSNEDPYT
配列番号 605	VL	DIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCKASQSVDYDG DSYMNWYQQRPGQSPRLLIYAASNLESGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQSN EDPYTFGGGTKVEIK
配列番号 606	LC	DIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCKASQSVDYDG DSYMNWYQQRPGQSPRLLIYAASNLESGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQSN EDPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
配列番号 607 (組合せ)	HCDR1	GYAFTNY
配列番号 608 (組合せ)	HCDR2	VINPGSGGTNYNEKFKG
配列番号 609 (組合せ)	HCDR3	WRGDGYYAYFDV
配列番号 610(Kabat)	HCDR1	NYLIE
配列番号 608(Kabat)	HCDR2	VINPGSGGTNYNEKFKG
配列番号 609(Kabat)	HCDR3	WRGDGYYAYFDV
配列番号 611(Chothia)	HCDR1	GYAFTNY
配列番号 612(Chothia)	HCDR2	NPGSGG
配列番号 609(Chothia)	HCDR3	WRGDGYYAYFDV
配列番号 613(IMGT)	HCDR1	GYAFTNYL
配列番号 614(IMGT)	HCDR2	INPGSGGT
配列番号 615(IMGT)	HCDR3	ARWRGDGYYAYFDV
配列番号 616	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYAFTN YLIEWVRQMPGKGLEWMGVINPGSGGTNYN EKFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARWRGDGYYAYFDVWGQGTTVTVSS

【０５７４】

【表１３６】

配列番号 617	HC	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYAFTN YLIEWVRQMPGKGLEWMGVINPGSGGTNYN EKFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARWRGDGYYAYFDVWGQGTTVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSC
抗 4-1BB		
配列番号 618 (組合せ)	LCDR1	RASQSVSSYLA
配列番号 619 (組合せ)	LCDR2	DASNRAT
配列番号 620 (組合せ)	LCDR3	QQRSNWPPALT
配列番号 618(Kabat)	LCDR1	RASQSVSSYLA
配列番号 619(Kabat)	LCDR2	DASNRAT
配列番号 620(Kabat)	LCDR3	QQRSNWPPALT
配列番号 621(Chothia)	LCDR1	SQSVSSY
配列番号 622(Chothia)	LCDR2	DAS
配列番号 623(Chothia)	LCDR3	RSNWPPAL
配列番号 624(IMGT)	LCDR1	QSVSSY
配列番号 622(IMGT)	LCDR2	DAS
配列番号 620(IMGT)	LCDR3	QQRSNWPPALT
配列番号 625	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYL AWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSG SSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPP ALTFCGGTKVEIK
配列番号 626 (組合せ)	HCDR1	GGSFSGYYWS
配列番号 627 (組合せ)	HCDR2	EINHGGYVTYNPSLES
配列番号 628 (組合せ)	HCDR3	DYGPGNYDWYFDL

【０５７５】

【表１３７】

配列番号 629(Kabat)	HCDR1	GYYWS
配列番号 627(Kabat)	HCDR2	EINHGGYVTYNPSLES
配列番号 628(Kabat)	HCDR3	DYGPGNYDWYFDL
配列番号 630(Chothia)	HCDR1	GGSFSGY
配列番号 631(Chothia)	HCDR2	NHGGY
配列番号 628(Chothia)	HCDR3	DYGPGNYDWYFDL
配列番号 632(IMGT)	HCDR1	GGSFSGYY
配列番号 633(IMGT)	HCDR2	INHGGYV
配列番号 634(IMGT)	HCDR3	ARDYGPGNYDWYFDL
配列番号 635	VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPS LESRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CARDYGPGNYDWYFDLWGRGTLVTVSS
抗 IL6RA		
配列番号 636 (組合せ)	LCDR1	RASQDISSYLN
配列番号 637 (組合せ)	LCDR2	YTSRLHS
配列番号 300 (組合せ)	LCDR3	QQGNTLPYT
配列番号 636(Kabat)	LCDR1	RASQDISSYLN
配列番号 637(Kabat)	LCDR2	YTSRLHS
配列番号 300(Kabat)	LCDR3	QQGNTLPYT
配列番号 638(Chothia)	LCDR1	SQDISSY
配列番号 639(Chothia)	LCDR2	YTS
配列番号 640(Chothia)	LCDR3	GNTLPY
配列番号 641(IMGT)	LCDR1	QDISSY
配列番号 639(IMGT)	LCDR2	YTS

【０５７６】

【表１３８】

配列番号 300(IMGT)	LCDR3	QQGNTLPYT
配列番号 642	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSYL NWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSG SGSGTDFTISSLQPEDIATYYCQGNTLPYT FGQGTKVEIK
配列番号 643 (組合せ)	HCDR1	GYSITSDHAWS
配列番号 644 (組合せ)	HCDR2	YISYSGITTYNPSLKS
配列番号 645 (組合せ)	HCDR3	SLARTTAMDY
配列番号 646(Kabat)	HCDR1	SDHAWS
配列番号 644(Kabat)	HCDR2	YISYSGITTYNPSLKS
配列番号 645(Kabat)	HCDR3	SLARTTAMDY
配列番号 647(Chothia)	HCDR1	GYSITSDH
配列番号 648(Chothia)	HCDR2	SYSGI
配列番号 645(Chothia)	HCDR3	SLARTTAMDY
配列番号 649(IMGT)	HCDR1	GYSITSDHA
配列番号 650(IMGT)	HCDR2	ISYSGIT
配列番号 651(IMGT)	HCDR3	ARSLARTTAMDY
配列番号 652	VH	QVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTVSGYSITSD HAWSWVRQPPGRGLEWIGYISYSGITTYNPSL KSRVTMLRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYY CARSLARTTAMDYWGQGSLVTVSS
抗 IL6RB		
配列番号 54(組合せ)	LCDR1	RASQSISSYLN
配列番号 55(組合せ)	LCDR2	AASSLQS
配列番号 653 (組合せ)	LCDR3	QQSYSTPPIT
配列番号 54(Kabat)	LCDR1	RASQSISSYLN
配列番号 55(Kabat)	LCDR2	AASSLQS

【０５７７】

【表１３９】

配列番号 653(Kabat)	LCDR3	QQSYSTPPIT
配列番号 57(Chothia)	LCDR1	SQSISSY
配列番号 58(Chothia)	LCDR2	AAS
配列番号 654(Chothia)	LCDR3	SYSTPPI
配列番号 60(IMGT)	LCDR1	QSISSY
配列番号 58(IMGT)	LCDR2	AAS
配列番号 653(IMGT)	LCDR3	QQSYSTPPIT
配列番号 655	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYL NWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPI TFGQGTRLEIK
配列番号 656 (組合せ)	HCDR1	GFTFSDYYMT
配列番号 657 (組合せ)	HCDR2	YISSSGTNKYNADSVKG
配列番号 658 (組合せ)	HCDR3	DPPWGMDV
配列番号 659(Kabat)	HCDR1	DYYMT
配列番号 657(Kabat)	HCDR2	YISSSGTNKYNADSVKG
配列番号 658(Kabat)	HCDR3	DPPWGMDV
配列番号 562(Chothia)	HCDR1	GFTFSDY
配列番号 660(Chothia)	HCDR2	SSSGTN
配列番号 658(Chothia)	HCDR3	DPPWGMDV
配列番号 661(IMGT)	HCDR1	GFTFSDYY
配列番号 662(IMGT)	HCDR2	ISSSGTNK
配列番号 663(IMGT)	HCDR3	VRDPPWGMDV
配列番号 664	VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSD YYMTWIRQTPGKGLDWVSYISSSGTNKYNA DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCVRDPPWGMDVWGQGTTVTVSS

【０５７８】

【表１４０】

抗 CD2 (1)		
配列番号 665 (組合せ)	LCDR1	RSSQSLLHSSGNTYLN
配列番号 666 (組合せ)	LCDR2	LVSKLES
配列番号 667 (組合せ)	LCDR3	MQFTHYPYT
配列番号 665(Kabat)	LCDR1	RSSQSLLHSSGNTYLN
配列番号 666(Kabat)	LCDR2	LVSKLES
配列番号 667(Kabat)	LCDR3	MQFTHYPYT
配列番号 668(Chothia)	LCDR1	SQSLLHSSGNTY
配列番号 669(Chothia)	LCDR2	LVS
配列番号 670(Chothia)	LCDR3	FTHYPY
配列番号 671(IMGT)	LCDR1	QSLLHSSGNTY
配列番号 669(IMGT)	LCDR2	LVS
配列番号 667(IMGT)	LCDR3	MQFTHYPYT
配列番号 672	VL	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLHSS GNTYLNWLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPD RFSGSGSGTDFTLKISGVEAEDVGVYYCMQF THYPYTFGQGTKLEIK
配列番号 673	LC	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLHSS GNTYLNWLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPD RFSGSGSGTDFTLKISGVEAEDVGVYYCMQF THYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
配列番号 674 (組合せ)	HCDR1	GYIFTEYYMY
配列番号 675 (組合せ)	HCDR2	RIDPEDGSIDYVEKFKK

【０５７９】

【表１４１】

配列番号 676 (組合せ)	HCDR3	GKFNYRFAY
配列番号 677(Kabat)	HCDR1	EYYMY
配列番号 675(Kabat)	HCDR2	RIDPEDGSIDYVEKFKK
配列番号 676(Kabat)	HCDR3	GKFNYRFAY
配列番号 678 (Chothia)	HCDR1	GYIFTEY
配列番号 679 (Chothia)	HCDR2	DPEDGS
配列番号 676 (Chothia)	HCDR3	GKFNYRFAY
配列番号 680(IMGT)	HCDR1	GYIFTEYY
配列番号 681(IMGT)	HCDR2	IDPEDGSI
配列番号 682(IMGT)	HCDR3	ARGKFNYRFAY
配列番号 683	VH	QVQLVQSGAEVQRPGASVKVSCKASGYIFTE YYMYWVRQAPGQGLELVGRIDPEDGSIDYVE KFKKKVTLTADTSSSTAYMELSSLTSDDTAV YYCARGKFNYRFAYWGQGTLVTVSS
配列番号 684	HC	QVQLVQSGAEVQRPGASVKVSCKASGYIFTE YYMYWVRQAPGQGLELVGRIDPEDGSIDYVE KFKKKVTLTADTSSSTAYMELSSLTSDDTAV YYCARGKFNYRFAYWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSC

【０５８０】

いくつかの実施形態において、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体を刺激する薬剤並びに共刺激分子及び／又は増殖因子受容体を刺激する薬剤は、多重特異性結合分子に含まれる。従って、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体を刺激する薬剤と、共刺激分子及び／又は増殖因子受容体を刺激する薬剤を含む多重特異性結合分子、例えば、限定されないが、ＣＤ３抗原結合ドメインと、ＣＤ２８、ＩＣＯＳ、ＣＤ２７、ＣＤ２５、４－１ＢＢ、ＩＬ６ＲＡ、ＩＬ６ＲＢ及び／又はＣＤ２抗原結合ドメインの１つ以上とを含む多重特異性結合分子が本明細書で企図される。前述したように、このような結合ドメインの非限定的な例は、上文、例えば表１９及び本明細書に参照として組み込まれる刊行物に提供される。

【０５８１】

いくつかの実施形態において、多重特異性結合分子は、ＣＤ３抗原結合ドメイン及びＣＤ２８又はＣＤ２抗原結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、ＣＤ３抗原結合ドメインは、抗ＣＤ３抗体であり、任意選択により、表１９に提供される抗ＣＤ３（１）、抗ＣＤ３（２）、抗ＣＤ３（３）若しくは抗ＣＤ３（４）又はその１つ以上のＣＤＲ、ＶＨ及び／若しくはＶＬを含む抗体フラグメントである。いくつかの実施形態において、ＣＤ２８抗原結合ドメインは、抗ＣＤ２８抗体、任意選択により表１９に提供される抗ＣＤ２８（１）若しくは抗ＣＤ２８（２）又はその１つ以上のＣＤＲ、ＶＨ重鎖、ＶＬ及び／若しくは軽鎖を含む抗体フラグメントである。いくつかの実施形態において、ＣＤ２抗原結合ドメインは、抗ＣＤ２抗体、任意選択により表１９に提供される抗ＣＤ２（１）又はそれらの１つ以上のＣＤＲ、ＶＨ、重鎖、ＶＬ及び／若しくは軽鎖を含む抗体フラグメントである。

【０５８２】

いくつかの実施形態において、多重特異性結合分子は、１つ以上の重鎖及び／又は軽鎖を含む。これらの多重特異性結合分子に含まれ得る非限定的な例示的な重鎖及び軽鎖配列を、以下の表２０に提供する。それらの非限定的な例示的組み合わせは、構築物内のものとして列挙される重鎖及び／又は軽鎖の分類に基づいて表２０に提案される。この構築物の構成として、重鎖及び／又は軽鎖の立体配置の例を提供するが、それらの更なる組み合わせ及び順列も可能である。これらの構築物のいずれかのフォーマットの非限定的な例を、図３７Ａ～Ｂ、４８Ａ～Ｂ、４９Ａ～Ｂ及び５０Ａ～Ｂに提供する。

【０５８３】

いくつかの実施形態において、多重特異性結合分子は、表２０に開示される１つ以上の重鎖及び／若しくは軽鎖配列又はそれらに対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％若しくは９９％の同一性を有する配列を含む。

【０５８４】

【表１４２】

表20 – 例示的なFc、重鎖(HC)及び軽鎖(LC)配列

配列番号	鎖	アミノ酸配列
701	野生型Fc	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
702	Fc DANAPA	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
879	ヒトIgG1 Fc変異体 L234A/L235A/	apeaaggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhn aktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalaapiektiskakgqpr epqvytlppsrdeltknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdg sfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk

【０５８５】

【表１４３】

	P329A (LALAPA)	
880	ヒトIgG1 Fc変異体 L234A/L235A/ G237A (LALAGA)	apeaagapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhn aktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqpr epqvytlppsrdeltknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdg sfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk
881	ヒトIgG1 Fc変異体 L234A/L235A/ P329G (LALAPG)	apeaaggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhn aktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalgapiektiskakgqpr epqvytlppsrdeltknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdg sfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk
882	Fc LALAPG (L234A/ L235A/P329G)	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRREEMKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
883	ヒトIgG1 Fc変異体 D265A/P329A (DAPA)	apellggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvavshedpevkfnwyvdgvevhna ktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalaapiektiskakgqpre pqvytlppsrdeltknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgs fflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk
884	Fc DAPA (D265A/ P329A)	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
885	ヒトIgG1 Fc変異体 L234A/L235A/ S267K/P329A (LALASKPA)	apeaaggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvkhedpevkfnwyvdgvevh naktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalaapiektiskakgqp repqvytlppsrdeltknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsd gsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk
886	Fc LALASKPA (L234A/ L235A/S267K/ P329A)	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
887	ヒトIgG1 Fc変異体 D265A/P329A /S267K (DAPASK)	apellggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvavkhedpevkfnwyvdgvevhn aktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalaapiektiskakgqpr epqvytlppsrdeltknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdg sfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk
888	ヒトIgG1 Fc変異体	apellgapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvavshedpevkfnwyvdgvevhna ktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalaapiektiskakgqpre

【０５８６】

【表１４４】

	G237A/D265A /P329A (GADAPA)	pqvytlppsrdeltknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgs fflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk
889	ヒトIgG1 Fc変異体 G237A/D265A /P329A/S267K (GADAPASK)	apellgapsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvavkhedpevkfnwyvdgvevhn aktkpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalaapiektiskakgqpr epqvytlppsrdeltknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdg sfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk
890	Fc GADAPASK (G237A/ D265A/ P329A/S267K)	DKTHTCPPCPAPELLGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVAVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRREEMKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
891	ヒトIgG1 Fc変異体 D265A/N297A /P329A (DANAPA)	apellggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvavshedpevkfnwyvdgvevhna ktkpreeqyastyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalaapiektiskakgqpre pqvytlppsrdeltknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgs fflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslslspgk
673	NEG2042 LC	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGNTYLN WLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISGVEAEDVGVYYCMQFTHYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
703	NEG2042 HC	QVQLVQSGAEVQRPGASVKVSCKASGYIFTEYYMYWV RQAPGQGLELVGRIDPEDGSIDYVEKFKKKVTLTADTSS STAYMELSSLTSDDTAVYYCARGKFNYRFAYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSQVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYT MHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTIS RDNSKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDY WGQGTPVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKR WIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATY YCQQWSSNPFTFGQGTKLQIT
518	NEG2043 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIYVWLNWYQQ KPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL

【０５８７】

【表１４５】

		QPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
704	NEG2043 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWVR QAPGQGLEWIGCIYPGNVNTNYNEKFKDRATLTVDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSQVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRY TMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTI SRDNSKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDY WGQGTPVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKR WIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATY YCQQWSSNPFTFGQGTKLQIT
705	NEG2044 LC	DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIVSNYVNWYQQL PGTAPKLLIYDNNKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ SEDEADYYCQSYAIGSYSVVFGGGTKLTVLGQGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
706	NEG2044 HC	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYGMSWVR QAPGKGLEWVSSIFYTGSSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIGYAGDSKYAIWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSQVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYT MHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTIS RDNSKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDY WGQGTPVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKR

【０５８８】

【表１４６】

		WIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATY YCQQWSSNPFTFGQGTKLQIT
673	NEG2050 LC	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGNTYLN WLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISGVEAEDVGVYYCMQFTHYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
707	NEG2050 HC	QVQLVQSGAEVQRPGASVKVSCKASGYIFTEYYMYWV RQAPGQGLELVGRIDPEDGSIDYVEKFKKKVTLTADTSS STAYMELSSLTSDDTAVYYCARGKFNYRFAYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY ISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWV QQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGCGTKLTVL
673	NEG2051 LC	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGNTYLN WLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISGVEAEDVGVYYCMQFTHYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
708	NEG2051 HC	QVQLVQSGAEVQRPGASVKVSCKASGYIFTEYYMYWV RQAPGQGLELVGRIDPEDGSIDYVEKFKKKVTLTADTSS STAYMELSSLTSDDTAVYYCARGKFNYRFAYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYA

【０５８９】

【表１４７】

		MNWVRQASGKCLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY VSWFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQAVVT QEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPG QAPRGLIGGTNKRAPWTPARFSGSLLGDKAALTLSGAQP EDEAEYFCALWYSNLWVFGCGTKLTVL
518	NEG2052 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIYVWLNWYQQ KPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
709	NEG2052 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWVR QAPGQGLEWIGCIYPGNVNTNYNEKFKDRATLTVDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKY AMNWVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGN SYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNW VQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGCGTKLTVL
518	NEG2053 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIYVWLNWYQQ KPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
710	NEG2053 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWVR QAPGQGLEWIGCIYPGNVNTNYNEKFKDRATLTVDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPR

【０５９０】

【表１４８】

		EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYA MNWVRQASGKCLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKSTLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY VSWFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQAVVT QEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPG QAPRGLIGGTNKRAPWTPARFSGSLLGDKAALTLSGAQP EDEAEYFCALWYSNLWVFGCGTKLTVL
673	構築物1 軽鎖	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGNTYLN WLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISGVEAEDVGVYYCMQFTHYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
711	構築物1 重鎖	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDNSK NTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGT PVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTS KLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWS SNPFTFGQGTKLQITGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQ LVQSGAEVQRPGASVKVSCKASGYIFTEYYMYWVRQAP GQGLELVGRIDPEDGSIDYVEKFKKKVTLTADTSSSTAY MELSSLTSDDTAVYYCARGKFNYRFAYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
518	構築物2 軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIYVWLNWYQQ KPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
712	構築物2 重鎖	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDNSK NTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGT PVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTS

【０５９１】

【表１４９】

		KLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWS SNPFTFGQGTKLQITGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQ LVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWVRQAP GQGLEWIGCIYPGNVNTNYNEKFKDRATLTVDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGQGTTVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
673	構築物3 軽鎖	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGNTYLN WLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISGVEAEDVGVYYCMQFTHYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
713	構築物3 重鎖	QVQLVQSGAEVQRPGASVKVSCKASGYIFTEYYMYWV RQAPGQGLELVGRIDPEDGSIDYVEKFKKKVTLTADTSS STAYMELSSLTSDDTAVYYCARGKFNYRFAYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSQVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTM HWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISR DNSKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYW GQGTPVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWI YDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYC QQWSSNPFTFGQGTKLQIT
518	構築物4 軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIYVWLNWYQQ KPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【０５９２】

【表１５０】

714	構築物4 重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWVR QAPGQGLEWIGCIYPGNVNTNYNEKFKDRATLTVDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSQVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRY TMHWVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTI SRDNSKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDY WGQGTPVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKR WIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATY YCQQWSSNPFTFGQGTKLQIT
673	構築物5 軽鎖	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGNTYLN WLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISGVEAEDVGVYYCMQFTHYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
715	構築物5 重鎖	QVQLVQSGAEVQRPGASVKVSCKASGYIFTEYYMYWV RQAPGQGLELVGRIDPEDGSIDYVEKFKKKVTLTADTSS STAYMELSSLTSDDTAVYYCARGKFNYRFAYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCGGGGSGGGG SQVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHW VRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDNS KNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQG TPVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDT SKLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQW SSNPFTFGQGTKLQITGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
518	構築物6 軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIYVWLNWYQQ KPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL

【０５９３】

【表１５１】

		QPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
716	構築物6 重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWVR QAPGQGLEWIGCIYPGNVNTNYNEKFKDRATLTVDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCGGGGSGGG GSQVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMH WVRQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRD NSKNTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWG QGTPVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWI YDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYC QQWSSNPFTFGQGTKLQITGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
673	構築物7 軽鎖	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGNTYLN WLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISGVEAEDVGVYYCMQFTHYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
717	構築物7 重鎖	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDNSK NTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGT PVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTS KLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWS SNPFTFGQGTKLQITGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVQRPGASVKVSCKASGYIFTEYYMYWVRQAPG QGLELVGRIDPEDGSIDYVEKFKKKVTLTADTSSSTAYM ELSSLTSDDTAVYYCARGKFNYRFAYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS

【０５９４】

【表１５２】

		WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
518	構築物8 軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIYVWLNWYQQ KPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
718	構築物8 重鎖	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDNSK NTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGT PVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTS KLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWS SNPFTFGQGTKLQITGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWVRQAPGQ GLEWIGCIYPGNVNTNYNEKFKDRATLTVDTSISTAYME LSRLRSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGQGTTVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
673	構築物9 軽鎖	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGNTYLN WLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISGVEAEDVGVYYCMQFTHYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
719	構築物9 重鎖1	QVQLVQSGAEVQRPGASVKVSCKASGYIFTEYYMYWV RQAPGQGLELVGRIDPEDGSIDYVEKFKKKVTLTADTSS STAYMELSSLTSDDTAVYYCARGKFNYRFAYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK

【０５９５】

【表１５３】

720	構築物9 重鎖2	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDNSK NTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGT PVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTS KLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWS SNPFTFGQGTKLQITGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRE EMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
518	構築物10 軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIYVWLNWYQQ KPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
721	構築物10 重鎖1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWVR QAPGQGLEWIGCIYPGNVNTNYNEKFKDRATLTVDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK
720	構築物10 重鎖2	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDNSK NTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGT PVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTS KLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWS SNPFTFGQGTKLQITGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRE EMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
722	構築物11 重鎖1	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN

【０５９６】

【表１５４】

		STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK
720	構築物11 重鎖2	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDNSK NTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGT PVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTS KLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWS SNPFTFGQGTKLQITGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRE EMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
673	構築物12 軽鎖	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGNTYLN WLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISGVEAEDVGVYYCMQFTHYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
719	構築物12 重鎖1	QVQLVQSGAEVQRPGASVKVSCKASGYIFTEYYMYWV RQAPGQGLELVGRIDPEDGSIDYVEKFKKKVTLTADTSS STAYMELSSLTSDDTAVYYCARGKFNYRFAYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK
723	構築物12 重鎖2	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDNSK NTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGT PVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTS KLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWS SNPFTFGQGTKLQITGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRE EMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT

【０５９７】

【表１５５】

		PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEEDPCACES LVKFQAKVEGLLQALTRKLEAVSKRLAILENTVV
518	構築物13 軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIYVWLNWYQQ KPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
721	構築物13 重鎖1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWVR QAPGQGLEWIGCIYPGNVNTNYNEKFKDRATLTVDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK
723	構築物13 重鎖2	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDNSK NTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGT PVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTS KLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWS SNPFTFGQGTKLQITGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRE EMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEEDPCACES LVKFQAKVEGLLQALTRKLEAVSKRLAILENTVV
722	構築物14 重鎖1	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK
723	構築物14 重鎖2	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDNSK NTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGT PVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTS

【０５９８】

【表１５６】

		KLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWS SNPFTFGQGTKLQITGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRE EMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEEDPCACES LVKFQAKVEGLLQALTRKLEAVSKRLAILENTVV
673	構築物15 軽鎖	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGNTYLN WLLQRPGQSPQPLIYLVSKLESGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISGVEAEDVGVYYCMQFTHYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
719	構築物15 重鎖1	QVQLVQSGAEVQRPGASVKVSCKASGYIFTEYYMYWV RQAPGQGLELVGRIDPEDGSIDYVEKFKKKVTLTADTSS STAYMELSSLTSDDTAVYYCARGKFNYRFAYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK
724	構築物15 重鎖2	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDNSK NTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGT PVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTS KLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWS SNPFTFGQGTKLQITGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRE EMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGGGGGSDLGPQMLRELQETNAALQD VRELLRQQVREITFLKNTVMECDACGMQQ
518	構築物16 軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIYVWLNWYQQ KPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ

【０５９９】

【表１５７】

		SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
721	構築物16 重鎖1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWVR QAPGQGLEWIGCIYPGNVNTNYNEKFKDRATLTVDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK
724	構築物16 重鎖2	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDNSK NTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGT PVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTS KLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWS SNPFTFGQGTKLQITGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRE EMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGGGGGSDLGPQMLRELQETNAALQD VRELLRQQVREITFLKNTVMECDACGMQQ
722	構築物17 重鎖1	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK
724	構築物17 重鎖2	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWV RQAPGKGLEWIGYINPSRGYTNYNQKVKDRFTISRDNSK NTAFLQMDSLRPEDTGVYFCARYYDDHYSLDYWGQGT PVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQQTPGKAPKRWIYDTS KLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWS SNPFTFGQGTKLQITGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRE EMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL

【０６００】

【表１５８】

		HNHYTQKSLSLSPGGGGGSDLGPQMLRELQETNAALQD VRELLRQQVREITFLKNTVMECDACGMQQ
配列番号 726	抗CD3(4) /抗CD28 (2)二重特異性 重鎖	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYGMSWVR QAPGKGLEWVSSIFYTGSSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIGYAGDSKYAIWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEVKLVESGGDLVQPGDSLTLSCVASGFTFSKQ GMHWIRQAPKKGLEWIAMIYYDSSKMYYADTVKGRFTI SRDNSKNTLYLEMNSLRSEDTAMYYCASFWWDLDFDH WGQGVMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDILVTQ TPVSLPVSLGGHVSISCRSSQSLVRSEGTTYFNWYLQKPG QSPQLLIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEPED LGVYYCLQSSHFPWTFGGGTKLELK
配列番号 1416	抗CD3 (4)/抗CD28 (2)二重特異性 代替重鎖	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYGMSWVR QAPGKGLEWVSSIFYTGSSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIGYAGDSKYAIWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEVKLVESGGDLVQPGDSLTLSCVASGFTFSKQ GMHWIRQAPKKGLEWIAMIYYDSSKMYYADTVKGRFTI SRDNSKNTLYLEMNSLRSEDTAMYYCASFWWDLDFDH WGQGVMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDILVTQ TPVSLPVSLGGHVSISCRSSQSLVRSEGTTYFNWYLQKPG QSPQLLIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEPED LGVYYCLQSSHFPWTFGGGTKLELK
配列番号 728	抗CD3 (4)/抗CD28 (2)二重特異性 軽鎖1	DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIVSNYVNWYQQL PGTAPKLLIYDNNKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ SEDEADYYCQSYAIGSYSVVFGGGTKLTVLGQGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【０６０１】

【表１５９】

配列番号 730	抗CD3 (4)/抗CD28 (2)二重特異性 軽鎖2	DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIVSNYVNWYQQL PGTAPKLLIYDNNKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ SEDEADYYCQSYAIGSYSVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSV TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSP VKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTECS
892	抗CD3 (2)/抗CD28 (2)軽鎖	DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIVSNYVNWYQQL PGTAPKLLIYDNNKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ SEDEADYYCQSYAIGSYSVVFGGGTKLTVLGQGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
893	抗CD3 (2)/抗CD28 (2)重鎖	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYGMSWVR QAPGKGLEWVSSIFYTGSSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIGYAGDSKYAIWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFG NSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPN WVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGCGTKLTVL
配列番号 1417	抗CD3 (2)/抗CD28 (2)代替重鎖	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYGMSWVR QAPGKGLEWVSSIFYTGSSTYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIGYAGDSKYAIWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFG

【０６０２】

【表１６０】

		NSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPN WVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGCGTKLTVL
894	抗CD3 (4)/抗CD28 (1)軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNIYVWLNWYQQ KPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQGQTYPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
895	抗CD3 (4)/抗CD28 (1)重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYIHWVR QAPGQGLEWIGCIYPGNVNTNYNEKFKDRATLTVDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYFCTRSHYGLDWNFDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSEVKLVESGG DLVQPGDSLTLSCVASGFTFSKQGMHWIRQAPKKGLEW IAMIYYDSSKMYYADTVKGRFTISRDNSKNTLYLEMNSL RSEDTAMYYCASFWWDLDFDHWGQGVMVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSDILVTQTPVSLPVSLGGHVSISC RSSQSLVRSEGTTYFNWYLQKPGQSPQLLIYRVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEPEDLGVYYCLQSSHFPWT FGGGTKLELK

【０６０３】

いくつかの実施形態において、多重特異性結合分子は、二重特異性抗体を含む。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は、図３７Ａ～図３７Ｂ、図４８Ａ～図４８Ｂ、図４９Ａ～４９Ｃ及び図５０Ａ～５０Ｂに提供されるスキームのいずれか１つに形成される。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体は、一価又は二価である。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体はＦｃ領域を含む。いくつかの実施形態では、二重特異性抗体のＦｃ領域は、サイレンシングされる。

【０６０４】

いくつかの実施形態において、多重特異性結合分子は、複数の二重特異性抗体を含む。いくつかの実施形態では、複数の二重特異性抗体の１つ以上は、一価である。いくつかの実施形態では、複数の二重特異性抗体の１つ以上は、Ｆｃ領域を含む。いくつかの実施形態では、複数の二重特異性抗体の１つ以上のＦｃ領域は、サイレンシングされる。いくつかの実施形態では、複数の二重特異性抗体の１つ以上を互いにコンジュゲートして、多量体とする。いくつかの実施形態では、多量体は、図３７Ｂ及び図４８Ｂに提供される多重特定スキームのいずれか１つに形成される。

【０６０５】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の多重特異性結合分子は、Ｆｃ領域を含み、例えば、Ｆｃ領域はＦｃサイレントである。いくつかの実施形態において、Ｆｃ領域は、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＤ２６５、Ｎ２９７及びＰ３２９の１つ以上（例えば、全て）における突然変異を含む。いくつかの実施形態において、Ｆｃ領域は、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた変異Ｄ２６５Ａ、Ｎ２９７

Ａ及びＰ３２９Ａ（ＤＡＮＡＰＡ）を含む。

【０６０６】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の多重特異性結合分子は、第１の結合ドメイン及び第２の結合ドメインを含む。例えば、第１の結合ドメインは、抗ＣＤ３結合ドメインであり得、第２の結合ドメインは、共刺激性分子結合ドメインであり得るか、又は第１の結合ドメインは、共刺激性分子結合ドメインであり得、第２の結合ドメインは、抗ＣＤ３結合ドメインであり得る。いくつかの実施形態において、共刺激分子結合ドメインは、ＣＤ２、ＣＤ２８、ＣＤ２５、ＣＤ２７、ＩＬ６Ｒｂ、ＩＣＯＳ又は４１ＢＢに結合する。いくつかの実施形態において、共刺激分子結合ドメインは、ＣＤ２、ＣＤ２８、ＣＤ２５、ＣＤ２７、ＩＬ６Ｒｂ、ＩＣＯＳ又は４１ＢＢを活性化する。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の多重特異性結合分子は、Ｆｃ受容体への結合の低下又はＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ又はＣＤＣ活性の低下を有するように変異されたＦｃ領域、例えば、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた変異Ｄ２６５Ａ、Ｎ２９７Ａ及びＰ３２９Ａ（ＤＡＮＡＰＡ）を含むＦｃ領域を含む。

【０６０７】

いくつかの実施形態において、第１の結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）は、第２の結合ドメイン（例えば、Ｆａｂフラグメント）のＶＨのＮ末端であり、例えば、ペプチドリンカーを介して連結されている。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は、例えば、Ｎ末端からＣ末端の順に、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３の１つ以上（例えば、全て）を更に含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子のポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端に、以下の配列を含む：第１の結合ドメインのＶＨ、第１ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９））、第１の結合ドメインのＶＬ、第２ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９））、第２の結合ドメインのＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子のポリペプチドは、以下の配列を含む：Ｎ末端からＣ末端に：第２の結合ドメインのＶＬ及びＣＬ。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は、Ｆｃ受容体との結合低下又は低減したＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ又はＣＤＣ活性を有するように変異されたＦｃ領域、例えば、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた変異Ｄ２６５Ａ、Ｎ２９７Ａ及びＰ３２９Ａ（ＤＡＮＡＰＡ）を含むＦｃ領域を含む。いくつかの実施形態では、第１の結合フラグメントは、抗ＣＤ３結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ３配列を含む。いくつかの実施形態では、第２の結合ドメインは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２　Ｆａｂを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ２配列を含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２８結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２８　Ｆａｂを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ２８配列を含む。いくつかの実施形態において、第１の結合フラグメントは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２又は抗ＣＤ２８結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２又は抗ＣＤ２８　ｓｃＦｖを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ２又は抗ＣＤ２８配列を含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、抗ＣＤ３結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３　Ｆａｂを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ３配列を含む。このような多重特異性結合分子の例は、図３７Ａの左上の構築物；図４８Ａの構築物１又は構築物２；並びに表２０の構築物１又は構築物２として示されている。

【０６０８】

いくつかの実施形態において、第１の結合ドメイン（例えば、Ｆａｂフラグメント）は、第２の結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）のＮ末端であり、例えば、Ｆｃ領域は、第１及び第２の結合ドメイン間に位置する。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｆｃ受容体との結合低下又は低下したＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ若しくはＣＤＣ活性を有するように変異され、例えば、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた変異Ｄ２６５Ａ、Ｎ２９７Ａ及びＰ３２９Ａ（ＤＡＮＡＰＡ）を含むＦｃ領域である。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた変異Ｌ２３４Ａ、Ｌ２

３５Ａ、Ｓ２６７Ｋ及びＰ３２９Ａ（ＬＡＬＡＳＫＰＡ）を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた変異Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＰ３２９Ｇ（ＬＡＬＡＰＧ）を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた変異Ｇ２３７Ａ、Ｄ２６５Ａ、Ｐ３２９Ａ及びＳ２６７Ｋ（ＧＡＤＡＰＡＳＫ）を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は、例えば、Ｎ末端からＣ末端の順に、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３の１つ以上（例えば、全て）を更に含む。いくつかの実施形態において、多重特異性結合分子のポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端に、以下の配列を含む：第１の結合ドメインのＶＨ、ＣＨ１、ＣＨ２、ＣＨ３、第１ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９））、第２ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９））及び第２の結合ドメインのＶＬ。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子のポリペプチドは、以下の配列を含む：Ｎ末端からＣ末端に：第１の結合ドメインのＶＬ及びＣＬ。いくつかの実施形態では、第１の結合ドメインは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２　Ｆａｂを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ２配列を含む。いくつかの実施形態では、第１の結合ドメインは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２８結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２８　Ｆａｂを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ２８配列、例えば、抗ＣＤ２８（１）又は抗ＣＤ２８（２）を含む。いくつかの実施形態では、第２の結合ドメインは、抗ＣＤ３結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ３配列、例えば、抗ＣＤ３（１）、抗ＣＤ３（２）、抗ＣＤ３（３）又は抗ＣＤ３（４）を含む。いくつかの実施形態では、第１の結合ドメインは、抗ＣＤ３結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３　Ｆａｂを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ３配列、例えば、抗ＣＤ３（１）、抗ＣＤ３（２）、抗ＣＤ３（３）又は抗ＣＤ３（４）を含む。いくつかの実施形態では、第２の結合ドメインは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２又は抗ＣＤ２８結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２又は抗ＣＤ２８　ｓｃＦｖを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ２又は抗ＣＤ２８配列を含む。このような多重特異性結合分子の例は、図３７Ａの上段左から２番目の構築物として；図４８Ａの構築物３又は４；及び表２０の構築物３又は構築物４として示されている。

【０６０９】

いくつかの実施形態において、第１の結合ドメイン（例えば、Ｆａｂフラグメント）は、例えば、ペプチドリンカーを介して、第２の結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）に対してＮ末端である。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は、例えば、Ｎ末端からＣ末端の順に、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３の１つ以上（例えば、全て）を更に含む。いくつかの実施形態において、多重特異性結合分子のポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端に、以下の配列を含む：第１の結合ドメインのＶＨ、ＣＨ１、第１ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）２リンカー（配列番号７６７））、第２の結合ドメインのＶＨ、第２ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９））、第２の結合ドメインのＶＬ、第３ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９））、ＣＨ２及びＣＨ３。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子のポリペプチドは、以下の配列を含む：Ｎ末端からＣ末端に：第１の結合ドメインのＶＬ及びＣＬ。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は、Ｆｃ受容体への結合低下又は低減したＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ又はＣＤＣ活性を有するように変異されたＦｃ領域、例えば、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた変異Ｄ２６５Ａ、Ｎ２９７Ａ及びＰ３２９Ａ（ＤＡＮＡＰＡ）を含むＦｃ領域を含む。いくつかの実施形態では、第１の結合ドメインは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２　Ｆａｂを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ２配列を含む。いくつかの実施形態では、第１の結合ドメインは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２８結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２８　Ｆａｂを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ２８配列、例えば、抗ＣＤ２８（１）又は抗ＣＤ２８（２）を含む。いくつかの実施形態において、第１の結合ドメインは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２５結合ドメイン（例えば、抗ＣＤ２

５　Ｆａｂ）、抗ＣＤ２７結合ドメイン（例えば、抗ＣＤ２７　Ｆａｂ）、抗ＩＬ６Ｒｂ結合ドメイン（例えば、抗ＩＬ６Ｒｂ　Ｆａｂ）、抗ＩＣＯＳ結合ドメイン（例えば、抗ＩＣＯＳ　Ｆａｂ）又は抗４１ＢＢ結合ドメイン（例えば、抗４１ＢＢＦａｂ）を含む。いくつかの実施形態では、第２の結合ドメインは、抗ＣＤ３結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ３配列、例えば、抗ＣＤ３（１）、抗ＣＤ３（２）、抗ＣＤ３（３）又は抗ＣＤ３（４）を含む。いくつかの実施形態では、第１の結合ドメインは、抗ＣＤ３結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３　Ｆａｂを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ３配列、例えば、抗ＣＤ３（１）、抗ＣＤ３（２）、抗ＣＤ３（３）又は抗ＣＤ３（４）を含む。いくつかの実施形態において、第２の結合ドメインは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２結合ドメイン（例えば、抗ＣＤ２　ｓｃＦｖ）、抗ＣＤ２８結合ドメイン（例えば、抗ＣＤ２８　ｓｃＦｖ）、抗ＣＤ２５結合ドメイン（例えば、抗ＣＤ２５　ｓｃＦｖ）、抗ＣＤ２７結合ドメイン（例えば、抗ＣＤ２７　ｓｃＦｖ）、抗ＩＬ６Ｒｂ結合ドメイン（例えば、　抗ＩＬ６Ｒｂ　ｓｃＦｖ）、抗ＩＣＯＳ結合ドメイン（例えば、抗ＩＣＯＳ　ｓｃＦｖ）又は抗４１ＢＢ結合ドメイン（例えば、抗４１ＢＢ　ｓｃＦｖ）を含む。このような多重特異性結合分子の例は、図３７Ａの上段左から３番目の構築物として；図４８Ａの構築物５又は６；及び表２０の構築物５又は構築物６として示されている。

【０６１０】

いくつかの実施形態において、第１の結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）は、第２の結合ドメイン（例えば、ＦａｂフラグメントのＮ末端側にあり、例えば、Ｆｃ領域が、第１及び第２の結合ドメイン間に位置する。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は、Ｆｃ受容体への結合低下又は低減したＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ又はＣＤＣ活性を有するように変異されたＦｃ領域、例えば、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた変異Ｄ２６５Ａ、Ｎ２９７Ａ及びＰ３２９Ａ（ＤＡＮＡＰＡ）を含むＦｃ領域を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は、例えば、Ｎ末端からＣ末端の順に、ＣＨ２、ＣＨ３及びＣＨ１の１つ以上（例えば、全て）を更に含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子のポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端に、以下の配列を含む：第１の結合ドメインのＶＨ、第１ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９））、第１の結合ドメインのＶＬ、第２ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８））、ＣＨ２、ＣＨ３、第３ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９））、第２の結合ドメインのＶＨ及びＣＨ１。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子のポリペプチドは、以下の配列を含む：Ｎ末端からＣ末端に：第１の結合ドメインのＶＬ及びＣＬ。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３　Ｆａｂを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ３配列を含む。いくつかの実施形態では、第１の結合ドメインは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２　Ｆａｂを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ２配列を含む。いくつかの実施形態では、第１の結合ドメインは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２８結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２８　Ｆａｂを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ２８配列を含む。いくつかの実施形態では、第１の結合ドメインは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２又は抗ＣＤ２８結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２又は抗ＣＤ２８　ｓｃＦｖを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ２又は抗ＣＤ２８配列を含む。いくつかの実施形態では、第２の結合ドメインは、抗ＣＤ３結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含み、これは、例えば、表１９に開示される抗ＣＤ３配列を含む。このような多重特異性結合分子の例は、図３７Ａの上段右端の構築物として；図４８Ａの構築物７又は構築物８；及び表２０の構築物７又は構築物８として示されている。

【０６１１】

いくつかの実施形態において、第１の結合ドメイン（例えば、ＦａｂフラグメントのＦｃ領域のＮ末端に位置する。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は

、例えば、Ｎ末端からＣ末端の順に、第１のＣＨ１、第１のＣＨ２及び第１のＣＨ３の１つ以上（例えば、全て）を含む。いくつかの実施形態では、第２の結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）は、例えば、第２ポリペプチド鎖において、第２のＦｃ領域のＮ末端に位置する。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は、例えば、第２のポリペプチド鎖において、例えば、Ｎ末端からＣ末端への順に、第２のＣＨ２及び第２のＣＨ３の１つ以上（例えば、両方）を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は、例えば、第１及び第２のＦｃ領域が、ノブイントゥホール変異を含むようなヘテロ二量体抗体分子を含む。いくつかの実施形態では、第１のＦｃ領域は、第１のＦｃ領域が第１のＦｃ領域の別のコピーに結合するよりも強く第２のＦｃ領域に結合する。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子の第１のポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端に、以下の配列を含む：第１の結合ドメインのＶＨ、第１のＣＨ１、第１のＣＨ２及び第１のＣＨ３。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子の第２ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端に、以下の配列を含む：第２の結合ドメインのＶＨ、第１ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８））、第２の結合ドメインのＶＬ、第２のＣＨ２及び第２のＣＨ３。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子の第３ポリペプチドは、以下の配列を含む：Ｎ末端からＣ末端に：第１の結合ドメインのＶＬ及びＣＬ。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子の第２のポリペプチドは、ホモ多量体化ドメイン、例えば、マトリリン１タンパク質又は軟骨オリゴマーマトリックスタンパク質のコイルドコイル（ＣＯＭＰｃｃ）ドメインを、第２のＣＨ３のＣ末端側に、例えば、ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）又は（Ｇ４Ｓ）３リンカー（配列番号３０）を介して更に含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子は、例えば、図３７Ｂに示されるように、第１の結合ドメインの２、３、４又は５つのコピーと、第２の結合ドメインの同数コピーを含む。いくつかの実施形態では、第１の結合ドメインは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２結合ドメイン（例えば、抗ＣＤ２　Ｆａｂ）を含む。いくつかの実施形態では、第１の結合ドメインは、共刺激分子結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２８結合ドメイン（例えば、抗ＣＤ２８　Ｆａｂ）を含む。いくつかの実施形態では、第２の結合ドメインは、抗ＣＤ３結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含む。このような多重特異性結合分子の例は、図３７Ａの最下段の左端の構築物として；図３７Ｂの構築物、図４８Ｂの構築物９、構築物１０、構築物１２、構築物１３、構築物１５及び構築物１６；並びに表２０の構築物９、構築物１０、構築物１２、構築物１３、構築物１５及び構築物１６として示されている。

