(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7585034号
(P7585034)

(45)発行日　令和6年11月18日(2024.11.18)

(24)登録日　令和6年11月8日(2024.11.8)

(51)国際特許分類

		FI		
C07K 19/00 (2006.01)		C07K	19/00	
C12N 15/62 (2006.01)		C12N	15/62	Z ZNA
C07K 14/47 (2006.01)		C07K	14/47	
C07K 14/195 (2006.01)		C07K	14/195	
C07K 14/005 (2006.01)		C07K	14/005	

請求項の数　75　（全501頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2020-521918(P2020-521918)
(86)(22)出願日　平成30年10月18日(2018.10.18)
(65)公表番号　特表2021-501570(P2021-501570A)
(43)公表日　令和3年1月21日(2021.1.21)
(86)国際出願番号　PCT/US2018/056472
(87)国際公開番号　WO2019/079569
(87)国際公開日　平成31年4月25日(2019.4.25)
審査請求日　令和3年10月18日(2021.10.18)
(31)優先権主張番号　62/574,188
(32)優先日　平成29年10月18日(2017.10.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者　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　100156144
弁理士　落合 康
(72)発明者　ジェイムズ・イー・ブラッドナー
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番、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】　選択的タンパク質分解のための組成物及び方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

（ｉ）ＣＲＢＮ（セレブロン）結合ポリペプチド及び

(ii)Ｎ末端からＣ末端方向において、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含むキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）

を含む融合ポリペプチドであって、

ＣＲＢＮ結合ポリペプチドが配列番号３のアミノ酸配列を含むものである、融合ポリペプチド。

【請求項２】

ＣＲＢＮ結合ポリペプチドが配列番号３のアミノ酸残基からなる、請求項１に記載の融合ポリペプチド。

【請求項３】

ＣＲＢＮ結合ポリペプチドが配列番号１のアミノ酸配列を含む又はそれからなる、請求項１に記載の融合ポリペプチド。

【請求項４】

ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及びＣＡＲがペプチド結合によって連結される、請求項１～３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項５】

ＣＡＲがＣＲＢＮ結合ポリペプチドに直接的又は間接的に連結される、請求項１～３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項６】
ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及びＣＡＲがリンカーを介して作動可能に連結される、請求項１～３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
【請求項７】
ＣＲＢＮ結合ポリペプチドがＣＡＲのＣ末端又はＮ末端に連結される、請求項１～３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
【請求項８】
リンカーがグリシン－セリンリンカーであるか又は配列番号２８のアミノ酸配列を含む、請求項６に記載の融合ポリペプチド。
【請求項９】
レナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の非存在下での融合ポリペプチドの分解が、レナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の存在下での前記融合ポリペプチドの分解の７０％以下である、請求項１～８のいずれか１項に記載の融合ポリペプチド。
【請求項１０】
融合ポリペプチドが分解ドメインをさらに含み、分解ドメインが異種プロテアーゼ切断部位によってＣＲＢＮ結合ポリペプチド及びＣＡＲから隔てられている、請求項１～９のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
【請求項１１】
分解ドメインが融合ポリペプチドの発現の第１のレベルと関連する第１の状態及び前記融合ポリペプチドの発現の第２のレベルと関連する第２の状態を有し、第２のレベルが安定化化合物の存在下で第１のレベルより増大される、
請求項１０に記載の融合ポリペプチド。
【請求項１２】
第２のレベルが安定化化合物の存在下で第１のレベルの少なくとも２倍増大される、請求項１１に記載の融合ポリペプチド。
【請求項１３】
分解ドメインがエストロゲン受容体（ＥＲ）ドメイン、ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメイン又はジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメインから選択される、請求項１０～１２のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
【請求項１４】
(ａ)分解ドメインがＥＲドメインであり、かつ配列番号４６又は４８と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む；
(ｂ)分解ドメインがＦＫＢＰドメインであり、かつ配列番号５０と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む、
(ｃ)分解ドメインがＤＨＦＲドメインであり、かつ配列番号５１と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む、
請求項１３に記載の融合ポリペプチド。
【請求項１５】
安定化化合物が
(ａ)分解ドメインがＥＲドメインであるときバゼドキシフェンもしくは４－ヒドロキシタモキシフェン（４－ＯＨＴ）又はその薬学的に許容される塩である；
(ｂ)分解ドメインがＦＫＢＰドメインであるとき、Ｓｈｉｅｌｄ－１又はその薬学的に許容される塩である；又は
(ｃ)分解ドメインがＤＨＦＲドメインであるとき、トリメトプリム又はその薬学的に許容される塩である、
請求項１１または１２に記載の融合ポリペプチド。
【請求項１６】
異種プロテアーゼ切断部位が哺乳動物の細胞内プロテアーゼによって切断される、請求項１０～１５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