【０６１２】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の結合分子は、結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）は、Ｆｃ領域のＮ末端に位置する。いくつかの実施形態では、いくつかの実施形態では、結合分子は、例えば、第１及び第２のＦｃ領域が、ノブイントゥホール変異を含むようなヘテロ二量体抗体分子を含む。いくつかの実施形態では、第１のＦｃ領域は、第１のＦｃ領域が第１のＦｃ領域の別のコピーに結合するよりも強く第２のＦｃ領域に結合する。いくつかの実施形態では、結合分子は、Ｎ末端からＣ末端に、ＣＨ２及びＣＨ３の１つ以上（例えば、全て）を含む。いくつかの実施形態では、結合分子の第２ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端に、以下の配列を含む：結合ドメインのＶＨ、第１ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９））、結合ドメインのＶＬ、第２ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）又は（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８））、ＣＨ２及びＣＨ３。いくつかの実施形態では、結合分子の第２のポリペプチドは、ホモ多量体化ドメイン、例えば、マトリリン１タンパク質又は軟骨オリゴマーマトリックスタンパク質のコイルドコイル（ＣＯＭＰｃｃ）ドメインを、第２のＣＨ３のＣ末端側に、例えば、ペプチドリンカー（例えば、（Ｇ４Ｓ）４リンカー（配列番号２９）、（Ｇ４Ｓ）３リンカー（配列番号８７８）又は（Ｇ４Ｓ）リンカー（配列番号７６８）を介して更に含む。いくつかの実施形態では、結合分子は、例えば、図３７Ｂに示されるように、結合ドメインの２、３、４又は５つのコピーを含む。いくつかの実施形態では、結合ドメインは、抗ＣＤ３

結合ドメイン、例えば抗ＣＤ３　ｓｃＦｖを含む。いくつかの実施形態では、共刺激分子結合ドメインは存在しない。このような結合分子の例は、図３７Ａの最下段の右端の構築物として；図４８Ｂの構築物１１、構築物１４及び構築物１７；並びに表２０の構築物１１、構築物１４及び構築物１７として示されている。

【０６１３】

いくつかの実施形態において、多重特異性結合タンパク質は、例えば、表１９の抗ＣＤ２８（２）配列（又はそれに対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列）を含む、抗ＣＤ２８結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２８　Ｆａｂと、例えば、表１９の抗ＣＤ３（４）配列（又はそれに対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性）を含む抗ＣＤ３　ｓｃＦｖとを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、Ｆｃ領域を含み、抗ＣＤ２８　Ｆａｂは、Ｆｃ領域に融合されており、これは、抗ＣＤ３　ｓｃＦｖに更に融合されている。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、ＥｕナンバリングシステムＬに従って番号付けされたＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｓ２６７Ｋ及びＰ３２９Ａ変異（ＬＡＬＡＳＫＰＡ）を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、配列番号７２６若しくは１４１６のアミノ酸配列又は配列番号７２６若しくは１４１６と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、配列番号７２８若しくは７３０のアミノ酸配列又は配列番号７２８若しくは７３０と少なくとも７０％、７５％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、配列番号７２６若しくは１４１６のアミノ酸配列又は配列番号７２６若しくは１４１６のアミノ酸配列と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号７２８若しくは７３０のアミノ酸配列又は配列番号７２８若しくは７３０と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、配列番号７２６のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号７２８のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、配列番号７２６のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号７３０のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、配列番号１４１６のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号７２８のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、配列番号１４１６のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号７３０のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。

【０６１４】

いくつかの実施形態において、多重特異性結合タンパク質は、例えば、表１９の抗ＣＤ２８（２）配列（又はそれに対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％

、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列）を含む、抗ＣＤ２８結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２８　Ｆａｂと、例えば、表１９の抗ＣＤ３（２）配列（又はそれに対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性）を含む抗ＣＤ３　ｓｃＦｖとを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、Ｆｃ領域を含み、抗ＣＤ２８　Ｆａｂは、Ｆｃ領域に融合されており、これは、抗ＣＤ３　ｓｃＦｖに更に融合されている。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｓ２６７Ｋ及びＰ３２９Ａ変異（ＬＡＬＡＳＫＰＡ）を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、配列番号８９３若しくは１４１７のアミノ酸配列又は配列番号８９３若しくは１４１７と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、配列番号８９２のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、配列番号８９３のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号８９２のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、配列番号１４１７のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号８９２のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。

【０６１５】

いくつかの実施形態において、多重特異性結合タンパク質は、例えば、表１９の抗ＣＤ２８（１）配列（又はそれに対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列）を含む、抗ＣＤ２８結合ドメイン、例えば抗ＣＤ２８　Ｆａｂと、例えば、表１９の抗ＣＤ３（４）配列（又はそれに対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性）を含む抗ＣＤ３　ｓｃＦｖとを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、Ｆｃ領域を含み、抗ＣＤ２８　Ｆａｂは、Ｆｃ領域に融合されており、これは、抗ＣＤ３　ｓｃＦｖに更に融合されている。いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｓ２６７Ｋ及びＰ３２９Ａ変異（ＬＡＬＡＳＫＰＡ）を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、配列番号８９５のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、配列番号８９４のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性結合タンパク質は、配列番号８９５のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号８９４のアミノ酸配列又はそれと少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％同一のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。

【０６１６】

本明細書の実施形態の多くにおいて、多重特異性結合分子は、例えば、ジスルフィド架橋を介して互いに共有結合的に連結されている２つ以上のポリペプチド鎖を含むことが理解される。しかし、いくつかの実施形態では、多重特異性結合分子の２つ以上のポリペプ

チド鎖は、互いに非共有結合され得る。

【０６１７】

ＦａｂフラグメントはＶＨ及びＣＨ１と融合し得、例えば、Ｆａｂフラグメントは、ＣＨ２及びＣＨ３と融合し得、従って完全長抗体の一部であり得ることも理解される。

【０６１８】

ＣＤ３／ＴＣＲ複合体を刺激する薬剤並びに本明細書に開示される共刺激分子及び／又は増殖因子受容体を刺激する薬剤を含む多重特異性結合分子は、本明細書に開示される細胞活性化剤としての使用が企図される。

【０６１９】

Ｆｃ変異体

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の多重特異性結合分子は、例えば、本明細書に記載されるようなＦｃ領域を含む。いくつかの実施形態において、Ｆｃ領域は、野生型Ｆｃ領域、例えば、野生型ヒトＦｃ領域である。いくつかの実施形態において、Ｆｃ領域は、変異体、例えば、Ｆｃ領域内の少なくとも１つのアミノ酸残基の付加、置換又は欠失を含むＦｃ領域を含み、これにより他と少なくとも１つのＦｃ受容体に対する親和性の低下又はアブレートが起こる。いくつかの実施形態において、多重特異性結合分子は、表２０に提供されるＦｃ領域のアミノ酸配列又はそれに対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の配列同一性を有する配列を含む。

【０６２０】

いくつかの実施形態では、抗体のＦｃ領域は、Ｆｃ受容体（例えば、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩＡ、ＦｃγＲＩＩＩＡ）、補体タンパク質Ｃ１ｑ並びにタンパク質Ａ及びＧなどの他の分子を含む多数の受容体又はリガンドと相互作用する。これらの相互作用は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、抗体依存性細胞貪食（ＡＤＣＰ）、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）を含め、様々なエフェクター機能及び下流シグナル伝達イベントを促進する。本明細書に開示される上記及びその他のサイレンシング修飾を特徴とする非限定的な例示的Ｆｃ領域は、上の表２０に提供される。

【０６２１】

いくつかの実施形態において、変異体Ｆｃ領域を含む本明細書に記載の多重特異性結合分子は、Ｆｃ受容体、例えば、本明細書に記載のＦｃ受容体に対して、低減した、例えば、アブレートされた親和性を有する。いくつかの実施形態では、低減した親和性を、野生型Ｆｃ領域を有し、他の点では類似する抗体と比較する。

【０６２２】

いくつかの実施形態において、変異体Ｆｃ領域を含む本明細書に記載の多重特異性結合分子は、以下の特性の１つ以上を有する：（１）エフェクター機能の低下（例えば、ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ及び／若しくはＣＤＣの低下）；（２）１つ以上のＦｃ受容体との結合の低減；並びに／又は（３）Ｃ１ｑ補体との結合の低減。いくつかの実施形態では、特性（１）～（３）のいずれか１つ又は全てにおける減少を、野生型Ｆｃ領域を有し、他の点では類似する抗体と比較する。

【０６２３】

例示的なＦｃ領域変異体は、表３４に提供され、Ｓａｕｎｄｅｒｓ Ｏ，（２０１９）Ｆｒｏｎｔｉｅｒｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ；ｖｏｌ １０，ａｒｔｉｃｌｅ１２９６（その全内容は参照により本明細書に組み込む）にも開示されている。

【０６２４】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の多重特異性結合分子は、表３４に開示されるＦｃ領域変異体、例えば変異のいずれか１つ若しくは全部又はそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の多重特異性結合分子のＦｃ領域は、サイレンシングされている。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の多重特異性結合タンパク質のＦｃ領域は、ＬＡＬＡ、ＤＡＰＡ、ＤＡＮＡＰＡ、ＬＡＬＡＤＡＮＡ

ＰＳ、ＬＡＬＡＧＡ、ＬＡＬＡＳＫＰＡ、ＤＡＰＡＳＫ、ＧＡＤＡＰＡ、ＧＡＤＡＰＡＳＫ、ＬＡＬＡＰＧ及びＬＡＬＡＰＡ（Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされる）からなる群から選択されるアミノ酸置換の組み合わせによってサイレンシングされる。

【０６２５】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の多重特異性結合分子は、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、ＩｇＧ１　Ｆｃアミノ酸配列におけるＬ２３４、例えば、Ｌ２３４Ａ及び／若しくはＬ２３５、例えば、Ｌ２３４Ａ変異（ＬＡＬＡ）；Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｄ２６５、例えば、Ｄ２６５Ａ及び／若しくはＰ３２９、例えば、Ｐ３２９Ａ（ＤＡＰＡ）；Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｎ２９７、例えば、Ｎ２９７Ａ；Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、ＤＡＮＡＰＡ（Ｄ２６５Ａ、Ｎ２９７Ａ及びＰ３２９Ａ）；並びに／又はＥｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｌ２３４、例えばＬ２３４Ａ、Ｌ２３５、例えばＬ２３５Ａ、Ｄ２６５、例えば、Ｄ２６５Ａ、Ｎ２９７、例えば、Ｎ２９７Ａ及びＰ３３１、例えばＰ３３１Ｓ（ＬＡＬＡＤＡＮＡＰＳ）を含む変異体のいずれか１つ若しくは全部又は任意の組み合わせを含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の多重特異性結合分子は、野生型ヒトＩｇＧ１　Ｆｃ領域のヒトＩｇＧ１　Ｆｃ変異体を含み、Ｆｃ変異体は、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｌ２３４（例えば、Ｌ２３４Ａ）、Ｌ２３５（例えば、Ｌ２３５Ａ）及び／又はＧ２３７（例えば、Ｇ２３７Ａ）変異（ＬＡＬＡＧＡ）；Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｌ２３４（例えば、Ｌ２３４Ａ）、Ｌ２３５（例えば、Ｌ２３５Ａ）、Ｓ２６７（例えば、Ｓ２６７Ｋ）及び／若しくはＰ３２９（例えば、Ｐ３２９Ａ）変異（ＬＡＬＡＳＫＰＡ）；Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｄ２６５（例えば、Ｄ２６５Ａ）、Ｐ３２９（例えば、Ｐ３２９Ａ）及び／若しくはＳ２６７（例えば、Ｓ２６７Ｋ）変異（ＤＡＰＡＳＫ）；Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｇ２３７（例えば、Ｇ２３７Ａ）、Ｄ２６５（例えば、Ｄ２６５Ａ）及び／若しくはＰ３２９（例えば、Ｐ３２９Ａ）変異（ＧＡＤＡＰＡ）；Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｇ２３７（例えば、Ｇ２３７Ａ）、Ｄ２６５（例えば、Ｄ２６５Ａ）、Ｐ３２９（例えば、Ｐ３２９Ａ）及び／若しくはＳ２６７（例えば、Ｓ２６７Ｋ）変異（ＧＡＤＡＰＡＳＫ）；Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｌ２３４（例えば、Ｌ２３４Ａ）、Ｌ２３５（例えば、Ｌ２３５Ａ）及び／若しくはＰ３２９（例えば、Ｐ３２９Ｇ）変異（ＬＡＬＡＰＧ）；又はＬ２３４（例えば、Ｌ２３４Ａ）、Ｌ２３５（例えば、Ｌ２３５Ａ）及び／若しくはＰ３２９（例えば、Ｐ３２９Ａ）変異（ＬＡＬＡＰＡ）（アミノ酸残基は、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされる）のいずれか１つ若しくは全部又は任意の組み合わせを含む。

【０６２６】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の多重特異性結合タンパク質のＦｃ領域は、Ｆｃ受容体への結合の低下又はＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ又はＣＤＣ活性の低減をもたらす変異を含み、例えば、Ｆｃ領域は、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｄ２６５（例えば、Ｄ２６５Ａ）、Ｎ２９７（例えば、Ｎ２９７Ａ）及びＰ３２９（例えば、Ｐ３２９Ａ）変異（ＤＡＮＡＰＡ）；Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｌ２３４（例：Ｌ２３４Ａ）、Ｌ２３５（例えば、Ｌ２３５Ａ）及びＧ２３７（Ｇ２３７Ａ）変異（ＬＡＬＡＧＡ）；Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｌ２３４（Ｌ２３４Ａ）、Ｌ２３５（例えば、Ｌ２３５Ａ）、Ｓ２６７（例えば、Ｓ２６７Ｋ）及びＰ３２９（例えば、Ｐ３２９Ａ）変異（ＬＡＬＡＳＫＰＡ）；Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｄ２６５（例えば、Ｄ２６５Ａ）、Ｐ３２９（例えば、Ｐ３２９Ａ）及びＳ２６７（例えば、Ｓ２６７Ｋ）変異（ＤＡＰＡＳＫ）；Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｇ２３７（例えば、Ｇ２３７Ａ）、Ｄ２６５（例えば、Ｄ２６５Ａ）及びＰ３２９（Ｐ３２９Ａ）変異（ＧＡＤＡＰＡ）；Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｇ２３７（例えば、Ｇ２３７Ａ）、Ｄ２６５（例えば、Ｄ２６５Ａ）、Ｐ３２９（例えば、Ｐ３２９Ａ）及びＳ２６７（例えば、Ｓ２６７Ｋ

）変異（ＧＡＤＡＰＡＳＫ）；Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｌ２３４（例えば、Ｌ２３４Ａ）、Ｌ２３５（例えば、Ｌ２３５Ａ）及びＰ３２９（例えば、Ｐ３２９Ｇ）変異（ＬＡＬＡＰＧ）；又はＥｕナンバリングシステムに従って番号付けされた、Ｌ２３４（例えば、Ｌ２３４Ａ）、Ｌ２３５（例えば、Ｌ２３５Ａ）及びＰ３２９（例えば、Ｐ３２９Ａ）変異（ＬＡＬＡＰＡ）を含む。

【０６２７】

用語「ＬＡＬＡ」、「ＤＡＰＡ」、「ＤＡＮＡＰＡ」、「ＬＡＬＡＤＡＮＡＰＳ」、「ＬＡＬＡＧＡ」、「ＬＡＬＡＳＫＰＡ」、「ＤＡＰＡＳＫ」、「ＧＡＤＡＰＡ」、「ＧＡＤＡＰＡＳＫ」、「ＬＡＬＡＰＧ」及び「ＬＡＬＡＰＡ」という用語は、連続したアミノ酸配列ではなく、本明細書に記載される置換の異なる組み合わせの省略用語を表すことが理解される。

【０６２８】

【表１６１】

表 34: 例示的な Fc 修飾

修飾又は変異	改変されたエフェクター機能
Leu235Glu	ADCC;
Leu234Ala/Leu235Ala(LALA)	ADCC; ADCP; CDC
Ser228Pro/Leu235Glu	
Leu234Ala/Leu235Ala/Pro329Gly	ADCP
Pro331Ser/Leu234Glu/Leu235Phe	CDC
Asp265Ala	ADCC, ADCP
Gly237Ala	ADCP
Glu318Ala	ADCP
Glu233Pro	
Gly236Arg/Leu328Arg	ADCP
His268Gln/Val309Leu/Ala330Ser/Pro331Ser	ADCC; ADCP; CDC
Val234Ala/Gly237Ala/Pro238Ser/ His268Ala/Val309Leu/Ala330Ser/Pro331Ser	ADCC; ADCP; CDC
Leu234Ala/L235Ala/Gly237Ala/P238Ser/ His268Ala/Ala330Ser/Pro331Ser	ADCC; CDC
Ala330 Leu	CDC
Asp270Ala	CDC
Lys322Ala	CDC
Pro329Ala	CDC
Pro331Ala	CDC
Val264Ala	CDC
高マンノースグリコシル化	CDC
Phe241Ala	CDC
Asn297Ala 又は Gly 又は Gln	ADCC; ADCP; CDC
S228P/Phe234Ala/Leu235Ala	ADCC; CDC

【０６２９】

メソポーラスシリカ微粒子、ウイルスベクター及び細胞活性化剤の組成物

持続放出剤、例えばメソポーラスシリカ微粒子の第１の集団と、ウイルスベクターを含む組成物も本明細書に記載される。更に、メソポーラスシリカ微粒子の集団と、ウイルスベクターを含む組成物も本明細書に記載される。いくつかの実施形態では、ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）は、細孔及び／若しくはナノチャネルを被覆する表面又は表面に吸着若しくは共有結合した複数の官能基を更に含む。いくつかの実施形態では、官能基は、－ＯＨ（ヒドロキシル）、アミン、カルボン酸、リン酸塩、ハロゲン化物、アジド、アルキン、エ

ポキシド、スルフヒドリル、ジスルフィド、ポリエチレンイミン、疎水性部分又はその塩である。いくつかの実施形態では、官能基（即ち－ＯＨ（ヒドロキシル）、アミン、カルボン酸、リン酸塩、ハロゲン化物、アジド、アルキン、エポキシド、スルフヒドリル、ジスルフィド、ポリエチレンイミン、疎水性部分又はその塩）は、ＭＳＰの表面に直接結合し得る。いくつかの実施形態では、官能基は、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{20}$アルキルリンカーを介してＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）表面に共有結合している。他の実施形態では、官能基は、ポリエチレングリコールリンカーを介してＭＳＰ表面に共有結合している。特定の実施形態において、ポリエチレングリコールリンカーは、式（－Ｏ（ＣＨ２－ＣＨ$_{2}$－）$_{1～25}$を有する。特定の実施形態では、表面修飾は、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{20}$アルキルパーハロアルキル又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{20}$アルキルパーフルオロアルキルである。

【０６３０】

いくつかの実施形態において、ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）は、一級、二級、三級又は四級アミンによって表面修飾されている。特定の実施形態では、メソポーラスシリカロッドは、ポリエチレンイミンで修飾されている。具体的な実施形態において、ポリエチレンイミンは、分岐又は非分岐である。別の実施形態では、ポリエチレンイミン基は、ゲル浸透クロマトグラフィー（ＧＰＣ）によって測定されて、約１０００～２０，０００ダルトン（Ｄａ）の範囲の平均分子量を有する。いくつかの実施形態では、ポリエチレンイミン基は、ゲル浸透クロマトグラフィー（ＧＰＣ）によって測定されて、約１，２００～１５，０００Ｄａ、約１，５００～１２，０００Ｄａ、約２，０００Ｄａ、約３，０００Ｄａ、約４，０００Ｄａ、約５，０００Ｄａ、約６，０００Ｄａ、約７，０００Ｄａ、約８，０００Ｄａ、約９，０００Ｄａ又は約１０，０００Ｄａの平均分子量を有する。

【０６３１】

いくつかの実施形態において、ウイルスベクターは、メソポーラスシリカ粒子にコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、メソポーラスシリカ粒子に静電的又は共有結合的にコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子とウイルスベクターとの間の静電的結合は、表面が逆荷電したウイルスベクターとメソポーラスシリカ粒子に因るものである。例えば、理論に拘束されるものではないが、正荷電したポリエチレンイミン又は一級、二級、三級若しくは四級アンモニウム基によって表面修飾されているメソポーラスシリカ粒子は、表面が負荷電したウイルスベクターにコンジュゲートすることができる。従って、いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは負荷電し、メソポーラスシリカ粒子は正荷電している。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子とウイルスベクターとの間の共有結合は、リンカーを介して又はリンカーなしのいずれかで、当業者に公知の方法により達成される。例えば、限定するものではないが、リンカーは、ポリエチレングリコール、アルキル基、ポリマー、ポリアミド結合などであり得る。

【０６３２】

いくつかの態様において、本明細書中で提供されるものは、本明細書に記載のメソポーラスシリカ粒子を含む医薬組成物であって、免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔリンパ球細胞の集団の製造に使用するために製剤化された医薬組成物を含む。いくつかの実施形態では、Ｔリンパ球細胞は、ＣＡＲで形質導入される。いくつかの実施形態では、ＭＳＰは、本明細書に記載のようにウイルスベクターにコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、ＭＳＰは、細胞活性化剤にコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、細胞活性化剤は、ＭＳＰに吸収される。いくつかの実施形態では、免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔリンパ球細胞の集団の製造に使用するためのＭＳＰは、本明細書に記載のように表面修飾され得る。

【０６３３】

いくつかの実施形態において、組成物は、メソポーラスシリカ粒子、ウイルスベクター及び任意選択により細胞活性化剤を含む注射用組成物として使用するのに適しており、ウイルスベクターは、発現されるヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含有する発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、

ウイルスベクターは、本明細書に記載のメソポーラスシリカ粒子にコンジュゲートされている。いくつかの実施形態では、細胞活性化剤は、本明細書に記載のメソポーラスシリカ粒子に吸収又はコンジュゲートされている。ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）表面への吸着は、表面に接着する分子として一般的に理解される。

【０６３４】

理論に拘束されることを望まないが、いくつかの実施形態において、ＭＳＰ－ウイルス組成物、例えば、ＭＳＰ及びウイルスベクター、例えば、ＣＡＲをコードするウイルスベクターを含む組成物は、排出リンパ節へのウイルスベクター排出を制限し、ＭＳＰのない他の類似組成物と比較して、オフサイト形質導入の可能性を低減する。

【０６３５】

本明細書に記載されるメソポーラスシリカ微粒子の組成物において、ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）は、０．０１～１０００μｇ／ｍｌの濃度で存在し得る。別の実施形態では、本明細書に記載の組成物中のＭＳＰ又はＭＳＲの濃度は、０．１～５００μｇ／ｍｌ、０．５～１００μｇ／ｍｌ、１～９０μｇ／ｍｌ、１～８０μｇ／ｍｌ、１～７０μｇ／ｍｌ、１～６０μｇ／ｍｌ、１～５０μｇ／ｍｌ又は１～４０μｇ／ｍｌであり得る。

【０６３６】

特定の実施形態において、ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）は、約１μｇ／ｍｌ、１０μｇ／ｍｌ、２０μｇ／ｍｌ、３０μｇ／ｍｌ、４０μｇ／ｍｌ、５０μｇ／ｍｌ、６０μｇ／ｍｌ、７０μｇ／ｍｌ、８０μｇ／ｍｌ、９０μｇ／ｍｌ、１００μｇ／ｍｌ、１１０μｇ／ｍｌ、１２０μｇ／ｍｌ、１３０μｇ／ｍｌ、１４０μｇ／ｍｌ又は１５０μｇ／ｍｌの濃度で存在し得る。

【０６３７】

一般に、本明細書に記載の組成物は、当技術分野において公知の通常の及び許容される方式のいずれかにより、単独で又は１つ以上の治療薬と組み合わせて上記の治療有効量で投与され得る。

【０６３８】

注射用組成物は、水性等張懸濁液であり得る。組成物は、滅菌され、且つ／又は保存剤、安定化剤、湿潤剤若しくは乳化剤、溶解促進剤、浸透圧を調整するための塩及び／若しくは緩衝剤などのアジュバントを含有し得る。加えて、上記組成物は、他の治療上有効な物質を含有し得る。

【０６３９】

本発明の医薬組成物は、処置（又は予防）される疾患に適した方法で投与することができる。投与の量及び頻度は、患者の状態並びに患者の疾患のタイプ及び重症度などの因子によって決定されるが、適切な用量は、臨床試験により決定され得る。

【０６４０】

いくつかの実施形態において、医薬組成物は、例えば、エンドトキシン、マイコプラズマ、複製可能レンチウイルス（ＲＣＬ）、ｐ２４、ＶＳＶ－Ｇ核酸、ＨＩＶ　ｇａｇ、残留抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８コーティングビーズ、マウス抗体、貯留ヒト血清、ウシ血清アルブミン、ウシ血清、培養培地成分、ベクターパッケージング細胞又はプラスミド成分、細菌及び真菌からなる群から選択される混入物が実質的になく、例えば検出可能なレベルで存在しない。いくつかの実施形態において、細菌は、アルガリゲネス・フェカリス（Ａｌｃａｌｉｇｅｎｅｓ　ｆａｅｃａｌｉｓ）、カンジダ・アルビカンス（Ｃａｎｄｉｄａ　ａｌｂｉｃａｎｓ）、エシェリキア・コリ（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉ）、ヘモフィルス・インフルエンザ（Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ　ｉｎｆｌｕｅｎｚａ）、ナイセリア・メニンギティデス（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ　ｍｅｎｉｎｇｉｔｉｄｅｓ）、シュードモナス・アエルジノーサ（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ　ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ）、スタフィロコッカス・アウレウス（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）、ストレプトコッカス・ニューモニア（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｐｎｅｕｍｏｎｉａ）及びストレプトコッカス・ピオゲネス（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｐｙｏｇｅｎｅｓ）Ａ群からなる群から選択される少なくとも１つである。

【０６４１】
投与のための医薬組成物（又は製剤）は、本明細書に記載の組成物を投与するために使用される方法に応じて様々な方法で包装され得る。一般的に、流通用物品は、適切な形態の医薬製剤を中に入れた容器を含む。好適な容器は、当業者に周知であり、ボトル（プラスチック及びガラス）、小袋、アンプル、ビニール袋、金属シリンダーなどの材料を含む。容器は、包装の内容物への不注意なアクセスを防止するための不正開封防止集合体も含む。加えて、この容器には、容器の内容物を記述するラベルが貼られている。ラベルは、適切な警告も含み得る。

【０６４２】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される組成物は、細胞活性化剤を更に含む。いくつかの実施形態において、細胞活性化剤は、Ｔ細胞刺激化合物、ＣＡＲ抗原結合ドメインに対する抗イディオタイプ抗体及び／又は腫瘍抗原である。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団にコンジュゲート又は吸着されている。追加的又は代替的な実施形態において、Ｔ細胞刺激化合物又は腫瘍抗原は、メソポーラスシリカ粒子の第２の集団にコンジュゲート又は吸着されている。別の実施形態において、Ｔ細胞刺激化合物又は腫瘍抗原は、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、ＧＭ－ＣＳＦ、抗ＣＤ２　ｍＡｂ、抗ＣＤ３　ｍＡｂ、抗ＣＤ２８　ｍＡｂ、ネオ抗原ペプチド、ＴＲＰ２などの共通抗原からのペプチド、ｇｐ１００、腫瘍細胞溶解物、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＲＯＲ１、メソテリン、ＣＤ３３／ＩＬ３Ｒａ、ｃ－Ｍｅｔ、ＰＳＭＡ、糖脂質Ｆ７７、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ－２、ＮＹ－ＥＳＯ－１　ＴＣＲ及び／又はＭＡＧＥ　Ａ３　ＴＣＲである。いくつかの実施形態では、細胞活性化剤は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体並びに／又は共刺激分子及び／若しくは増殖因子受容体を刺激する薬剤を含み、任意選択により、細胞活性化剤は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体を刺激する薬剤と、共刺激分子及び／又は増殖因子受容体を刺激する薬剤とを含む多重特異性結合分子である。

【０６４３】
Ｔ細胞刺激化合物又は腫瘍抗原がメソポーラスシリカ粒子の第２の集団にコンジュゲートされている実施形態において、Ｔ細胞刺激化合物又は腫瘍抗原は、メソポーラスシリカ粒子の第２の集団の表面の脂質二重層にコンジュゲートされ得る。メソポーラスシリカ粒子上に脂質二重層を作製する方法が知られている。例えば、国際公開第２０１８／０１３７９７号パンフレットを参照されたい。簡潔には、所定量のビオチンなどの標識を含むリポソームを使用して、ＭＳＰをコーティングする。次に、相補的な標識、例えばストレプトアビジンを用いて、Ｔ細胞刺激化合物に付着させるために標識を使用することができる。リポソームを作製するために使用される脂質は、当業者に公知であり、限定されないが、２つの炭化水素鎖、典型的にはアシル鎖と極性頭部基とを有する小胞形成脂質を含む。このクラスには、ホスファチジルコリン（ＰＣ）、ホスファチジルエタノールアミン（ＰＥ）、ホスファチジン酸（ＰＡ）、ホスファチジルイノシトール（ＰＩ）及びスフィンゴミエリン（ＳＭ）などのリン脂質が含まれ、２つの炭化水素鎖の長さは、通常、約１４～２２炭素原子であり、異なる不飽和度を有する。いくつかの実施形態において、脂質は、比較的不飽和のリン脂質である（炭化水素鎖に１つ、２つ又は３つの二重結合を有する）。いくつかの実施形態において、脂質は、ホスファチジルコリンである。ホスファチジルコリンは、コリンを頭部基として組み込み、グリセロリン酸を２つの脂肪酸と結合させるリン脂質である。いくつかの実施形態では、ホスファチジルコリンは、パルミトイルホスファチジルコリン、又はオレオイルホスファチジルコリン、又は１－パルミトイル，２－オレオイルホスファチジルコリンである。リポソーム組成物を調製する際、複数のタイプの脂質を使用し得る。脂質及び比率の選択は、所望される程度の流動性又は剛性を達成するように且つ／又は安定性を制御するように変えることができる。リポソーム組成物の調製に複数のタイプの脂質を使用する場合、安定したリポソームを形成するために、適切な量の比較的不飽和の脂質（ＰＣなど）を使用すべきである。いくつかの実施形態において、製剤に使用される脂質の少なくとも４５～５０モル％は、ＰＣである。リポソームは、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）などの親水性ポリマーで誘導体化された脂質も含み得

る。好適な親水性ポリマーには、ポリビニルピロリドン、ポリビニルメチルエーテル、ポリメチルオキサゾリン、ポリエチルオキサゾリン、ポリヒドロキシプロピルオキサゾリン、ポリヒドロキシプロピルメタクリルアミド、ポリメタクリルアミド、ポリジメチルアクリルアミド、ポリヒドロキシプロピルメタクリレート、ポリヒドロキシエチルアクリレート、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ポリエチレングリコール、ポリアスパルタミド及び親水性ペプチド配列が含まれる。親水性ポリマーで誘導体化された脂質を調製する方法は、公知である（例えば、参照により本明細書に組み込まれる米国特許第５，３９５，６１９号明細書を参照されたい）。

【０６４４】

いくつかの実施形態において、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団又は第２の集団は、サイトカインを更に含む。サイトカインは、限定されないが、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－７、ＩＬ－１０、ＩＬ－１２、ＩＬ－１５、ＩＬ－１７、ＩＬ－２１若しくは形質転換成長因子ベータ（ＴＧＦ－β）又はそのアゴニスト、その模倣物、その変異体、その機能的フラグメント或いはそれらの組み合わせであり得る。特定の実施形態において、サイトカインは、メソポーラスシリカ粒子の第１又は第２の集団にコンジュゲート又は吸着されている。サイトカインがメソポーラスシリカ粒子の第２の集団に吸着されている実施形態において、ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）の第２の集団は、前述のように脂質二重層によって更にコーティングされ得る。

【０６４５】

方法

本明細書に開示される態様は、インビボで細胞を形質導入する方法であって、細胞動員因子を含む生体材料と；持続放出剤、例えばメソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；ウイルスベクターと；任意選択により細胞活性化剤とを対象に投与すること含む方法に関する。いくつかの実施形態では、成分は、同時に又は連続して投与される。いくつかの実施形態では、細胞動員因子を含む生体材料が最初に投与される。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカロッドの第１の集団、ウイルスベクター及び任意選択により細胞活性化剤を同時に且つ任意選択により生体材料の後に投与する。

【０６４６】

本明細書に開示される態様は、インビボで細胞を形質導入する方法であって、生体材料及び細胞動員因子と；持続放出剤、例えばメソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；ウイルスベクターと；任意選択により細胞活性化剤とを対象に投与すること含む方法に関する。いくつかの実施形態では、成分は、同時に又は連続して投与される。いくつかの実施形態では、生体材料及び細胞動員因子が最初に投与される。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカロッドの第１の集団、ウイルスベクター及び任意選択により細胞活性化剤を同時に且つ任意選択により生体材料及び細胞動員因子の後に投与する。

【０６４７】

いくつかの実施形態において、この方法は、Ｔリンパ球を、メソポーラスシリカ粒子（例えば、ＭＳＲ）の第１の集団、ウイルスベクター及び任意選択により細胞活性化剤を含む組成物と接触させることを更に含み；ウイルスベクターは、発現させようとするヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含有する発現ベクターを含む。

【０６４８】

本明細書に記載の方法のいくつかの実施形態において、本方法は、集団におけるＴリンパ球の割合の増加をもたらす。いくつかの実施形態において、方法は、対象における所望の作用部位にウイルスベクターを送達することを含む。

【０６４９】

別の態様は、疾患、障害又は状態を有する対象を処置する方法であって、細胞動員因子を含む生体材料と；持続放出剤、例えばメソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；ウイルスベクターと；任意選択により細胞活性化剤とを対象に投与することを含む方法に関する。いくつかの実施形態では、成分は、同時に又は連続して投与する。いくつかの実施形態

では、細胞動員因子を含む生体材料を最初に投与する。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカロッドの第１の集団、ウイルスベクター及び任意選択により細胞活性化剤を同時に且つ任意選択により生体材料の後に投与する。

【０６５０】

更に別の態様は、疾患、障害又は状態を有する対象を処置する方法であって、生体材料及び細胞動員因子と；持続放出剤、例えばメソポーラスシリカ粒子の第１の集団と；ウイルスベクターと；任意選択により細胞活性化剤とを対象に投与することを含む方法に関する。いくつかの実施形態では、成分は、同時に又は連続して投与する。いくつかの実施形態では、生体材料及び細胞動員因子を最初に投与する。いくつかの実施形態では、メソポーラスシリカロッドの第１の集団、ウイルスベクター及び任意選択により細胞活性化剤を同時に且つ任意選択により生体材料及び細胞動員因子の後に投与する。

【０６５１】

いくつかの実施形態では、対象は、癌を有する。いくつかの実施形態では、対象は、ＴＳＨＲ、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ１７１、ＣＳ－１、ＣＬＬ－１、ＣＤ３３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ２、ＧＤ３、ＢＣＭＡ、Ｔｎ　Ａｇ、ＰＳＭＡ、ＲＯＲ１、ＦＬＴ３、ＦＡＰ、ＴＡＧ７２、ＣＤ３８、ＣＤ４４ｖ６、ＣＥＡ、ＥＰＣＡＭ、Ｂ７Ｈ３、ＫＩＴ、ＩＬ－１３Ｒａ２、メソテリン、ＩＬ－１１Ｒａ、ＰＳＣＡ、ＰＲＳＳ２１、ＶＥＧＦＲ２、ルイスＹ、ＣＤ２４、ＰＤＧＦＲ－ベータ、ＳＳＥＡ－４、ＣＤ２０、葉酸受容体アルファ、ＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）、ＭＵＣ１、ＥＧＦＲ、ＮＣＡＭ、プロスターゼ、ＰＡＰ、ＥＬＦ２Ｍ、エフリンＢ２、ＩＧＦ－Ｉ受容体、ＣＡＩＸ、ＬＭＰ２、ｇｐ１００、ｂｃｒ－ａｂｌ、チロシナーゼ、ＥｐｈＡ２、フコシルＧＭ１、ｓＬｅ、ＧＭ３、ＴＧＳ５、ＨＭＷＭＡＡ、ｏ－アセチル－ＧＤ２、葉酸受容体ベータ、ＴＥＭ１／ＣＤ２４８、ＴＥＭ７Ｒ、ＣＬＤＮ６、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＸＯＲＦ６１、ＣＤ９７、ＣＤ１７９ａ、ＡＬＫ、ポリシアル酸、ＰＬＡＣ１、ＧｌｏｂｏＨ、ＮＹ－ＢＲ－１、ＵＰＫ２、ＨＡＶＣＲ１、ＡＤＲＢ３、ＰＡＮＸ３、ＧＰＲ２０、ＬＹ６Ｋ、ＯＲ５１Ｅ２、ＴＡＲＰ、ＷＴ１、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＬＡＧＥ－１ａ、ＭＡＧＥ－Ａ１、レグマイン、ＨＰＶ　Ｅ６、Ｅ７、ＭＡＧＥ　Ａ１、ＥＴＶ６－ＡＭＬ、精子タンパク質１７、ＸＡＧＥ１、Ｔｉｅ　２、ＭＡＤ－ＣＴ－１、ＭＡＤ－ＣＴ－２、Ｆｏｓ関連抗原１、ｐ５３、ｐ５３変異体、プロステイン、サバイビン及びテロメラーゼ、ＰＣＴＡ－１／ガレクチン８、ＭｅｌａｎＡ／ＭＡＲＴ１、Ｒａｓ変異体、ｈＴＥＲＴ、肉腫転座切断点、ＭＬ－ＩＡＰ、ＥＲＧ（ＴＭＰＲＳＳ２　ＥＴＳ融合遺伝子）、ＮＡ１７、ＰＡＸ３、アンドロゲン受容体、サイクリンＢ１、ＭＹＣＮ、ＲｈｏＣ、ＴＲＰ－２、ＣＹＰ１Ｂ１、ＢＯＲＩＳ、ＳＡＲＴ３、ＰＡＸ５、ＯＹ－ＴＥＳ１、ＬＣＫ、ＡＫＡＰ－４、ＳＳＸ２、ＲＡＧＥ－１、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、ＲＵ１、ＲＵ２、腸カルボキシルエステラーゼ、ｍｕｔ　ｈｓｐ７０－２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ７２、ＬＡＩＲ１、ＦＣＡＲ、ＬＩＬＲＡ２、ＣＤ３００ＬＦ、ＣＬＥＣ１２Ａ、ＢＳＴ２、ＥＭＲ２、ＬＹ７５、ＧＰＣ３、ＦＣＲＬ５、ＩＧＬＬ１並びにそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される１つ以上の腫瘍抗原を発現する癌を有する。

【０６５２】

いくつかの実施形態において、この方法は、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団及びウイルスベクターを含む組成物を対象に投与することを更に含み；ウイルスベクターは、腫瘍抗原を標的とするように操作されたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含有する発現ベクターを含む。

【０６５３】

方法のいくつかの実施形態において、組成物は、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団若しくはメソポーラスシリカ粒子の第２の集団又はＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）の両方の集団にコンジュゲート又は吸着されたＴ細胞刺激化合物又は腫瘍抗原を更に含む。代わりに、この方法は、例えば、ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）の第１の集団の投与と組み合わせて、同時に又はその直後に第２の持続放出剤、例えばメソポーラスシリカ粒子の第２の集団を

投与することを含む。代わりに、ＭＳＰの第２の集団（例えば、ＭＳＲ）は、ＭＳＰの第１の集団の投与から長期間後に投与され得る。

【０６５４】

いくつかの実施形態において、持続放出剤は、ＭＳＰの第１の集団を含み、第２の持続放出剤は、ＭＳＰの第２の集団を含む。

【０６５５】

いくつかの実施形態において、方法は、細胞活性化剤を投与することを含み、ここで、細胞活性化剤は、メソポーラスシリカ粒子の第１又は第２の集団にコンジュゲート又は吸着されている。

【０６５６】

いくつかの実施形態において、ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）の第２の集団は、ＭＳＰの第１の集団の投与と同時（例えば、同日に投与される）又は投与の直後（例えば、投与の１日、２日、３日、４日、５日、６日又は７日後）に対象に投与される。他の実施形態において、サイトカインは、ＭＳＰの第１の集団の投与の長期間（例えば、少なくとも２週間、３週間、４週間、６週間、８週間、１０週間又はそれを超える）後又は細胞に対する対象の応答の評価後、対象に投与される。

【０６５７】

前記方法又は使用のいずれかのいくつかの実施形態において、腫瘍抗原、例えば本明細書に記載の腫瘍抗原と関連する疾患、障害又は状態は、癌、若しくは悪性腫瘍、若しくは骨髄異形成、骨髄異形成症候群、若しくは前白血病などの前癌状態などの増殖性疾患から選択されるか、又は本明細書に記載の腫瘍抗原の発現と関連する非癌関連の適応症である。いくつかの実施形態において、疾患は、本明細書に記載の癌、例えば本明細書に記載の標的と関連すると本明細書に記載の癌である。いくつかの実施形態において、疾患は、血液癌である。いくつかの実施形態において、血液癌は、白血病である。いくつかの実施形態において、癌は、これらに限定されないが、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）を含む１つ以上の急性白血病；これらに限定されないが、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）を含む１つ以上の慢性白血病；これらに限定されないが、Ｂ細胞前リンパ球性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞の新生物、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、ヘアリーセル白血病、小細胞型又は大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性のリンパ増殖性状態、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、脊髄形成異常及び骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、形質芽細胞リンパ腫、形質細胞様樹状細胞の新生物、ワルデンシュトレーム型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（又は異形成）を併せもつ血液学的な状態の多様な集合体である「前白血病状態」を含む追加の血液癌又は血液学的状態からなる群から選択され、本明細書に記載の腫瘍抗原の発現に関連する疾患としては、これらに限定されないが、本明細書に記載の腫瘍抗原を発現する非定型的及び／又は非典型的な癌、悪性腫瘍、前癌状態又は増殖性疾患並びにそれらのあらゆる組み合わせが挙げられる。別の実施形態において、本明細書に記載の腫瘍抗原と関連する疾患は、固形腫瘍である。

【０６５８】

実施形態において、癌は、結腸癌、直腸癌、腎細胞癌、肝臓癌、肺の非小細胞癌、小腸癌、食道癌、黒色腫、骨癌、膵臓癌、皮膚癌、頭頸部癌、皮膚又は眼内の悪性黒色腫、子宮癌、卵巣癌、直腸癌、肛門部癌、胃癌、精巣癌、子宮癌、卵管癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、膣の癌、外陰癌、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、内分泌系癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、副腎癌、軟部組織肉腫、尿道癌、陰茎癌、小児固形腫瘍、膀胱癌、腎臓癌又は尿管癌、腎盂癌、中枢神経系（ＣＮＳ）新生物、原発性ＣＮＳリンパ腫、腫瘍血管新生、脊髄軸腫瘍、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、カポジ肉腫、類表皮癌、扁平上皮癌、Ｔ細胞リンパ腫、環境的に誘発された癌、前記癌の組み合わせ及び前記癌の転移性病変からなる群から選択される。

【０６５９】
いくつかの実施形態において、本発明のＣＡＲ発現細胞で処置され得る癌は、多発性骨髄腫である。一般的に、骨髄腫細胞は、フローサイトメトリーにより、本明細書に記載の癌関連抗原の発現について陰性であると考えられる。従って、いくつかの実施形態において、例えば本明細書に記載のＣＤ１９　ＣＡＲを、骨髄腫細胞を標的とするために使用し得る。いくつかの実施形態において、本発明のＣＡＲ治療を１つ以上の更なる治療、例えばレナリドマイド処置と組み合わせて使用することができる。
【０６６０】
様々な態様において、本明細書に記載の方法によって生成され、患者に投与された免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）又はその子孫は、患者にＴ細胞又はＮＫ細胞投与後、患者で少なくとも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年又は５年存続する。
【０６６１】
本発明は、免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）が、例えば、インビトロ又はインビボ転写ＲＮＡにより、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を一過性に発現するように修飾される細胞性治療のタイプも含む。得られた細胞は、対象又は患者の腫瘍細胞を死滅させることができる。従って、様々な態様において、免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）は、本明細書に記載の組成物の投与後、１ヶ月未満、例えば３週間、２週間、１週間未満存在する。
【０６６２】
何らかの特定の理論に拘束されないが、ＣＡＲ修飾免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）により惹起される抗腫瘍免疫応答は、能動的又は受動的免疫応答であり得るか又は代わりに直接的対間接的免疫応答によるものであり得る。いくつかの態様において、ＣＡＲ形質導入免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）は、本明細書に記載の癌関連抗原を発現するヒト癌細胞に応答して特定の炎症誘発性サイトカイン分泌及び強力な細胞溶解性活性を示し、本明細書に記載の可溶性癌関連抗原の阻害に抵抗し、バイスタンダー細胞死に介在し、確立されたヒト腫瘍の退縮に介在する。例えば、本明細書に記載の癌関連抗原を発現する腫瘍の不均一な場における抗原低腫瘍細胞は、近辺の抗原陽性癌細胞に対して先に反応している、本明細書に記載の癌関連抗原に再指向された免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）による間接的破壊を受け得る。
【０６６３】
いくつかの態様において、本発明の完全ヒトＣＡＲ修飾免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞）は、哺乳動物におけるエクスビボ免疫化及び／又はインビボ治療のための１種のワクチンである。いくつかの態様において、哺乳動物は、ヒトである。
【０６６４】
いくつかの態様において、本発明のＣＡＲ発現細胞を癌又は悪性腫瘍などの増殖性疾患又は脊髄形成異常症、骨髄異形成症候群又は前白血病状態などの前癌状態の処置に使用し得る。更に、本明細書に記載の癌関連抗原に関連する疾患としては、これらに限定されないが、例えば本明細書に記載の癌関連抗原を発現する非定型的及び／又は非典型的な癌、悪性腫瘍、前癌状態又は増殖性疾患が挙げられる。本明細書に記載の癌関連抗原の発現に関連する非癌関連の適応症には、限定されないが、例えば自己免疫疾患（例えば、狼瘡）、炎症性障害（アレルギー及び喘息）及び移植が含まれる。
【０６６５】
いくつかの態様において、本発明のＣＡＲ発現細胞は、自己免疫疾患、炎症性疾患又は移植を処置するために使用され得る。例示的な自己免疫疾患として、限定されないが、以下が挙げられる：アジソン病、無ガンマグロブリン血症、円形脱毛症、アミロイドーシス、強直性脊椎炎、抗ＧＢＭ／抗ＴＢＭ腎炎、抗リン脂質症候群（ＡＰＳ）、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患（ＡＩＥＤ）、軸索及び神経性ニューロパチー（ＡＭＡＮ）、ベ

ーチェット病、水疱性類天疱瘡、キャッスルマン病（ＣＤ）、セリアック病、シャーガス病、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー（ＣＩＤＰ）、慢性再発性多発性骨髄炎（ＣＲＭＯ）、チャーグ・ストラウス（Ｃｈｕｒｇ－Ｓｔｒａｕｓｓ）、瘢痕性類天疱瘡／良性粘膜類天疱瘡、コーガン症候群、寒冷凝集素症、先天性心ブロック、コクサッキー心筋炎、ＣＲＥＳＴ症候群、クローン病、疱疹状皮膚炎、皮膚筋炎、デビック病（視神経脊髄炎）、円板状ループス、ドレスラー症候群、子宮内膜症、好酸球性食道炎（ＥｏＥ）、好酸球性筋膜炎、結節性紅斑、混合性本態性クリオグロブリン血症、エバンス症候群、線維筋痛症、線維化肺胞炎、巨細胞性動脈炎（側頭動脈炎）、巨細胞性心筋炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、多発血管炎性肉芽腫症、バセドウ病、ギランバレー症候群、橋本甲状腺炎、溶血性貧血、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病（ＨＳＰ）、妊娠性疱疹若しくは妊娠性類天疱瘡（ＰＧ）、低ガンマグロブリン血症、ＩｇＡ腎症、ＩｇＧ４関連硬化性疾患、封入体筋炎（ＩＢＭ）、間質性膀胱炎（ＩＣ）、若年性関節炎、若年性糖尿病（１型糖尿病）、若年性筋炎（ＪＭ）、川崎病、ランバート・イートン症候群、白血球破砕性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質結膜炎、線状ＩｇＡ病（ＬＡＤ）、狼瘡、慢性ライム病、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎（ＭＰＡ）、混合性結合組織病（ＭＣＴＤ）、ムーレン潰瘍、ムッハ・ハーベルマン病、多発性硬化症（ＭＳ）、重症筋無力症、筋炎、ナルコレプシー、視神経脊髄炎、好中球減少、眼部瘢痕性類天疱瘡、視神経炎、回帰性リウマチ（ＰＲ）、ＰＡＮＤＡＳ（小児自己免疫性溶連菌関連性神経精神障害）、傍腫瘍性小脳変性症（ＰＣＤ）、発作性夜間ヘモグロビン尿症（ＰＮＨ）、パリー・ロンバーグ症候群、扁平部炎（末梢ブドウ膜炎）、パーソネイジ・ターナー症候群、天疱瘡、末梢神経障害、周静脈性脳脊骨髄炎、悪性貧血（ＰＡ）、ＰＯＥＭＳ症候群（多発性神経炎、臓器腫大、内分泌異常、単クローン性γグロブリン血症、皮膚症状）、結節性多発性動脈炎、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開後症候群、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、プロゲステロン皮膚炎、乾癬、乾癬性関節炎、赤芽球癆（ＰＲＣＡ）、壊疽性膿皮症、レイノー現象、反応性関節炎、反射性交感神経性ジストロフィー、ライター症候群、再発性多発性軟骨炎、レストレスレッグス症候群（ＲＬＳ）、後腹膜線維症、リウマチ熱、関節リウマチ（ＲＡ）、サルコイドーシス、シュミット症候群、強膜炎、強皮症、シェーグレン症候群、精子及び精巣自己免疫、スティッフパーソン症候群（ＳＰＳ）、亜急性細菌性心内膜炎（ＳＢＥ）、スサック症候群、交感性眼炎（ＳＯ）、高安動脈炎、側頭動脈炎／巨細胞性動脈炎、血小板減少性紫斑病（ＴＴＰ）、トロサ・ハント症候群（ＴＨＳ）、横断性脊髄炎、１型糖尿病、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、未分化結合組織疾患（ＵＣＴＤ）、ブドウ膜炎、血管炎、白斑又はウェゲナー肉芽腫症（多発血管炎性肉芽腫症（ＧＰＡ））。いくつかの実施形態において、ＣＡＲは、Ｂ細胞抗原、例えばＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ１２３、ＦｃＲｎ５、ＦｃＲｎ２、ＢＣＭＡ、ＣＳ－１及びＣＤ１３８に結合する。

【０６６６】

本発明のＣＡＲ修飾免疫エフェクター細胞、（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）を、単独で或いは希釈剤及び／若しくはＩＬ－２又は他のサイトカイン若しくは細胞集団などの他の成分と組み合わせて医薬組成物として投与し得る。

【０６６７】

血液癌

血液癌状態は、白血病、リンパ腫並びに血液、骨髄及びリンパ系に影響する悪性リンパ増殖状態などの癌の型である。

【０６６８】

白血病は、急性白血病及び慢性白血病に分類できる。急性白血病は、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）及び急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）として更に分類され得る。慢性白血病は、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）及び慢性リンパ系白血病（ＣＬＬ）を含む。他の関連する状態は、骨髄球性血液細胞の産生不良（又は異形成）によりまとめられる血液学的状態の多様なコレクションであり、ＡＭＬに癌化するリスクがある、骨髄異形成症候群（ＭＤＳ、以前は「前白血病状態」として知られる）である。

【０６６９】
リンパ腫は、リンパ球から生じる血液細胞腫瘍の群である。代表的リンパ腫は、非ホジキンリンパ腫及びホジキンリンパ腫を含む。
【０６７０】
本発明は、本明細書に記載の癌関連抗原の増殖を阻害又は低減するための方法も提供し、方法は、本明細書に記載の癌関連抗原を含む細胞の集団を、メソポーラスシリカ粒子とウイルスベクターとを含む組成物と接触させることを含む。特定の態様において、ＭＳＰは、本明細書に記載されるように表面修飾されている。他の実施形態において、ウイルスベクターは、発現されるヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。例示的なヌクレオチド配列は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、操作されたＴＣＲ、サイトカイン、ケモカイン、阻害分子を遮断するｓｈＲＮＡ又はタンパク質の発現を誘導するｍＲＮＡを発現する。いくつかの態様において、本発明のＣＡＲ発現Ｔ細胞又はＮＫ細胞は、細胞及び／又は癌細胞の含量、数、量又はパーセンテージを、陰性対照と比較して、骨髄性白血病又は本明細書に記載の癌関連抗原を発現する細胞と関連する別の癌を有する対象又は動物モデルで少なくとも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％又は少なくとも９９％減少させる。いくつかの態様において、対象は、ヒトである。
【０６７１】
組み合わせ治療
本明細書で使用する「組み合わせて」投与するは２つ（以上）の異なる処置を、対象が障害に罹患している過程中に対象に送達することを意味し、例えば２つ以上の処置を、対象が障害と診断された後且つ障害が治癒又は撲滅される前又は処置が他の理由で中止される前に送達される。いくつかの実施形態において、投与期間の重複があるように、一方の処置の送達は、第２の処置の送達開始時にまだ行われている。これは、本明細書では「同時（ｓｉｍｕｌｔａｎｅｏｕｓ）」又は「同時（ｃｏｎｃｕｒｒｅｎｔ）送達」という場合がある。他の実施形態において、他の実施形態において、一方の処置の送達は、他の処置の送達が始まる前に終わる。いずれかの場合のいくつかの実施形態において、処置は、組み合わせ投与のためにより有効である。例えば、第２の処置剤は、より有効である、例えば等しい効果が少ない第２の処置剤で見られるか、又は第２の処置剤が、第２の処置剤を第１の処置剤非存在下で投与したときに見られるよりも大きい程度で症状を軽減する又は第１の処置剤で同様な状況が見られる。いくつかの実施形態において、送達、障害と関係する症状又は他のパラメータの減少は、他方の処置剤の非存在下で一方の処置剤の送達で観察されるより大きい。２つの処置の効果は、部分的に相加的、完全に相加的又は相加的より大きいものであり得る。送達は、送達した第１の処置の効果が第２の処置の送達時になお検出可能であるようなものであり得る。
【０６７２】
いくつかの実施形態において、方法又は使用は、免疫エフェクター細胞の有効性を高める薬剤、例えば本明細書に記載の薬剤と組み合わせて実施される。
【０６７３】
本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、メソポーラスシリカロッド組成物は、免疫エフェクター細胞の有効性を高める薬剤、例えばタンパク質ホスファターゼ阻害剤、キナーゼ阻害剤、サイトカイン、免疫阻害分子の阻害剤の１つ以上；又はT_{REG}細胞のレベル又は活性を減少させる薬剤と組み合わせて投与される。
【０６７４】
本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、タンパク質ホスファターゼ阻害剤は、ＳＨＰ－１阻害剤及び／又はＳＨＰ－２阻害剤である。
【０６７５】
本明細書に記載の方法又は使用の他の実施形態において、キナーゼ阻害剤は、ＣＤＫ４阻害剤、ＣＤＫ４／６阻害剤（例えば、パルボシクリブ）、ＢＴＫ阻害剤（例えば、イブ

ルチニブ又はＲＮ－４８６）、ｍＴＯＲ阻害剤（例えば、ラパマイシン又はエベロリムス（ＲＡＤ００１））、ＭＮＫ阻害剤又はデュアルＰ１３Ｋ／ｍＴＯＲ阻害剤の１つ以上から選択される。いくつかの実施形態において、ＢＴＫ阻害剤は、インターロイキン－２－誘導性キナーゼ（ＩＴＫ）のキナーゼ活性を低減又は阻害しない。

【０６７６】

本明細書に記載の方法又は使用の他の実施形態において、免疫阻害分子を阻害する薬剤は、阻害分子の発現を阻害する抗体又は抗体フラグメント、阻害性核酸、クラスター化等間隔短回文反復配列（ＣＲＩＳＰＲ）、転写アクティベーター様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥＮ）又は亜鉛フィンガーエンドヌクレアーゼ（ＺＦＮ）を含む。

【０６７７】

本明細書に記載の方法又は使用の別の実施形態において、ＴＲＥＧ細胞のレベル又は活性を低下させる薬剤は、シクロホスファミド、抗ＧＩＴＲ抗体、ＣＤ２５枯渇又はそれらの組み合わせから選択される。

【０６７８】

本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、免疫阻害分子は、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４、ＴＩＭ－３、ＬＡＧ－３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＴＧＦＲベータ、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及びＣＥＡＣＡＭ－５からなる群から選択される。

【０６７９】

他の実施形態において、阻害分子を阻害する薬剤は、阻害分子又はそのフラグメントを含む第１のポリペプチド及び細胞に正のシグナルを提供する第２のポリペプチドを含み、ここで、第１及び第２のポリペプチドは、ＣＡＲ含有免疫細胞上に発現され、ここで、（ｉ）第１のポリペプチドは、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４、ＴＩＭ－３、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＴＧＦＲベータ、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及びＣＥＡＣＡＭ－５又はそのフラグメントを含み；及び／又は（ｉｉ）第２のポリペプチドは、一次シグナル伝達ドメイン及び／又は共刺激シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施形態において、一次シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ゼータの機能的ドメインを含み；及び／又は共刺激シグナル伝達ドメインは、４１ＢＢ、ＣＤ２７及びＣＤ２８から選択されるタンパク質の機能的ドメインを含む。

【０６８０】

他の実施形態において、サイトカインは、ＩＬ－７、ＩＬ－１５又はＩＬ－２１又はそれらの組み合わせから選択される。

【０６８１】

別の実施形態において、ＣＡＲ分子を含む免疫エフェクター細胞及び第２の、例えば本明細書に開示される組み合わせ治療のいずれか（例えば、免疫エフェクター細胞の有効性を高める薬剤）は、実質的に同時に又は逐次的に投与される。

【０６８２】

他の実施形態において、ＣＡＲ分子を含む免疫細胞は、ＧＩＴＲを標的とし、且つ／又はＧＩＴＲ機能を調節する分子と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、ＧＩＴＲを標的とし、且つ／又はＧＩＴＲ機能を調節する分子は、ＣＡＲ発現細胞若しくは細胞の集団の前又はアフェレーシスの前に投与される。

【０６８３】

いくつかの実施形態において、リンパ球注入、例えば同種異系リンパ球注入が癌の処置に使用され、ここで、リンパ球注入は、少なくとも１つの本発明のＣＡＲ発現細胞を含む。いくつかの実施形態において、自己リンパ球注入が癌の処置に使用され、ここで、自己リンパ球注入は、少なくとも１つの本明細書に記載のＣＡＲ発現細胞を含む。

【０６８４】

いくつかの実施形態において、細胞は、Ｔ細胞であり、このＴ細胞は、ジアシルグリセロールキナーゼ（ＤＧＫ）欠損である。いくつかの実施形態において、細胞は、Ｔ細胞で

あり、このＴ細胞は、イカロス欠損である。いくつかの実施形態において、細胞は、Ｔ細胞であり、このＴ細胞は、ＤＧＫ及びイカロスの両方が欠損している。

【０６８５】

上記の方法又は使用のいずれかの実施形態において、腫瘍抗原の発現と関連する疾患を処置する薬剤、例えば本明細書に開示される第二又は第三選択治療のいずれかの更なる投与があり得る。更なる例示的な組み合わせは、以下の１つ以上を含む。

【０６８６】

別の実施形態において、別の薬剤、例えば本明細書に記載のキナーゼ阻害剤及び／又はチェックポイント阻害剤の更なる投与があり得る。例えば、ＣＡＲ発現細胞の活性を増強する薬剤の更なる投与があり得る。

【０６８７】

例えば、いくつかの実施形態において、ＣＡＲ発現細胞の活性を増強する薬剤は、阻害分子を阻害する薬剤（例えば、免疫阻害剤分子）であり得る。阻害分子の例は、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４、ＴＩＭ－３、ＣＥＡＣＡＭ（例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及び／又はＣＥＡＣＡＭ－５）、ＬＡＧ－３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４及びＴＧＦＲベータを含む。

【０６８８】

いくつかの実施形態において、阻害分子を阻害する薬剤は、阻害性核酸であり、ｄｓＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ又はｓｈＲＮＡである。実施形態において、阻害性核酸は、ＣＡＲ分子の成分をコードする核酸に連結されている。例えば、阻害分子は、ＣＡＲ発現細胞上に発現され得る。

【０６８９】

別の実施形態において、阻害分子を阻害する薬剤は、例えば、本明細書に記載の分子、例えば細胞に正のシグナルを提供する第２のポリペプチド、例えば本明細書に記載の細胞内シグナル伝達ドメインに結合した第１のポリペプチド、例えば阻害分子を含む薬剤である。いくつかの実施形態において、薬剤は、例えば、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４、ＴＩＭ－３、ＣＥＡＣＡＭ（例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及び／又はＣＥＡＣＡＭ－５）、ＬＡＧ－３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４又はＴＧＦＲベータ又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）などの阻害分子の第１のポリペプチド及び本明細書に記載の細胞内シグナル伝達ドメインである第２のポリペプチド（例えば、共刺激ドメイン（例えば、本明細書に記載の例えば４１ＢＢ、ＣＤ２７又はＣＤ２８）及び／又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２のポリペプチドを含む。いくつかの実施形態において、薬剤は、ＰＤ１又はそのフラグメント（例えば、ＰＤ１の少なくとも細胞外ドメインの部分）の第１ポリペプチド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２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／又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。

【０６９０】

いくつかの実施形態において、本発明のＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞又はＮＫ細胞は、先の幹細胞移植、例えば自己幹細胞移植を受けた対象に投与される。

【０６９１】

いくつかの実施形態において、本発明のＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞又はＮＫ細胞は、先にメルファランの投与を受けた対象に投与される。

【０６９２】

いくつかの実施形態において、ＣＡＲ分子、例えば本明細書に記載のＣＡＲ分子を発現する細胞を、ＣＡＲ分子を発現する細胞の有効性を高める薬剤、例えば本明細書に記載の薬剤と組み合わせて投与する。

【０６９３】

いくつかの実施形態において、ＣＡＲ分子、例えば本明細書に記載のＣＡＲ分子を発現

する細胞を、ＣＡＲ分子を発現する細胞の投与と関連する１つ以上の副作用を軽減する薬剤、例えば本明細書に記載の薬剤と組み合わせて投与する。

【０６９４】

いくつかの実施形態において、ＣＡＲ分子、例えば本明細書に記載のＣＡＲ分子を発現する細胞を、本明細書に記載の癌関連抗原と関連する疾患を処置する薬剤、例えば本明細書に記載の薬剤と組み合わせて投与する。

【０６９５】

いくつかの実施形態において、例えば、本明細書に記載の２つ以上のＣＡＲ分子を発現する細胞は、癌を処置するために、それを必要とする対象に投与される。いくつかの実施形態において、例えば、本明細書に記載のＣＡＲ発現細胞を含む細胞の集団は、癌を処置するために、それを必要とする対象に投与される。

【０６９６】

本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、ＣＡＲ分子は、別の薬剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、薬剤は、キナーゼ阻害剤、例えばＣＤＫ４／６阻害剤、ＢＴＫ阻害剤、ｍＴＯＲ阻害剤、ＭＮＫ阻害剤又はデュアルＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲ阻害剤及びそれらの組み合わせであり得る。いくつかの実施形態において、キナーゼ阻害剤は、ＣＤ４阻害剤、例えば本明細書に記載のＣＤＫ４阻害剤、例えば６－アセチル－８－シクロペンチル－５－メチル－２－（５－ピペラジン－１－イル－ピリジン－２－イルアミノ）－８Ｈ－ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－７－オン、ヒドロクロライド（パルボシクリブ又はＰＤ０３３２９９１とも呼ばれる）など、例えばＣＤＫ４／６阻害剤である。いくつかの実施形態において、キナーゼ阻害剤は、ＢＴＫ阻害剤、例えばイブルチニブなど、例えば本明細書に記載のＢＴＫ阻害剤である。いくつかの実施形態において、キナーゼ阻害剤は、ｍＴＯＲ阻害剤、例えばラパマイシン、ラパマイシン類似体、ＯＳＩ－０２７など、例えば本明細書に記載のｍＴＯＲ阻害剤である。ｍＴＯＲ阻害剤は、例えば、ｍＴＯＲＣ１阻害剤及び／又はｍＴＯＲＣ２阻害剤、例えば本明細書に記載のｍＴＯＲＣ１阻害剤及び／又はｍＴＯＲＣ２阻害剤であり得る。いくつかの実施形態において、キナーゼ阻害剤は、ＭＮＫ阻害剤、例えば４－アミノ－５－（４－フルオロアニリノ）－ピラゾロ［３，４－ｄ］ピリミジンなど、例えば本明細書に記載のＭＮＫ阻害剤である。ＭＮＫ阻害剤は、例えば、ＭＮＫ１ａ、ＭＮＫ１ｂ、ＭＮＫ２ａ及び／又はＭＮＫ２ｂ阻害剤であり得る。デュアルＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲ阻害剤は、例えば、ＰＦ－０４６９５１０２であり得る。

【０６９７】

本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、キナーゼ阻害剤は、アロイシンＡ；フラボピリドール又はＨＭＲ－１２７５、２－（２－クロロフェニル）－５，７－ジヒドロキシ－８－［（３Ｓ，４Ｒ）－３－ヒドロキシ－１－メチル－４－ピペリジニル］－４－クロメノン；クリゾチニブ（ＰＦ－０２３４１０６６；２－（２－クロロフェニル）－５，７－ジヒドロキシ－８－［（２Ｒ，３Ｓ）－２－（ヒドロキシメチル）－１－メチル－３－ピロリジニル］－４Ｈ－１－ベンゾピラン－４－オン、ヒドロクロライド（Ｐ２７６－００）；１－メチル－５－［［２－［５－（トリフルオロメチル）－１Ｈ－イミダゾール－２－イル］－４－ピリジニル］オキシ］－Ｎ－［４－（トリフルオロメチル）フェニル］－１Ｈ－ベンズイミダゾール－２－アミン（ＲＡＦ２６５）；インジスラム（Ｅ７０７０）；ロスコビチン（ＣＹＣ２０２）；パルボシクリブ（ＰＤ０３３２９９１）；ジナシクリブ（ＳＣＨ７２７９６５）；Ｎ－［５－［［（５－ｔｅｒｔ－ブチルオキサゾール－２－イル）メチル］チオ］チアゾール－２－イル］ピペリジン－４－カルボキサミド（ＢＭＳ　３８７０３２）；４－［［９－クロロ－７－（２，６－ジフルオロフェニル）－５Ｈ－ピリミド［５，４－ｄ］［２］ベンズアゼピン－２－イル］アミノ］－安息香酸（ＭＬＮ８０５４）；５－［３－（４，６－ジフルオロ－１Ｈ－ベンズイミダゾール－２－イル）－１Ｈ－インダゾール－５－イル］－Ｎ－エチル－４－メチル－３－ピリジンメタンアミン（ＡＧ－０２４３２２）；４－（２，６－ジクロロベンゾイルアミノ）－１Ｈ－ピラゾール－３－カルボン酸Ｎ－（ピペリジン－４－イル）アミド（ＡＴ

７５１９）；４－［２－メチル－１－（１－メチルエチル）－１Ｈ－イミダゾール－５－イル］－Ｎ－［４－（メチルスルホニル）フェニル］－２－ピリミジンアミン（ＡＺＤ５４３８）；及びＸＬ２８１（ＢＭＳ９０８６６２）から選択されるＣＤＫ４阻害剤である。

【０６９８】

本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、キナーゼ阻害剤は、ＣＤＫ４阻害剤、例えばパルボシクリブ（ＰＤ０３３２９９１）であり、パルボシクリブを一定期間にわたり１日約５０ｍｇ、６０ｍｇ、７０ｍｇ、７５ｍｇ、８０ｍｇ、９０ｍｇ、１００ｍｇ、１０５ｍｇ、１１０ｍｇ、１１５ｍｇ、１２０ｍｇ、１２５ｍｇ、１３０ｍｇ、１３５ｍｇ（例えば、７５ｍｇ、１００ｍｇ又は１２５ｍｇ）の用量で例えば２８日サイクルの１４～２１日間連日又は２１日サイクルの７～１２日間連日投与する。いくつかの実施形態において、１サイクル、２サイクル、３サイクル、４サイクル、５サイクル、６サイクル、７サイクル、８サイクル、９サイクル、１０サイクル、１１サイクル、１２サイクル又はそれを超えるパルボシクリブを投与する。

【０６９９】

本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、キナーゼ阻害剤は、イブルチニブ（ＰＣＩ－３２７６５）；ＧＤＣ－０８３４；ＲＮ－４８６；ＣＧＩ－５６０；ＣＧＩ－１７６４；ＨＭ－７１２２４；ＣＣ－２９２；ＯＮＯ－４０５９；ＣＮＸ－７７４；及びＬＦＭ－Ａ１３から選択されるＢＴＫ阻害剤である。いくつかの実施形態において、ＢＴＫ阻害剤は、インターロイキン－２－誘導性キナーゼ（ＩＴＫ）のキナーゼ活性を低減又は阻害せず、ＧＤＣ－０８３４；ＲＮ－４８６；ＣＧＩ－５６０；ＣＧＩ－１７６４；ＨＭ－７１２２４；ＣＣ－２９２；ＯＮＯ－４０５９；ＣＮＸ－７７４；及びＬＦＭ－Ａ１３から選択される。

【０７００】

本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、キナーゼ阻害剤は、ＢＴＫ阻害剤、例えばイブルチニブ（ＰＣＩ－３２７６５）であり、イブルチニブを一定期間にわたり１日約２５０ｍｇ、３００ｍｇ、３５０ｍｇ、４００ｍｇ、４２０ｍｇ、４４０ｍｇ、４６０ｍｇ、４８０ｍｇ、５００ｍｇ、５２０ｍｇ、５４０ｍｇ、５６０ｍｇ、５８０ｍｇ、６００ｍｇ（例えば、２５０ｍｇ、４２０ｍｇ又は５６０ｍｇ）の用量で例えば２１日サイクルの連日又は２８日サイクルの連日投与する。いくつかの実施形態において、１サイクル、２サイクル、３サイクル、４サイクル、５サイクル、６サイクル、７サイクル、８サイクル、９サイクル、１０サイクル、１１サイクル、１２サイクル又はそれを超えるイブルチニブを投与する。

【０７０１】

本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、キナーゼ阻害剤は、ＩＴＫのキナーゼ活性を阻害しないＢＴＫ阻害剤、例えばＲＮ－４８６であり、ＲＮ－４８６を一定期間にわたり１日約１００ｍｇ、１１０ｍｇ、１２０ｍｇ、１３０ｍｇ、１４０ｍｇ、１５０ｍｇ、１６０ｍｇ、１７０ｍｇ、１８０ｍｇ、１９０ｍｇ、２００ｍｇ、２１０ｍｇ、２２０ｍｇ、２３０ｍｇ、２４０ｍｇ、２５０ｍｇ（例えば、１５０ｍｇ、２００ｍｇ又は２５０ｍｇ）の用量で、例えば２８日サイクルの連日投与する。いくつかの実施形態において、１サイクル、２サイクル、３サイクル、４サイクル、５サイクル、６サイクル、７サイクル又はそれを超えるサイクルのＲＮ－４８６が投与される。

【０７０２】

本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、キナーゼ阻害剤は、テムシロリムス；リダフォロリムス（１Ｒ，２Ｒ，４Ｓ）－４－［（２Ｒ）－２－［（１Ｒ，９Ｓ，１２Ｓ，１５Ｒ，１６Ｅ，１８Ｒ，１９Ｒ，２１Ｒ、２３Ｓ，２４Ｅ，２６Ｅ，２８Ｚ，３０Ｓ，３２Ｓ，３５Ｒ）－１，１８－ジヒドロキシ－１９，３０－ジメトキシ－１５，１７，２１，２３、２９，３５－ヘキサメチル－２，３，１０，１４，２０－ペンタオキソ－１１，３６－ジオキサ－４－アザトリシクロ［３０．３．１．０^{4,9}］ヘキサトリアコンター１６，２４，２６，２８－テトラエン－１２－イル］プロピル］－２

－メトキシシクロヘキシルジメチルホスフィネート、ＡＰ２３５７３及びＭＫ８６６９としても知られる；エベロリムス（ＲＡＤ００１）；ラパマイシン（ＡＹ２２９８９）；セマピモド；（５－｛２，４－ビス［（３Ｓ）－３－メチルモルホリン－４－イル］ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－７－イル｝－２－メトキシフェニル）メタノール（ＡＺＤ８０５５）；２－アミノ－８－［トランス－４－（２－ヒドロキシエトキシ）シクロヘキシル］－６－（６－メトキシ－３－ピリジニル）－４－メチル－ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－７（８Ｈ）－オン（ＰＦ０４６９１５０２）；及びＮ^{2}－［１，４－ジオキソ－４－［［４－（４－オキソ－８－フェニル－４Ｈ－１－ベンゾピラン－２－イル）モルホリニウム－４－イル］メトキシ］ブチル］－Ｌ－アルギニルグリシル－Ｌ－α－アスパルチルＬ－セリン－（配列番号６９２）、分子内塩（ＳＦ１１２６）；及びＸＬ７６５から選択されるｍＴＯＲ阻害剤である。

【０７０３】

本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、キナーゼ阻害剤は、ｍＴＯＲ阻害剤、例えばラパマイシンであり、ラパマイシンを約３ｍｇ、４ｍｇ、５ｍｇ、６ｍｇ、７ｍｇ、８ｍｇ、９ｍｇ、１０ｍｇ（例えば、６ｍｇ）の用量で連日、一定期間、例えば２１日サイクルで連日又は２８日サイクルで連日投与する。いくつかの実施形態において、１サイクル、２サイクル、３サイクル、４サイクル、５サイクル、６サイクル、７サイクル、８サイクル、９サイクル、１０サイクル、１１サイクル、１２サイクル又はそれを超えるラパマイシンを投与する。いくつかの実施形態において、キナーゼ阻害剤は、ｍＴＯＲ阻害剤、例えばエベロリムスであり、エベロリムスを一定期間にわたり１日約２ｍｇ、２．５ｍｇ、３ｍｇ、４ｍｇ、５ｍｇ、６ｍｇ、７ｍｇ、８ｍｇ、９ｍｇ、１０ｍｇ、１１ｍｇ、１２ｍｇ、１３ｍｇ、１４ｍｇ、１５ｍｇ（例えば、１０ｍｇ）の用量において例えば２８日サイクルで連日投与する。いくつかの実施形態において、１サイクル、２サイクル、３サイクル、４サイクル、５サイクル、６サイクル、７サイクル、８サイクル、９サイクル、１０サイクル、１１サイクル、１２サイクル又はそれを超えるエベロリムスを投与する。

【０７０４】

本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、キナーゼ阻害剤は、ＣＧＰ０５２０８８；４－アミノ－３－（ｐ－フルオロフェニルアミノ）－ピラゾロ［３，４－ｄ］ピリミジン（ＣＧＰ５７３８０）；セルコスポラミド；ＥＴＣ－１７８０４４５～２；及び４－アミノ－５－（４－フルオロアニリノ）－ピラゾロ［３，４－ｄ］ピリミジンから選択されるＭＮＫ阻害剤である。

【０７０５】

本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、キナーゼ阻害剤は、２－アミノ－８－［ｔｒａｎｓ－４－（２－ヒドロキシエトキシ）シクロヘキシル］－６－（６－メトキシ－３－ピリジニル）－４－メチル－ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－７（８Ｈ）－オン（ＰＦ－０４６９１５０２）；Ｎ－［４－［［４－（ジメチルアミノ）－１－ピペリジニル］カルボニル］フェニル］－Ｎ’－［４－（４，６－ジ－４－モルホリニル－１，３，５－トリアジン－２－イル）フェニル］尿素（ＰＦ－０５２１２３８４、ＰＫＩ－５８７）；２－メチル－２－｛４－［３－メチル－２－オキソ－８－（キノリン－３－イル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－イミダゾ［４，５－ｃ］キノリン－１－イル］フェニル｝プロパンニトリル（ＢＥＺ－２３５）；アピトリシブ（ＧＤＣ－０９８０、ＲＧ７４２２）；２，４－ジフルオロ－Ｎ－｛２－（メチルオキシ）－５－［４－（４－ピリダジニル）－６－キノリニル］－３－ピリジニル｝ベンゼンスルホンアミド（ＧＳＫ２１２６４５８）；８－（６－メトキシピリジン－３－イル）－３－メチル－１－（４－（ピペラジン－１－イル）－３－（トリフルオロメチル）フェニル）－１Ｈ－イミダゾ［４，５－ｃ］キノリン－２（３Ｈ）－オンマレイン酸（ＮＶＰ－ＢＧＴ２２６）；３－［４－（４－モルホリニルピリド［３’，２’：４，５］フロ［３，２－ｄ］ピリミジン－２－イル］フェノール（ＰＩ－１０３）；５－（９－イソプロピル－８－メチル－２－モルホリノ－９Ｈ－プリン－６－イル）ピリミジン－２－アミン（ＶＳ－５５８４、ＳＢ２３４

３）；及びＮ－［２－［（３，５－ジメトキシフェニル）アミノ］キノキサリン－３－イル］－４－［（４－メチル－３－メトキシフェニル）カルボニル］アミノフェニルスルホンアミド（ＸＬ７６５）から選択されるデュアルホスファチジルイノシトール３－キナーゼ（ＰＩ３Ｋ）及びｍＴＯＲ阻害剤である。

【０７０６】

本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤、例えば本明細書に記載のタンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤の更なる投与があり得る。いくつかの実施形態において、タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤は、ＳＨＰ－１阻害剤、例えばスチボグルコン酸ナトリウムなど、例えば本明細書に記載のＳＨＰ－１阻害剤である。いくつかの実施形態において、タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤は、ＳＨＰ－２阻害剤である。

【０７０７】

本明細書に記載の方法又は使用のいくつかの実施形態において、別の薬剤の更なる投与があり得、薬剤は、サイトカインである。サイトカインは、例えば、ＩＬ－７、ＩＬ－１５、ＩＬ－２１又はそれらの組み合わせであり得る。別の実施形態において、ＣＡＲ分子をチェックポイント阻害剤、例えば本明細書に記載のチェックポイント阻害剤と組み合わせて投与する。例えば、いくつかの実施形態において、チェックポイント阻害剤は、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４、ＴＩＭ－３、ＣＥＡＣＡＭ（例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及び／又はＣＥＡＣＡＭ－５）、ＬＡＧ－３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４及びＴＧＦＲベータから選択される阻害分子を阻害する。

【０７０８】

本明細書に記載の方法又は使用の他の実施形態において、ＣＡＲ分子を発現する細胞に関連する１つ以上の副作用を改善する薬剤の更なる投与があり得る。ＣＡＲ発現細胞と関連する副作用は、サイトカイン放出症候群（ＣＲＳ）又は血球貪食性リンパ組織球症（ＨＬＨ）から選択され得る。

【０７０９】

本発明は、本明細書に記載の癌関連抗原を発現する細胞（例えば、本明細書に記載の癌関連抗原を発現する血液癌又は非定型癌）と関連する疾患を予防、処置及び／又は管理する方法も提供し、方法は、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団とウイルスベクターとを含む組成物を対象に投与することを含み、ここで、ウイルスベクターは、腫瘍抗原を標的とするように操作されたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。いくつかの態様において、対象は、ヒトである。本明細書に記載の癌関連抗原を発現する細胞と関係する障害の非限定的な例は、自己免疫性障害（狼瘡など）、炎症性障害（アレルギー及び喘息など）及び癌（本明細書に記載の癌関連抗原を発現する血液癌又は非定型癌など）を含む。

【０７１０】

本発明は、本明細書に記載の癌関連抗原を発現する細胞と関連する疾患を予防、処置及び／又は管理する方法も提供し、方法は、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団とウイルスベクターとを含む組成物を対象に投与することを含み、ここで、ウイルスベクターは、腫瘍抗原を標的とするように操作されたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。いくつかの態様において、対象は、ヒトである。

【０７１１】

本発明は、本明細書に記載の癌関連抗原を発現する細胞と関連する癌の再発を予防する方法を提供し、方法は、メソポーラスシリカ粒子の第１の集団とウイルスベクターとを含む組成物を対象に投与することを含み、ここで、ウイルスベクターは、腫瘍抗原を標的とするように操作されたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。

【０７１２】
「免疫学的に有効量」、「抗腫瘍有効量」、「腫瘍阻害有効量」又は「治療量」が示されるとき、本発明の組成物の投与すべき正確な量は、年齢、体重、腫瘍サイズ、感染の程度又は転移及び患者（対象）の状態の個体差を考慮して医師が決定できる。
【０７１３】
いくつかの態様において、活性化免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）を対象に投与し、次いで血液を採り（又はアフェレーシスを実施し）、本発明に従って免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）を活性化し、これらの活性化及び増殖し、且つ増殖させた免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）を患者に再注入することが望ましい場合がある。この過程を数週間毎に複数回実施できる。いくつかの態様において、免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）を、１０ｃｃ～４００ｃｃの採血した血液から活性化できる。いくつかの態様において、免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）を、２０ｃｃ、３０ｃｃ、４０ｃｃ、５０ｃｃ、６０ｃｃ、７０ｃｃ、８０ｃｃ、９０ｃｃ又は１００ｃｃの採血した血液から活性化する。
【０７１４】
対象組成物の投与は、エアロゾル吸入、注射、摂取、輸注、留置又は移植を含む任意の簡便な方法により実施し得る。本明細書に記載の組成物を患者に経動脈的に、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．）注射により又は腹腔内に投与し得る。いくつかの態様において、本発明のＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）組成物を皮内又は皮下注射により患者に投与する。いくつかの態様において、本発明のＴ細胞組成物を非経口投与する。Ｔ細胞組成物の「非経口」投与という用語は、例えば、髄腔内、硬膜外、頭蓋内、皮下（ｓ．ｃ．）、静脈内（ｉ．ｖ．）、筋肉内（ｉ．ｍ．）又は胸骨内注射、腫瘍内又は輸注技法を含む。特定の実施形態において、Ｔ細胞組成物は、静脈内投与される。いくつかの実施形態において、ＭＳＰ（例えば、ＭＳＲ）及びウイルスベクターの組成物は、腫瘍、リンパ節又は感染部位に直接注射され得る。
【実施例】
【０７１５】
実施例Ａ．メソポーラスシリカ粒子の合成及び後官能化
特に記載がない限り、全ての試薬は、市販の供給源から入手し、そのまま使用した。
【０７１６】
１．メソポーラスシリカ粒子の例示的な合成
ポリ（エチレングリコール）－ブロック－ポリ（プロピレングリコール）－ブロック－ポリ（エチレングリコール）平均Ｍｎ～５，８００（Ｐｌｕｒｏｎｉｃ　Ｐ－１２３、８０．０ｇ、４８７ｍｍｏｌ；Ｓｉｇｍａ）界面活性剤を３Ｌの１．６ＭＨＣｌに室温で溶解し、温度、５Ｌジャケット付きフラスコ内で摂氏４０℃に加熱し、０～６００ｒｐｍ（但し、最も一般的には３００ｒｐｍ）の速度でオーバーヘッドスターラーを介して機械的に撹拌した。オルトケイ酸テトラエチル（ＴＥＯＳ、１８４ｍＬ、８２６ｍｍｏｌ；Ｓｉｇｍａ）を５分未満で一度に加え、少なくとも２時間、但し、最も一般的には２０時間撹拌を続けながら、摂氏４０℃で加熱した。得られたスラリーを、摂氏８０～１３０℃（最も一般的には摂氏１００℃）に６～７２時間（但し、最も一般的には２４時間）室温に冷却する前に、水熱処理のために加熱した。スラリーをブフナー漏斗でろ過し、脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、室温で風乾した。得られたシリカ材料を、室温から５５０℃までのゆっくりとした傾斜温度で８時間かけて炉内で焼成し、次に５５０℃で更に８時間維持した後、室温に冷却して、４７ｇのメソポーラスシリカ粒子を得た。
【０７１７】
撹拌速度の変化により、微粒子のアスペクト比を変化させ得る。メソポーラス材料の細孔径制御には、熱水温度及び持続時間の条件を変化させることが一般的である。詳細については、Ｊ．Ｃｈｅｍ．Ｅｄｕｃ．２０１７，９４，９１－９４及びその中の文献を参照されたい。
【０７１８】

最終的なメソポーラス材料は、光学顕微鏡、Ｍａｌｖｅｒｎ Ｍｏｒｐｈｏｌｏｇｉ Ｇ３、走査型電子顕微鏡（ＳＥＭ）、熱重量分析（ＴＧＡ）によって特徴付けられた。

【０７１９】

２．シリカ微粒子の後修飾

実施例２（ａ）：エチルホスホン酸ジエチル官能化微粒子

エチルホスホン酸ジエチル官能化シリカ微粒子は、部分的に変更を加えて、Ｎｅｗ Ｊ．Ｃｈｅｍ．，２０１４，３８，３８５３に報告されている修飾方法によって調製された。ジエチルホスファトエチルトリエトキシシラン（４．１５ｍＬ、１３．０３ｍｍｏｌ）を、３００ｍＬのトルエンに懸濁した２．０ｇのメソポーラスシリカ微粒子のスラリーに添加した。スラリーを撹拌し、摂氏１１０℃で１４時間還流した後、室温まで冷却し、ろ過した。粒子を脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、次に摂氏１００℃のオーブンで２０時間乾燥させて、エチルホスホン酸ジエチル官能化粒子を得た。

【０７２０】

実施例２（ｂ）：エチルホスホン酸官能化微粒子

エチルホスホン酸官能化微粒子は、Ｎｅｗ Ｊ．Ｃｈｅｍ．，２０１４，３８，３８５３に報告されている手順に変更された方法によって調製された。トリメチルシリルクロロシラン（１．３８８ｍＬ、１０．８６ｍｍｏｌ）を、１５０ｍＬのトルエンに懸濁した２．０ｇのエチルホスホン酸ジエチル官能化微粒子のスラリーに加え、１１０℃で２４時間加熱した。スラリーを室温に冷却し、ろ過し、脱イオン水及びエタノールで洗浄した後、摂氏１００℃のオーブンで２４時間乾燥させた。次に、メソポーラスシリカ粒子を１００ｍＬの１２ＭＨＣｌに懸濁し、摂氏１００℃で１８時間加熱した。スラリーを室温まで冷却し、ろ過し、脱イオン水及びエタノールで洗浄した後、１００℃のオーブンで２４時間乾燥させ、エチルホスホン酸官能化微粒子を得た。

【０７２１】

実施例２（ｃ）：プロピルアミン官能化微粒子

プロピルアミン官能化微粒子は、Ｌａｎｇｍｕｉｒ ２０１５，３１，６４５７－６４６２に報告されている手順に変更された方法によって調製された。（３－アミノプロピル）トリメトキシシラン（３．０５ｍｌ、１９．５４ ｍｍｏｌ；ＡＰＴＭＳ、Ｓｉｇｍａ）を１５０ｍＬの試薬グレードエタノール中の３．０グラムのメソポーラスシリカ微粒子のスラリーに添加した。スラリーを摂氏７５℃で７時間還流した。室温に冷却し、スラリーをろ過し、粒子を脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、次に摂氏１００℃のオーブンで２４時間乾燥させた。

【０７２２】

実施例２（ｄ）：ビオチン官能化微粒子

（＋）－ビオチンＮ－スクシンイミジルエステル（２４６ ｍｇ、０．７２０ｍｍｏｌ）を１０．０ｍＬのｐＨ７．４調整ＰＢＳバッファー中の１．０ｇのプロピルアミン官能化微粒子のスラリーに添加し、室温で１８時間撹拌した。スラリーをろ過し、脱イオン水及びエタノールで洗浄した後、１００℃のオーブンで２４時間乾燥させ、ビオチン酸官能化微粒子を得た。

【０７２３】

実施例２（ｅ）：ビオチン－ＰＥＧ４官能化微粒子

ＰＥＧ４－ビオチンＮ－ヒドロキシスクシンイミド（１０６ｍｇ、０．１８０ｍｍｏ；ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｃｈｅｒ ＥＺ－Ｌｉｎｋ ＮＨＳ－ＰＥＧ４－ビオチン）を２．５ｍＬのｐＨ７．４調整ＰＢＳバッファー中の０．２５ｇのプロピルアミン官能化微粒子のスラリーに添加し、室温で１８時間撹拌した。スラリーをろ過し、脱イオン水及びエタノールで洗浄した後、１００℃のオーブンで２４時間乾燥させ、ビオチン－ＰＥＧ４官能化微粒子を得た。

【０７２４】

実施例２（ｆ）：３（２－ピリジルジチオ）プロピオンアミド）ヘキサノエート官能化微粒子

サクシニミジル６－（３（２－ピリジルジチオ）プロピオンアミド）ヘキサノエート（１１２ｍｇ、０．３６０ｍｍｏ；ＬＣ－ＳＰＤＰ　ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｃｈｅｒ）を２．５ｍＬのｐＨ７．４調整ＰＢＳバッファー中の０．５０ｇのプロピルアミン官能化微粒子のスラリーに添加し、室温で１８時間撹拌した。スラリーをろ過し、脱イオン水及びエタノールで洗浄した後、摂氏１００℃のオーブンで２４時間乾燥させて、３（２－ピリジルジチオ）プロピオンアミド）ヘキサノエート官能化微粒子を得た。

【０７２５】

実施例２（ｇ）：４－オキソ－４－（プロピルアミノ）ブタン酸官能化微粒子

無水コハク酸（４ｇ、４０．０ｍｍｏｌ）を無水コハク酸中の１．０ｇのプロピルアミン官能化微粒子のスラリーに添加し、室温で２４時間撹拌した。スラリーをろ過し、脱イオン水及びエタノールで洗浄した後、１００℃のオーブンで２４時間乾燥させ、４－オキソ－４－（プロピルアミノ）ブタン酸官能化微粒子を得た。

【０７２６】

実施例２（ｈ）：プロピルジエチレントリアミン官能化微粒子

トリメトキシシリルプロピルジエチレントリアミン（１．６７８ｍＬ、６．５１ｍｍｏｌ）を１．０ｇのメソポーラスシリカ微粒子に添加し、１５０ｍＬの試薬グレードエタノールに懸濁した。スラリーを摂氏７５℃で７時間還流した。室温に冷却し、スラリーをろ過し、粒子を脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、次に摂氏１００℃のオーブンで２０時間乾燥させ、プロピルジエチレントリアミン官能化微粒子を得た。

【０７２７】

実施例２（ｉ）：３－プロピルジヒドロフラン－２，５－ジオン官能化微粒子（無水コハク酸）

３－（３－（トリエトキシシリル）プロピル）ジヒドロフラン－２，５－ジオン（４．９４ｍＬ、１７．３７ｍｍｏｌ）を３００ｍＬのトルエン中の３．０ｇのメソポーラスシリカ微粒子のスラリーに添加した。スラリーを摂氏１１０℃に２０時間加熱し、次に室温に冷却し、ろ過し、脱イオン水及びエタノールで洗浄した。官能化微粒子を摂氏１００度のオーブンで２４時間乾燥した。

【０７２８】

実施例２（ｊ）：分岐したポリエチレンイミン官能化微粒子

ポリエチレンイミン（２５．１ｇ、４７．０ｍｍｏｌ；分岐、平均Ｍｗ～２５，０００、Ｓｉｇｍａ）を６００ｍＬの無水ＤＭＦに溶解し、６．０ｇの３－プロピルジヒドロフラン－２，５－ジオン官能化微粒子を添加し、室温で２０時間撹拌した。スラリーをろ過し、粒子を脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、次に摂氏１００℃のオーブンで２０時間乾燥させ、分岐したポリエチレンイミン官能化微粒子を得た。

【０７２９】

実施例２（ｋ）：Ｎ、Ｎ、Ｎ－トリメチロールプロパン－１－アンモニウム官能化微粒子

トリメトキシシリルプロピルトリメチルアンモニウムクロリド（３．６１ｍＬ、６．５１ｍｍｏｌ；メタノール中の５０％溶液）を１５０ｍＬ試薬エタノール中の１．０ｇメソポーラスシリカ微粒子のスラリーに添加し、７５℃に７時間加熱した。室温に冷却し、スラリーをろ過し、粒子を脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、次に摂氏１００℃のオーブンで２０時間乾燥させ、Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルプロパン－１－アンモニウム官能化微粒子を得た。

【０７３０】

上記の手順を、シリカ微粒子に対するトリメトキシシリルプロピルトリメチルアンモニウムクロリドの比率を変化させて（微粒子１グラム当たり０．２５ｍｍｏｌのトリメトキシシリルトリメチルアンモニウムクロリド）繰り返し、機能密度の比率の変に影響を与えた。

【０７３１】

実施例２（ｌ）：オクチル官能化微粒子

トリエチルオキシ（オクチル）シラン（２．０５ｍＬ、６．５１ｍｍｏｌ）を１５０ｍ

Ｌ試薬エタノール中の１．０ｇメソポーラスシリカ微粒子のスラリーに添加し、７５℃に７時間加熱した。室温に冷却し、スラリーをろ過し、粒子を脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、次に摂氏１００℃のオーブンで２０時間乾燥させ、オクチル官能化微粒子を得た。

【０７３２】

実施例２（ｍ）：ヘキサデシル官能化微粒子

ヘキサデシルトリメトキシシラン（２．５４ｍＬ、６．５１ｍｍｏｌ）を１５０ｍＬ試薬エタノール中の１．０ｇメソポーラスシリカ微粒子のスラリーに添加し、７５℃に７時間加熱した。室温に冷却し、スラリーをろ過し、粒子を脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、次に摂氏１００℃のオーブンで２０時間乾燥させ、ヘキサデシル官能化微粒子を得た。

【０７３３】

実施例２（ｎ）：１１－アジドウンデシル官能化微粒子

（１１－アジドウンデシル）トリメトキシシラン（１．０ｇ、３．１５ｍｍｏｌ）を１５０ｍＬ試薬エタノール中の１．０ｇメソポーラスシリカ微粒子のスラリーに添加し、７５℃に７時間加熱した。室温に冷却し、スラリーをろ過し、粒子を脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、次に摂氏１００℃のオーブンで２０時間乾燥させ、１１－アジドウンデシル官能化微粒子を得た。

【０７３４】

実施例２（ｏ）：３－アジドプロピル官能化微粒子

（３－アジドプロピル）トリメトキシシラン（１．０ｇ、４．８７ｍｍｏｌ）を１５０ｍＬ試薬エタノール中の１．０ｇメソポーラスシリカ微粒子のスラリーに添加し、７５℃に７時間加熱した。室温に冷却し、スラリーをろ過し、粒子を脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、次に摂氏１００℃のオーブンで２０時間乾燥させ、３－アジドプロピル官能化微粒子を得た。

【０７３５】

実施例２（ｐ）：３，３，４，４，５，５，６，６，７，７，８，８，８－トリデカフルオロオクチル官能化微粒子

トリエトキシ（３，３，４，４，５，５，６，６，７，７，８，８，８－トリデカフルオロオクチル）シラン（２．４９９ｍＬ、６．５１ｍｍｏｌ）を１５０ｍＬ試薬エタノール中の１．０ｇメソポーラスシリカ微粒子のスラリーに添加し、７５℃に７時間加熱した。室温に冷却し、スラリーをろ過し、粒子を脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、次に摂氏１００℃のオーブンで２０時間乾燥させ、３，３，４，４，５，５，６，６，７，７，８，８，８－トリデカフルオロオクチル官能化微粒子を得た。

【０７３６】

実施例Ｂ．ウイルス結合に関するＭＳＲ表面修飾の検証

レンチウイルスのＭＳＰへの結合を検証するために、表面の化学的性質の変化を用いて様々なＭＳＰを調製した（図１）。乾燥したＭＳＲバッチを１０ｍｇ／ｍｌの氷冷したＴｒｉｓ－ＮａＣｌ－ＥＤＴＡバッファーｐＨ７．５（ＮＴＥバッファー）に再懸濁した。レンチウイルス（ＦＣＴ０６７、Ｋｅｒａｆａｓｔ）を発現する緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）のストック溶液を、氷冷したＮＴＥバッファーで３×１０^{6}／ｍｌの力価に希釈した。ＭＳＲ懸濁液及び希釈ウイルスを１：１ｖｏｌ／ｖｏｌの比率で混合し、氷上で３０分間インキュベートした。対照粒子を、ウイルスを含まないＮＴＥバッファーで１：１ｖｏｌ／ｖｏｌでインキュベートした。インキュベーション後、サンプルを４℃のリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）中の１％ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）で１回洗浄し、次に４℃のＰＢＳで洗浄した。次に、サンプルをＰＢＳ中の４．２％パラホルムアルデヒドで固定した。サンプルをウイルスエンベロープに対する抗体（Ｋｅｒａｆａｓｔ社製の抗ＶＳＶ－Ｇ、８Ｇ５Ｆ１１；１：５０希釈）で染色した後、Ｄｙｌｉｇｈｔ－４８８（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）で標識した抗マウスＩｇＧで染色した。サンプルをＰＢＳで２回洗浄し、ＧＦＰ　ＬＥＤライトキューブを備えたＥｖｏｓ蛍光顕微鏡を使用して画像化した（図２

）。画像では、ウイルスを含まないＭＳＲへの染色試薬の検出可能な結合は、示されなかった。ウイルスがコンジュゲートしたロッドは、様々なレベルの定量的結合を示し、トリメチルアンモニウム及びアミン官能基は最大の結合を示す。

【０７３７】

実施例Ｃ．ＭＳＲを使用したＧＦＰレンチウイルスによるＴ細胞形質導入についてのインビトロアッセイ

Ｔ細胞のウイルス形質導入についてＭＳＲの使用の概略図を図３に示す。ナイーブヒトＴ細胞をダイナビーズＴ細胞活性化ビーズでビーズ：細胞比３：１で２日間刺激した。磁石を使用してビーズを除去し、細胞を新鮮な培地に移した。ウイルスがコンジュゲートしたＭＳＲは、上記のように調製し、細胞培養液に８０μｇ／ｍｌで再懸濁した。これの段階希釈は、図３に示されるように行われた。この懸濁液をＴ細胞５×１０^{5}／ｍｌと１：１で混合し、４日間インキュベートした。ＧＦＰ発現は、形質導入効率を評価するために、培養中の生きた一重項細胞で評価された。結果（図４）は、ＭＳＲがコンジュゲートされたウイルスの形質導入が、培養培地のみで与えられたウイルスよりも高いレベルで起こったことを示す。トリメチルアンモニウム官能化ＭＳＲは、最高レベルの形質導入を提供した。

【０７３８】

実施例Ｄ．ＣＤ３／ＣＤ２８アゴニスト抗体、ＥＧＦＲｖＩＩＩペプチド又はＢＣＭＡタンパク質を提示するＭＳＲとＴ細胞の相互作用

表面固定化リガンドを有するＭＳＲは、Ｃｈｅｕｎｇ，Ａ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．に記載されているように調製され、抗原提示細胞を模倣する足場が初代Ｔ細胞のエクスビボ増殖を可能にした。Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，３６（２），１６０－１６９．このプロセスの概略図を図５に示す。

【０７３９】

簡単に説明すると、１ｍｏｌ％のＰＥ－ビオチンを有するＰＯＰＣで主に構成されるリポソームを、薄膜再水和法及び１００ｎｍのポリカーボネート膜を通した押し出しを使用して形成した。ヒドロキシル官能化ＭＳＲをリポソームと共にインキュベートして、ＭＳＲ表面上に支持された脂質二重層の形成を可能にした（図６）。ＣＤ３及びＣＤ２８アゴニスト抗体を有するＭＳＲを官能化するために、ＭＳＲをＰＢＳで数回洗浄し、ストレプトアビジンとインキュベートした後、ビオチン化ＣＤ３及びＣＤ２８抗体と結合した。ＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ結合ペプチドのＭＳＲ固定化のために、ビオチン化ＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ結合ペプチドが使用された（図７）。ＢＣＭＡ　ＣＡＲ　Ｔ刺激では、組換えＢＣＭＡＦｃタンパク質をビオチン－ＮＨＳを使用してビオチン化し、同様にＭＳＲ表面に結合させた。

【０７４０】

所望のリガンドとのインキュベーション後、ＭＳＲをＰＢＳで数回洗浄し、様々な濃度で培地に再懸濁し、Ｔ細胞とインキュベートした。Ｔ細胞のＣＦＳＥ標識を使用し、フローサイトメトリーによって色素希釈を評価することにより、Ｔ細胞の増殖を読み取った。サイトカイン産生は、多重サイトカイン分析法（Ｍｅｓｏｓｃａｌｅ　Ｄｅｌｉｖｅｒｙ　Ｖ－Ｐｌｅｘ）を使用して評価された。

【０７４１】

ＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ　Ｔは、ＭＳＲの表面に結合したＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ結合ペプチドに応答してインターフェロンガンマ及びＩＬ－２を産生した一方、溶液中の遊離ＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ結合ペプチド、ＭＳＲ上に提示される非刺激ペプチド（ＯＶＡ）又は非修飾ＭＳＲは、ＣＡＲ　Ｔから応答しなかった（図８）。別の実験では、ＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ　Ｔの増殖を、細胞計数を使用して、様々な刺激に応答してモニターした（図９）。

【０７４２】

異なるＴ細胞サブセットの表現型の増殖を更に分析するために、フローサイトメトリーを使用してＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ　Ｔの増殖を評価した。ＣＡＲ　ＴをＣＦＳＥで染

色し、フローサイトメトリーによる増殖を示すために色素希釈についてモニターした（図１０）。同様の実験を、ＭＳＲ表面に存在するＢＣＭＡＦｃタンパク質抗原を有する官能化ＭＳＲを使用して実施した（図１１）。

【０７４３】

２つのタイプのＭＳＲ（刺激的手がかりを有するＭＳＲ及びレンチウイルスと混合したＭＳＲ）を使用して、ウイルスによるＴ細胞の同時刺激及び形質導入を試験するために、図１２に示される実験計画が使用された。ＭＳＲの１つの集団を脂質二重層でコーティングし、上記のように抗ＣＤ３／ＣＤ２８抗体とグラフト化した。第二のＭＳＲの集団をレンチウイルスとインキュベートした。図１３に示された結果は、Ｔ細胞を抗ＣＤ３／ＣＤ２８アゴニスト抗体で刺激し、溶液中の遊離ウイルスと比較してＰＥＩ－ＭＳＲでインキュベートしたウイルスに曝露した場合、優れた形質導入レベルを示した。

【０７４４】

同一のＭＳＲ集団における手がかり両方によるＴ細胞の同時刺激及び形質導入を検証するために、Ｔ細胞を（１）抗ＣＤ３／ＣＤ２８アゴニスト抗体担持脂質コーティング刺激ＭＳＲ及びウイルスを含む培地、（２）抗ＣＤ３／ＣＤ２８アゴニスト抗体担持脂質コーティング刺激ＭＳＲ及びウイルスとプレインキュベートしたＰＥＩ－ＭＳＲ、（３）ＰＥＩ　ＭＳＲＳに抗ＣＤ３／ＣＤ２８アゴニスト抗体を吸着させた後、ウイルスとインキュベートしたもののいずれかに曝露した。３日間培養後、Ｔ細胞の形質導入効率を評価した。図１４は、様々な量のウイルスにおける上記の条件（１）及び条件（２）のＭＳＲに対する刺激性ＭＳＲ濃度の効果を示す。図１４に示されるように、全体的な形質導入は、ＰＥＩ－ＭＳＲがウイルスと共にインキュベートされる条件（２）下で増強される。

【０７４５】

図１５は、条件（１）及び（２）が刺激性ＭＳＲの最高濃度にある３つの条件全てを比較する。図１５に示されるように、刺激的手がかりがＰＥＩ－ＭＳＲに結合される条件（３）は、最も高い相対的形質導入効率をもたらす。同じ製剤を使用して、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）に対するＭＳＲを介した形質導入を研究した。図１６に示されるように、ウイルス濃度の関数としての様々な細胞集団における形質導入は、条件（１）及び（２）に対する最高レベルの刺激で示される。図１７は、総ＧＦＰ＋形質導入細胞画分並びに条件（１）及び（２）に対して最高レベルの刺激で収集された総細胞集団に存在する各細胞集団の割合を示す。

【０７４６】

実施例Ｅ．ＭＳＲ誘導Ｔ細胞形質導入のインビボ研究。

ウイルスベクターにコンジュゲートしたメソポーラスシリカ粒子の組成物をマウスの皮下に注射する。約５～７日後、抗マウスＣＤ１９ＣＡＲをコードするウイルスに吸着されたＭＳＲがこの部位に注射される。マウスの血液中のＣＤ１９＋Ｂ細胞の枯渇は、抗ＣＤ１９　ＣＡＲ　Ｔが生成されたことを示すものとしてモニターされるであろう。これらのＣＡＲ　Ｔの存在は、血液及び骨髄で確認されている。ＣＡＲ導入遺伝子について、インサイチュ‐ハイブリダイゼーションを使用した注射部位及びリンパ節、脾臓及び肝臓の排出の詳細な組織学的評価を実施して、所望でない部位へのウイルスの漏出を評価する。

【０７４７】

実施例Ｆ．メソポーラスシリカ微粒子への薬物負荷

様々な薬剤がメソポーラスシリカ微粒子に担持され得る。

【化１２】



イミキモド

【０７４８】

１．実施例１：メソポーラスシリカ微粒子へのＴＬＲ７アゴニストの担持
　クロロホルム中のイミキモドの溶液を２．０ｍＬのクロロホルム中の１００ｍｇのシリカ微粒子のスラリー（メソポーラスシリカ粒子１０ｍｇ当たり１００－５００μｇのイミキモドの濃度）に加え、５００ｒｐｍ、摂氏４０℃で７２時間振とうする。ＭＳＰは、３分間１０００ｒｐｍで遠心分離し、残りのおう液を除去する。ＭＳＰを２．０ｍＬのクロロホルムで洗浄した後、遠心分離して上清を除去する。洗浄工程をエタノールで繰り返して、過剰で未吸収のイミキモドを除去する。最終的な微粒子は、水中でスラリー化され、凍結乾燥される。
【０７４９】
２．実施例２：メソポーラスシリカ粒子からのインビトロ薬物放出。
　１０．０ｍｇ（又は３００μｇの薬物負荷物質に相当）の薬物負荷ＭＳＰを１．０ｍＬのｐＨ７．４（０．００６７Ｍ）リン酸バッファーに懸濁し、摂氏３７度で放置する。サンプルを１時間、３時間、６時間、２４時間、２日及び５日目に収集し、これらのサンプルの分析は、ＵＰＬＣによって実行され、標準分析曲線にプロットされる。上清を除去し、各時点で新しいバッファーと交換する。
【０７５０】
　前述の本明細書の記載は、当業者が本発明を実施することを可能にするのに十分であると考えられる。本発明は、提供された構築物の範囲に限定されるものではない。これは、本発明の提供された実施形態が本発明のある態様のみを説明することを意図しており、機能的に均等な全ての構築物が本発明の範囲内にあるからである。本明細書における材料の寄託は、本明細書に含有される記載が、その最良の態様を含む、本発明の任意の態様の実施を可能とするのに不十分であるという承認を構成するものではなく、特許請求の範囲の限定するものとして解釈されるべきでもない。実際に、本明細書に示し、記載したものに加えて、本発明の様々な修正形態が前述の記載から当業者に明らかとなり、添付の特許請求の範囲の範囲内に入る。
【０７５１】
　特定の課題又は状況に対する本発明の教示の適用は、本明細書に含まれる教示に鑑みて当業者の能力の範囲内であろうことが理解される。
【０７５２】
　本明細書中のそれぞれの及び全ての引用文献の開示は、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。
【０７５３】
実施例Ｇ．ＭＳＲ誘導ＣＡＲ－Ｔ生成のインビボ研究。
　ヒトＴ細胞及びＢ細胞を移植したマウス（ヒトＣＤ３４＋幹細胞ヒト化マウス又はヒト末梢血単核細胞注射マウス）は、既知の方法を使用して実証される。ＣＡＲ１９レンチウイルスにコンジュゲートしたメソポーラスシリカ粒子の組成物を、Ｔ細胞を形質導入するためにマウスの皮下に注射する。ＭＳＲ－ＣＡＲ１９レンチウイルスコンジュゲートで処置したマウスの血液中のＣＡＲ１９発現Ｔ細胞の存在（抗ＣＡＲ１９イディオタイプ抗体染色を使用）及びＣＤ１９＋Ｂ細胞の枯渇を、連続採血サンプル（０日目注射前及びＭＳＲ－ウイルス投与後の１日目から２１日目までの週２回）についてフローサイトメトリーを用いてモニターし、ＭＳＲ－ＧＦＰレンチウイルスを注射した対照マウスと比較し、抗ＣＤ１９　ＣＡＲ　Ｔが生成され、標的を死滅させる機能を有することを示す。ヒトインターフェロンガンマ及び腫瘍壊死因子アルファの濃度は、ＣＤ１９　ＣＡＲ　Ｔ細胞の生成及び活性化について、２番目のバイオマーカーとして同じ血液サンプルから決定される。ＣＡＲ導入遺伝子について、インサイチュ‐ハイブリダイゼーションを使用した注射部位及びリンパ節、骨髄、脾臓及び肝臓の詳細な組織学的評価を実施して、所望でない部位へのウイルスの漏出を評価し、生成されたＣＡＲ１９Ｔ細胞のこれらの部位への輸送を研究する。
【０７５４】
　別の実験では、ヒトＴ細胞及びＢ細胞を含むマウスに、ルシフェラーゼレポーター遺伝

子を発現するＣＤ１９を発現するＮａｌｍ６白血病腫瘍を静脈内注射する。マウスのコホートに、ＣＡＲ１９又はＧＦＰレンチウイルスにコンジュゲートしたメソポーラスシリカ粒子の組成物を腫瘍注射の７日前から７日後まで単回皮下注射して、Ｔ細胞を形質導入する。Ｎａｌｍ６腫瘍組織量は、ＩＶＩＳイメージングのルシフェラーゼシグナルによりモニターされ、生成された抗ＣＤ１９　ＣＡＲ　Ｔの抗腫瘍効果を研究する。ＭＳＲ－ＣＡＲ１９レンチウイルスコンジュゲートで処置したマウスの血液中のＣＡＲ１９発現Ｔ細胞の存在及びＣＤ１９＋Ｂ細胞の枯渇を、連続採血サンプル（０日目注射前及びＭＳＲ－ウイルス投与後の１日目から２１日目までの週２回）についてモニターし、ＭＳＲ－ＧＦＰレンチウイルスを注射した対照マウスと比較する。ヒトインターフェロンガンマ及び腫瘍壊死因子アルファの濃度は、ＣＤ１９　ＣＡＲ　Ｔ細胞の生成及び活性化について、２番目のバイオマーカーとして同じ血液サンプルから決定される。

【０７５５】

これらの研究は、ＢＣＭＡ、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ１２３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＣＬＬ－１及びそれらの組み合わせ（相互及び／又はＣＤ１９）を含むが、これらに限定されない、他の癌／腫瘍標的に対するＭＳＲレンチウイルスコンジュゲートを用いて繰り返される。

【０７５６】

実施例Ｈ：ＶＥＧＦ－Ｃ及びＭＳＲＳを含むクリオゲルと、コンジュゲートされたウイルスベクター及び吸収された細胞活性化剤とを含む組成物の機能分析

実施例１：ＶＥＧＦ－Ｃの生成

ＨＥＫ作製

ＤＮＡはＧｅｎｅＡｒｔ（Ｒｅｇｅｎｓｂｕｒｇ，Ｇｅｒｍａｎｙ）で合成され、制限酵素ライゲーションによるクローニング技術を用いて哺乳類発現ベクターにクローニングされた。得られたプラスミドをＨＥＫ２９３Ｔ細胞にトランスフェクトした。タンパク質の一過性発現のために、野生型又は操作変異体のベクターを、ポリエチレンイミン（ＰＥＩ；カタログ番号２４７６５　Ｐｏｌｙｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ．）を用いて、懸濁液適合ＨＥＫ２９３Ｔ細胞にトランスフェクトした。次いで、組換え発現ベクターを宿主細胞に導入し、培養培地への分泌を可能にするように細胞を更に７日間培養することによって構築物を産生させた。

【０７５７】

次に、産生された構築物を、固定化金属イオンアフィニティークロマトグラフィー（ＩＭＡＣ）を用いて、無細胞上清から精製した。

【０７５８】

Ｈｉｓタグ付きタンパク質をＩＭＡＣによって捕捉した。樹脂を洗浄した後、タンパク質を溶出した。

【０７５９】

最後に、サイズ排除クロマトグラフィー（凝集体、単量体及び二量体の分離を可能にする）を用いて、溶出画分を最終精製した。ＳＤＳ－ＰＡＧＥを用いて、精製分析を実施し、サイズ排除クロマトグラフィー分析法を用いて、凝集含量を決定した。

【０７６０】

【表１６２】

表 21: HEK293T 細胞株における VEGF-C 変異体の生産収率

変異体	物理的状態	IMAC及びSEC後の最終収率(ug / L)
1	二量体	117
2	二量体	405
	単量体	714
7	二量体	1120
	単量体	623
8	二量体	1190
9	二量体	869
	単量体	125

【０７６１】

ＣＨＯ作製

ＣＨＯ　ＭａＫＯ製造発現系を用いて、ＶＥＧＦ－Ｃ変異体８を作製した。標的タンパク質をコードする遺伝子を、プラスミド発現ベクター中のＣＭＶプロモーターによって駆動される発現カセットに導入した。ベクターをＣＨＯ　ＭａＫＯ細胞に３回反復でトランスフェクトした。各トランスフェクションのために、０．５μｇのプラスミドを培地中の生存細胞にトランスフェクションした。トランスフェクトした細胞を振盪フラスコ中の低濃度の葉酸と共に細胞培養培地に播種した。加湿シェーカーインキュベーター内で細胞を増殖させた。トランスフェクション後３日目に、安定な形質移入体の選択を開始した。細胞は選択危機に陥り、２１日以内に回収した。次に、選択された安定なプールのバイアルを凍結した。

【０７６２】

ＶＥＧＦ－Ｃ変異体８の作製には、フェドバッチ手法を使用した。凍結細胞のバイアルを解凍した。解凍から回収した後、細胞を振盪フラスコ内の生産細胞培地に播種した。加湿シェーカーインキュベーター内で培養物を培養した。培養物の播種後５日目に増殖温度が低下した。播種後３、４、５、６、７及び１０日目に供給液を添加した。播種後１１日目に培養物を収集した。遠心分離及び滅菌濾過によって細胞培地から細胞を分離した。清澄化した細胞培養上清から標的タンパク質を精製し、前述したように特性決定した。

【０７６３】

【表１６３】

表22: CHO MaKO細胞株におけるVEGF-C変異体8の生産収率

変異体	物理的状態	IMAC及びSEC後の最終収率(mg/L)
8	二量体	17.5

【０７６４】

実施例２：クリオゲルの生成

以前記載されているプロトコル（Ｋｏｓｈｙ　ｅｔ　ａｌ．２０１８）に基づいて、アルギン酸コンジュゲーションを調製した。

【０７６５】

アルギン酸ノルボルネン（Ａｌｇ－Ｎｂ）

１グラムのＰｒｏｎｏｖａ　ＵＰ　ＭＶＧアルギン酸塩を１００ｍｌの０．１Ｍ　２－（Ｎ－モルホリノ）エタンスルホン酸（ＭＥＳ）バッファー中に、絶えず撹拌しながら、室温で一晩溶解させた。次に、２８０μｌの５－ノルボルネン－２－メチルアミン（ノルボルネン）をアルギン酸塩溶液に添加した。１４６４ｍｇの１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）と１０８５ｍｇのＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）を別々に２０ｍｌのＭＥＳバッファーに溶解させ、アルギン酸ノルボルネン溶液に添加して、室温で２４時間反応させた。２４時間後、溶液を一連の５Ｌ塩浴（７、６、５、４、３、２、１、０、０、０ｇ／ＬのＮａＣｌ）で、各濃度につき３時間ずつ透析した。次に、溶液を２回濾過した（０．２２ｍ真空）後、－８０℃で一晩凍結した。続いて、凍結溶液を５日間凍結乾燥し、実験に使用するまで－２０℃で保存した。

【０７６６】

アルギン酸テトラジン（Ａｌｇ－Ｔｚ）

１グラムのＰｒｏｎｏｖａ　ＵＰ　ＭＶＧアルギン酸塩を０．１Ｍ　２－（Ｎ－モルホリノ）エタンスルホン酸（ＭＥＳ）バッファー中に、絶えず撹拌しながら、室温で一晩溶解させた。次に、１２６ｍｇの（４－（１，２，４，５－テトラジン－３－イル）フェニルメタンアミン塩酸塩（テトラジン）をアルギン酸溶液に添加した。１４６４ｍｇの１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）と１０８５ｍｇのＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）を別々に２０ｍｌのＭＥＳバッファーに溶解させ、アルギン酸テトラジン溶液に添加して、室温で２４時間反応させた。２４時間後、溶液を３１１ｍｇのヒドロキシルアミンで３０分間クエンチし、最大ＲＰＭで１０分間遠心分離した。次に、溶液を濾過し（０．２２ｕＭフィルター）、一連の５Ｌ塩浴（７、６、５、４、３、２、１、０、０、０ｇ／ＬのＮａＣｌ）で、各濃度につき３時間ずつ透析した。次に、溶液を２回濾過し（０．２２ｕＭフィルター）、－８０℃で一晩凍結した。続いて、凍結溶液を５日間凍結乾燥し、実験に使用するまで－２０℃で保存した。

【０７６７】

クリオゲル製剤（図２１Ａ）

サーモミキサー（Ｔｈｅｒｍｏｍｉｘｅｒ）（３７℃、２０００ｒｐｍ）を用いて、Ａｌｇ－Ｔｚ及びＡｌｇ－ＮｂをＤＩH_2O中に２０ｍｇ／ｍｌで１時間溶解させた。これとは別に、ラポナイトを室温で絶えず混合しながら、ＤＩ－H_2O中に５ｍｇ／ｍｌの濃度で１時間溶解させた。次に、溶液を無菌条件下で濾過（０．２２ｕＭフィルター）した。ＶＥＧＦ－Ｃ（３ｍｇ／ｍｌストック）及びラポナイト（ラポナイトＸＬＧ）（５ｍｇ／ｍｌストック）溶液を室温で１時間一緒にインキュベートした。次いで、Ａｌｇ－Ｔｚ溶液とＡｌｇ－Ｎｂ溶液を１：１の比で添加し、最終濃度１０ｍｇ／ｍｌ（ラポナイトの最終濃度０．２５ｍｇ／ｍｌ、１０μｇのＶＥＧＦ－Ｃ／ゲル）まで希釈した。直ちに５０ｕｌの混合物をピペットでＰＥＥＫ型に入れ、－２０℃で一晩凍結した。注入前に、型内でゲルを室温で解凍した後、１６ｇａ注射針に導入した。続いて、ゲルを含む針を、１００ｕｌの滅菌ＰＢＳを含む１ｍｌシリンジに取り付けた。

【０７６８】

実施例３：ＶＥＧＦ－Ｃ放出分析

アルギン酸クリオゲルからのインビトロＶＥＧＦ－Ｃ放出アッセイ（図２１）

ＶＥＧＦ－Ｃクリオゲル（１０μｇのタンパク質＋０．２５ｍｇ／ｍｌのラポナイト）を１ｍｌの放出バッファー（ＰＢＳ中の１％ＢＳＡ溶液）において３７℃でインキュベートした。放出バッファーを完全に除去し、実験全体を通して様々な時点で交換した。放出

バッファーのサンプルは、ＶＥＧＦ－Ｃ　ＥＬＩＳＡで使用するために解凍されるまで－８０℃で保存した。

【０７６９】

実施例４：ＭＳＲ合成

ポリ（エチレングリコール）－ブロック－ポリ（プロピレングリコール）－ブロック－ポリ（エチレングリコール）平均Ｍｎ約５，８００（Ｐｌｕｒｏｎｉｃ　Ｐ－１２３、８０．０ｇ、４８７ｍｍｏｌ；Ｓｉｇｍａ）界面活性剤を室温で３Ｌの１．６Ｍ　ＨＣｌに溶解させ、５Ｌのジャケット付きフラスコ中で４０℃に加熱し、０～６００ｒｐｍの速度のオーバーヘッドスターラーを用いて機械的に撹拌した。オルトケイ酸テトラエチル（ＴＥＯＳ、１８４ｍＬ、８２６ミリモル；Ｓｉｇｍａ）を＜５分かけて１度に添加し、少なくとも２時間だが、最も一般的には２０時間攪拌を維持しながら４０℃で加熱した。得られたスラリーを水熱処理のために、８０～１３０℃に６～７２時間加熱した後、室温に冷却した。スラリーをブフナー漏斗で濾過し、脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、室温で風乾した。得られたシリカ原料を、室温から５５０℃まで８時間かけて低速温度変化率の炉内で焼成してから、５５０℃で更に８時間保持した後、室温まで冷却して、４７ｇのメソポーラスシリカ微粒子を得た。

【０７７０】

攪拌速度の変化は、微粒子アスペクト比に変化を生じ得る。熱水温度と持続時間の条件を変化させることが、メソポーラス材料の一般的な細孔径制御因子である。

【０７７１】

最終的なメソポーラス材料を、光学顕微鏡、Ｍａｌｖｅｒｎ　Ｍｏｒｐｈｏｌｏｇｉ　Ｇ３、走査型電子顕微鏡（ＳＥＭ）、熱重量分析（ＴＧＡ）によって特性決定した。

【０７７２】

Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルプロパン－１－アンモニウム官能化微粒子

１５０ｍＬの試薬エタノール中の１．０ｇのメソポーラスシリカ微粒子のスラリーに、トリメトキシシリルプロピルトリメチルアンモニウムクロリド（３．６１ｍＬ、６．５１ｍｍｏｌ；メタノール中の５０％溶液）を添加し、摂氏７５度で７時間加熱した。室温まで冷却した後、スラリーを濾過し、粒子を脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、次に摂氏１００度のオーブンで２０時間乾燥させて、Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルプロパン－１－アンモニウム官能化微粒子（本明細書では「トリメチルアンモニウムＭＳＲ」と呼ぶ）を得た。

【０７７３】

ＭＳＲのサイズ縮小

ストックＭＳＲ変異体は、合成後の長さがおよそ１００～２００μｍであった。２８．５ｇａインスリンシリンジによる注入性を改善するために、乾燥ＭＳＲをＭＰ　Ｆａｓｔ　Ｐｒｅｐ－２４　５Ｇビーズビートグラインダー及び溶解システムで８０秒間均質化した（図３０）。続いて、ＭＳＲをオートクレーブ滅菌し、実験に使用するまで室温で保存した。

【０７７４】

ＭＳＲへのレンチウイルスの負荷及び複合体の特性決定

均質化ＭＳＲバッチを、氷冷したトリス－ＮａＣｌ－ＥＤＴＡバッファーｐＨ７．５（ＮＴＥバッファー）に１０ｍｇ／ｍｌで再懸濁した。所望のレンチウイルスストックを、氷冷ＮＴＥ緩衝液で、負荷に必要な総量の形質導入単位（ＴＵ）まで希釈した。ＭＳＲ懸濁液と希釈ウイルスを１：１ｖｏｌ／ｖｏｌの比で組み合わせ、氷上で３０分間インキュベートした。余剰ＤＰＢＳでの少なくとも２回の洗浄工程を実施して、機能的インビトロ試験又はインビボ使用前に余剰のウイルスを除去した。負荷及び保持試験（図２７～２８）のために、２．５ｍｇ／ｍｌのＭＳＲ懸濁液を図中の表示量のウイルスを含有する溶液と１：１で混合し、氷上で３０分間インキュベートした。ＭＳＲに結合し、且つＭＳＲから放出された負荷溶液中のウイルス量を、市販のキットを用いて定量化した。放出試験のために、ＭＳＲ－レンチウイルス複合体を３７℃の培地中でインキュベートし、表示され

る時点でｑＰＣＲ分析のために上清を収集した。
【０７７５】
インビボでの使用のためのウイルス及びＳＴＡＲＴＥＲＳによるＭＳＲ負荷
構築物２（表２０、図４８Ａ～４８Ｂ）及びトリメチルアンモニウムＭＳＲを共インキュベートして、ＭＳＲ表面への細胞活性化剤の吸着を可能にした。構築物２を、１及び８ｍｇ／ｍｌのトリメチルアンモニウムＭＳＲ懸濁液に添加し、４℃で１時間インキュベートした。負荷したＭＳＲを３回洗浄し、ＤＰＢＳに１５ｍｇ／ｍｌのＭＳＲの最終濃度まで再懸濁した。
【０７７６】
レンチウイルスをコードするＣＤ１９　ＣＡＲ（ＣＡＲ１９とも呼ばれる）を含むＮＴＥバッファー溶液を１０ｍｇ／ｍｌトリメチルアンモニウムＭＳＲ懸濁液と混合し、４℃で３０分間インキュベートした。ＭＳＲを２回洗浄し、ＤＰＢＳに、最終濃度１５ｍｇ／ｍｌＭＳＲまで再懸濁させた。
【０７７７】
最後に、ＭＳＲを激しく上下にピペット操作し、インスリンシリンジに再度ロードしてから、直ちにマウスに皮内注射した
【０７７８】
実施例５：細胞の形質導入及び機能試験
インビトロＴ細胞形質導入
Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｈｕｍａｎ　Ｐａｎ　Ｔ細胞単離キットを用いて、白血球からヒトＴ細胞を単離し、使用前に凍結した。細胞を解凍し、フォーマット４構築物の存在下、完全ＯｐＴｍｉｚｅｒ培地中で平板培養した（表２０、図４８Ａ～４８Ｂ）。ＣＤ１９　ＣＡＲコード化（ＣＡＲ１９とも称される）ウイルスを、遊離ウイルス又はＭＳＲウイルス複合体のいずれかとして培養物に添加した後、１日のインキュベーションを実施した。細胞を洗浄し、特性決定及び機能試験に使用する前に更に３日間平板培養した（図２９～３０）。
【０７７９】
ＣＡＲ　Ｔ細胞の特性決定及び機能試験（図２９）
ＣＡＲ　Ｔ細胞を、ＰＥにコンジュゲートしたＣＤ１９　ＣＡＲ抗イディオタイプ抗体による染色及びフローサイトメトリーによる分析により、ＣＡＲ受容体の発現について分析した。Ｎａｌｍ６（ＲＲＩＤ：ＣＶＣＬ＿００９２）は、ヒト急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）細胞株である。１０％ウシ胎児血清を含むＲＰＭＩ培地で細胞を増殖させ、いずれも懸濁液中で増殖した。ルシフェラーゼ（Ｎａｌｍ６－Ｌｕｃ）を発現するように細胞を修飾し、それにより共培養物中でのそれらの存在をルシフェラーゼシグナルによって評価することを可能にした。Ｎａｌｍ６－Ｌｕｃ細胞を、ＭＳＲウイルス複合体の遊離ウイルスを用いて産生させたＣＤ１９－ＣＡＲ　Ｔと様々な細胞比で共培養した（図２９）。１日の共培養終了時のルシフェラーゼシグナルを用いて、ＣＡＲ　Ｔによって殺傷された投入Ｎａｌｍ６のパーセンテージを計算した。市販のキットを用いて、共培養終了時の上清中のインターフェロンガンマレベルを定量した。
【０７８０】
実施例６：結果の分析
チューブアッセイ（図２０）
ヒト皮膚リンパ管内皮細胞（ＨＤＬＥＣ）を播種し（ｐ０）、実験のためにｐ４又は十分な細胞が得られるまで、７５％コンフルエンスで継代させた。次に、１ｍｌをエッペンドルフチューブに分注し、６００μｇのＶＥＧＦ－Ｃタンパク質で処理した後、ボルテックスした。各処理物を６ウェルプレート中の加温培地に添加し、３７℃（５％CO_2）で一晩インキュベートした。画像解析のために、細胞を洗浄してから、３．７％ホルマリン－０．０５％Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００溶液（固定バッファー）で固定し、次に洗浄し、０．１％Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００溶液（膜透過処理バッファー）でコーティングした。ＰＢＳで２回洗浄した後、１％ＢＳＡ溶液（ブロッキングバッファー）中の０．０５％Ｔ

ｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００で細胞をコーティングした。ＤＡＰＩ及びファロイジン染色は、公知のプロトコルに従って実施した。染色細胞をＰＢＳで２回洗浄した後、画像化した。

【０７８１】

増殖アッセイ（図２０）

ＷＳＴ－８培地は、ＷＳＴ－８溶液をＭＶ培地中に１：１０希釈することにより、調製した。培養培地を除去し、細胞をＷＳＴ－８培地中でインキュベートした。インキュベーション後、培地を各ウェルから３回反復で除去し、９６ウェルプレートに添加した。分光光度計を用いて、４５０ｎｍでの各ウェルの吸光度を読み取った。

【０７８２】

インビボ実験後の組織処理

組織をマウスから採取し、計量した後、ハサミで非常に細かい切片に切断した。次に、サンプルを、コラゲナーゼ４及びＤＮＡｓｅ１を含有するダイジェスト培地中の持続的な撹拌下で酵素的に消化した。続いて、サンプルを上下にピペット操作した。ピペット操作後、コラゲナーゼＤ及びＤＮＡｓｅ１を含有するダイジェスト培地をサンプルに添加した。サンプルを３サイクルにわたって上下にピペット操作した。ＥＤＴＡ（５ｍＭ）を添加し、細胞を７０μｍフィルター及び４０μＭメッシュで濾過し、Ｆｃブロッキングバッファー中に再懸濁させた。細胞を洗浄し、ＦＡＣＳ分析のために染色した。

【０７８３】

Ｈ＆Ｅ及びＩＳＨ染色（図３２～３３）

皮膚／クリオゲル組織、隣接する皮膚及び排出リンパ節を剖検時に採取し、１０％中性緩衝ホルマリンに浸漬固定し、パラフィンに処理した。切片を組織学的評価のためにヘマトキシリン及びエオジン（Ｈ＆Ｅ）で染色した。ホルマリン固定パラフィン包埋組織切片に対して、ＣＡＲ転写物並びにＨｓ－ＰＰＩＢ（陽性対照及び組織品質管理）及びＤＡＰＢ（陰性対照）遺伝子を検出するためのインサイチュハイブリダイゼーションを実施した。陽性ＰＰＩＢ及び陰性ＤＡＰＢ対照プローブセットは、それぞれプレコンディショニングを最適化し、且つｍＲＮＡの品質及び特異性を確実にするために加えた。ハイブリダイゼーション方法は、３，３’－ジアミノベンジジン（ＤＡＢ）色原体を用いた公知のプロトコルに従った。簡単に説明すると、厚さ５μｍの組織切片をスライドガラスに載せ、６０分間焼成した後、ハイブリダイゼーションに使用した。染色装置を用いて、脱パラフィン及び再水和プロトコルを行った。１Ｘ検索バッファーでのオフライン手動前処理を実施した。最適化は、最初にＰＰＩＢ及びＤＡＰＢハイブリダイゼーションシグナルを評価した後、全てのスライドについて同じ条件を使用することによって実施した。前処理に続いて、スライドを自動染色装置に移して、プロテアーゼ前処理；ハイブリダイゼーション、続いて増幅；並びにＨＲＰ及びヘマトキシリンカウンター染色による検出を含むハイブリダイゼーション手順を完了した。スライドスキャナーを使用して、スライドをデジタル化し、代表的な画像を取得した。

【０７８４】

更なる結果

１０μｇの異なるＶＥＧＦ－Ｃ構築物を含有するクリオゲル（０．２５ｍｇ／ｍｌラポナイト）を０日目にマウス（Ｎ＝５／群）の真皮に浅く注射した。１４日目にマウスを安楽死させ、消化及びＦＡＣＳ分析のために皮膚／クリオゲル（組み合わせ）を解剖した。ＬＥＣの代表的なＦＡＣＳプロット（ＣＤ３１$^{+}$、ＰＤＰＮ$^{+}$）は、ＦＳＣ－Ａ／ＳＳＣ－Ａ及びＣＤ４５$^{-}$について予めゲーティングする（図２２）。

【０７８５】

図２３の結果は、ＶＥＧＦ－Ｃの送達に関連する。前述のように合成したＶＥＧＦ－Ｃ（Ｎ＝１２）又はブランククリオゲル（Ｎ＝１０）をマウスに注射した。マウスの皮膚／ゲルを７、１４及び２１日目の時点で回収し、消化し、ＦＡＣＳで染色した。ＬＥＣは、ＣＤ４５$^{-}$ＣＤ３１$^{+}$ＰＤＰＮ$^{+}$についてゲーティングした。ＢＥＣは、ＣＤ４５$^{-}$ＣＤ３１$^{+}$ＰＤＰＮ$^{-}$についてゲーティングした。ＣＤ４及びＣＤ８　Ｔ細胞は、ＣＤ４５$^{+}$ＣＤ１１ｂ$^{-}$ＣＤ１１ｃ$^{-}$Ｔｈｙ１$^{+}$についてゲーティングした。

【０７８６】
図２５Ａでは、Ｃ５７Ｂｌ６マウスにＶＥＧＦ－Ｃクリオゲル（Ｎ＝５）又はブランククリオゲル（Ｎ＝５）のいずれかを注射し、１４日目にリンパ管新生を評価した。加えて、ＮＳＧマウスにＶＥＧＦ－Ｃクリオゲル（Ｎ＝５）を注射して、免疫適格マウス（Ｃ５７Ｂｌ６）と免疫不全マウス（ＮＳＧ）のＬＥＣ増殖を比較した。図２５Ｂの場合、ＮＳＧマウスにＶＥＧＦ－Ｃクリオゲル（Ｎ＝５）又はブランククリオゲル（Ｎ＝５）のいずれかを０日目に注射した。１０日目に、全てのマウスに外側尾静脈からＰＢＭＣを注射した。ＰＢＭＣ注射の７日後、消化及びＦＡＣＳ分析のために皮膚／ゲル組織を収集した。ＬＥＣは、ヒトＣＤ４５$^{-}$マウスＣＤ１１ｂ$^{-}$マウスＣＤ３１$^{+}$マウスＰＤＰＮ$^{+}$からゲーティングした。ＣＤ４及びＣＤ８Ｔ細胞は、ヒトＣＤ４５$^{+}$マウスＣＤ１１ｂ$^{-}$ヒトＣＤ３$^{+}$からゲーティングした。Ｂ細胞は、ヒトＣＤ４５$^{+}$マウスＣＤ１１ｂ$^{-}$ヒトＣＤ３$^{-}$ヒトＣＤ１９＋からゲーティングした。

【０７８７】
図３４では、ＮＳＧマウス（Ｎ＝４５）に、ＶＥＧＦ－Ｃクリオゲルを０日目に注射し、１０日目にＰＢＭＣを尾静脈注射により注射した。１７日目に、マウスに１）ＰＢＳ（Ｎ＝計１５／エンドポイントＦＡＣＳ分析の場合には５）、２）構築物２を含むＭＳＲ（１５ｍｇ／ｍｌＭＳＲ当量の１０μｌ注射）、続いて遊離ＣＤ１９　ＣＡＲコード化レンチウイルス（ＳＴＡＲＴＥＲＳ注射から１時間後、４．２６ｅ６　ＴＵのウイルスを含む１０μｌ注射）（Ｎ＝計１５／エンドポイントＦＡＣＳ分析の場合には６）、又は３）構築物２を含むＭＳＲと１：１で混合したＭＳＲ結合ＣＤ１９ＣＡＲコード化レンチウイルス（１５ｍｇ／ｍｌのＭＳＲの２０ｕｌ単回注射）（Ｎ＝計１５／エンドポイントＦＡＣＳ分析の場合には５）のいずれかを皮内注射した。１４日目に、第３又は第４マウス群のマウスを安楽死させ、皮膚／ゲル領域のリンパ管新生について分析し、２０日目及び３５日目にマウスを安楽死させ、組織学的分析のために皮膚／ゲル及び脾臓を収集して、局所及び全身の形質導入細胞を調べた（Ｎ＝３／群／時点）。マウスを、循環ＣＤ１９　ＣＡＲ＋細胞（Ｄ２５、３０、３５）のＦＡＣＳ分析のために定期的に採血した。最後に、３５日目に皮膚／ゲル及び脾臓のＦＡＣＳ分析のためにマウスを安楽死させ、ＣＡＲ　Ｔ増殖及びＢ細胞枯渇を調べた。

【０７８８】
実施例Ｉ：インビボＣＡＲ　Ｔ製造の機能分析
概要
この実施例では、リンパ管新生を誘導し、且つ／又はＴ細胞、例えば、ナイーブＴ細胞（これらは、後に、ＣＡＲをコードするウイルスベクターで活性化及び形質導入して、インビボで機能的なＣＡＲ　Ｔ細胞を生成することができる）を誘引するための細胞動員因子の局所送達を含むインビボＣＡＲ　Ｔ製造プロセスを説明する（図１８）。いくつかの実施形態では、対象は、クリオゲルを介して細胞動員因子を（例えば、局所的に）投与され、細胞動員因子はＶＥＧＦ－Ｃ（例えば、徐放性ＶＥＧＦ－Ｃタンパク質クリオゲル製剤）である。理論に拘束されることを望まないが、ＶＥＧＦ－Ｃの放出は、既存の皮膚毛細リンパ管のリンパ管新生を誘導し、リンパ管内皮細胞（ＬＥＣ）を活性化する。活性化されたＬＥＣは、ＣＣＬ２１などのケモカインを分泌し、これが次に、免疫細胞、例えば、ナイーブＴ細胞を投与部位、例えば、ゲル上部の真皮内の部位に動員する。いくつかの実施形態では、７～２１日の期間後、例えば１４日後、対象は、インビボでのＴ細胞の形質導入及びＣＡＲ　Ｔ細胞の生成のために、メソポーラスシリカロッド（ＭＳＲ）によって送達されるＣＡＲ及び細胞活性化剤をコードするウイルスベクターを（例えば局所的に）投与される。理論に拘束されることを望まないが、例えば、抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８（例えば、二重特異性抗体）を用いた短時間のＣＤ３及びＣＤ２８活性化は、Ｔ細胞の効率的な形質導入を促進する。理論に拘束されることを望まないが、いくつかの実施形態では、これらの形質導入Ｔ細胞は、皮膚リンパ管、リンパ節及び胸管を介して全身循環に戻り、腫瘍抗原に応答して更に拡大するであろう。

【０７８９】

実施例１：ＶＥＧＦ－Ｃタンパク質及び機能的変異体の生成及び特性決定

この実施例では、ＶＥＧＦ－Ｃ及びその機能的変異体を含む様々な細胞動員因子の生成及び特性決定について説明する。本実施例に記載される細胞動員因子は、例えば、ＣＡＲをコードするウイルスベクターの投与前の対象の部位におけるリンパ管新生を促進するために、クリオゲルに使用することができる。

【０７９０】

図１９Ａに示すように、ＶＥＧＦ－Ｃは天然形態及び修飾形態で存在し得る。未成熟ＶＥＧＦ－Ｃ（図１９Ａ、＃１）は、典型的には、Ｎ末端及びＣ末端プロペプチド配列と共に細胞内に見出される。放出されると、ＶＥＧＦ－Ｃタンパク質は、タンパク質分解切断を経て、二量体又は単量体のいずれかであるメジャー又はマイナー成熟型として細胞外空間に存在する（図１９Ａ、＃２（配列番号７３１）又は＃７（配列番号７３３））。ＶＥＧＦ－Ｃのメジャー成熟型（図１９Ａ、＃９（配列番号７３７））及びマイナー成熟型（図１９Ａ、＃８（配列番号７３５））の安定化二量体を、Ｃ１３７Ａ変異を配列に挿入することによって操作した。ＶＥＧＦ－Ｃのメジャー成熟型と比較して、マイナー成熟型は、マイナー成熟型Ｎ末端上に追加の短いプロペプチド配列（ＴＥＥＴＩＫＦＡＡ（配列番号７４０））を含む。理論に拘束されることを望まないが、いくつかの実施形態において、この追加の短いプロペプチドは、ＨＥＫ２９３Ｔ及びＣＨＯ　ＭａＫｏ細胞の両方において、二量体形成並びにタンパク質発現を促進する。

【０７９１】

ＶＥＧＦ－Ｃタンパク質及び機能性変異体のＨＥＫ産生

ＤＮＡはＧｅｎｅＡｒｔ（Ｒｅｇｅｎｓｂｕｒｇ，Ｇｅｒｍａｎｙ）で合成され、制限酵素ライゲーションによるクローニング技術を用いて哺乳類発現ベクターにクローニングされた。得られたプラスミドをＨＥＫ２９３Ｔ細胞にトランスフェクトした。タンパク質の一過性発現のために、野生型又は操作変異体のベクターを、ポリエチレンイミン（ＰＥＩ；カタログ番号２４７６５　Ｐｏｌｙｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ．）を用いて、懸濁液適合ＨＥＫ２９３Ｔ細胞にトランスフェクトした。次いで、組換え発現ベクターを宿主細胞に導入し、培養培地への分泌を可能にするように細胞を更に７日間培養することによって構築物を産生させた。次に、産生された構築物を、固定化金属イオンアフィニティークロマトグラフィー（ＩＭＡＣ）を用いて、無細胞上清から精製した。Ｈｉｓタグ付きタンパク質をＩＭＡＣによって捕捉した。樹脂を洗浄した後、タンパク質を溶出した。最後に、サイズ排除クロマトグラフィー（凝集体、単量体及び二量体の分離を可能にする）を用いて、溶出画分を最終精製した。還元及び非還元条件下で、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ（図１９Ｂ－１９Ｃ）を用いて、精製分析を行い、分析用サイズ排除クロマトグラフィー法を用いて、凝集含量を決定した。

【０７９２】

図１９Ｂ～１９Ｃに示すように、完全長プロペプチド（図１９Ａ、＃１（配列番号７２７））を有する未成熟ＶＥＧＦ－Ｃが二量体として産生され（ウェル２及び３）、プロペプチドの除去により、２つの主要な成熟ＶＥＧＦ－Ｃ形態（＃２（配列番号７３１））、１つの非共有結合二量体形態（ウェル５、６）及び単量体形態（ウェル８の産生をもたらした。短いＮ末端プロペプチドをタンパク質に付着したままにして、非共有結合二量体（ウェル１１、１２）又は単量体形態（ウェル１５、１６）でマイナー成熟野生型ＶＥＧＦ－Ｃ形態（＃７（配列番号７３３））を生成した。ＶＥＧＦ－Ｃの＃２メジャー成熟型に変異Ｃ１３７Ａを付加することにより、ＶＥＧＦ－Ｃの変異を有する＃９メジャー成熟型（配列番号７３７）を生成して、共有結合二量体（ウェル２１、２２）及び単量体形態（ウェル２４、２５）の産生をもたらした。＃７マイナー成熟ＶＥＧＦ－Ｃ型へのＣ１３７Ａ変異の導入により、ＶＥＧＦ－Ｃの変異型を含む＃８マイナー成熟型（配列番号７３５）を生成して、ＶＥＧＦ－Ｃ二量体のみの検出可能な産生をもたらした（ウェル１８、１９）。理論に拘束されることを望まないが、いくつかの実施形態では、ＶＥＧＦ－Ｃ、の突然変異型を有するこの＃８マイナー成熟型（配列番号７３６又は７３５）は、大規模生産に好適となり得る。

【０７９３】
ＨＥＫ細胞を用いた総生産収率を算出し、表２１にまとめる。
【０７９４】
【表１６４】

表 21: HEK293T 細胞株における VEGF-C 変異体の生産収率

変異体	物理的状態	IMAC及びSEC後の最終収率(ug / L)
1	二量体	117
2	二量体	405
	単量体	714
7	二量体	1120
	単量体	623
8	二量体	1190
9	二量体	869
	単量体	125

【０７９５】
ＶＥＧＦ－Ｃ　＃８マイナー成熟型変異体のＣＨＯ産生
次に、ＣＨＯ　ＭａＫＯ製造発現系を用いて、ＶＥＧＦ－Ｃ変異体＃８（変異を有するマイナー成熟型、配列番号７３６又は７３５）を作製した。標的タンパク質をコードする遺伝子を、プラスミド発現ベクター中のＣＭＶプロモーターによって駆動される発現カセットに導入した。ベクターをＣＨＯ　ＭａＫＯ細胞に３回反復でトランスフェクトした。各トランスフェクションのために、０．５μｇのプラスミドを培地中の生存細胞にトランスフェクションした。トランスフェクトした細胞を振盪フラスコ内で低濃度の葉酸を含む細胞培養培地に播種した。細胞を加湿シェーカーインキュベーター内で増殖させた。トランスフェクション後３日目に、安定な形質移入体の選択を開始した。細胞は選択危機に陥り、２１日以内に回収した。次に、選択された安定なプールのバイアルを凍結した。
【０７９６】
ＶＥＧＦ－Ｃ変異体＃８（変異を有するマイナー成熟型、配列番号７３６又は７３５）の作製のために、フェドバッチアプローチを使用した。凍結細胞のバイアルを解凍した。融解からの回収後、細胞を振盪フラスコ内の生産細胞培養培地に播種した。培養物を加湿シェーカーインキュベーター内で培養した。培養物の播種後５日目に増殖温度が低下した。播種後３、４、５、６、７及び１０日目に、供給液を添加した。播種後１１日目に培養物を収集した。遠心分離及び滅菌濾過によって細胞培養培地から細胞を分離した。清澄化した細胞培養上清から、標的タンパク質を精製し、前述のように特性決定した。ＶＥＧＦ－Ｃ変異体＃８（変異を有するマイナー成熟型、配列番号７３６又は７３５）の生産収率を表２２にまとめる。
【０７９７】
【表１６５】

表22: CHO MaKO細胞株におけるVEGF-C変異体8の生産収率

変異体	物理的状態	IMAC及びSEC後の最終収率(mg/L)
8	二量体	17.5

【０７９８】
ＶＥＧＦ－Ｃのインビトロ活性の検証
上記で生産したＶＥＧＦ－Ｃ及び変異型のインビトロ生物学的活性を検証した。発芽及び増殖を含むヒト皮膚リンパ管内皮細胞（ＨＤＬＥＣ）に対するＶＥＧＦ－Ｃの影響（図２０Ａ～２０Ｃ）を測定した。この例で検証した様々なＶＥＧＦ－Ｃ変異体は、完全長プロペプチドを有する未成熟ＶＥＧＦ－Ｃ（＃１）；単量体（２Ｍ）又は二量体（２Ｄ）としてのメジャー成熟型＃２；単量体（７Ｍ）又は二量体（７Ｄ）としてのマイナー成熟型＃７；単量体（９Ｍ）又は二量体（９Ｄ）としての変異（Ｃ１３７Ａ）を有するメジャー成熟型＃９；並びに単量体（８Ｍ）又は二量体（８Ｄ）としての変異（Ｃ１３７Ａ）を有するマイナー成熟型＃８。

【０７９９】
ＶＥＧＦ－Ｃ変異体の生物学的活性を試験するためのＨＤＬＥＣに対するインビトロ発芽アッセイの実験セットアップの概要を図２０Ａに示す。始めにＨＤＬＥＣを播種し（ｐ０）、ｐ４又は実験に十分な細胞が得られるまで７５％コンフルエンスで継代させた。次に、約１ｍＬのＨＤＬＥＣをエッペンドルフチューブに分注し、６００μｇのＶＥＧＦ－Ｃタンパク質で処理し、ボルテックスした。各処理物を６ウェルプレート中の加温培地に添加し、３７℃（５％CO_2）で一晩インキュベートした。イメージング分析のために、細胞を洗浄してから、３．７％ホルマリン－０．０５％Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００溶液（固定緩衝液）で固定した後、洗浄し、０．１％Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００溶液（膜透過処理バッファー）でコーティングした。ＰＢＳで２回洗浄した後、細胞を１％ＢＳＡ溶液（ブロッキングバッファー）中の０．０５％Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００でコーティングした。公知のプロトコルに従って、ＤＡＰＩ及びファロイジン染色を行った。ファロイジン染色後、細胞をＰＢＳで２回洗浄し、チューブ形成について画像化した。

【０８００】
増殖を測定するために、ＷＳＴ－８アッセイを実施し（図２０Ｂ）、ＷＳＴ－８溶液をＭＶ培地に１：１０希釈することによってＷＳＴ－８培地を最初に調製した。培養培地を除去し、細胞をＷＳＴ－８培地中でインキュベートした。インキュベーション後、培地を各ウェルから３回反復で取り出し、９６ウェルプレートに添加した。分光光度計を用いて、４５０ｎｍで各ウェルの吸光度を読み取った。

【０８０１】
図２０Ｂに示すように、全てのＶＥＧＦ－Ｃ成熟型（野生型又は変異型のメジャー及びマイナー成熟型）は、ＨＤＬＥＣの同様のレベルの増殖をもたらし、これは、全長プロペプチド（＃１）を有する未成熟ＶＥＧＦ－Ｃと一緒にインキュベートしたＨＤＬＥＣの増殖と比較して、改善された。図２０Ｃに示すように、チューブ形成画像から、野生型（それぞれ＃２及び＃７）であるか、又はＣ１３７Ａ変異（それぞれ＃９及び＃８）を含むメジャー及びマイナー成熟型が、未成熟型（＃１）よりも、ＨＤＬＥＣの良好な発芽を刺激することがわかる。更に、種々のＶＥＧＦ－Ｃ形態の二量体形態（Ｄ）は、良好なインビトロ活性を示すことも明らかになった（図２０Ｂ～２０Ｃ）。理論に拘束されることを望まないが、いくつかの実施形態において、野生型（それぞれ＃２及び＃７）であるか、又はＣ１３７Ａ変異（それぞれ＃９及び＃８）を含むメジャー及びマイナー成熟型の二量体形態は、単量体形態と比較して、増強された発芽活性を含む。

【０８０２】
実施例２：ＶＥＧＦ－Ｃを含有するクリオゲルの生成及び特性決定
ＶＥＧＦ－Ｃ又は機能的変異体を含有するクリオゲルを作製し、検証した。ＶＥＧＦ－Ｃの低速で、より制御された放出を達成するために、ラポナイトをクリオゲル構成物に添加した。

【０８０３】
クリオゲルを形成するために、アルギン酸塩コンジュゲートを、以前記載されているプロトコル（Ｋｏｓｈｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｃｔａ　Ｂｉｏｍａｔｅｒ．２０１８　Ｊａｎ；６５：３６－４３）に基づいて製剤化し、混合した。

【０８０４】
アルギン酸ノルボルネン（Ａｌｇ－Ｎｂ）
１グラムのＰｒｏｎｏｖａ　ＵＰ　ＭＶＧアルギン酸塩を０．１Ｍ　２－（Ｎ－モルホリノ）エタンスルホン酸（ＭＥＳ）バッファー中に、絶えず撹拌しながら、室温で一晩溶解させた。次に、２８０μｌの５－ノルボルネン－２－メチルアミン（ノルボルネン）をアルギン酸塩溶液に添加した。１４６４ｍｇの１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）と１０８５ｍｇのＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）を別々に２０ｍｌのＭＥＳバッファーに溶解させ、アルギン酸ノルボルネン溶液に添加して、室温で２４時間反応させた。２４時間後、溶液を一連の５Ｌ塩浴（７、６、５、４、３、２、１、０、０、０ｇ／ＬのＮａＣｌ）で、各濃度につき３時間ずつ透析した。次に、溶液を２回濾過した（０．２２ｍ真空）後、－８０℃で一晩凍結した。続いて、凍結溶液を５日間凍結乾燥し、実験に使用するまで－２０℃で保存した。
【０８０５】
アルギン酸テトラジン（Ａｌｇ－Ｔｚ）
１グラムのＰｒｏｎｏｖａ　ＵＰ　ＭＶＧアルギン酸塩を０．１　Ｍ　２－（Ｎ－モルホリノ）エタンスルホン酸（ＭＥＳ）バッファー中に、絶えず撹拌しながら、室温で一晩溶解させた。次に、１２６ｍｇの（４－（１，２，４，５－テトラジン－３－イル）フェニルメタンアミン塩酸塩（テトラジン）をアルギン酸溶液に添加した。１４６４ｍｇの１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）と１０８５ｍｇのＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）を別々に２０ｍｌのＭＥＳバッファーに溶解させ、アルギン酸テトラジン溶液に添加して、室温で２４時間反応させた。２４時間後、溶液を３１１ｍｇのヒドロキシルアミンで３０分間クエンチし、最大ＲＰＭで１０分間遠心分離した。次に、溶液を濾過し（０．２２ｕＭフィルター）、一連の５Ｌ塩浴（７、６、５、４、３、２、１、０、０、０ｇ／ＬのＮａＣｌ）で、各濃度につき３時間ずつ透析した。次いで、溶液を２回濾過し（０．２２ｕＭフィルター）、－８０℃で一晩凍結した。続いて、凍結溶液を５日間凍結乾燥し、実験に使用するまで－２０℃で保存した。
【０８０６】
クリオゲル製剤
サーモミキサー（Ｔｈｅｒｍｏｍｉｘｅｒ）（３７℃、２０００ｒｐｍ）を用いて、Ａｌｇ－Ｔｚ及びＡｌｇ－ＮｂをＤＩH_2O中に２０ｍｇ／ｍｌで１時間溶解させた。これとは別に、ラポナイトを室温で絶えず混合しながら、ＤＩ－H_2O中に５ｍｇ／ｍｌの濃度で１時間溶解させた。次に、溶液を無菌条件下で濾過（０．２２ｕＭフィルター）した。
【０８０７】
ラポナイトを含有しないクリオゲルの場合、所望の量のＶＥＧＦ－Ｃと共に、Ａｌｇ－Ｔｚ溶液及びＡｌｇ－Ｎｂ溶液を１：１の比で一緒に添加し、最終濃度１０ｍｇ／ｍｌ（１０μｇのＶＥＧＦ－Ｃ／ゲル）まで希釈した。
【０８０８】
ラポナイトを含有するクリオゲルの場合、ＶＥＧＦ－Ｃ（３ｍｇ／ｍｌストック）及びラポナイト（ラポナイトＸＬＧ）（５ｍｇ／ｍｌストック）溶液を室温で１時間一緒にインキュベートした。次いで、Ａｌｇ－Ｔｚ溶液とＡｌｇ－Ｎｂ溶液を１：１の比で添加し、最終濃度１０ｍｇ／ｍｌ（ラポナイトの最終濃度０．２５ｍｇ／ｍｌ、１０μｇのＶＥＧＦ－Ｃ／ゲル）まで希釈した。直ちに５０μｌのクリオゲル及びＶＥＧＦ－Ｃ混合物をラポナイトと一緒に又はラポナイトなしで、ピペットでＰＥＥＫ型に入れ、－２０℃で一晩凍結した。注入前に、型内でゲルを室温で解凍した後、１６ｇａ注射針に導入した。続いて、ゲルを含む針を、１００μｌの滅菌ＰＢＳを含む１ｍｌシリンジに取り付けた。
【０８０９】
アルギン酸クリオゲルからのインビトロＶＥＧＦ－Ｃ放出
ラポナイトを含むアルギン酸クリオゲル構成物からのＶＥＧＦ－Ｃの放出速度をインビ

トロで検証した。前述のように、アルギン酸液体プレポリマーをラポナイト及びＶＥＧＦ－Ｃと混合した後、凍結し、注射前に再度解凍して、多孔性マトリックスを生成した（図２１Ａ）。

【０８１０】

最初に、ラポナイト含有及び非含有アルギン酸クリオゲルからのＶＥＧＦ－Ｃの放出を測定した。ＶＥＧＦ－Ｃ放出アッセイで使用するために、ＶＥＧＦ－Ｃ（１０μｇタンパク質）を含む、以下の異なるタイプのアルギン酸ゲルを形成した：アルギン酸ナノ多孔性（ゲル化はクリオゲル化なしで起こるため、マクロスケールの細孔は形成されない）、アルギン酸クリオゲル（凍結及びクリオゲル形成後、多孔性）及び０．２５％ラポナイトを含むアルギン酸クリオゲル。放出アッセイを実施するために、ＶＥＧＦ－Ｃクリオゲル（１０μｇタンパク質±０．２５ｍｇ／ｍｌのラポナイト）を１ｍｌの放出バッファー（ＰＢＳ中の１％ＢＳＡ溶液）において３７℃でインキュベートした。放出バッファーは、実験全体を通して、放出バッファーの添加後０～５００時間超の様々な時点で完全に除去し、交換した。収集された放出バッファーのサンプルは、ＶＥＧＦ－Ｃ　ＥＬＩＳＡでの使用のために解凍するまで－８０℃で保存した。図２１Ｂに示すように、０．２５％ラポナイトを含むアルギン酸クリオゲルは、インビトロで最も制御され、最も長く持続するＶＥＧＦ－Ｃの放出を示した。

【０８１１】

次に、１０μｇ又は５０μｇのＶＥＧＦ－Ｃを負荷した０．２５％ラポナイトアルギン酸クリオゲル又は５０μｇのＶＥＧＦ－Ｃを負荷した０．５％ラポナイトアルギン酸クリオゲルからのインビトロでのＶＥＧＦ－Ｃ放出の調節を測定した。図２１Ｃに示されるように、総ＶＥＧＦ－Ｃの約３０％がゲルから放出され、０．２５％ラポナイトアルギン酸クリオゲルが最も制御された放出プロファイルを示した。

【０８１２】

１６Ｇ針を用いてクリオゲルをマウスに皮下注射した。図２１Ｄは、マウスの皮膚へのクリオゲルの移植に成功したことを示す。

【０８１３】

インビボでのＶＥＧＦ－Ｃクリオゲルの検証

クリオゲル（０．２５ｍｇ／ｍｌラポナイト）を介して送達されるＶＥＧＦ－Ｃがリンパ管新生を移植及び誘導し、Ｔ細胞をインビボで動員する能力をマウスにおいて検証した。これらの一連の実験により、リンパ管新生を誘導するためにＣ１３７Ａ変異及び異なる方法によって生産されたＶＥＧＦ－Ｃ変異体を含むものなど、様々なＶＥＧＦ－Ｃ変異体の能力を検証する。野生型マウス及びヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を注射した免疫不全ＮＳＧマウスにおいて様々な量のＶＥＧＦ－Ｃクリオゲルがリンパ管新生を誘導し、Ｔ細胞を動員する能力についても検証した。

【０８１４】

まず、野生型であるメジャー及びマイナー成熟型（それぞれ＃２及び＃７）並びにＣ１３７Ａ変異を含むメジャー及びマイナー成熟型（それぞれ＃９及び＃８）の二量体形態を含め、１０μｇの異なるＶＥＧＦ－Ｃ形態を含有するクリオゲル（０．２５ｍｇ／ｍｌラポナイト）を、０日目にマウス（Ｎ＝５／群）の真皮に表面的に注入した。１４日目にマウスを安楽死させ、消化及びＦＡＣＳ分析のために皮膚／クリオゲル（組み合わせ）を解剖した（図２２Ａ）。具体的には、マウスから組織を採取し、計量した後、ハサミで非常に細かい切片に切断した。次に、サンプルを、コラゲナーゼ４及びＤＮＡｓｅ１を含有するダイジェスト培地中の持続的な撹拌下で酵素的に消化した。続いて、サンプルを上下にピペット操作した。ピペット操作後、コラゲナーゼＤ及びＤＮＡｓｅ１を含有するダイジェスト培地をサンプルに添加した。サンプルを３サイクルにわたって上下にピペット操作した。ＥＤＴＡ（５ｍＭ）を添加し、細胞を７０μｍフィルター及び４０μＭメッシュで濾過し、Ｆｃブロッキングバッファー中に再懸濁させた。細胞を洗浄し、ＦＡＣＳ分析のために染色した。

【０８１５】

クリオゲルの注射後１４日目に単離されたリンパ管内皮細胞（ＬＥＣ）（ＣＤ３１$^{+}$、ＰＤＰＮ$^{+}$）の代表的なＦＡＣＳプロットを、ＦＳＣ－Ａ／ＳＳＣ－Ａ及びＣＤ４５$^{-}$についてプレゲーティングした（図２２Ｂ）ところ、インビボリンパ管新生が誘導されたことを示している。マウス皮膚におけるリンパ管新生の量を、図２２Ｃに示すように、組織１ｍｇ当たりのＬＥＣ数として定量した。Ｃ１３７Ａ変異を含むメジャー成熟型及びマイナー成熟型（それぞれ＃９及び＃８）の共有結合二量体は、野生型であるメジャー成熟型及びマイナー成熟型（それぞれ＃２及び＃７）の二量体と比較して、多量のＬＥＣをもたらし、そのため、クリオゲル移植後に高レベルのインビボリンパ管新生を達成した（図２２Ｃ）。

【０８１６】

加えて、前述のようにＣＨＯ　ＭａＫｏ細胞で産生されたＶＥＧＦ－Ｃ変異体＃８（Ｃ１３７Ａ変異を有するマイナー成熟型）の機能性をインビボで調べ、ＨＥＫ細胞で産生された同じ変異型と比較した。いずれの＃８変異体も、異なる細胞型で産生されたにもかかわらず、インビトロＨＤＬＥＣ発芽アッセイで同等の活性を示した。

【０８１７】

ＣＨＯ　ＭａＫｏ細胞で産生されたＶＥＧＦ－Ｃ変異体＃８は、図２４Ｂに示すように、ＶＥＧＦ－Ｃを含まないブランククリオゲル対照と比較して、インビボでリンパ管新生を誘導することができた。次いで、異なる細胞型によって産生された２つの＃８変異体の同等の生物活性を、クリオゲル送達から１４日後に皮膚消化後にＬＥＣを染色することによってインビボでも確認した（図２４Ｃ）。リンパ管新生は、ブランククリオゲル（ＶＥＧＦ－Ｃなし）又はＨＥＫ細胞で産生された＃８ＶＥＧＦ－Ｃ変異体（＃８ＨＥＫ）若しくはＭａＫｏ細胞で産生された＃８ＶＥＧＦ－Ｃ変異体（＃８ＣＨＯ）を負荷したクリオゲルを注射したマウスの総ＬＥＣ数／ｍｇ組織として定量化した。血液血管内皮細胞（ＢＥＣ）（ＣＤ４５－ＣＤ３１＋ＰＤＰＮ－）は、どの細胞型でそれが産生されたかにかかわらず、＃８変異体ＶＥＧＦ－Ｃ送達により影響されなかった。リンパ管新生のピークが、いずれの細胞型でそれが産生されたかとは関係なく、＃８変異体ＶＥＧＦ－Ｃ送達によるクリオゲル送達後１４日目に、クリオゲル上部の皮膚におけるＣＤ４及びＣＤ８Ｔ細胞（ＣＤ４５＋）のＬＥＣレベルの上昇及びピーク免疫浸潤と一致することも観察された。

【０８１８】

加えて、アルギン酸クリオゲルによって送達される１０μｇのＶＥＧＦ－Ｃに対する皮膚リンパ管の応答も測定した。既述のように合成したＶＥＧＦ－Ｃアルギン酸クリオゲル（Ｎ＝１２）又はブランククリオゲル（ＶＥＧＦ－Ｃを含まない）（Ｎ＝１０）をマウスに注射した。マウスからの皮膚／ゲルを前述のように、７、１４及び２１日目の時点で収集し、消化し、ＦＡＣＳのために染色した。ＬＥＣは、ＣＤ４５$^{-}$ＣＤ３１$^{+}$ＰＤＰＮ$^{+}$についてゲーティングした。ＢＥＣは、ＣＤ４５$^{-}$ＣＤ３１$^{+}$ＰＤＰＮ$^{-}$についてゲーティングした。ＣＤ４及びＣＤ８Ｔ細胞は、ＣＤ４５$^{+}$ＣＤ１１ｂ$^{-}$ＣＤ１１ｃ$^{-}$Ｔｈｙ１$^{+}$についてゲーティングした。組織１ｍｇ当たりの細胞数も定量した。

【０８１９】

図２３Ａは、アルギン酸クリオゲルに負荷されたＶＥＧＦ－Ｃ（１、１０、２０、５０μｇ）のインビボ用量応答及びリンパ管新生誘導（総リンパ管内皮細胞（ＬＥＣ）数／ｍｇ組織として表される、上のグラフ）及び１０μｇのＶＥＧＦ－Ｃ送達後のリンパ管新生の経時変化（下のグラフ）を示す。これらの結果から、１０μｇのＶＥＧＦ－Ｃは、インビボで高度のリンパ管新生を誘導し、皮下クリオゲル送達から１４日後にピークリンパ管新生が観察されることがわかった。ゲル移植から１４日後のＣ５７／ＢＬ６マウスの皮膚消化後に単離されたＬＥＣ（ＣＤ４５－ＣＤ３１＋ＰＤＰＮ＋）及び血液内皮細胞（ＢＥＣ、ＣＤ４５－ＣＤ３１＋ＰＤＰＮ－）染色の代表的なプロット（図２３Ｂ）並びに内皮細胞の総細胞数／ｍｇ組織としての定量化（図２３Ｃ）も、ＶＥＧＦ－Ｃを含まないブランクゲル対照と比較して、１０μｇのＶＥＧＦ－Ｃが高度のインビボリンパ管新生を誘導したことを示した。更に、ＣＤ４＋Ｔ細胞及びＣＤ８＋Ｔ細胞の総細胞数／ｍｇ組織として表される定量化により、１０μｇのＶＥＧＦ－Ｃアルギン酸クリオゲル送達後にＴ細胞

浸潤も増加し、ＬＥＣ数が、Ｔ細胞浸潤、特にナイーブ表現型（ＣＤ６２Ｌ＋、ＣＤ４４－）の細胞浸潤と相関していることが実証された。図２３Ｅに示すように、ＶＥＧＦ－Ｃアルギン酸クリオゲルの皮下送達から１４日後にピークリンパ管新生が観察され、ピークＴ細胞浸潤も１４日目に観察された。

【０８２０】

免疫不全ＮＳＧマウスにおいてリンパ管新生を誘導するＶＥＧＦ－Ｃの能力及びヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を効率的に動員するマウスＬＥＣの能力を検証した。図２５Ａでは、Ｃ５７Ｂ６マウスに、ＶＥＧＦ－Ｃクリオゲル／０．２５％ラポナイト（Ｎ＝５）又はブランククリオゲル（Ｎ＝５）のいずれかを注射し、１４日目にリンパ管新生について評価した。加えて、ＮＳＧマウスに、ＶＥＧＦ－Ｃクリオゲル（Ｎ＝５）を注射して、免疫適格マウス（Ｃ５７Ｂｌ６）と免疫不全マウス（ＮＳＧ）のＬＥＣ増殖を比較した。ＶＥＧＦ－Ｃ又はブランククリオゲル送達から１４日後のＮＳＧ、Ｃ５７／ＢＬ６マウスにおける皮膚ＬＥＣ及びＢＥＣ染色の代表的なフローサイトメトリープロットは、ＮＳＧ及びＣ５７Ｂ６マウスへのＶＥＧＦ－Ｃクリオゲルの送達後にＬＥＣが増加したことから、より高いインビボリンパ管新生を実証した（図２５Ａ）。図２５Ｂでは、ＮＳＧマウスに、ＶＥＧＦ－Ｃクリオゲル（Ｎ＝５）又はブランククリオゲル（Ｎ＝５）のいずれかを０日目に注射した。１０日目に、全てのマウスに外側尾静脈を介してＰＢＭＣを注射した。ＰＢＭＣ注射から７日後、消化及びＦＡＣＳ分析のために皮膚／ゲル組織を採取した。ＬＥＣは、ヒトＣＤ４５$^{+}$マウスＣＤ１１ｂ$^{-}$マウスＣＤ３１$^{+}$マウスＰＤＰＮ$^{+}$についてゲーティングした。ＣＤ４及びＣＤ８Ｔ細胞は、ヒトＣＤ４５$^{+}$マウスＣＤ１１ｂ$^{-}$ヒトＣＤ３$^{+}$についてゲーティングした。Ｂ細胞は、ヒトＣＤ４５$^{+}$マウスＣＤ１１ｂ$^{-}$ヒトＣＤ３$^{-}$ヒトＣＤ１９＋についてゲーティングした。これらのデータは、ブランククリオゲル対照（ＶＥＧＦ－Ｃなし）と比較して、ＶＥＧＦ－Ｃクリオゲルを投与されたＮＳＧマウスの皮膚において、ＣＤ３＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞及びＢ細胞が全て増加したこと並びにＴ細胞がＮＳＧマウスで動員されたＰＢＭＣの主要な細胞型であったことを実証するものである。

【０８２１】

まとめると、これらのデータは、ラポナイトの有無にかかわらず、ＶＥＧＦ－Ｃを含むアルギン酸クリオゲルが、インビボでのリンパ管新生及びクリオゲル投与部位へのＴ細胞動員を局所的に誘導することができたことを示している。

【０８２２】

実施例３：ＣＡＲ　Ｔ細胞を作製するためのＴ細胞形質導入のためのＭＳＲ合成

この実施例は、メソポーラスシリカロッド（ＭＳＲ）の合成について説明する。ＭＳＲなどのメソポーラスシリカ粒子（ＭＳＰ）は、例えば、前述したＶＥＧＦ－Ｃクリオゲルの投与によりリンパ管新生を受けた患者の部位へのＣＡＲをコードするウイルスベクターの送達を補助するために使用することができる。

【０８２３】

ＭＳＲ合成は、最初にポリ（エチレングリコール）－ブロック－ポリ（プロピレングリコール）－ブロック－ポリ（エチレングリコール）平均Ｍｎ約５，８００（Ｐｌｕｒｏｎｉｃ　Ｐ－１２３、８０．０ｇ、４８７ｍｍｏｌ；Ｓｉｇｍａ）界面活性剤を室温で３Ｌの１．６Ｍ　ＨＣｌに溶解させることにより実施し、続いて、これを５Ｌのジャケット付きフラスコ中で４０℃に加熱し、０～６００ｒｐｍの速度のオーバーヘッドスターラーを用いて機械的に撹拌した。オルトケイ酸テトラエチル（ＴＥＯＳ、１８４ｍＬ、８２６ｍｍｏｌ；Ｓｉｇｍａ）を＜５分かけて１度に添加し、少なくとも２時間だが、最も一般的には２０時間攪拌を維持しながら４０℃で加熱した。得られたスラリーを水熱処理のために、８０～１３０℃に６～７２時間加熱した後、室温に冷却した。スラリーをブフナー漏斗で濾過し、脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、室温で風乾した。得られたシリカ原料を、室温から５５０℃まで８時間かけて低速温度変化率の炉内で焼成してから、５５０℃で更に８時間保持した後、室温まで冷却して、４７ｇのメソポーラスシリカ微粒子を得た。

【０８２４】
攪拌速度の変化は、微粒子アスペクト比に変化を生じ得る。熱水温度と持続時間の条件を変化させることが、メソポーラス材料の一般的な細孔径制御因子である。
【０８２５】
最終的なメソポーラス材料を、光学顕微鏡、Ｍａｌｖｅｒｎ Ｍｏｒｐｈｏｌｏｇｉ Ｇ３、走査型電子顕微鏡（ＳＥＭ）、熱重量分析（ＴＧＡ）によって特性決定した。
【０８２６】
Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルプロパン－１－アンモニウム官能化微粒子
１５０ｍＬの試薬エタノール中の１．０ｇのメソポーラスシリカ微粒子のスラリーに、トリメトキシシリルプロピルトリメチルアンモニウムクロリド（３．６１ｍＬ、６．５１ｍｍｏｌ；メタノール中の５０％溶液）を添加し、摂氏７５度で７時間加熱した。室温まで冷却した後、スラリーを濾過し、粒子を脱イオン水、続いてエタノールで洗浄し、次に摂氏１００度のオーブンで２０時間乾燥させて、Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルプロパン－１－アンモニウム官能化微粒子（本明細書では「トリメチルアンモニウムＭＳＲ」と呼ぶ）を得た。
【０８２７】
ＭＳＲサイズ縮小
ストックＭＳＲ変異体は、合成後の長さがおよそ１００～２００μｍであった。ＭＳＲを均質化して、そのサイズを縮小し、注入性を改善した。とりわけ、２８．５ｇａインスリンシリンジによる注入性を改善するために、乾燥ＭＳＲをＭＰ ＦａｓｔＰｒｅｐ－２４ ５Ｇビーズビートグラインダー及び溶解システムで８０秒間均質化した（図３０）。図３０Ａでは、ＭＳＲ長さに関してサイズ縮小が観察され、これによってより小径の針を用いた皮内隙への注射が可能になる。続いて、ＭＳＲをオートクレーブ滅菌し、使用まで室温で保存した。
【０８２８】
ＭＳＲへのレンチウイルスの負荷及びＭＳＲ＋ウイルスベクターの特性決定
均質化ＭＳＲバッチを、氷冷したトリス－ＮａＣｌ－ＥＤＴＡバッファーｐＨ７．５（ＮＴＥバッファー）に１０ｍｇ／ｍｌで再懸濁した。所望のレンチウイルスストック（以下に記載する）を、氷冷ＮＴＥ緩衝液で、負荷に必要な総量の形質導入単位（ＴＵ）まで希釈した。ＭＳＲ懸濁液と希釈ウイルスを１：１ｖｏｌ／ｖｏｌの比で合わせ、氷上で３０分間インキュベートした。余剰ＤＰＢＳでの少なくとも２回の洗浄工程を実施して、機能的インビトロ試験又はインビボ使用前に余剰のウイルスを除去した。負荷及び保持試験（図２７～２８）のために、２．５ｍｇ／ｍｌのＭＳＲ懸濁液を図中に表示される量のウイルスを含有する溶液と１：１で混合し、氷上で３０分間インキュベートした。ＭＳＲに結合し、且つＭＳＲから放出された負荷溶液中のウイルス量を、市販のキット、例えば、ｑＰＣＲベースのキット、例えば、Ｌｅｎｔｉ－Ｘ ｑＲＴ－ＰＣＲ Ｔｉｔｒａｔｉｏｎ Ｋｉｔを用いて定量化した。放出試験のために、ＭＳＲ－レンチウイルス複合体を３７℃の培地中でインキュベートし、表示時点で、ｑＰＣＲ分析のために上清を収集した。
【０８２９】
最初に、ＧＦＰコード化レンチウイルスを含むＭＳＲの負荷能力を測定した。トリメチルアンモニウムＭＳＲを、細胞ベースの形質導入アッセイによって決定される機能力価に応じて様々な量でＧＦＰ発現レンチウイルスと共インキュベートした。ウイルス負荷溶液（ＭＳＲに添加された初期投入物）、ＭＳＲ結合ウイルス（インキュベーション及び洗浄後にＭＳＲに結合したままの量）及び非結合ウイルス（ＭＳＲとウイルスの共インキュベーション後に溶液中に残存する量）を含む３つの画分中のウイルス量を特性決定した。ＭＳＲとウイルスを氷上で３０分間共インキュベートし、上清を除去し（非結合ウイルス）、ＭＳＲ結合ウイルスを評価する前にＭＳＲを２回洗浄した。各条件からの手つかずのウイルス負荷溶液も分析した。図２７Ａに示すように、投入されたウイルス負荷溶液中のウイルスの大部分は、非結合ウイルスと比較して吸着及び洗浄後のＭＳＲ結合ウイルス画分中に保持されていた。ＭＳＲに吸着されたウイルスの量も、ウイルス負荷溶液中のウイル

スの量と共に増加した。ウイルスの機能力価に対するウイルス負荷溶液の割合をグラフ化する図２７Ｂに示されるように、ウイルス負荷溶液に対して計算されたＭＳＲ結合ウイルスの画分は、吸着及び洗浄後のＭＳＲへの負荷及び保持の強い効率を有した。

【０８３０】

次に、ＭＳＲ上のウイルスの保持を特性決定した。具体的には、レンチウイルスとＭＳＲを氷上で３０分間共インキュベートし、ＭＳＲを２回洗浄した。次に、ＭＳＲを１０％ＦＣＳ又はＯｐＴｍｉｚｅｒ無血清培地を含むＲ１０培地で培養し、投入ウイルスストックも培地でインキュベートした。インキュベーション開始後の表示時点で上清を除去し、総ウイルス含量を分析した。図２８に実証されるように、結果は、非結合ウイルス対照（Ｒ１０培地中のウイルスとＯｐＴｍｉｚｅｒ培地中のウイルス）と比較して、ＭＳＲが最初の１８時間でごく少量の投入ウイルス（Ｒ１０培地中のＭＳＲウイルス及びＯｐＴｍｉｚｅｒ培地中のＭＳＲウイルス）のみを放出することを示した。

【０８３１】

実施例４：ＭＳＲ及びウイルスベクター及び任意選択によりＳＴＡＲＴＥＲＳによるＴ細胞の形質導入並びに機能試験

この実施例は、ＣＡＲをコードするウイルスベクターを用いたインビトロでのＴ細胞の形質導入を記載する。理論に拘束されることを望まないが、ウイルスベクターをＭＳＲ（ベクターの制御放出を促進するため）及び任意選択によりＳＴＡＲＴＥＲＳ（Ｔ細胞の活性化を促進するため）と一緒に投与した。

【０８３２】

ＭＳＲ＋ウイルスベクター＋任意選択によりＳＴＡＲＴＥＲＳによるインビトロＴ細胞形質導入

Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｈｕｍａｎ Ｐａｎ Ｔ細胞単離キットを用いて、白血球からヒトＴ細胞を単離し、使用まで凍結した。細胞を解凍し、ＳＴＡＲＴＥＲＳ構築物４の存在下、完全ＯｐＴｉｍｉｚｅｒ培地中で平板培養した（表２０、図４８Ａ）。ＣＤ１９ ＣＡＲ（ＣＡＲ１９とも称される）をコードするウイルスを、遊離ウイルス又はＭＳＲウイルス複合体のいずれかとして培養物に添加してから、１日間のインキュベーションを行った。細胞を洗浄し、更に３日間平板培養した後、特性決定及び機能試験に使用した。

【０８３３】

ＣＡＲ Ｔ細胞の特性決定及び機能試験

ＰＥに結合させたＣＤ１９ ＣＡＲ抗イディオタイプ抗体を用いた染色及びフローサイトメトリーによる分析により、ＣＡＲ Ｔ細胞をＣＡＲ受容体の発現について分析した。

【０８３４】

ＣＤ１９ ＣＡＲ発現を測定するために、形質導入後４日目にＣＡＲ＋細胞のパーセンテージを定量した（図２９Ａ）。インビトロでのＴ細胞の形質導入効率は、ＣＡＲ－ＭＳＲ又はＣＡＲ－遊離（非結合ウイルス）で形質導入したＴ細胞について同等であった（図２９Ａ）。

【０８３５】

ＭＳＲ結合ウイルス又は非結合ウイルスで形質導入されたＣＤ１９ ＣＡＲ Ｔ細胞の機能を測定するために、Ｎａｌｍ６－Ｌｕｃ細胞特異的殺傷アッセイ及びインターフェロンγ（ＩＦＮ－γ）放出アッセイを使用した。Ｎａｌｍ６（ＲＲＩＤ：ＣＶＣＬ＿００９２）は、ヒト急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）細胞株である。細胞は、１０％ウシ胎児血清を含むＲＰＭＩ培地で増殖させ、懸濁液中で増殖させた。ルシフェラーゼ（Ｎａｌｍ６－Ｌｕｃ）を発現するように細胞を修飾し、これにより共培養物中のそれらの存在をルシフェラーゼシグナルによって評価することができるようにした。Ｎａｌｍ６－Ｌｕｃ細胞を、遊離ウイルス又はＭＳＲ－ウイルス複合体を用いて産生されたＣＤ１９－ＣＡＲ Ｔと様々な細胞比（エフェクター：標的比（Ｅ：Ｔ比））で共培養した（図２９Ｂ～２９Ｃ）。１日共培養終了時のルシフェラーゼシグナルを用いて、ＣＡＲ Ｔによって殺傷された投入Ｎａｌｍ６のパーセンテージを計算した。市販のキットを用いて、共培養終了時の上清中のＩＦＮ－γレベルを定量した。

【０８３６】
これらのアッセイの結果は、２４時間の共インキュベーション中の特定の殺傷活性（図２９Ｂ）及びＩＦＮ－γ放出（図２９Ｃ）が、ＭＳＲ結合ウイルス（ＣＡＲ－ＭＳＲ）で形質導入されたＣＡＲ　Ｔ細胞と遊離ウイルス（ＣＡＲ－遊離）で形質導入されたＣＡＲ Ｔ細胞との間で同等であったことを示し、これは、ＭＳＲを用いた製剤による形質導入が、従来の遊離ウイルス形質導入と比較してインビトロで同等に機能的なＣＡＲ　Ｔを産生したことを証明している。
【０８３７】
次に、均質化後のＭＳＲの形質導入効率を評価した。ＭＳＲは、より小径の針による注射を可能にするために、前述の通り均質化した（図３０Ａ）。図３０Ｂに示すように、標準的なトリメチルアンモニウムＭＳＲ又はホモジナイズされたＭＳＲをレンチウイルスと共に吸着させ、この複合体の希釈系列を作製し、これを、ＧＦＰコード化レンチウイルスでＴ細胞を形質導入するために使用した。ＭＳＲの均質化は、インビトロでの形質導入性能を実質的に変化させなかった。
【０８３８】
インビボでのクリオゲル／ラポナイト、続いてＭＳＲ＋ウイルスベクターのインビボ投与
マウスにクリオゲルを注射した後、ＭＳＲウイルス複合体を注射した後のクリオゲルの局在及び分布を検証するために、実験を計画した。ブランクアルギン酸クリオゲルを皮下注射し、７日後に遊離又はＭＳＲに結合したウイルス粒子（４ｅ６　ＴＵ）を、インスリンシリンジ（ＭＳＲウイルス群の場合）又はＨａｍｉｌｔｏｎシリンジ（遊離ウイルスの場合）を用いてゲル上部の皮内隙に注射した。ウイルス送達から７２時間後、マウスを安楽死させ、組織（皮膚及び排出リンパ節）を採取して、免疫組織化学分析を行った。皮膚／クリオゲル組織、隣接する皮膚及び排出リンパ節を剖検時に採取し、１０％中性緩衝ホルマリンに浸漬固定し、パラフィンに処理した。切片を組織学的評価のためにヘマトキシリン及びエオジン（Ｈ＆Ｅ）で染色した。スライドスキャナーを用いてスライドをデジタル化し、代表的な画像を取得した。図３１Ａ～３１Ｂは、隣接するクリオゲル及びＭＳＲを含む皮膚のヘマトキシリン及びエオジン（Ｈ＆Ｅ）染色切片を示す。
【０８３９】
図３１Ａでは、Ｈ＆Ｅ染色切片は、皮下組織における筋肉層に表在する下皮クリオゲルの位置を示した。ＭＳＲは、移植されたクリオゲルに隣接する真皮－皮下接合部に位置する単核細胞と混ざり合った軽度好酸球性粒状体として出現した（クローズアップ画像の図３１Ｂ）。
【０８４０】
図３２Ａ～３２Ｂは、単離されたマウス皮膚の切片上のＣＡＲ　ｍＲＮＡのインサイチュハイブリダイゼーションを示す。ホルマリン固定パラフィン包埋組織切片に対して、ＣＡＲ転写物並びにＨｓ－ＰＰＩＢ（陽性対照及び組織品質管理）並びにＤＡＰＢ（陰性対照）遺伝子を検出するためのインサイチュハイブリダイゼーションを実施した。陽性ＰＰＩＢ及び陰性ＤＡＰＢ対照プローブセットは、それぞれプレコンディショニングを最適化し、且つｍＲＮＡの品質及び特異性を確実にするために加えられた。ハイブリダイゼーション方法は、３，３’－ジアミノベンジジン（ＤＡＢ）色原体を用いた公知のプロトコルに従った。簡単に説明すると、厚さ５μｍの組織切片をスライドガラスに載せ、６０分間焼成した後、ハイブリダイゼーションに使用した。染色装置を用いて、脱パラフィン及び再水和プロトコルを行った。１Ｘ検索バッファーでのオフライン手動前処理を実施した。最適化は、最初にＰＰＩＢ及びＤＡＰＢハイブリダイゼーションシグナルを評価した後、全てのスライドについて同じ条件を使用することによって実施した。前処理後、スライドを自動染色装置に移して、プロテアーゼ前処理；ハイブリダイゼーション、続いて増幅；並びにＨＲＰ及びヘマトキシリンカウンター染色による検出を含むハイブリダイゼーション手順を完了した。スライドはスライドスキャナーを使用してデジタル化し、代表的な画像を取得した。
【０８４１】

図３２Ａに示すように、ＣＡＲ　ｍＲＮＡ転写物を検出するためのインサイチュハイブリダイゼーションは、ＭＳＲ結合ウイルスを注射したマウスにおける注射ＭＳＲに対応する領域内に頑健なシグナルを示した。図３２Ｂに示されるように、インサイチュハイブリダイゼーションは、クリオゲルに浸潤する細胞並びに遊離ウイルス条件下でゲルに隣接する細胞に拡散シグナルを検出した。これらのデータは、ＭＳＲが、Ｔ細胞が皮膚に浸潤している真皮に局在したウイルスを維持し得るという見解を支持すると思われる。

【０８４２】

図３３Ａ～３３Ｂは、ＭＳＲウイルスを注射したマウスが、遊離ウイルス群と比較して、排出リンパ節中のＣＡＲ　ｍＲＮＡ転写物陽性細胞が少なかったことを示す。ＣＡＲ　ｍＲＮＡのインサイチュハイブリダイゼーションは、排出リンパ節（ｄＬＮ）の切片に対して前述のように実施した。このインサイチュハイブリダイゼーションは、ＭＳＲ結合ウイルスを注射したマウスのｄＬＮ内に１つのみのＣＡＲ　ｍＲＮＡ転写物陽性細胞を検出した（図３３Ａ）のに対して、遊離ウイルスを注射したマウスは、辺縁洞内にいくつかのＣＡＲ　ｍＲＮＡ転写物陽性細胞を示し、これは、クリオゲル移植部位からのウイルス又は細胞の局所排出と一致する（図３５Ｂ）。この試験は、ＭＳＰウイルス製剤が、排出リンパ節へのウイルスドレナージを制限し、それによって潜在的なオフサイト形質導入を低減し、安全性を向上させることを実証した。

【０８４３】

インビボで使用するためのウイルス及びＳＴＡＲＴＥＲＳによるＭＳＲ負荷

ＳＴＡＲＴＥＲＳ（具体的には、ＳＴＡＲＴＥＲＳ構築物２、表２０、図３７Ａに示す）及びトリメチルアンモニウムＭＳＲを共インキュベートして、ＭＳＲ表面への細胞活性化剤の吸着を可能にした。ＳＴＡＲＴＥＲＳ構築物２タンパク質を８ｍｇ／ｍｌのトリメチルアンモニウムＭＳＲ懸濁液に添加し、４℃で１時間インキュベートした。負荷したＭＳＲを３回洗浄し、ＤＰＢＳに最終濃度１５ｍｇ／ｍｌのＭＳＲまで再懸濁させた。ＣＤ１９　ＣＡＲコード化レンチウイルスを含有するＮＴＥ緩衝溶液を１０ｍｇ／ｍｌのトリメチルアンモニウムＭＳＲ懸濁液と混合し、４℃で３０分間インキュベートした。ＭＳＲを２回洗浄し、ＤＰＢＳに最終濃度１５ｍｇ／ｍｌのＭＳＲまで再懸濁させた。最後に、ＭＳＲを激しく上下にピペット操作し、インスリン用シリンジに再度充填して、直ちにマウスに皮内注射した。

【０８４４】

まとめると、これらのデータは、ＭＳＲ結合ウイルスが、ＳＴＡＲＴＥＲＳ構築物と共に、Ｔ細胞を効率的に形質転換して機能的なＣＡＲ　Ｔ細胞を産生することができたことを示している。従って、ＭＳＲ結合ＳＴＡＲＴＥＲＳと組み合わせたメソポーラスシリカロッド（ＭＳＲ）に結合したウイルス粒子（図２６Ａ）又はＭＳＲ結合ＳＴＡＲＴＥＲＳと組み合わせた遊離ウイルス（図２６Ｂ）の注入後、教育及び形質導入されるＴ細胞の二次プライミング部位を生成する、マウス皮膚へのＶＥＧＦ－Ｃ送達が本明細書で企図される。

【０８４５】

実施例５：インビボＣＡＲ　Ｔ製造

インビボマウスモデルにおいて、ＣＤ１９　ＣＡＲコード化レンチウイルスを用いたヒトＴ細胞のウイルス形質導入を実証するために、試験を実施した。具体的には、ＶＥＧＦ－Ｃクリオゲル（０．２５ｍｇ／ｍｌラポナイト）をマウスに投与し、リンパ管新生及びＴ細胞の動員を促進した。次に、ＣＤ１９　ＣＡＲ、ＭＳＲ及びＳＴＡＲＴＥＲＳをコードするウイルスベクターの組み合わせを投与して、リンパ管新生を経た領域におけるＴ細胞を活性化及び形質導入した。

【０８４６】

方法

マウス試験及びフローサイトメトリー分析

ＮＳＧマウス（Ｎ＝４５）に、０日目にＶＥＧＦ－Ｃクリオゲルを、１０日目に尾静脈注射を介してＰＢＭＣを注射した。７日後の１７日目に、マウスに次のいずれかを皮内注

射した：１）ＰＢＳ（Ｎ＝計１５／エンドポイントＦＡＣＳ分析の場合には５）、２）ＭＳＲ及びＳＴＡＲＴＥＲＳ構築物２（１５ｍｇ／ｍｌＭＳＲ当量の１０μｌ注射、前述の通り生産）、続いて遊離ＣＤ１９　ＣＡＲコード化レンチウイルス（ＳＴＡＲＴＥＲＳ注射から１時間後に４．２６ｅ６　ＴＵのウイルスを含有する１０μｌ注射）（Ｎ＝計１５／エンドポイントＦＡＣＳ分析の場合には６）、又は３）ＭＳＲ及びＳＴＡＲＴＥＲＳ構築物２と１：１で混合したＭＳＲ結合ＣＤ１９　ＣＡＲコード化レンチウイルス（１５ｍｇ／ｍｌＭＳＲの２０μｌ単回注射）（Ｎ＝計１５／エンドポイントＦＡＣＳ分析の場合には５）（図３４Ａ）。ＭＳＲ－ＳＴＡＲＴＥＲＳは、Ｔ細胞の活性化とＴ細胞形質導入を促進するために使用した。１４日目に、１群当たり３又は４匹のマウスを安楽死させ、皮膚／クリオゲル注射部位でのリンパ管新生を分析した。３５日目に、マウスを安楽死させ、インビボＣＤ１９　ＣＡＲコード化ウイルス送達が、ＶＥＧＦ－Ｃ誘導リンパ管新生によって動員されたＴ細胞の形質導入を誘発したかどうかを決定すると共に、局所及び全身の形質導入細胞を検出するために、脾臓及び血液を採取した（Ｎ＝３／群／時点）。マウスは、２５、３０、３５日目に循環ＣＤ１９　ＣＡＲ＋細胞のＦＡＣＳ分析のために定期的に採血した。最後に、３５日目に皮膚／クリオゲル及び脾臓のＦＡＣＳ分析のためにマウスを安楽死させ、ＣＡＲ　Ｔの増殖及びＢ細胞の枯渇を調べた。Ｂ細胞枯渇及びＣＡＲ－Ｔ細胞は、全ての群のマウスの脾臓においても定量化した。

【０８４７】

ＣＡＲのＩＳＨ染色

ＣＡＲ　ｍＲＮＡ転写物を検出するためのＲＮＡｓｃｏｐｅ　２．５　ＶＳプローブＣＡＲ　３ＵＴＲ（カタログ＃４３８２８９）並びに２．５　ＶＳプローブＨｓ－ＰＰＩＢ（陽性対照及び組織品質管理（カタログ＃３１３９０９））及び２．５　ＶＳプローブＤＡＰＢ（陰性対照（カタログ＃３１２０３９０）を用いたインサイチュハイブリダイゼーションを、Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｃｅｌｌ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ（ＡＣＤＢｉｏ）（Ｈａｙｗａｒｄ，ＣＡ）及びＶｅｎｔａｎａ　Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（Ｒｏｃｈｅ，Ｔｕｓｃｏｎ　ＡＺ）により供給された試薬及び装置を用いて、ブロックに対して実施した。ｍＲＮＡの品質及び特異性を確保するために、それぞれ陽性ＰＰＩＢ及び陰性ＤＡＰＢ対照プローブセットを加えた。ハイブリダイゼーション方法は、３，３’－ジアミノベンジジン（ＤＡＢ）色原体を使用してＡＣＤＢｉｏ及びＶｅｎｔａｎａシステムにより確立され、且つ試験組織用に最適化されたプロトコルに従った。簡単に説明すると、５μｍの切片を６０℃で６０分間焼成し、ハイブリダイゼーションに使用した。脱パラフィン及び再水和プロトコルは、Ｓａｋｕｒａ　Ｔｉｓｓｕｅ－Ｔｅｋ　ＤＲ５染色装置を用いて、次の手順で実施した：キシレンを３分ずつ３回；１００％アルコールを３分ずつ２回；風乾を５分。オフライン手動前処理を９８～１０４℃の１×回収バッファー中で１５分実施した。最適化は、最初にＰＰＩＢ及びＤＡＰＢハイブリダイゼーションシグナルを評価し、続いて全てのスライドについて同じ条件を使用することによって実施した。前処理に続いて、スライドをＶｅｎｔａｎａ　Ｕｌｔｒａ自動染色装置に移し、下記プロテアーゼ前処理：４３℃で２時間のハイブリダイゼーション、続いて増幅；並びにＨＲＰ及びヘマトキシリンカウンター染色による検出を含むＩＳＨ手順を完了した。

【０８４８】

Ｔ細胞のＩＨＣ染色

脱パラフィン及び抗原賦活化工程を含むＣＤ３の免疫組織化学染色を、ウサギモノクローナル抗体クローン２ＧＶ６（Ｖｅｎｔａｎａカタログ＃７９０－４３１）を用い、標準的なＶｅｎｔａｎａ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　ＸＴ試薬（Ｖｅｎｔａｎａ，Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ，ＩＮ）を使用して、Ｖｅｎｔａｎａ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　ＸＴ自動染色装置で実施した。スライドを脱パラフィン処理した後、標準的なＶｅｎｔａｎａ賦活化プロトコルに従って、細胞コンディショニング１（ＣＣ１／ｐＨ８）溶液で被覆することにより、熱誘導抗原賦活化に付した。一次抗体又は非免疫アイソタイプ適合陰性対照と一緒に、スライドをインキュベートした。視覚化は、Ｖｅｎｔａｎａ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　ＯｍｎｉＭａｐ　ＨＲＰ試薬、続いてＶｅｎｔａｎａ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　ＣｒｏｍｏＭ

ａｐ　３，３’－ジアミノベンジジン（ＤＡＢ）とのインキュベーションによって達成した。Ｖｅｎｔａｎａヘマトキシリン及びＶｅｎｔａｎａ青色染色剤を用いて、それぞれ４分対比染色を行った。スライドを脱水し、透明化し、合成封入剤と共にカバーガラスを被せた。

【０８４９】

ＩＦ染色プロトコル－インビボＣＡＲ　Ｔ－マルチプレックスのためのマウス組織

１日目にスライドを洗浄した後、４℃で一晩ブロックした。２日目に、スライドをＡｆｆｉｎｉＰｕｒｅ　Ｆａｂフラグメントヤギ抗マウスＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）と一緒にインキュベートし、次にＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ（登録商標）６４７標識抗ＣＤ１９抗体と一緒に４℃で一晩インキュベートした。３日目にスライドを洗浄してから、Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ（登録商標）４８８標識抗ＣＤ３ゼータ抗体と一緒に４℃で一晩インキュベートした。４日目に、スライドを洗浄し、ＤＡＰＩで対比染色した後、再度洗浄した。スライドにカバーガラスを載せ、イメージング前に少なくとも２４時間冷蔵庫内に配置した。

【０８５０】

結果

図３８に示されるように、Ｔ細胞は、マウス皮膚における移植部位周辺及びゲルの周囲で効率的に動員された。ＣＡＲ　ＩＳＨ試験からの結果は、その領域内のいくつかの単核細胞（表現型である可能性が高いＴ細胞から）が、ＣＡＲをコードするレンチウイルスベクターで形質導入されたことを示した（図３９）。ＣＡＲ　ＲＮＡの発現は、いくつかの内皮細胞（恐らくリンパ系）においても観察された（図３９）。しかし、フローサイトメトリーによって分析された細胞表面でのＣＤ１９　ＣＡＲタンパク質発現は、わずかなヒト単球細胞を除いて、ほぼ全てがＴ細胞におけるものであることが確認され、これは、遊離ウイルス及びＭＳＲウイルスによる非Ｔ細胞の形質導入が最小限であったことを示している（図３５）。

【０８５１】

局所的に生成されたＣＡＲ－Ｔ細胞は脾臓に遊走した（図４０）。図３４Ｂに示すように、ＣＡＲ－Ｔ細胞並びにＢ細胞の有意な減少が、（ａ）遊離ウイルスと、ＭＳＲ結合ＳＴＡＲＴＥＲＳ構築物２、又は（ｂ）ＭＳＲ及びＳＴＡＲＴＥＲＳ構築物２と１：１で混合したＭＳＲ結合ＣＤ１９　ＣＡＲコード化レンチウイルスを投与されたマウスにおいて検出された。脾臓中のＢ細胞数は、脾臓中（図３４Ｃ及び３６Ａ）及び血液中（図３６Ｂ）のＣＡＲ－Ｔ細胞（主にＣＤ８＋）の数と逆相関しており、これは、Ｂ細胞の枯渇がインビボで生成されたＣＤ１９特異的ＣＡＲ－Ｔ細胞によって引き起こされたことを裏付けるものである。図４１Ａ～４１Ｂに示すように、Ｔ細胞に近接したＢ細胞は、収縮し、不健康な形状をしており、細胞死を示したのに対して、ＣＤ１９特異的Ｔ細胞とまだ接触していないＢ細胞は、健康な表現型（細胞表面のみのＣＤ１９染色で、円形及びより大きい細胞）を示した。ＣＤ３抗体で染色されたＴ細胞（ドット染色）は、ＣＡＲプローブとの共染色が施さなかったものの、ＣＡＲ　Ｔ細胞である可能性が高い。

【０８５２】

この試験は、リンパ管新生の誘導及びＴ細胞の動員のために、増殖／細胞動員因子（例えば、ＶＥＧＦ－Ｃ）を含有するクリオゲルを局所投与した後、機能的なＣＡＲ　Ｔ細胞をインビボで生成することができることを実証するものであり、これらは、次に、ＭＳＲ結合ウイルス又は遊離ウイルス及びＭＳＲ結合ＳＴＡＲＴＥＲＳによって形質導入される。

【０８５３】

実施例６：インビボＣＡＲ　Ｔ製造を検証する追加の試験

この実施例では、インビボＣＡＲ　Ｔ製造を試験するために、図４２Ａに構成されるような追加の試験を実施した。方法は、実施例５に記載のものと同様である。簡単に説明すると、ＮＳＧマウスに、ＶＥＧＦ－Ｃクリオゲル（０．２５ｍｇ／ｍｌラポナイト）を－２４日目に、ヒトＰＢＭＣを－１４日目に皮下注射した。０日目に、１）遊離ウイルスと、ＭＳＰ及びＳＴＡＲＴＥＲＳ構築物２（遊離ウイルス群と呼ぶ）、２）ウイルスを含む

ＭＳＰと、ＭＳＲ及びＳＴＡＲＴＥＲＳ構築物２（ＭＳＰウイルス群と呼ぶ）、又は３）ＰＢＳと、ＭＳＰ及びＳＴＡＲＴＥＲＳ構築物２（ＰＢＳ群と呼ぶ）をマウスに皮内注射した。マウスの第４群は、－２４日目にブランククリオゲルを、０日目に遊離ウイルス及びブランクＭＳＰを投与された（遊離ウイルス対照群と呼ぶ）。最初の２つの群（遊離ウイルス群及びＭＳＰウイルス群）は、完全併用群又は完全併用処置を受ける群と呼ばれる。ウイルス用量は、４ｅ６ＴＵ（実施例５、図３４Ａ）から１．１ｅ７ＴＵ（実施例６、図４２Ａ）まで増加させた。

【０８５４】

図４２Ｂに示すように、ヒトＣＤ４５循環細胞数は、経時的に増加した。完全併用処置（実線ボックス、白と黒の円）は、対照マウス（点線ボックス、灰色の三角形、白い菱形）と比較して、Ｔ細胞、特にＣＤ８＋Ｔ細胞の増殖を更に促進した。実施例５（ＶＥＧＦ－Ｃ注射の１７日後及びＰＢＭＣ注射の７日後にウイルス注射）に記載される試験とは異なり、この新たな試験では、ウイルス注入は、ＶＥＧＦ－Ｃ注射の２４日後及びＰＢＭＣ注射の１４日後に延期された。この変更により、恐らくこのより遅い時点（２４日目）でのＶＥＧＦ－Ｃクリオゲル移植周辺のＴ細胞の密度が高いために、より高密度のＣＡＲ　Ｔ細胞生成がもたらされた。

【０８５５】

図４３Ａに示すように、インビボで生成されたヒトＣＤ３＋ＣＡＲ＋Ｔ細胞は、完全併用治療（実線ボックス、白及び黒丸）、特にＣＤ８表現型のＣＡＲ－Ｔ細胞において、対照マウス（点線ボックス、灰色の三角形、白い菱形）と比較して、経時的に数が増加した。ＣＡＲ－Ｔ細胞数の増加に対応して、循環中のＢ細胞の減少がＰＢＳ対照と比較して経時的に観察された（図４３Ｂ、上パネル）。ＭＳＰウイルス群及び遊離ウイルス群は同様に行ったが、遊離ウイルス対照群（図４３Ｂ、下パネル）も、完全併用群と同程度ではないものの、部分的なＢ細胞枯渇を示した。実際、遊離ウイルス対照群のマウスにおける循環ＣＡＲ－Ｔ細胞の数は、完全併用群の数ほど多くなかった。

【０８５６】

実施例５に記載される結果と一致して、この新たな試験、血液（図４４Ａ）及び脾臓（図４４Ｂ）におけるＣＡＲ－Ｔ細胞増殖とＢ細胞枯渇との間の強い相関関係も示した。遊離ウイルス対照群は、循環中に中レベルのＢ細胞枯渇を示した（図４４Ａ）が、この対照処置は、脾臓中に有効なＢ細胞枯渇をもたらさなかった（図４４Ｂ）。特に、ＣＤ８表現型からのＣＡＲ－Ｔ細胞の存在は、処置したマウスの脾臓（図４５Ａ～４５Ｂ）及び皮膚（図４６Ａ～４６Ｃ）におけるＢ細胞の枯渇と対応した。皮膚において、ＣＡＲ　Ｔ細胞の増殖は、リンパ管内皮細胞（ＬＥＣ）の数によって測定されるリンパ管新生とも相関していた（図４６Ｄ）。

【０８５７】

要約すると、この試験は、本明細書に記載のインビボＣＡＲ　Ｔ製造方法を使用して、機能的ＣＡＲ　Ｔを生成することができ、その増殖が、Ｂ細胞の枯渇と相関することを実証するものである。

【０８５８】

実施例７：ＭＳＰを用いたウイルスとＳＴＡＲＴＥＲＳの共送達。

この実施例では、同じＭＳＰを用いたウイルスとＳＴＡＲＴＥＲＳの共送達を調べる。簡単に説明すると、ＧＦＰをコードするレンチウイルスベクター及びＳＴＡＲＴＥＲＳ構築物１と一緒にＭＳＰを同時に共インキュベートした（表２０、図４８Ａ）。共インキュベーション及び洗浄後、ウイルスとＳＴＡＲＴＥＲＳ負荷ＭＳＰを段階希釈した後、９６ウェル平底プレートでＴ細胞と一緒にインキュベートした。図４７に示すように、ＭＳＰを使用したウイルスとＳＴＡＲＴＥＲＳの共送達により、初代ｐａｎＴ細胞における導入遺伝子発現の成功が達成された。

【０８５９】

実施例８：ＳＴＡＲＴＥＲＳ分子の作製

この実施例は、抗ＣＤ３結合ドメイン及び共刺激分子結合ドメインを含む多重特異性分

子の作製について説明する。いくつかの実施形態では、共刺激分子結合ドメインは、ＣＤ２８、ＣＤ２、ＣＤ２５、ＣＤ２７、ＩＬ６Ｒａ、ＩＬ６Ｒｂ、ＩＣＯＳ又は４１ＢＢに結合する。このような分子は、ＳＴＡＲＴＥＲＳ分子と呼ばれる。

【０８６０】

様々な立体配置の抗ＣＤ３×抗ＣＤ２８又は抗ＣＤ３×抗ＣＤ２二重特異性抗体及びそれらの多量体コンジュゲートを作製した。これらの分子についてのスキームを図４８Ａ～４８Ｂに提供する（構築物１～１７、Ｆ１～Ｆ１７とも呼ばれる；第１世代ＳＴＡＲＴＥＲＳ分子）。構築物１～１７の配列及びそれらの結合ドメインを表１９及び表２０に開示する。

【０８６１】

加えて、異なる共刺激分子（ＣＤ２５、ＩＬ６Ｒｂ、ＣＤ２７、４１ＢＢ、ＩＣＯＳ又はＣＤ２）を標的とするバインダーを試験するために、第２世代ＳＴＡＲＴＥＲＳ分子を作製した。異なる抗ＣＤ３バインダー（抗ＣＤ３（１）又は抗ＣＤ３（２）に基づくバインダー）も比較した。第２世代ＳＴＡＲＴＥＲＳ分子（図４９Ａ）は全て、図４９Ｂに示す立体配置を有する。第２世代ＳＴＡＲＴＥＲＳ分子の異なるバインダーの配列は、表１９に見出すことができる。

【０８６２】

理論に拘束されることを望まないが、ＳＴＡＲＴＥＲＳ分子とＦｃＲの結合を低減すると、Ｔ細胞によるＦｃＲ発現細胞の望ましくない殺傷を低減又は防止し得る。第３世代ＳＴＡＲＴＥＲＳ分子は、ＩｇＧ１　Ｆｃ領域にＤ２６５Ａ／Ｎ２９７Ａ／Ｐ３２９Ａ置換（Ｋａｂａｔに従うＥＵナンバリング）（「ＤＡＮＡＰＡ」）を導入することによって作製された。更に、異なる抗ＣＤ３バインダー（抗ＣＤ３（１）、抗ＣＤ３（２）又は抗ＣＤ３（３）に基づくバインダー）及び異なる抗ＣＤ２８バインダー（抗ＣＤ２８（１）又は抗ＣＤ２８（２）に基づくバインダー）も比較した（図５０Ａ）。第３世代ＳＴＡＲＴＥＲＳ分子は全て、図５０Ｂに示す立体配置を有する。第３世代ＳＴＡＲＴＥＲＳ分子の配列及びそれらの結合ドメインを表１９及び表２０に見出すことができる。

【０８６３】

ＳＴＡＲＴＥＲＳ分子は、ＣＡＲをコードするレンチウイルスベクターでＴ細胞の形質導入を媒介することが証明された。

【０８６４】

ＳＴＡＲＴＥＲＳ活性をアッセイするための例示的な方法は、例えば、ＰＣＴ／米国特許出願公開第２０２１／０１９８８９号明細書の実施例１６～１９及び２２～２３に開示されており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０８６５】

実施例Ｊ：インビボＣＡＲ　Ｔ製造におけるＳＴＡＲＴＥＲＳ分子の使用

この実施例は、インビボＣＡＲ　Ｔ製造に使用するためのＳＴＡＲＴＥＲＳ分子の特性決定について説明する。このＳＴＡＲＴＥＲＳ分子は、抗ＣＤ３　ｓｃＦｖに融合した抗ＣＤ２８抗体を含む抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８二重特異性分子である（図５１Ａ）。このＳＴＡＲＴＥＲＳ分子は、配列番号７２６のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号７２８のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。このＳＴＡＲＴＥＲＳ分子のＦｃ領域は、Ｅｕナンバリングシステムに従って番号付けされたＬ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ／Ｓ２６７Ｋ／Ｐ３２９Ａ変異を含む。

【０８６６】

最初のインビトロ研究では、ＭＳＰを介して送達されたとき、Ｔ細胞の活性化及び形質導入を媒介する能力についてＳＴＡＲＴＥＲＳ分子を試験した。簡単に説明すると、単離したＴ細胞を解凍し、１００単位／ｍＬのＩＬ２を含む無血清Ｔ細胞培地に１ｅ６細胞／ｍＬで再懸濁した後、９６ウェルプレートに添加した。２０ｍｇの各ＭＳＰバッチをダルベッコＰＢＳ（Ｔｈｅｒｍｏ：＃１４１９０１４４）に３０ｍｇ／ｍＬで再懸濁し、１．５ｍｇのＭＳＰ（又は同量のＤＰＢＳ）をエッペンドルフチューブに添加した。同じエッペンドルフチューブに、２．１μｇのＳＴＡＲＴＥＲＳを添加した。レンチウイルスを氷

上で解凍し、ＤＰＢＳで１．４ｅ８　ＴＵ／ｍＬに希釈した後、７ｅ７　ＴＵのウイルスを上記チューブの各々に添加した。混合物を４℃で１時間インキュベートした後、Ｔ細胞培地で段階希釈してから、平板培養されたＴ細胞に投与した。成分をＴ細胞と一緒に３日間共培養した後、Ｔ細胞の活性化及び形質導入を、フローサイトメトリーを用いて評価した。

【０８６７】

独立して生成されたＭＳＰの２つのバッチに、レンチウイルス及びＳＴＡＲＴＥＲＳ分子を負荷した後、インビトロでＴ細胞と共培養した。ＭＳＰに結合したＳＴＡＲＴＥＲＳ分子を送達すると、特に、より希薄な条件下で、分子の可溶性送達と比較して、活性化及び形質導入を増強した（図５１Ｂ及び５１Ｃ）。ＭＳＰ－ウイルス－ＳＴＡＲＴＥＲＳ複合体をＴ細胞と一緒に３日間共培養した後、フローサイトメトリー分析を実施して、活性化読み出しとしてＣＤ２５発現（図５１Ｂ）を、また形質導入を測定するためにＧＦＰ発現（図５１Ｃ）を調べた。データは、ＭＳＰのいずれかのバッチと形成された複合体がＴ細胞を活性化すると共に、Ｔ細胞形質導入を媒介することができることを示している。ＭＳＰによる活性化及び形質導入が釣鐘型の反応を示すことは注目に値する。理論に拘束されることを望まないが、Ｔ細胞培養中の高濃度のＭＳＰは、Ｔ細胞の生存率に悪影響を及ぼし、その後、活性化及び形質導入効率を阻害し得る。

【０８６８】

第２のインビトロ研究では、超音波処理又はビーズ均質化のいずれかによるＭＳＰのサイズ縮小が、ＭＳＰの性能に影響を与えるかどうかを試験した。単離したＴ細胞を解凍し、１００ユニット／ｍＬのＩＬ－２を含む無血清Ｔ細胞培地に１ｅ６細胞／ｍＬで再懸濁してから、９６ウェルプレートに添加した。６０ｍｇのＭＳＰをＤＰＢＳ中に３０ｍｇ／ｍＬで再懸濁した。ＭＳＰ溶液の一部をビーズ均質化によりサイズ縮小した。更に、３０ｍｇのＭＳＰを滅菌水中に５ｍｇ／ｍＬで再懸濁し、次いでＱ１２５システム（ｑＳｏｎｉｃａ）超音波処理プローブを用い、４０％の振幅で２分間超音波処理した（超音波処理は、３０秒ずつ休止して１５秒間隔で実施した）。超音波処理後、ＭＳＰを遠心分離して、水を吸引し、ＤＰＢＳ中に３０ｍｇ／ｍＬで再懸濁した。１．５ｍｇのフルサイズ又はサイズ縮小ＭＳＰを新しいエッペンドルフチューブに添加し、等量のＤＰＢＳを可溶性ウイルス対照として別のエッペンドルフチューブに添加した。次に、１．６μｇのＳＴＡＲＴＥＲＳ分子をＭＳＰ又はＤＰＢＳに添加した後、８ｅ７　ＴＵの解凍ウイルスを添加した。この混合物を４℃で１時間インキュベートした後、Ｔ細胞培地で段階希釈し、平板培養されたＴ細胞に添加した。成分をＴ細胞と３日間共培養した後、Ｔ細胞の活性化及び形質導入を、フローサイトメトリーを用いて評価した。

【０８６９】

ＧＦＰコード化レンチウイルス及びＳＴＡＲＴＥＲＳ分子をフルサイズ又はサイズ縮小ＭＳＰに負荷し、サイズ縮小は、ＭＳＰのビーズ均質化又は超音波処理を用いて達成した。ＭＳＰ－ウイルス－ＳＴＡＲＴＥＲＳ複合体をＴ細胞と３日間共培養した後、ＣＤ２５発現（活性化）及びＧＦＰ発現（形質導入）についてフローサイトメトリー分析を行った。ＭＳＰのサイズ縮小は、Ｔ細胞の活性化（図５２Ａ）及び形質導入（図５２Ｂ）に関してインビトロでの効力に悪影響を及ぼさず、超音波処理ＭＳＰは、試験したＭＳＰ条件の最大のピーク形質導入効率を示した。

【０８７０】

次に、インビボＣＡＲ　Ｔ製造におけるＳＴＡＲＴＥＲＳ分子の使用を検証するために、インビボ研究（図５３Ａ）を実施した。簡単に説明すると、ＶＥＧＦ－Ｃ負荷クリオゲル（図５３Ａの「注射剤１」）を－１６日目に注射した後、－１４日目に２０ｅ６ヒトＰＢＭＣ注射を行った。１４日後、ＣＤ１９　ＣＡＲコード化ウイルスと、ＭＳＰに共負荷されたＳＴＡＲＴＥＲＳ分子との異なる組み合わせ（図５３Ｂの「注射剤２」）を、クリオゲル位置の上方に皮内注射した。フローサイトメトリー分析は、毎週の採血からの血液に対して実施し、リンパ球集団の拡大を評価した。１８日目に、有意なＣＡＲ－Ｔ拡大を有するマウスを安楽死させ、循環リンパ球を心臓穿刺によって採取し、ＣＡＲ％及び細胞

数を分析し、群内にプールし、４日前に１ｅ６　ＮＡＬＭ６細胞でチャレンジしておいたマウスに養子移入した。毎週の採血及び隔週の腫瘍の発光イメージングは、研究終了まで実施した。本研究の目的は、１）各注射剤内の単一成分の必要性を解明し、２）インビボで製造されたＣＡＲ－Ｔが腫瘍量を制御する能力を実証することであった。

【０８７１】

図５３Ｃに示すように、インビボで製造されたＣＡＲ－Ｔを、ＮＡＬＭ６腫瘍担持マウスに養子移入すると、それらの標的ＣＤ１９受容体を認識し、これらのマウスのＢ細胞を枯渇させることができた。図５３Ｄに示すように、ＣＡＲ　Ｔのないドナーマウスからの移入ＰＢＭＣで処置した腫瘍（図５３Ｄの「ＰＢＭＣ対照」）は、未処置のＮＡＬＭ６腫瘍（図５３Ｄの「ＮＡＬＭ６」）と比較して、同等の増殖動態を示した。遊離ウイルス（図５３Ｄの「遊離ウイルス」）又はＭＳＰ送達ウイルス（図５３Ｄの「ＭＳＰウイルス」）を用いて製造された３ｅ５　ＣＡＲ－Ｔの１用量で処置したマウスは、腫瘍負荷の縮小を示す。これらのデータは、インビボで生成されたＣＡＲ　Ｔがインビボで強力な抗腫瘍活性を示したことを証明している。

【０８７２】

更に、循環中の生体内生成ＣＡＲ　Ｔの拡大を調べた。クリオゲル部位に注射剤２を皮内注射してから１３日後、ＶＥＧＦ－Ｃクリオゲル、ウイルス（ＭＳＰ送達又はフリー）及びＭＳＰ－ＳＴＡＲＴＥＲＳの組み合わせで処置したマウスは、同等のＣＡＲ　Ｔを示したが、これは、総循環Ｔ細胞中の類似するＣＡＲパーセンテージ（図５３Ｅ）及び血液中のＣＡＲ　Ｔ細胞の計数／μｌ（図５３Ｆ）によって示された。完全処置併用なしで処置されたマウスは、より低レベルのＣＡＲ－Ｔ数及びＣＡＲ＋％を示した（図５３Ｅ及び５３Ｆ）。

【０８７３】

注射剤２の皮内注射から１８日後、同等量の循環Ｔ細胞（図５３Ｈ）にもかかわらず、ＭＳＰに共負荷したウイルス及びＳＴＡＲＴＥＲＳで処置されたマウスは、遊離ウイルスと組み合わせたＭＳＰ送達ＳＴＡＲＴＥＲＳで処置したマウスと比較して、より高いＣＡＲ－Ｔ数（図５３Ｉ）及びＣＡＲ＋％（図５３Ｊ）を有した。Ｎａｌｍ６腫瘍を有するマウスに投与する細胞数を決定するために、１８日目のデータを使用して、血液リンパ球のプール後のＣＡＲ＋細胞数を決定した。

【０８７４】

図５３Ｋ及び５３Ｌは、養子移入に使用されたマウス及び研究に登録された残りのマウスからの血液の組み合わせフローサイトメトリー分析の結果を示す。群間で循環Ｔ細胞数に有意差は認められなかった（図５３Ｋ）。注射剤１と注射剤２の完全併用は、循環中ＣＡＲ　Ｔの最高の絶対数を誘導した（図５３Ｌ）。

【０８７５】

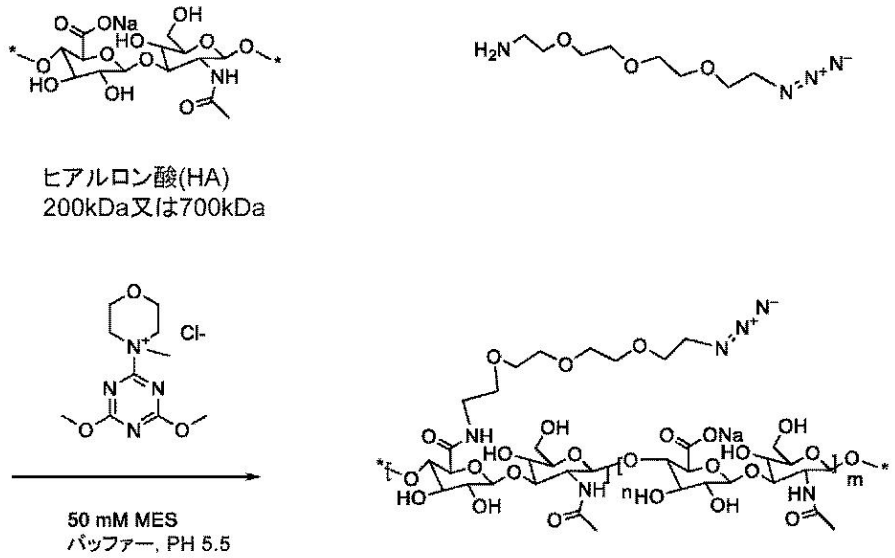
実施例Ｋ：ＶＥＧＦ－Ｃの持続放出のためのＨＡヒドロゲルの使用

この実施例は、注射部位でのリンパ管新生及びＴ細胞局在化を達成するためのＶＥＧＦ－Ｃタンパク質の持続放出のためのヒアルロン酸（ＨＡ）－ヒドロゲルの使用について説明する。

【０８７６】

実施例１：ヒアルロン酸の官能化

【化１３】



この実施例は、アジド官能化ヒアルロン酸の合成について説明し、これは、架橋部分と反応してヒドロゲルを形成する。

【０８７７】

ヒアルロン酸中間体［ＨＡ－Ｎ$_3$］の合成

ヒアルロン酸ナトリウム塩は、グルクロン酸とＮ－アセチルガラクトサミンの反復二量体単位から構成される線状ポリマーであり、１反復単位分子量は、４０１．３Ｄａである。本実施例において、報告されるヒアルロン酸のモル数は、反復単位のモル数を指し、ヒアルロン酸との反応に用いられる試薬の当量は、ヒアルロン酸反復単位のモル数に対して報告される。ポリマーの平均分子量は、１ポリマー鎖当たりの平均反復単位数を決定する。ヒアルロン酸ナトリウム塩は、７００ｋＤａの公称平均分子量を有する標識ＨＡ７００Ｋ－５と共に、供給者Ｌｉｆｅｃｏｒｅ　Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌから取得したものであり、バッチによって異なる可能性がある。

【０８７８】

７００ＫＤ［ＨＡ－Ｎ$_3$］－１６％の合成

ヒアルロン酸の溶液、ナトリウム塩（公称平均分子量７００ｋＤａ；２５８．９ｍｇ、０．６２ｍｍｏｌ；Ｌｉｆｅｃｏｒｅ　Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ、ＬＬＣ；品番ＨＡ７００Ｋ－５）を３７．５ｍＬのＭＥＳ緩衝液（５０ｍＭ、ｐＨ５．５）に完全に溶解させた。この溶液に４－（４’，６’－ジメトキシ－１’，３’，５’－トリアジン－２’－イル）－４－メチルモルホリン－４－イウムクロリド（ＤＭＴＭＭ、２９８．１ｍｇ、１．０７７ｍｍｏｌ、１．７３６当量）を添加し、５分後に１１－アジド－３，６，９－トリオキサウンデカン－１－アミン（２０１ｍｇ、０．９２１ｍｍｏｌ）を添加した。反応物を一晩撹拌した。粗反応混合物を透析膜（ＭＷＣＯ　５０ｋＤａ）に充填し、透析溶液を数回交換しながら、０．２５Ｍ　ＮａＣｌに対して１～３日間透析した後、脱イオン水に対して、やはり透析溶液を数回交換しながら、１～３日間透析を実施した。完了したら、サンプルを透析チューブから取り出し、瞬間凍結し、凍結乾燥して、７００ｋＤａ［ＨＡ－Ｎ$_3$］－１６％を得た。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，Ｄ$_2$Ｏ）δ４．４５　ｂｓ，１．７１Ｈ），４．０－３．１（ｍ，１６Ｈ），１．９５（ｓ，３Ｈ）．

【０８７９】

ＤＯＳＹ－ＮＭＲ。５ｍｍのＤＣＨクライオプローブを備えるＢｒｕｋｅｒ　ＡＶＡＮＣＥ　ＩＩＩ　４００ＭＨｚ（^{1}Ｈ－ＮＭＲ用）装置上において、１スポイルグラジエントパルスシーケンス（ｓｔｅｇｐ１ｓ１ｄ）による誘導エコーを使用して、１次元拡散係数配列ＮＭＲスペクトル（ＤＯＳＹ）を収集した。拡散時間及び拡散勾配時間は、それぞれ

５０ｍｓ及び４ｍｓに設定した。２％及び９５％に設定した勾配強度（ｇｐｚ６）を用いて、２つのスペクトルを収集した。２つのスペクトルの比較により、溶媒ピーク以外に差は示されず、これは、ポリマー中に小分子不純物が存在しなかったことを示している。

【０８８０】

精製サンプルの元素分析は、以下の元素含有量を示した－Ｃ：３８．９％：Ｈ：５．４２％；Ｎ：４．８５％。

【０８８１】

［ＨＡ－Ｎ$_3$］の置換度は、反復単位の％として定義され、カルボキシレート部分は、反応を経て、表示されるアミドをもたらす。元素分析を使用して、置換度を決定した。精製サンプルの元素分析によって決定される［％Ｃ／％Ｎ］比を次の式に入力して、置換度を取得する。ここで、ｙ＝［（％Ｃ）／（％Ｎ）］）であるとき：

置換度＝

【数１】

$$100 \times \frac{\frac{14 \times 12.01}{14.01 \times y} - 1}{4 - \frac{8 \times 12.01}{14.01 \times y}}$$

【０８８２】

本実施例において、［ＨＡ－Ｎ$_3$］の置換度（ＤＳ）は１６％であった。

【０８８３】

この７００ｋＤａのヒアルロン酸を、１６％のアジドリンカーで官能化し、７００ｋＤａ［ＨＡ－Ｎ$_3$］－１６％で標識した。

【０８８４】

２００ＫＤ［ＨＡ－Ｎ$_3$］－２４％の合成

別の態様において、ヒアルロン酸は、ナトリウム塩（公称平均分子量２００ｋＤ）を実施例１で上述したように反応させた。

^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，Ｄ$_2$Ｏ）δ４．４５（ｂｓ，２Ｈ），４．０－３．１（ｍ，１８Ｈ），１．９５（ｓ，３Ｈ）．

元素分析：Ｃ：３９．９４％：Ｈ：５．５３％；Ｎ：５．７３％。

【０８８５】

残りの例では、Ｘ％のアジドリンカーで官能化された７００ｋＤａ及び２００ｋＤａヒアルロン酸を、それぞれ７００ｋＤａ［ＨＡ－Ｎ$_3$］－Ｘ％及び２００ｋＤａ［ＨＡ－Ｎ$_3$］－Ｘ％で標識する。

【０８８６】

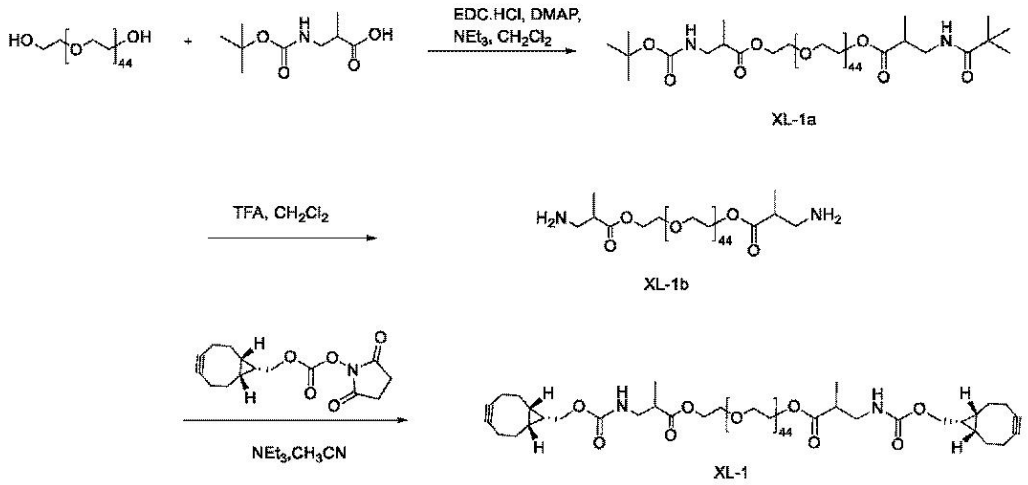
［ＨＡ－Ｎ$_3$］中間体は、タンジェンシャルフロー濾過によって精製することもできる。反応混合物を２５ｍＬの０．２５Ｍ　ＮａＣｌ溶液で希釈し、タンジェンシャルフロー濾過で精製した。タンジェンシャルフロー濾過は、３０ｋＤａ　ＭＷＣＯ　Ｖｉｖａｆｌｏｗ－５０ＲＨｙｄｒｏｓａｒｔ　ｃａｒｔｒｉｄｇｅ（Ｓａｒｔｏｒｉｕｓ）を用いて行い、４００ｍＬの０．２５Ｍ　ＮａＣｌ溶液、次に４００ｍＬの水で溶出した。生成物を瞬間凍結し、凍結乾燥して最終生成物を得た。

【０８８７】

実施例２：架橋剤（ＸＬ）の合成

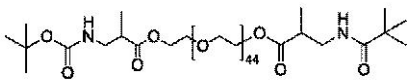
ＸＬ－１合成

【化１４】



ＸＬ－１ａ．ＰＥＧ（２０００）－ビス－３－（（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）－２－メチルプロパノエート

【化１５】

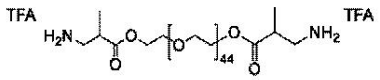


３－（（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）アミノ）プロパン酸（０．１５２ｇ、０．７５ｍｍｏｌ）及びＭｎ約２ｋＤａのＰＥＧ（０．５ｇ、０．２５０ｍｍｏｌ）を１５ｍＬジクロロメタンに溶解させた。ジメチルアミノピリジン（０．０１５ｇ、０．１２５ｍｍｏｌ）及びＥＤＣ・ＨＣｌ（０．１９２ｇ、１．００３ｍｏｌ）を添加し、反応混合物を室温で一晩撹拌した。０～１５％ジクロロメタン：メタノール勾配のシリカ上のフラッシュカラムクロマトグラフィーにより粗生成物精製した。生成物を含む画分を合わせ、乾固させて、ＸＬ－１ａを得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，メタノール－ｄ４）δ４．２３（ｍ，４Ｈ），３．６３（ｍ，１７０Ｈ），３．２２（ｍ，４Ｈ）２．６６（ｍ，２Ｈ），１．４３（ｓ，１８Ｈ），１．１３（ｍ，６Ｈ）．

【０８８８】

ＸＬ－１ｂ．ＰＥＧ（２０００）－ビス－［メチル－３－アミノ－２－メチルプロパノエート］、ビス－トリフルオロ酢酸

【化１６】

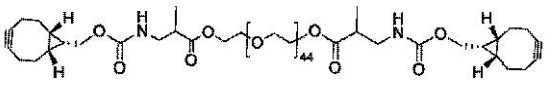


ＸＬ－１ａ（２６０ｍｇ、０．１０８ｍｍｏｌ）をジクロロメタン（３ｍＬ）に溶解させた。トリフルオロ酢酸を添加し（０．４１５ｍＬ）、反応混合物を室温で４時間撹拌した。溶媒を減圧下で除去した。粗生成物をEt_2Oで２回粉砕した後、真空下で乾燥させて、ＸＬ－１ｂを得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，メタノール－ｄ４）δ４．４５（ｍ，２Ｈ），４．２２（ｍ，２Ｈ），３．５９（ｍ，１７７Ｈ），３．１２（ｍ，４Ｈ），２．８７（ｍ，２Ｈ），１．２（ｍ，６Ｈ）．

【０８８９】

ＸＬ－１．ＰＥＧ（２０００）－ビス３－（（（（（１Ｒ，８Ｓ，９ｓ）－ビシクロ［６．１．０］ノン－４－イン－９－イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）－２－メチルプロパノエート

【化１７】

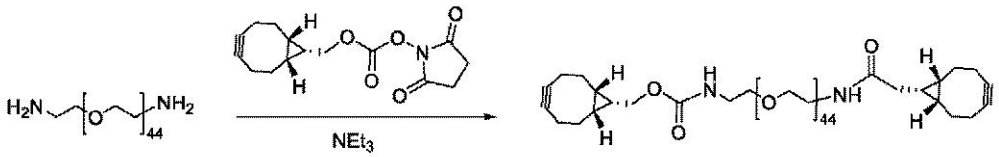


ＸＬ－１ｂ（２００ｍｇ、０．０８６ｍｍｏｌ）をアセトニトリル（３ｍＬ）に溶解させた。トリエチルアミン（０．５９９ｍＬ、４．３０ｍｍｏｌ）、続いて（（１Ｒ，８Ｓ，９ｓ）－ビシクロ［６．１．０］ノン－４－イン－９－イル）メチル（２，５－ジオキソピロリジン－１－イル）炭酸塩（２００ｍｇ、０．６８８ｍｍｏｌ）を添加し、反応混合物を室温で４時間撹拌した。反応混合物を、ＥＬＳＤトリガー画分収集を含む分取逆相ＨＰＬＣにより直接精製した（下記の方法）。生成物を含む画分をプールし、凍結し、凍結乾燥してＸＬ－１を得た。保存の目的で、ＸＬ－１をアセトニトリル、ＤＭＳＯ又はメタノール溶液として冷凍庫に保管した。分析用ＨＰＬＣ－ＣＡＤ（下記の方法）：保持時間＝２．７５分。１Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，メタノール－ｄ４）δ４．２３（ｍ４Ｈ），４．１４（ｍ，４Ｈ），３．６３（ｍ，１８８Ｈ），２．６８（ｍ，２Ｈ），２．２２（ｍ，１２Ｈ），１．６０（ｍ，４Ｈ），１．３７（ｍ，２Ｈ），１．１４（ｍ，６Ｈ），０．９４（ｍ，４Ｈ）．

【０８９０】

ＸＬ－２合成

【化１８】



Ｍｎ約２ｋＤａのＰＥＧジアミン塩酸塩（ＪｅｎＫｅｍ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、３００ｍｇ、０．１４８ｍｍｏｌ）をアセトニトリル（３ｍＬ）に溶解させた。トリエチルアミン（０．４１３ｍＬ、２．９６ｍｍｏｌ）、続いて（（１Ｒ，８Ｓ，９ｓ）－ビシクロ［６．１．０］ノン－４－イン－９－イル）メチル（２，５－ジオキソピロリジン－１－イル）炭酸塩（３４５ｍｇ、１．１８４ｍｍｏｌ）を添加し、反応混合物を室温で４時間撹拌した。反応混合物を、ＥＬＳＤトリガー画分収集を含む分取逆相ＨＰＬＣにより直接精製した（下記の方法）。生成物を含む画分をプールし、凍結し、凍結乾燥して、ＸＬ－２を得た。保存の目的で、ＸＬ－２をアセトニトリル、ＤＭＳＯ又はメタノール溶液として冷凍庫に保管した。分析用ＨＰＬＣ－ＣＡＤ（下記の方法）：保持時間＝２．６１分。１Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，メタノール－ｄ４）δ４．１４（ｍ，４Ｈ），３．６３（ｂｒ　ｓ，１８６Ｈ），３．５４（ｍ，４Ｈ），２．２２　１５（ｍ，１２Ｈ），１．６１（ｍ，４Ｈ），１．３８（ｍ，２Ｈ），０．９４（ｍ，４Ｈ）．

【０８９１】

分取ＨＰＬＣ条件：Ｗａｔｅｒｓ　ＸＢｒｉｄｇｅ　Ｃ１８；粒径：５μｍ；カラムサイズ：１９×２５０ｍｍ；溶離液／勾配：５％CH_3CN／H_2O／０．５分、５～９５％CH_3CN／H_2O／１２．５分、９５％CH_3CN／H_2O／３分；流量：３０ｍＬ／分；カラム温度：室温。

【０８９２】

分析用ＨＰＬＣ－ＣＡＤ条件：Ｗａｔｅｒｓ　ＡＣＱＵＩＴＹ　ＵＰＬＣ　ＢＥＨ　Ｃ１８；粒径：１．７μｍ；カラムサイズ：２．１×５０ｍｍ；溶離液／勾配：２％CH_3CN／H_2O／０．５分、２～９８％CH_3CN／H_2O／５分（０．１％ギ酸を含むCH_3CNと０．１％ギ酸を含むH_2O）；流量：１ミリリットル／分；カラム温度：５０℃。

【０８９３】

実施例３：インビトロ及びインビボ研究のためのＨＡヒドロゲル製剤の調製
　実施例２で調製した架橋剤溶液（５０ｍｇ／ｍＬ）を減圧乾燥し、ＡＣＮ（アセトニトリル）を除去した。同量の１×ＰＢＳを乾燥残渣に添加し、１×ＰＢＳバッファー中の５０ｍｇ／ｍＬ濃度の架橋剤を得た。この新たに調製した溶液を、インビトロ及びインビボ研究のための製剤の調製に使用した。
【０８９４】
Ｈ１ａ．インサイチュ形成ＨＡ－ヒドロゲル合成
　２００ｋＤａ［ＨＡ－Ｎ３］－２４％（１２２．４ｍｇ、置換度＝２４％）を７．２６ｍＬの１×ＰＢＳバッファーｐＨ７．４（計量濃度として、１６．９ｍｇ／ｍＬ）に溶解させ、光から保護しながら室温で一晩撹拌した。非置換カルボン酸ナトリウム塩反復二量体単位の分子量は、４０１．３Ｄａである。アジディル化反復二量体単位のＭＷは、５７９．６Ｄａである。２００ｋＤａ［ＨＡ－Ｎ$_3$］－２４％のナトリウム塩形態の二量体単位の平均ＭＷは、４４４．１Ｄａ＝（（４０１．３×０．７６）＋（５７９．６×０．２４））である。ナトリウム塩二量体単位の平均ＭＷを用いると、反復二量体単位の総モルは、２７６μｍｏｌであり、アジディル化反復二量体単位のモル数は、６６．２μｍｏｌである。２００μＬの２００ｋＤａ　ＨＡ－Ｎ$_3$－２４％（３．３８ｍｇ、７．６１μｍｏｌ）をストック溶液から分注し、１０．４μｌのＸＬ－２架橋剤（０．５２ｍｇ、０．２２１μｍｏｌの試薬、０．４４２μｍｏｌの反応性官能基、５０ｍｇ／ｍＬの１×ＰＢＳ溶液）を添加することにより、ゲル化を実施した。これにより、ＸＬ－２による２００ｋＤａ［ＨＡ－Ｎ$_3$］－２４％反復単位の６．７％の架橋が予測される溶液が得られた（０．４４２μｍｏｌ［ＸＬ－２－反応性官能基］／６６．２μｍｏｌ［ＨＡ単位）×１００＝６．７％）。混合物をボルテックスし、混合溶液の５０μｌアリコートをエッペンドルフチューブに迅速に添加し、室温で一晩保存した。翌日、目視検査でＨ１ａゲルの形成が認められた。
【０８９５】
Ｈ２ａヒドロゲル合成
　ＶＥＧＦ－Ｃタンパク質を２００ｋＤａ［ＨＡ－Ｎ$_3$］－２４％溶液と混合し、前述したように架橋剤ＸＬ－２でゲル化反応を実施して、Ｈ２ａゲルを調製した。
【０８９６】
Ｈ３ａヒドロゲル合成
　ＶＥＧＦ－Ｃタンパク質を２００ｋＤａ［ＨＡ－Ｎ$_3$］－２４％溶液と混合し、前述したように２×量の架橋剤ＸＬ－１でゲル化反応を実施して、Ｈ３ａゲルを調製した。
【０８９７】
Ｈ４ａヒドロゲル合成
　ＶＥＧＦ－Ｃタンパク質を７００ｋＤａ［ＨＡ－Ｎ$_3$］－１６％溶液と混合し、前述したように２×量の架橋剤ＸＬ－２でゲル化反応を実施して、Ｈ４ａゲルを調製した。
【０８９８】
Ｈ５ａヒドロゲル合成
　ＶＥＧＦ－Ｃタンパク質をラポナイトＸＬＧ（ＢＹＫ添加剤）と複合体化した後、最終ゲル中のラポナイト濃度０．２５ｍｇ／ｍＬを有する７００ｋＤａ［ＨＡ－Ｎ$_3$］－１６％溶液に添加した。前述したように２×量の架橋剤ＸＬ－２でゲル化反応を実施して、Ｈ５ａゲルを調製した。
【０８９９】
Ｈ６ａヒドロゲル合成
　ＶＥＧＦ－Ｃタンパク質をラポナイトＸＬＧ（ＢＹＫ添加剤）と複合体化した後、最終ゲル中のラポナイト濃度１ｍｇ／ｍＬを有する７００ｋＤａ［ＨＡ－Ｎ$_3$］－１６％溶液に添加した。前述したように２×量の架橋剤ＸＬ－２でゲル化反応を実施して、Ｈ６ａゲルを調製した。
【０９００】
Ｈ３ｂ．ＨＡヒドロゲル粒子合成

前述のように調製した２００μＬのＨ３ａゲルを、１００メッシュステンレス製スクリーンディスクを通して押し出し、１ｍＬシリンジに充填し、粗いゲル粒子を得た。このシリンジに１００μＬの１×ＰＢＳを添加し、ボルテックスを行って混合した。シリンジを室温で６時間保持して、ヒドロゲルを膨潤させた。Ｈ３ａの膨潤した粗いゲル粒子を、２００メッシュステンレス鋼スクリーンディスクを通して２０回押し出し、微細なゲル粒子を生成して、Ｈ３ｂ生成物を得た。

【０９０１】

Ｈ５ｂヒドロゲル合成

Ｈ５ａゲルを押し出し、微細なゲル粒子にして、最終的なＨ５ｂ生成物を得た。

【０９０２】

Ｈ６ｂヒドロゲル合成

Ｈ６ａゲルを押し出し、微細なゲル粒子にして、最終的なＨ６ｂ生成物を得た。

【０９０３】

インビトロ放出試験のセットアップ

９５０μｌのＰＢＳ－２％ＢＳＡバッファーを５０μＬのヒドロゲルアリコートに添加し、３００ｒｐｍで振盪しながら、３７℃でインキュベートした。８００μｌのアリコートを様々な時点で取り出し、それらの時点でゲルは除去しなかった。試験サンプルの量を同じに保つために、試験サンプルに同量の１×ＰＢＳ－２％ＢＳＡバッファーを補充した。次に、放出サンプルをＶＥＧＦ－Ｃ含量についてＥＬＩＳＡにより分析した。

【０９０４】

インビボ試験のセットアップ

Ｈ３ａゲル調製のための全ての成分を混合した後、チューブをボルテックスし、インスリンシリンジの奥に迅速に充填した。サンプルをプランジャーでシリンジ内に押し込み、形成された気泡を全て除去した。混合から２～３分以内に３０μＬをマウスに皮内注射した。

【０９０５】

結果

ＶＥＧＦ－Ｃの持続放出は、ＨＡヒドロゲルの様々な組成物を用いてインビトロで達成された（図５４Ａ～５４Ｄ）。７００ｋＤａ［ＨＡ－N_3］－１６％及び２００ｋＤａ［ＨＡ－N_3］－２４％を用いて調製したＨＡヒドロゲルの放出曲線に差は観察されなかった（図５４Ａ）。ＨＡヒドロゲル製剤からのＶＥＧＦ－Ｃ放出は、ラポナイトの添加によって調整することができる。ＨＡヒドロゲル製剤を含むラポナイトは、ラポナイトを含有しない製剤と比較して、ＶＥＧＦ－Ｃタンパク質の濃度依存的で、より低速な放出をもたらした（図５４Ｂ）。インサイチュ形成ヒドロゲル及びＨＡヒドロゲル粒子を含有するラポナイトは、ＶＥＧＦ－Ｃタンパク質について同様の放出プロファイルをもたらした（図５４Ｃ及び５４Ｄ）。

【０９０６】

マウスにおいてヒドロゲルをインサイチュで形成するＨ１ａ及びＨ３ａの皮内注射を用いて、インビボ試験を実施した。ＶＥＧＦ－Ｃ含有製剤（Ｈ３ａ）は、対照（Ｈ１ａ）製剤と比較して、７日目の分析後にリンパ管内皮細胞（ＬＥＣ）及びＴ４細胞の増加を示した（図５５Ａ及び５５Ｂ）。

【０９０７】

均等物

本明細書に引用されるあらゆる特許、特許出願及び刊行物の開示は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。本発明は、特定の実施形態を参照して開示されているが、本発明の更に別の実施形態及び変形形態は、本発明の真の趣旨及び範囲から逸脱することなく、当業者によって考案され得ることが明らかである。添付の特許請求の範囲は、そのような実施形態及び均等な変形形態の全てを含むと解釈されることが意図される。

【図面】

【図１】

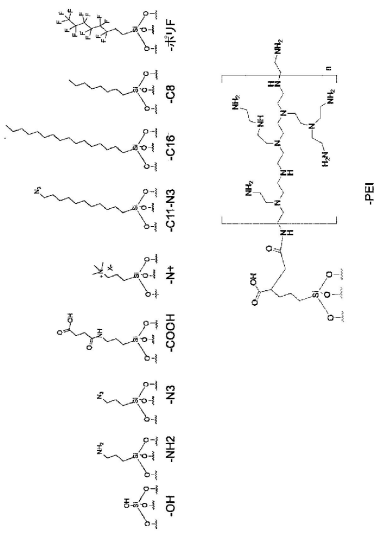


図1

【図２】

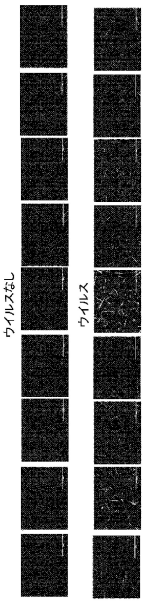


図2

【図３】

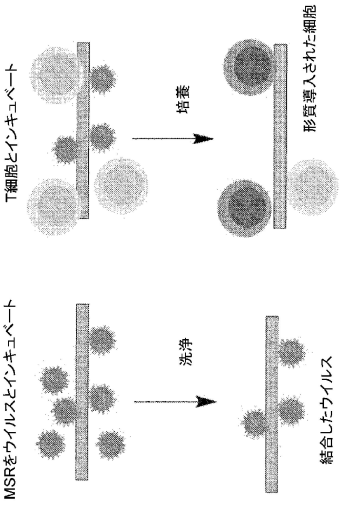


図3

【図４】

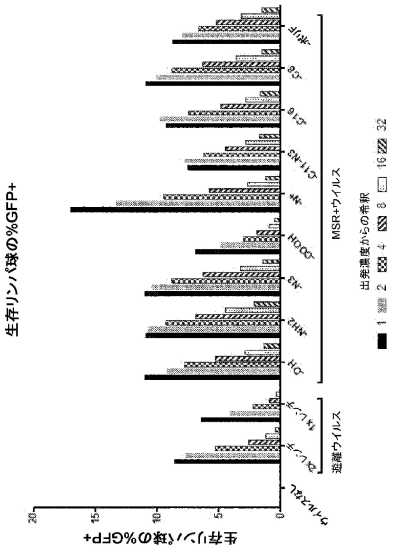


図4

【図５】

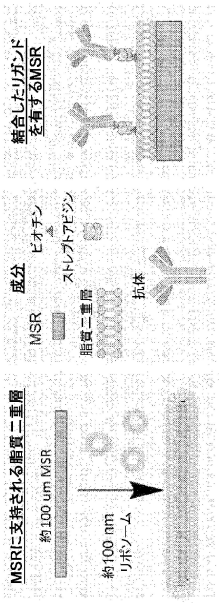


図5

【図６】



FIG. 6

【図７】

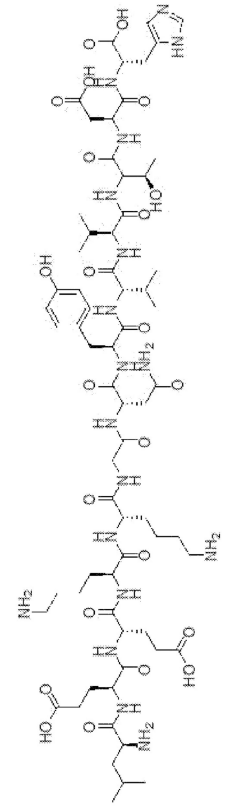


FIG. 7

【図８】

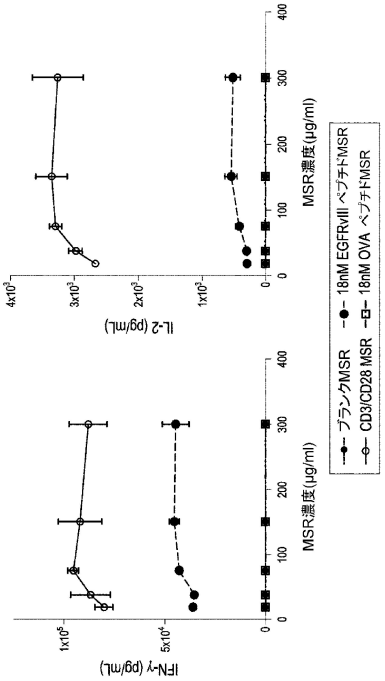


図8

【図９】

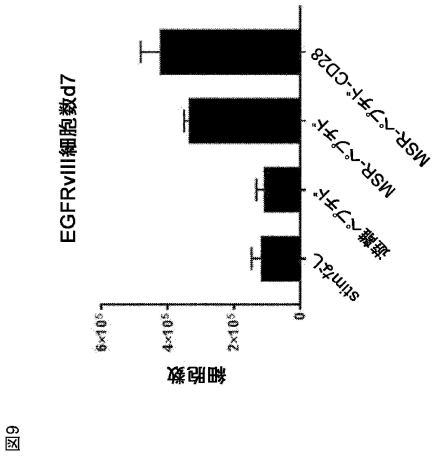


図9

【図１０Ａ－１０Ｂ】

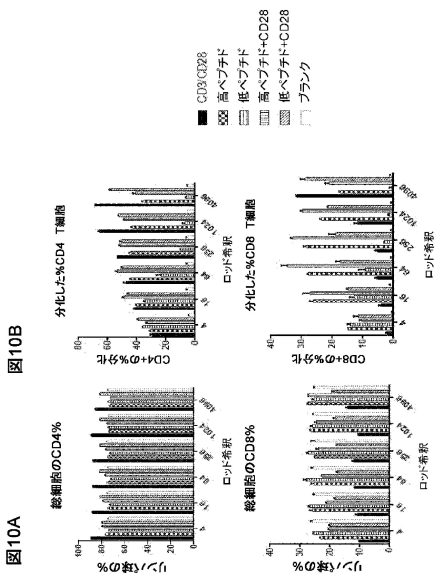


図10B

図10A

【図１１Ａ－１１Ｂ】

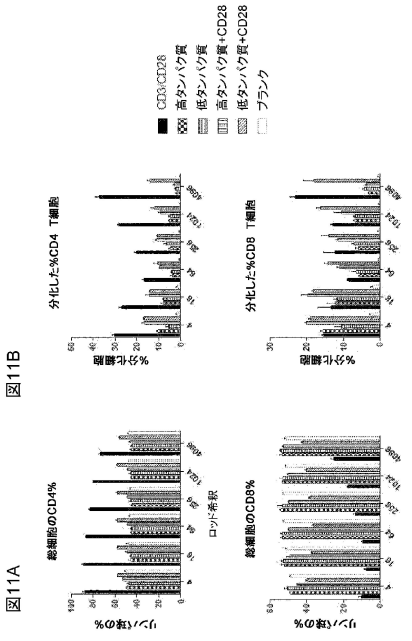


図11B

図11A

【図１２】

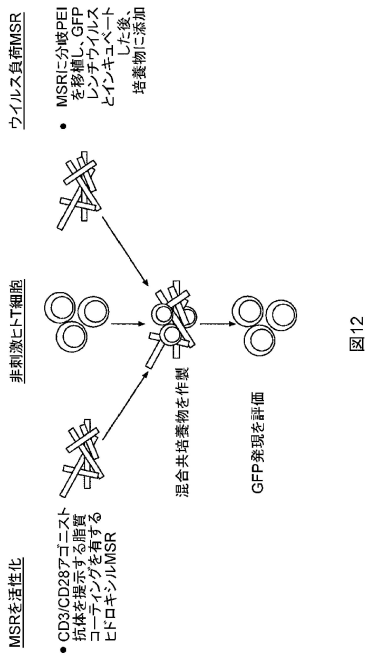


図12

【図１３】

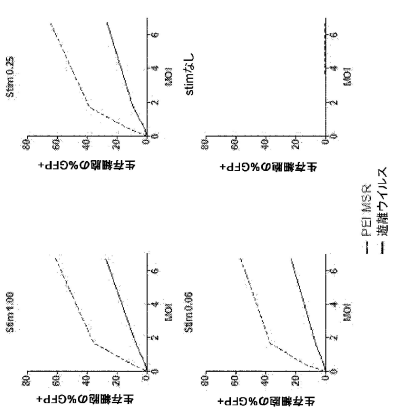


図13

【図１４】

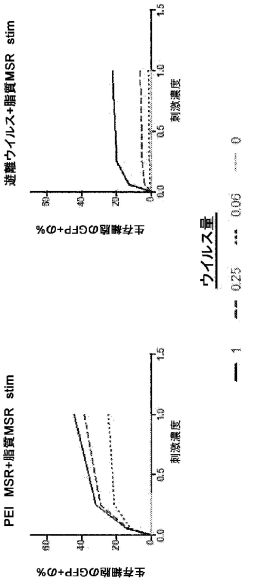


図14

【図１５】

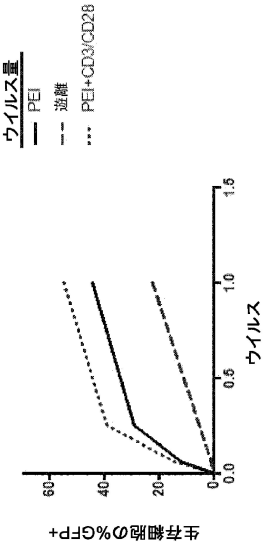


図15

【図１６】

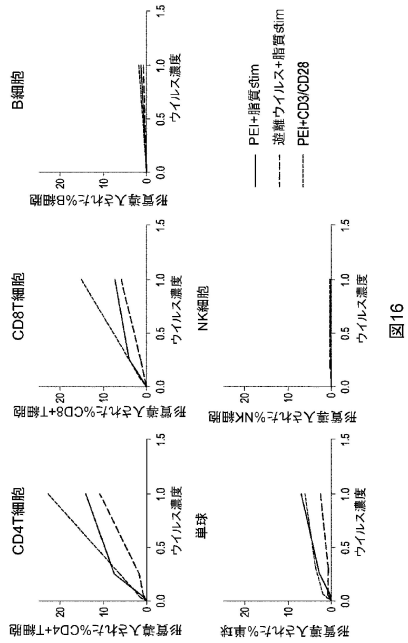


図16

【図１７】

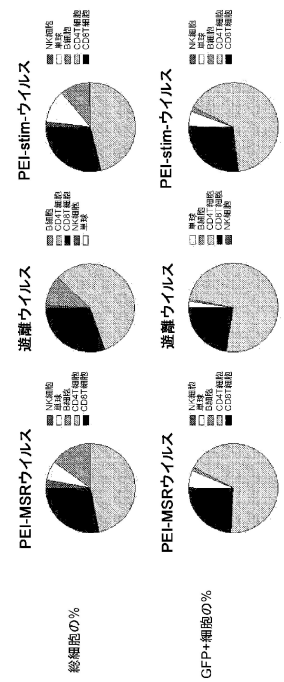


図17

【図１８】

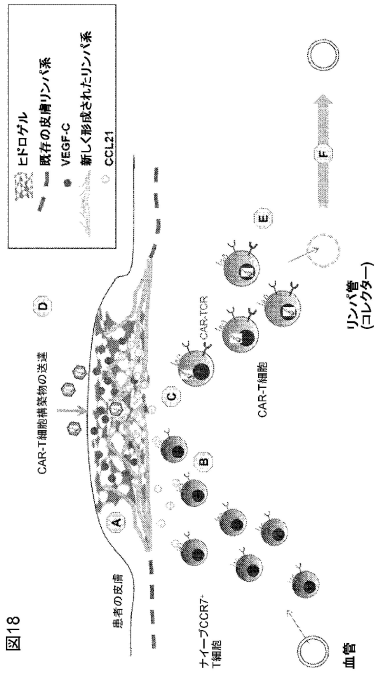


図18

【図１９Ａ】

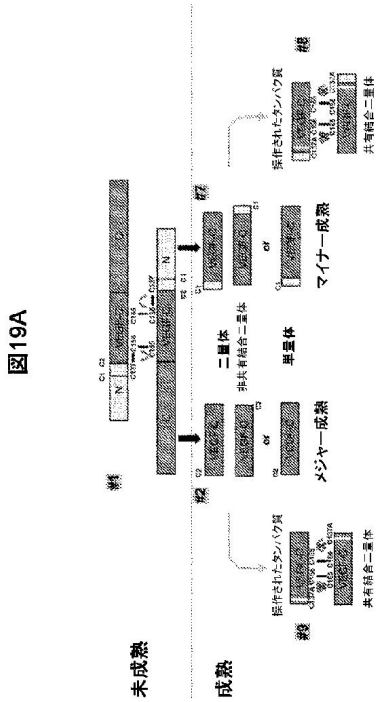
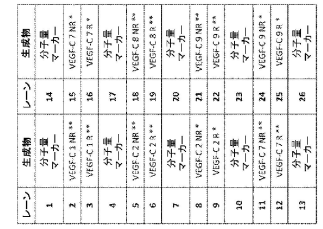


図19A

【図１９Ｂ－１９Ｃ】



レーン	生成物	レーン	生成物
1	分子量マーカー	14	分子量マーカー
2	VEGF-C 1 NR**	15	VEGF-C 7 NR*
3	VEGF-C 1 R**	16	VEGF-C 7 R*
4	分子量マーカー	17	分子量マーカー
5	VEGF-C 2 NR**	18	VEGF-C 8 NR**
6	VEGF-C 2 R**	19	VEGF-C 8 R**
7	分子量マーカー	20	分子量マーカー
8	VEGF-C 3 NR*	21	VEGF-C 9 NR**
9	VEGF-C 3 R*	22	VEGF-C 9 R**
10	分子量マーカー	23	分子量マーカー
11	VEGF-C 7 NR**	24	VEGF-C 9 NR*
12	VEGF-C 7 R**	25	VEGF-C 9 R*
13	分子量マーカー	26	分子量マーカー

図19C

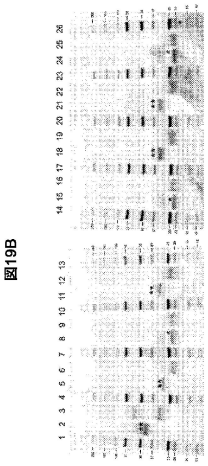
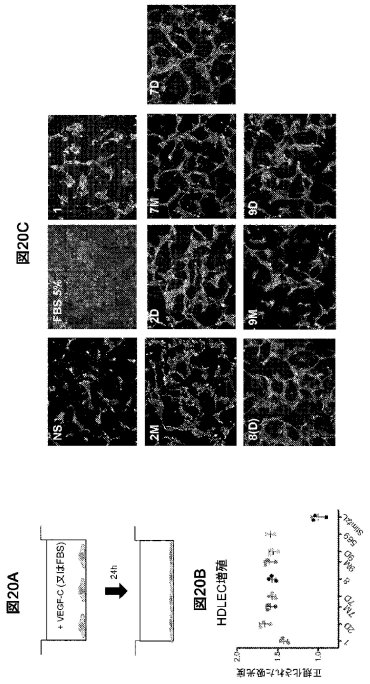
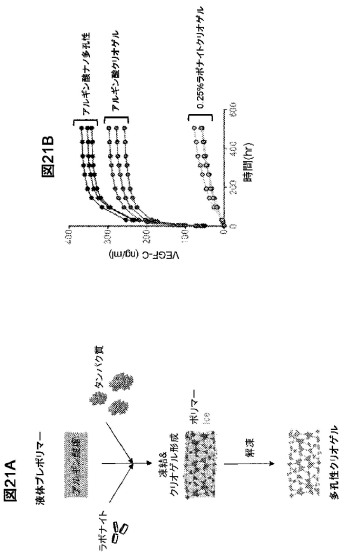


図19B

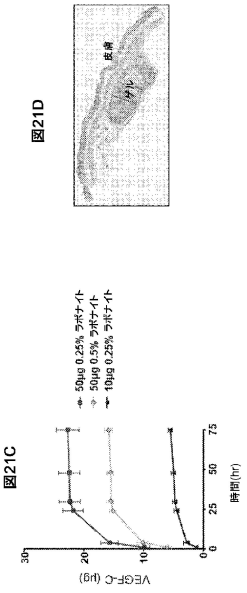
【図２０Ａ－２０Ｃ】



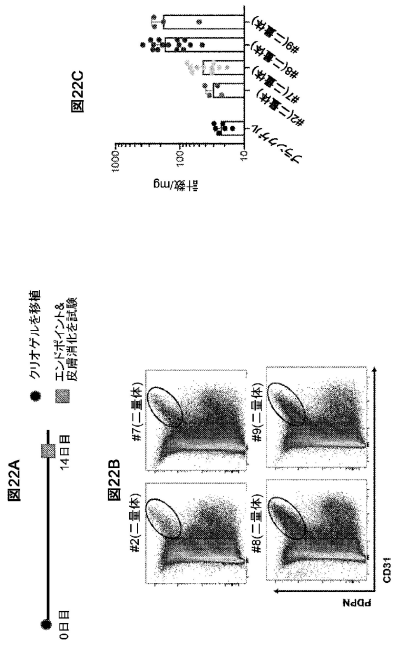
【図２１Ａ－２１Ｂ】



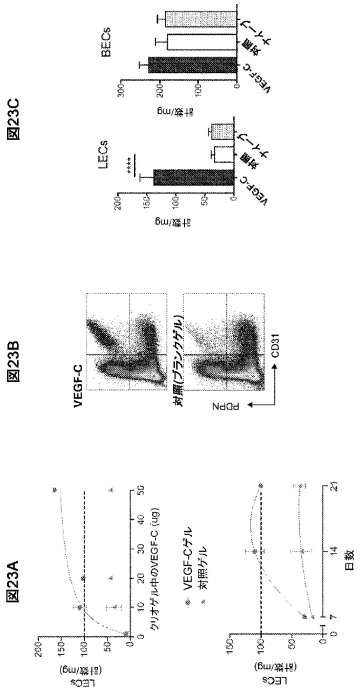
【図２１Ｃ－２１Ｄ】



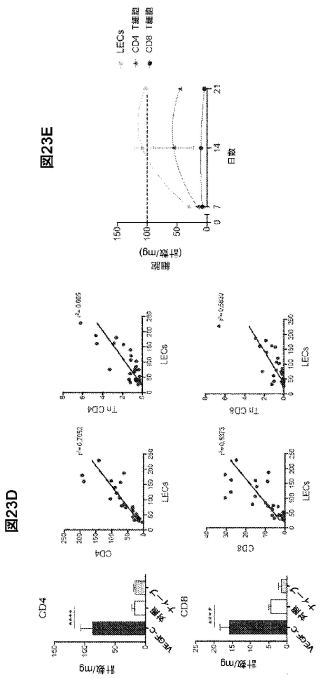
【図２２Ａ－２２Ｃ】



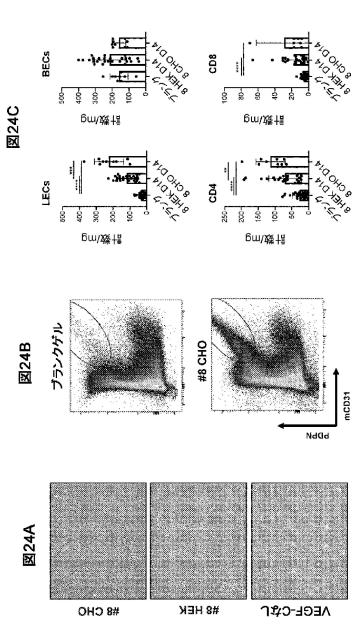
【図２３Ａ－２３Ｃ】



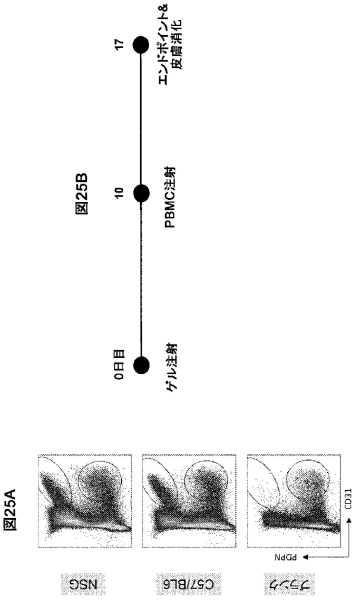
【図２３Ｄ－２３Ｅ】



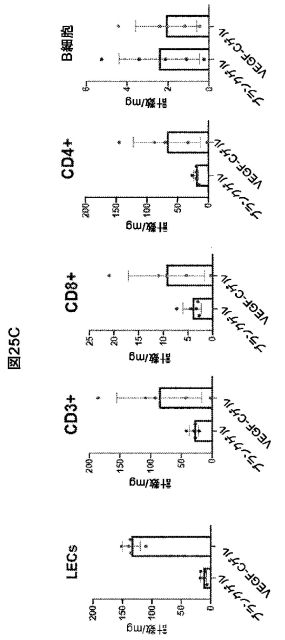
【図２４Ａ－２４Ｃ】



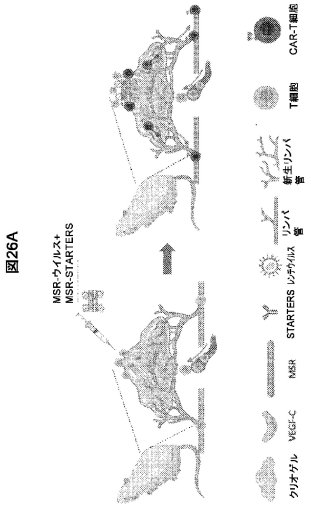
【図２５Ａ－２５Ｂ】



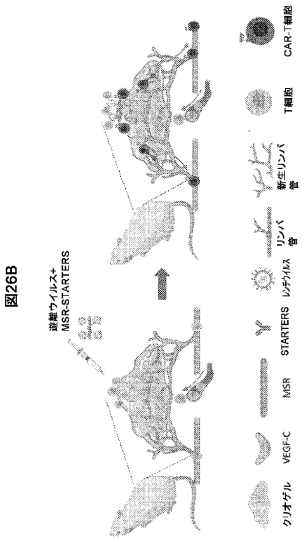
【図２５Ｃ】



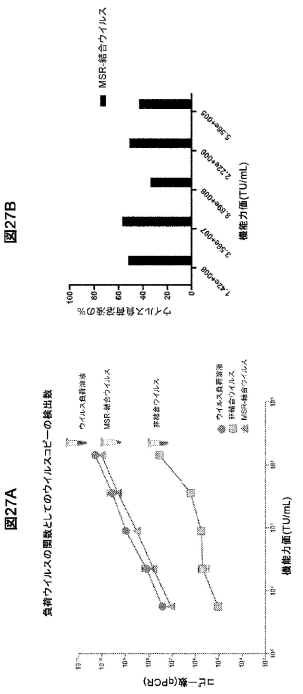
【図２６Ａ】



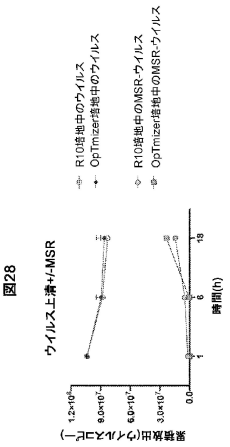
【図２６Ｂ】



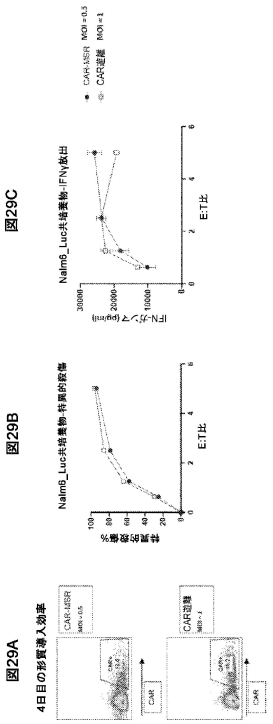
【図２７Ａ－２７Ｂ】



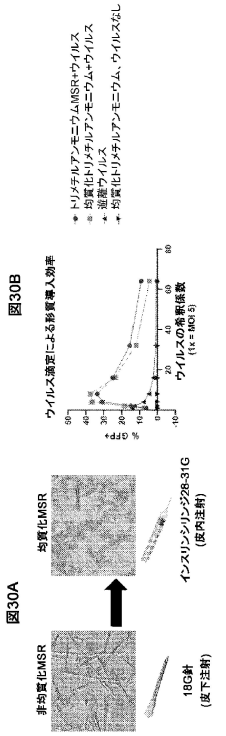
【図２８】



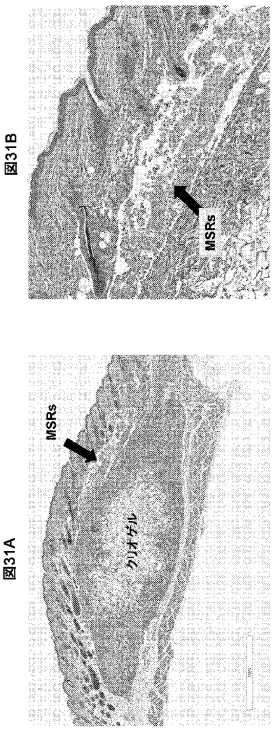
【図２９Ａ－２９Ｃ】



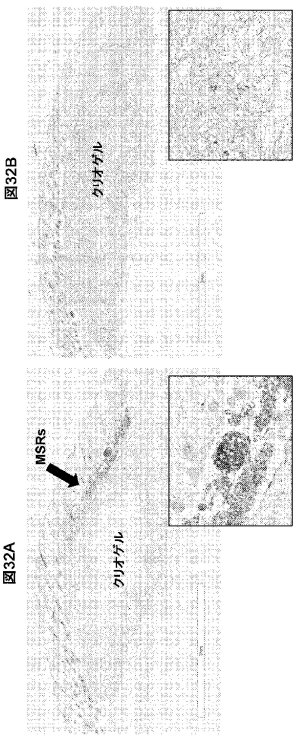
【図３０Ａ－３０Ｂ】



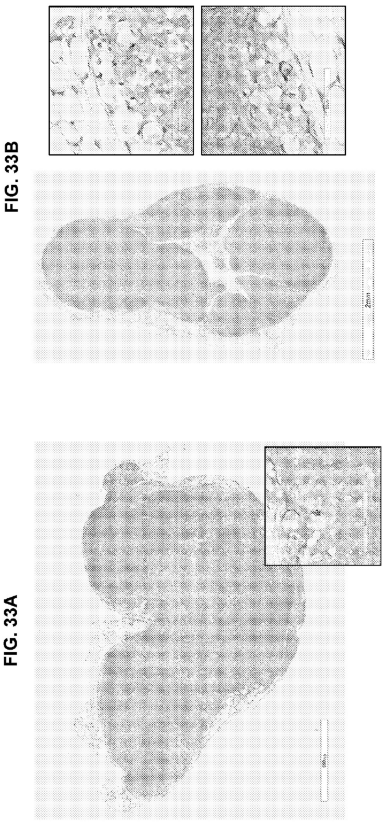
【図３１Ａ－３１Ｂ】



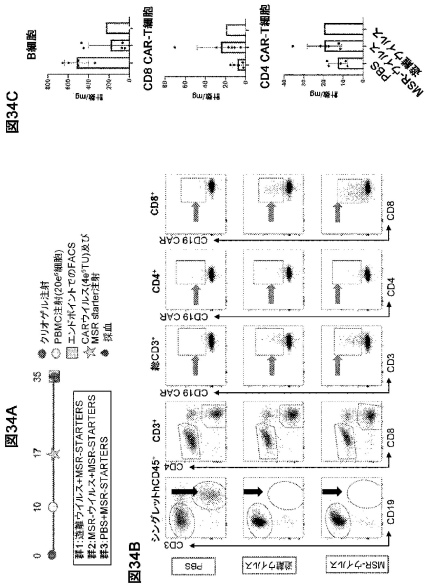
【図３２Ａ－３２Ｂ】



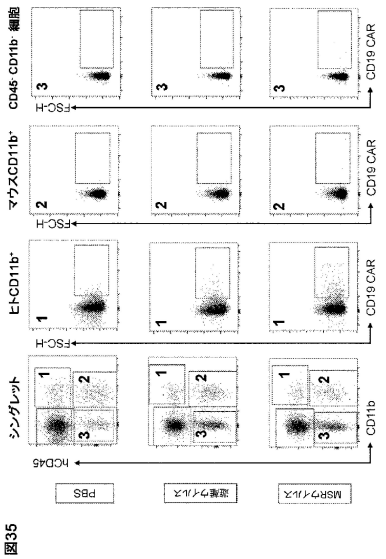
【図３３Ａ－３３Ｂ】



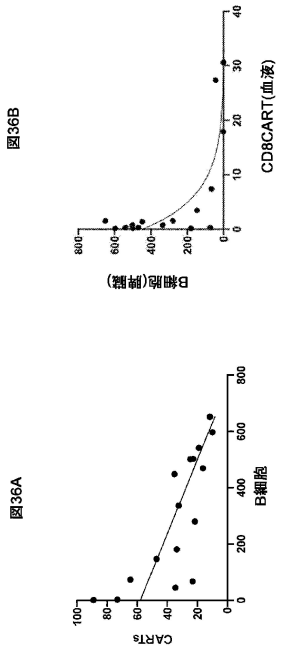
【図３４Ａ－３４Ｃ】



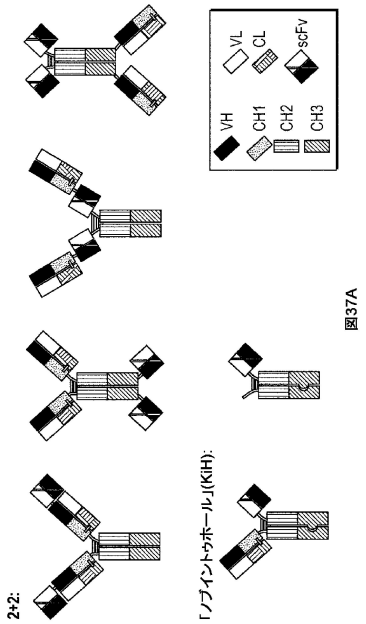
【図３５】



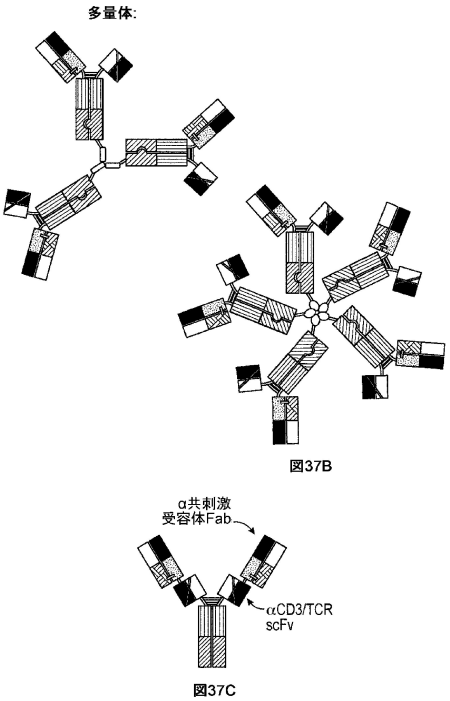
【図３６Ａ－３６Ｂ】



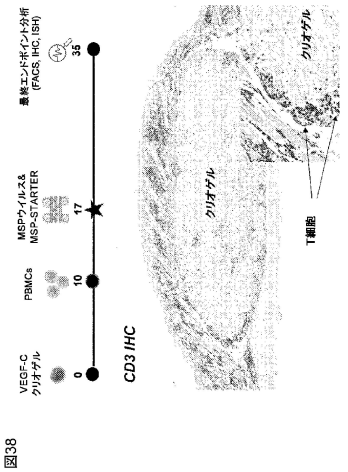
【図３７Ａ】



【図３７Ｂ－３７Ｃ】



【図３８】



【図３９】

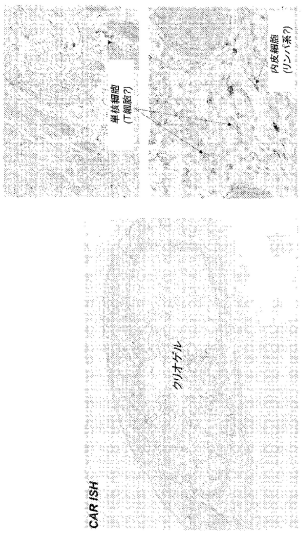


図39

【図４０】

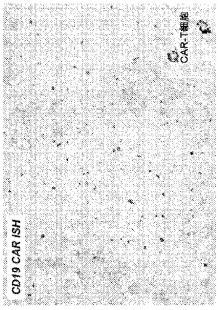
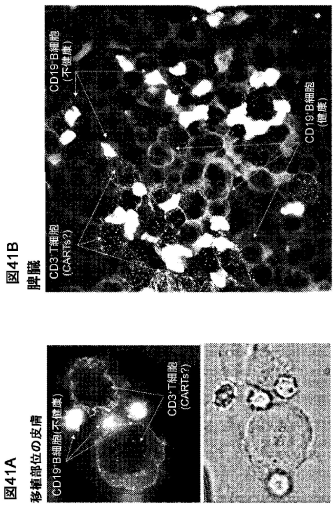
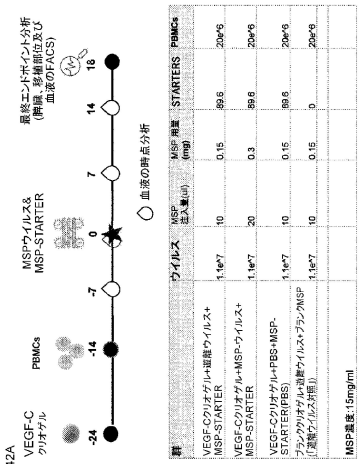


図40

【図４１Ａ－４１Ｂ】



【図４２Ａ】



群	ウイルス	MSP 注入量(ul)	MSP 用量 (mg)	STARTERS	PBMCs
VEGF-Cクリオゲル+組換ウイルス+ MSP-STARTER	1.1e^7	10	0.15	89.6	20e^6
VEGF-Cクリオゲル+MSP-ウイルス+ MSP-STARTER	1.1e^7	20	0.3	89.6	20e^6
VEGF-Cクリオゲル+PBS+MSP-STARTER(PBS)	1.1e^7	10	0.15	89.6	20e^6
ブランクゲル+組換ウイルス+ブランクMSP (組換ウイルス対照)	1.1e^7	10	0.15	0	20e^6
MSP濃度:15mg/ml					

【図４２Ｂ】

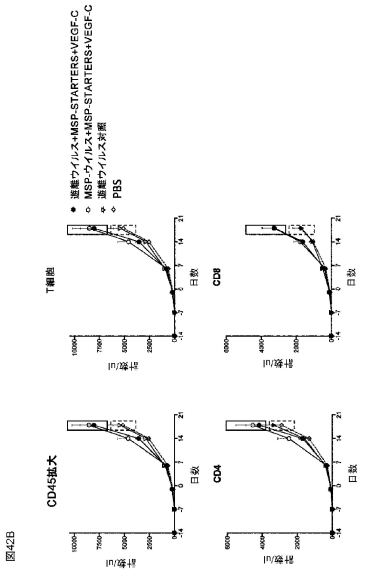


図42B

【図４３Ａ】

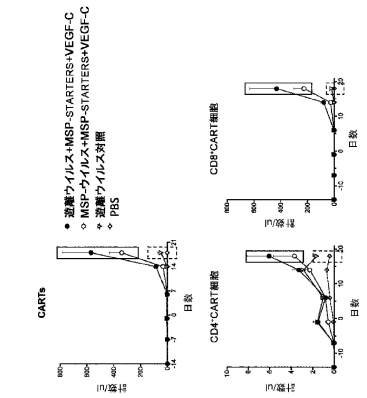


図43A

【図４３Ｂ】

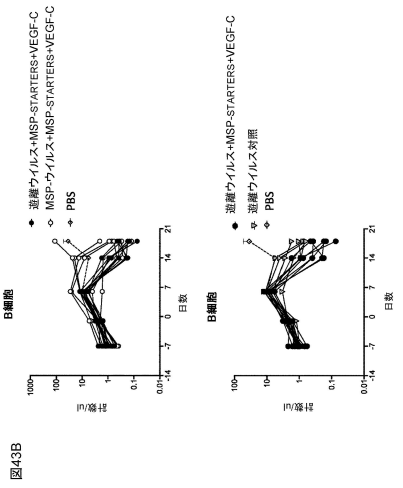


図43B

【図４４Ａ－４４Ｂ】

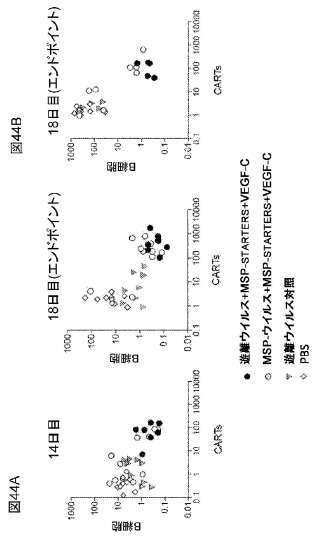
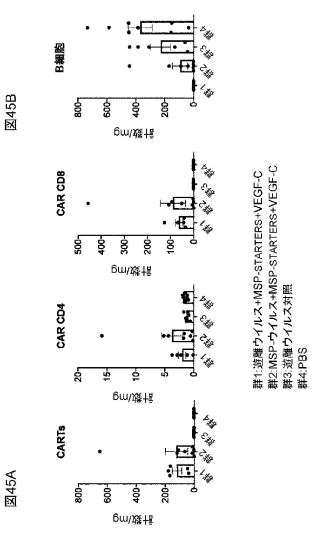


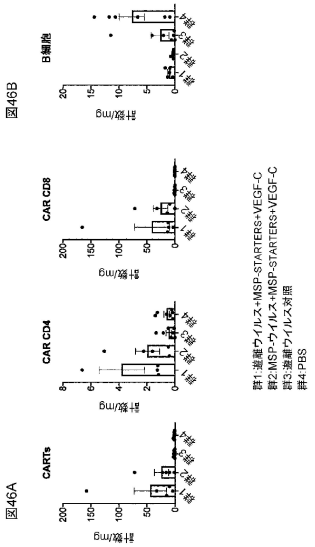
図44A

図44B

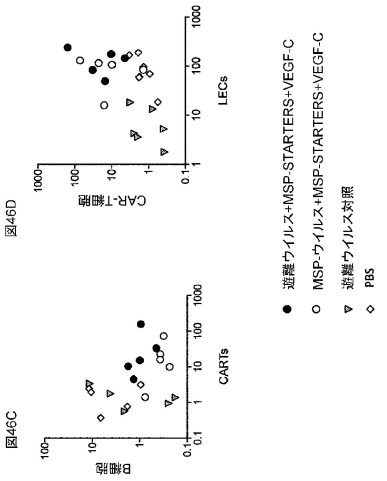
【図４５Ａ－４５Ｂ】



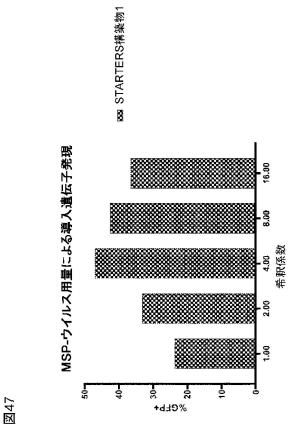
【図４６Ａ－４６Ｂ】



【図４６Ｃ－４６Ｄ】



【図４７】



【図４８Ａ】

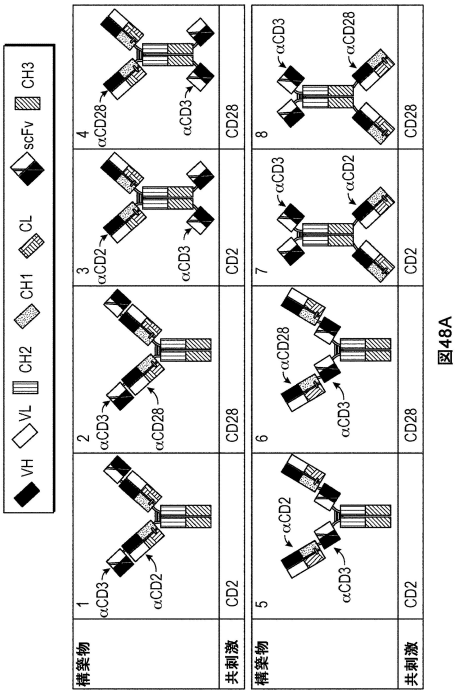


図48A

【図４８Ｂ】

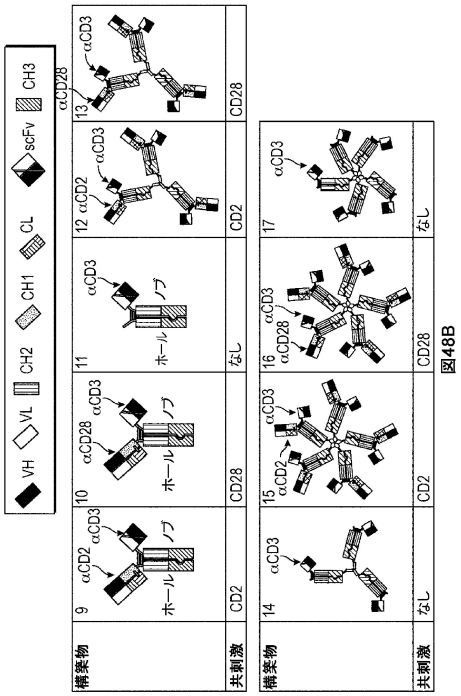


図48B

【図４９Ａ－４９Ｂ】

共刺激バインダー	CD3バインダー	名称	
CD25	抗CD3 (1)	F5 CD25	代替Costim
IL6Rb	抗CD3 (1)	F5 IL6Rb	
CD27	抗CD3 (1)	F5 CD27	
41BB	抗CD3 (1)	F5 41BB	
ICOS	抗CD3 (1)	F5 ICOS	
CD2	抗CD3 (2)	F5抗CD3(2)	代替CD3バインダー

図49A

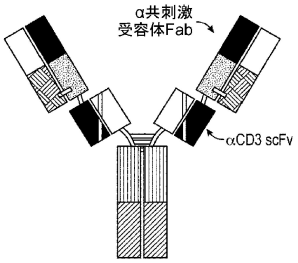


図49B

【図５０Ａ－５０Ｂ】

変異体	抗CD3アーム	抗Costimアーム	
NEG2042	抗CD3 (1)	CD2	
NEG2043	抗CD3 (1)	抗CD28 (1)	
NEG2044	抗CD3 (1)	抗CD28 (2)	
NEG2050	抗CD3 (2)	CD2	代替CD3バインダー
NEG2051	抗CD3 (3)	CD2	
NEG2052	抗CD3 (2)	抗CD28 (1)	
NEG2053	抗CD3 (3)	抗CD28 (1)	
F5-非Fc抑制	抗CD3 (1)	CD2	
トランス作用		CD28	

図50A

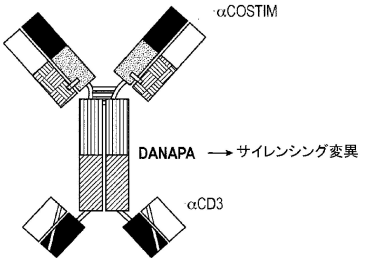
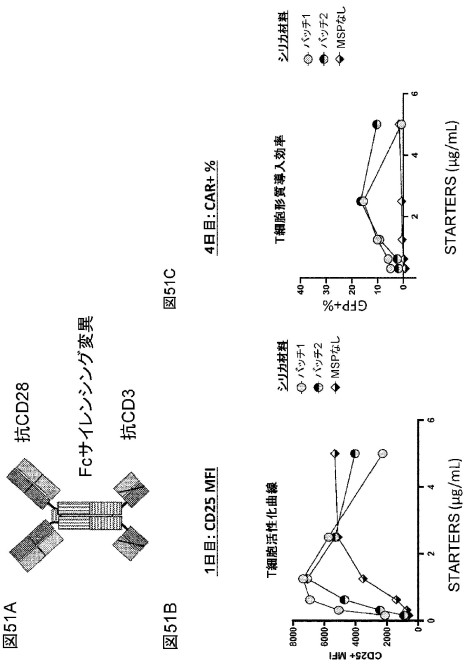
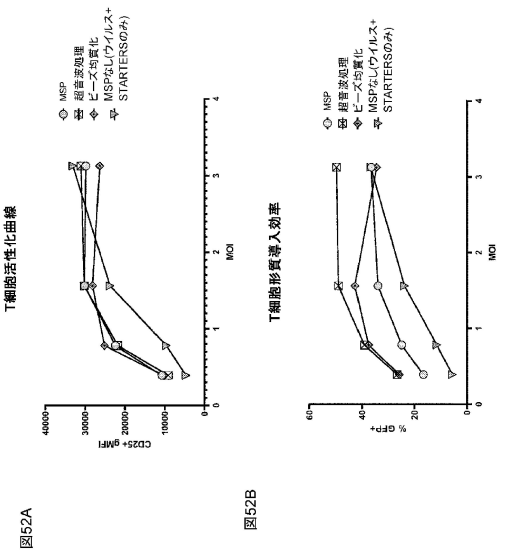


図50B

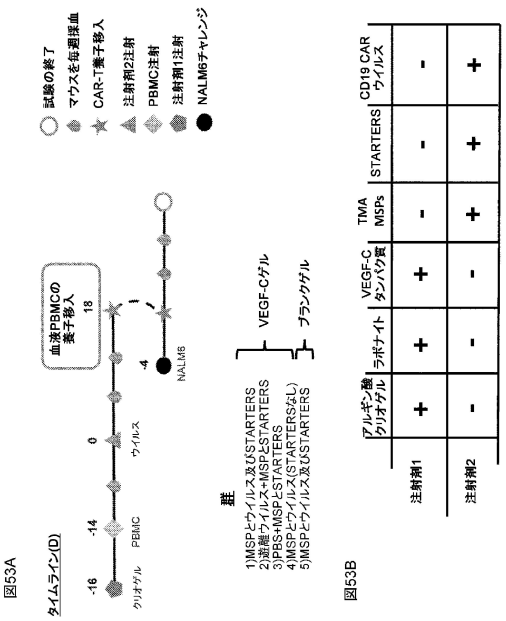
【図５１Ａ－５１Ｃ】



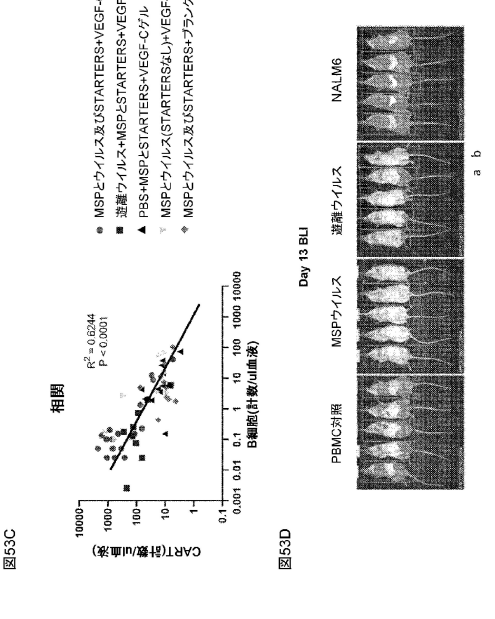
【図５２Ａ－５２Ｂ】



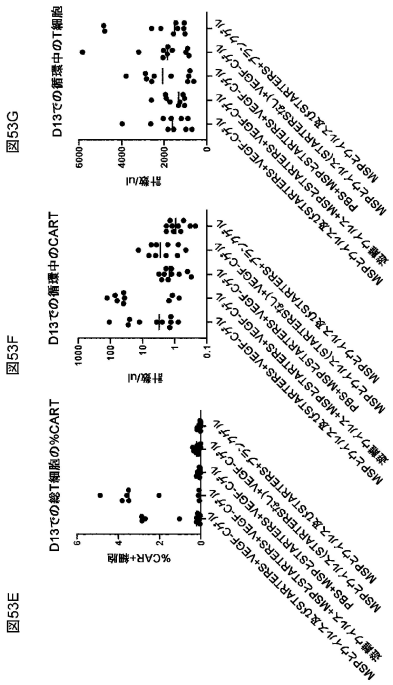
【図５３Ａ－５３Ｂ】



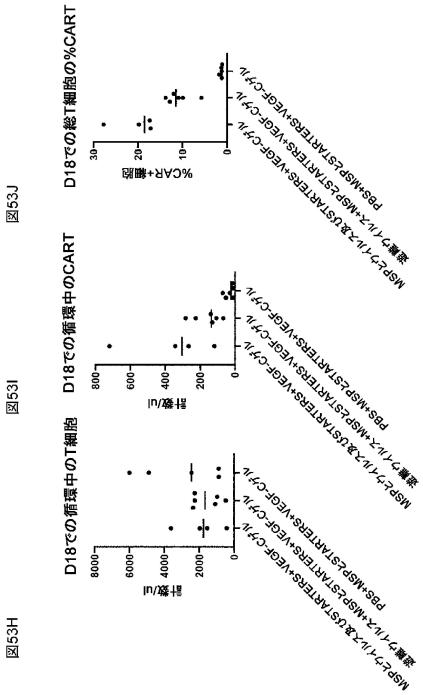
【図５３Ｃ－５３Ｄ】



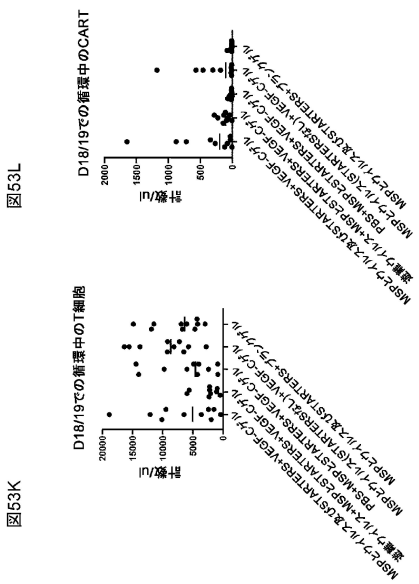
【図５３Ｅ－５３Ｇ】



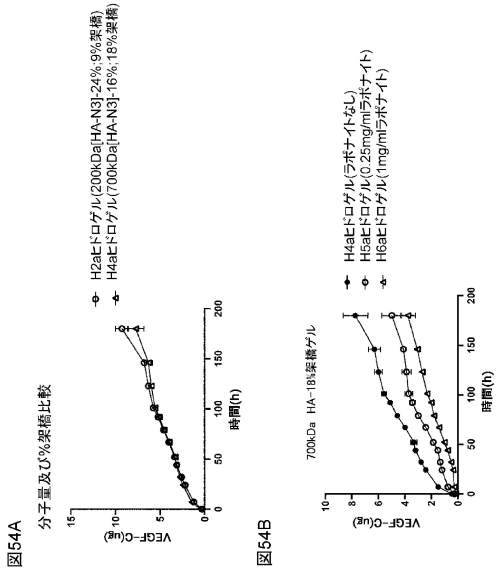
【図５３Ｈ－５３Ｊ】



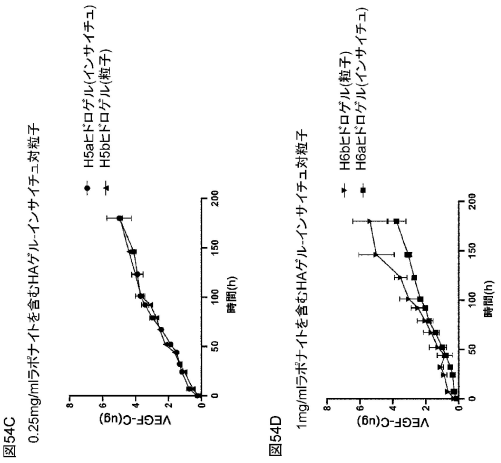
【図５３Ｋ－５３Ｌ】



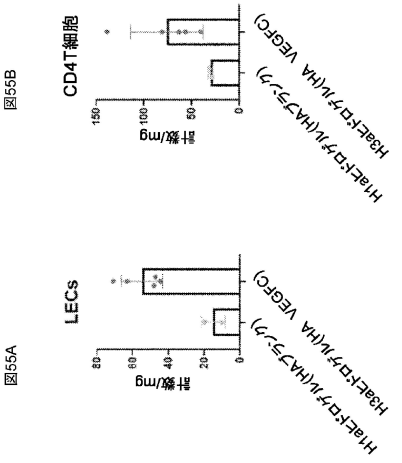
【図５４Ａ－５４Ｂ】



【図５４Ｃ－５４Ｄ】



【図５５Ａ－５５Ｂ】



【配列表】

2023538118000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/046994

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/00 A61P35/00 C07K14/49 C07K14/725 A61K48/00
A61K38/18 A61K47/59 A61K9/00 A61K47/69 A61K47/61
ADD.
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)
A61K A61P C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, EMBASE, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LIU YARONG ET AL: "In Situ Modulation of Dendritic Cells by Injectable Thermosensitive Hydrogels for Cancer Vaccines in Mice", BIOMACROMOLECULES, vol. 15, no. 10, 13 October 2014 (2014-10-13), pages 3836-3845, XP055868721, US ISSN: 1525-7797, DOI: 10.1021/bm501166j Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4195289/pdf/bm501166j.pdf> the whole document ----- -/--	1,3-5, 7-12,24, 38, 41-43, 47-52,54

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C.
[x] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"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
6 April 2022	19/04/2022
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Manu, Dominique

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/046994

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	AGARWAL SHIWANI ET AL: "In Vivo Generation of CAR T Cells Selectively in Human CD4+ Lymphocytes", MOLECULAR THERAPY, vol. 28, no. 8, 1 August 2020 (2020-08-01), pages 1783-1794, XP055843099, US ISSN: 1525-0016, DOI: 10.1016/j.ymthe.2020.05.005 the whole document	1,3-54
X	TYREL T. SMITH ET AL: "In situ programming of leukaemia-specific T cells using synthetic DNA nanocarriers", NATURE NANOTECHNOLOGY, vol. 12, no. 8, 17 April 2017 (2017-04-17), pages 813-820, XP055536306, London ISSN: 1748-3387, DOI: 10.1038/nnano.2017.57 the whole document	3-18, 20-37, 40,50, 51,53,54
X	WO 2017/190074 A1 (UNIV CHICAGO [US]) 2 November 2017 (2017-11-02)	2,7-11, 38,39
Y	the whole document	6
X	GÜÇ ESRA ET AL: "Local induction of lymphangiogenesis with engineered fibrin-binding VEGF-C promotes wound healing by increasing immune cell trafficking and matrix remodeling", BIOMATERIALS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 131, 25 March 2017 (2017-03-25), pages 160-175, XP029991709, ISSN: 0142-9612, DOI: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2017.03.033	2,7-11, 38,39
Y	the whole document	6
X	CAMPBELL KEVIN T. ET AL: "Alginate hydrogels allow for bioactive and sustained release of VEGF-C and VEGF-D for lymphangiogenic therapeutic applications", PLOS ONE, vol. 12, no. 7, 19 July 2017 (2017-07-19), page e0181484, XP055869217, DOI: 10.1371/journal.pone.0181484 Retrieved from the Internet: URL:https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0181484&type=printable>	2,7-11, 38,39
Y	the whole document	6

-/--

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/046994

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ANISIMOV ANDREY ET AL: "Activated Forms of VEGF-C and VEGF-D Provide Improved Vascular Function in Skeletal Muscle", CIRCULATION RESEARCH, vol. 104, no. 11, 5 June 2009 (2009-06-05) , pages 1302-1312, XP55908882, US ISSN: 0009-7330, DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.109.197830 the whole document	2,6-11, 38,39
Y	KOSHY SANDEEP T ET AL: "Injectable nanocomposite cryogels for versatile protein drug delivery", ACTA BIOMATERIALIA, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 65, 8 November 2017 (2017-11-08), pages 36-43, XP085290020, ISSN: 1742-7061, DOI: 10.1016/J.ACTBIO.2017.11.024 the whole document	6
A	CHEUNG ALEXANDER S ET AL: "Scaffolds that mimic antigen-presenting cells enableexpansion of primary T cells", NATURE BIOTECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP US, NEW YORK, vol. 36, no. 2, 15 January 2018 (2018-01-15), pages 160-169, XP036978439, ISSN: 1087-0156, DOI: 10.1038/NBT.4047 [retrieved on 2018-01-15] the whole document	19-21, 24-27, 29-36, 38,39,53
A	WO 2018/013797 A1 (HARVARD COLLEGE [US]) 18 January 2018 (2018-01-18) cited in the application the whole document	19-21, 24-27, 29-36, 38,39,53
A	YIXIAN ZHOU ET AL: "Mesoporous silica nanoparticles for drug and gene delivery", ACTA PHARMACEUTICA SINICA B, vol. 8, no. 2, 1 March 2018 (2018-03-01), pages 165-177, XP055685283, ISSN: 2211-3835, DOI: 10.1016/j.apsb.2018.01.007 the whole document	19-21, 24-27, 29-36, 38,39,53
X,P	WO 2020/176397 A1 (NOVARTIS AG [CH]; KOSHY SANDEEP THARIAN [US]; CANHAM STEPHEN M [US]) 3 September 2020 (2020-09-03) the whole document	1,3-54

-/--

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/046994

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO 2020/257423 A1 (UNIV NORTH CAROLINA STATE [US]; UNIV NORTH CAROLINA CHAPEL HILL [US]) 24 December 2020 (2020-12-24) the whole document -----	1,3-12, 22, 24-27, 38,39, 41-43, 47-52,54

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2021/046994

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017190074 A1	02-11-2017	US 2019099485 A1	04-04-2019
		US 2022047700 A1	17-02-2022
		WO 2017190074 A1	02-11-2017
WO 2018013797 A1	18-01-2018	AU 2017295704 A1	31-01-2019
		CA 3030427 A1	18-01-2018
		CN 109789092 A	21-05-2019
		EP 3484448 A1	22-05-2019
		JP 2019522486 A	15-08-2019
		JP 2022001069 A	06-01-2022
		MA 45738 A	22-05-2019
		US 2019292517 A1	26-09-2019
		WO 2018013797 A1	18-01-2018
WO 2020176397 A1	03-09-2020	AR 118185 A1	22-09-2021
		AU 2020229806 A1	29-07-2021
		CA 3126087 A1	03-09-2020
		CN 113412127 A	17-09-2021
		EP 3930763 A1	05-01-2022
		KR 20210134339 A	09-11-2021
		SG 11202107825W A	29-09-2021
		TW 202045207 A	16-12-2020
		WO 2020176397 A1	03-09-2020
WO 2020257423 A1	24-12-2020	BR 112021025740 A2	22-02-2022
		CN 114025787 A	08-02-2022
		EP 3986449 A1	27-04-2022
		WO 2020257423 A1	24-12-2020

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/046994

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. [X] forming part of the international application as filed:

      [X] 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 13ter.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 13ter.1(a)).

      [ ] on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.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:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/046994

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.:
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:

see additional 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 an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (April 2005)

International Application No. PCT/US2021/046994

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1, 3-5, 12-18, 22, 23, 28, 37, 40-52, 54(completely); 6-11, 20, 21, 24-27, 29-36, 38, 39, 53(partially)

A plurality of compositions, comprising: a first composition comprising: a biomaterial and a cell recruitment factor; and a second composition comprising: a viral vector. A method of transducing cells of a subject in vivo or treating a disease, disorder, or condition in a subject, the method comprising: administering a biomaterial and a cell recruitment factor to a site in the subject, and administering a viral vector or a nucleic acid comprising a transgene to the subject; thereby transducing cells of the subject with the transgene. A method of transducing cells of a subject in vivo or treating a disease, disorder, or condition in a subject, the method comprising: administering a viral vector or a nucleic acid comprising a transgene to a site in the subject, wherein the subject has previously been administered a biomaterial and a cell recruitment factor in an amount sufficient to induce lymphangiogenesis and/or recruitment of T cells to the site in the subject; thereby transducing the cells. Said first and second compositions for use in a method of transducing cells of a subject in vivo or treating a disease, disorder, or condition in a subject. A kit comprising said first and second composition

---

2. claims: 2(completely); 6-11, 38, 39(partially)

A first composition, comprising: a biomaterial and a cell recruitment factor, wherein the biomaterial comprises a hydrogel and wherein the cell recruitment factor comprises an amino acid sequence according to SEQ ID NO: 741, or an amino acid sequence with at least 80%, 85%, 90%, 95%, or 99% sequence identity thereto, provided that the amino acid at position 26 of SEQ ID NO: 741 is not Cysteine (C).

---

3. claims: 19(completely); 20, 21, 24-27, 29-36, 38, 39, 53(partially)

A second composition comprising: a mesoporous silica particle; a viral vector; and a cell activation agent

---

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
A61K	*47/30 (2006.01)*	A61K	47/30		4C087
A61K	*47/34 (2017.01)*	A61K	47/34		4H045
A61K	*38/18 (2006.01)*	A61K	38/18		
A61K	*38/19 (2006.01)*	A61K	38/19		
A61K	*38/20 (2006.01)*	A61K	38/20		
A61K	*9/14 (2006.01)*	A61K	9/14		
A61K	*35/761(2015.01)*	A61K	35/761		
A61K	*35/763(2015.01)*	A61K	35/763		
A61K	*31/7088(2006.01)*	A61K	31/7088		
A61P	*35/00 (2006.01)*	A61P	35/00		
A61P	*35/02 (2006.01)*	A61P	35/02		
A61P	*43/00 (2006.01)*	A61P	43/00	111	
A61P	*37/02 (2006.01)*	A61P	37/02		
C12N	*15/86 (2006.01)*	C12N	15/86	Z	
C07K	*14/485(2006.01)*	C07K	14/485		
C07K	*14/54 (2006.01)*	C07K	14/54		
C12N	*5/10 (2006.01)*	C12N	5/10		
C12N	*15/867(2006.01)*	C12N	15/867	Z	
C12N	*15/861(2006.01)*	C12N	15/861	Z	
C12N	*15/864(2006.01)*	C12N	15/864	100Z	
C12N	*15/869(2006.01)*	C12N	15/869	Z	
C12N	*15/12 (2006.01)*	C12N	15/12		
C12N	*15/13 (2006.01)*	C12N	15/13		
C12N	*15/62 (2006.01)*	C12N	15/62	Z	
C12N	*15/113(2010.01)*	C12N	15/113	Z	
C07K	*14/535(2006.01)*	C07K	14/535		
C07K	*14/47 (2006.01)*	C07K	14/47		
C07K	*14/725(2006.01)*	C07K	14/725		
C07K	*16/28 (2006.01)*	C07K	16/28		
C07K	*19/00 (2006.01)*	C07K	19/00		
C07K	*16/46 (2006.01)*	C07K	16/46		
C12N	*15/09 (2006.01)*	C12N	15/09	100	
C12Q	*1/06 (2006.01)*	C12Q	1/06		

,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,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＲＩＴＯＮ

(72)発明者　ドラノフ，グレン
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０
(72)発明者　ブロッジ，マリア アンナ ソフィア
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０
(72)発明者　ブリッジマン，クリス
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレイ

テッド
(72)発明者　キャナム，スティーブン マイケル
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレイテッド
(72)発明者　メレス，ヨエル
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレイテッド
(72)発明者　セブ，レジス
スイス４００２バーゼル、ポストファッハ
(72)発明者　グランダ，ブライアン ウォルター
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレイテッド
(72)発明者　トリーナー，ルイーズ メアリー
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０
(72)発明者　ジャヤシャンカール，シュヤマリ
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０
(72)発明者　ヤン，ジェニファー
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０
(72)発明者　ラヨ，エイミー
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０
(72)発明者　プライス，アンドリュー パトリック
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０
(72)発明者　スケグロ，ダルコ
スイス４００２バーゼル、ポストファッハ、ノバルティス・ファルマ・アクチェンゲゼルシャフト
(72)発明者　ギュイヨ，ジュスティーヌ
スイス４００２バーゼル、ポストファッハ、ノバルティス・ファルマ・アクチェンゲゼルシャフト
(72)発明者　アプスンデ，トゥーシャー ダトゥ
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレイテッド
(72)発明者　リー，キャメロン チャック－マン
アメリカ合衆国０２１３９マサチューセッツ州ケンブリッジ、マサチューセッツ・アベニュー２５０、ノバルティス・インスティテューツ・フォー・バイオメディカル・リサーチ・インコーポレイテッド
(72)発明者　バルトロフ，ミヒャエル
ドイツ７９５４０レラハ、ディーター－カルテンバッハシュトラーセ１０
(72)発明者　ミラー，ザンドラ
ドイツ８２１５２プラネック、ゼンメルヴァイスシュトラーセ７

Ｆターム（参考）　4B063　QA01 QQ02 QQ08 QQ13 QR48 QR72 QR77 QR80 QS36 QX01
4B065　AA90X AA90Y AA95Y AA97Y AB01 AC14 AC20 BA02 CA23 CA24
CA25 CA44 CA46
4C076　AA09 AA29 AA36 AA95 BB01 BB11 CC07 CC27 DD29A EE06

Ｆターム（参考） EE06P EE10 EE12P EE23 EE27P EE30 EE30P EE36 EE36P EE37 EE37P EE41 EE42 EE43
4C084 AA02 AA03 AA13 AA20 BA01 BA08 BA22 BA23 BA44 DA12 DA14 DA19 DB52 MA28
4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA03 MA05 MA06 MA66 NA13 NA14 ZB07 ZB26 ZB27 ZC75
4C087 AA01 AA02 BC83 CA09 CA12 MA43 MA66 NA13 ZB07 ZB26 ZB27
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA40 BA41 CA40 DA02 DA12 DA20 DA50 DA75 EA20 EA50 FA74