【請求項１７】
異種プロテアーゼ切断部位がフューリン、ＰＣＳＫ１、ＰＣＳＫ５、ＰＣＳＫ６、ＰＣＳＫ７、カテプシンＢ、グランザイムＢ、因子ＸＡ、エンテロキナーゼ、ｇｅｎｅｎａｓｅ、ソルターゼ、ｐｒｅｃｉｓｓｉｏｎプロテアーゼ、トロンビン、ＴＥＶプロテアーゼ，及びエラスターゼ１からなる群から選択されるプロテアーゼによって切断される、請求項１０～１５のいずれか１項に記載の融合ポリペプチド。
【請求項１８】
異種プロテアーゼ切断部位がＡｒｇ－Ｘ－Ｌｙｓ／Ａｒｇ－Ａｒｇコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号５２）、Ａｒｇ－Ｘ－Ｘ－Ｘ－Ｌｙｓ／Ａｒｇ－Ａｒｇコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号５３）、Ａｒｇ－Ａｒｇ－Ｘコンセンサスモチーフ（配列番号５４）、Ｉｌｅ－Ｇｌｕ－Ｐｒｏ－Ａｓｐ－Ｘコンセンサスモチーフ（配列番号５５）、Ｉｌｅ－Ｇｌｕ／Ａｓｐ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ（配列番号５６）、Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ｌｙｓ（配列番号５７）、Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－Ａｌａ－Ａｌａ－Ｈｉｓ－Ｔｙｒ（配列番号５８）、Ｌｅｕ－Ｐｒｏ－Ｘ－Ｔｈｒ－Ｇｌｙ／Ａｌａコンセンサスモチーフ（配列番号５９）、Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｖａｌ－Ｐｈｅ－Ｇｌｎ－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ（配列番号６０）、Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｐｒｏ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ（配列番号６１）、Ｇｌｕ－Ａｓｎ－Ｌｅｕ－Ｔｙｒ－Ｐｈｅ－Ｇｌｎ－Ｇｌｙ（配列番号６２）及び［Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ－Ｖａｌ］－Ｘ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号６３）からなる群から選択される切断モチーフを有する配列を含む、請求項１０～１５のいずれか１項に記載の融合ポリペプチド。
【請求項１９】
異種プロテアーゼ切断部位がフューリンによって切断される、請求項１０～１８のいずれか１項に記載の融合ポリペプチド。
【請求項２０】
異種プロテアーゼ切断部位が哺乳動物の細胞外プロテアーゼによって切断される、請求項１０～１５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
【請求項２１】
異種プロテアーゼ切断部位がＲＴＫＲ（配列番号１２３）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＤＶＧ（配列番号１２５）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲ（配列番号１２７）；ＬＱＷＬＥＱＱＶＡＫＲＲＴＫＲ（配列番号１２９）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＧ（配列番号１３１）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧ（配列番号１３３）；ＳＬＮＬＴＥＳＨＮＳＲＫＫＲ（配列番号１３５）；ＣＫＩＮＧＹＰＫＲＧＲＫＲＲ（配列番号１３７）；及びＳＡＲＮＲＱＫＲ（配列番号３４）からなる群から選択されるフューリン切断部位を含む、請求項１９に記載の融合ポリペプチド。
【請求項２２】
哺乳動物の細胞外プロテアーゼが因子ＸＡ、エンテロキナーゼ、ｇｅｎｅｎａｓｅ、ソルターゼ、ｐｒｅｃｉｓｓｉｏｎプロテアーゼ、トロンビン、ＴＥＶプロテアーゼ、及びエラスターゼ１からなる群から選択される、請求項２０に記載の融合ポリペプチド。
【請求項２３】
異種プロテアーゼ切断部位がＩｌｅ－Ｇｌｕ／Ａｓｐ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ（配列番号５６）、Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ｌｙｓ（配列番号５７）、Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－Ａｌａ－Ａｌａ－Ｈｉｓ－Ｔｙｒ（配列番号５８）、Ｌｅｕ－Ｐｒｏ－Ｘ－Ｔｈｒ－Ｇｌｙ／Ａｌａコンセンサスモチーフ（配列番号５９）、Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｖａｌ－Ｐｈｅ－Ｇｌｎ－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ（配列番号６０）、Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｐｒｏ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ（配列番号６１）、Ｇｌｕ－Ａｓｎ－Ｌｅｕ－Ｔｙｒ－Ｐｈｅ－Ｇｌｎ－Ｇｌｙ（配列番号６２）及び［Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ－Ｖａｌ］－Ｘ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号６３）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項２０に記載の融合ポリペプチド。
【請求項２４】

(ａ)前記１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインが１つ以上の一次シグナル伝達ドメインを含む；または
(ｂ)前記１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインが１つ以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含む；
請求項１～２３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
【請求項２５】
前記抗原結合ドメインがｓｃＦｖである、請求項１～２４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
【請求項２６】
前記抗原結合ドメインがＣＤ１９；ＣＤ１２３；ＣＤ２２；ＣＤ３０；ＣＤ１７１；ＣＳ－１；Ｃ型レクチン様分子－１、ＣＤ３３；上皮増殖因子受容体バリアントＩＩＩ（ＥＧＦＲｖＩＩＩ）；ガングリオシドＧ２（ＧＤ２）；ガングリオシドＧＤ３；ＴＮＦ受容体ファミリーメンバー；Ｂ細胞成熟抗原；Ｔｎ抗原（（Ｔｎ　Ａｇ）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アルファ－２；メソセリン；インターロイキン１１受容体アルファ（ＩＬ－１１Ｒａ）；前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）；プロテアーゼセリン２１；血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）；ルイス（Ｙ）抗原；ＣＤ２４；血小板由来増殖因子受容体ベータ（ＰＤＧＦＲ－ベータ）；ステージ特異的胎児抗原－４（ＳＳＥＡ－４）；ＣＤ２０；葉酸受容体アルファ；受容体チロシン－タンパク質キナーゼＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）；ムチン１、細胞表面関連（ＭＵＣ１）；上皮増殖因子受容体（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）；変異した伸張因子２（ＥＬＦ２Ｍ）；エフリンＢ２；線維芽細胞活性化タンパク質アルファ（ＦＡＰ）；インスリン様増殖因子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、マクロペイン）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癌遺伝子ホモログ１（Ａｂｌ）（ｂｃｒ－ａｂｌ）からなる癌遺伝子融合タンパク質；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；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）；葉酸受容体ベータ；腫瘍内皮細胞マーカー１（ＴＥＭ１／ＣＤ２４８）；腫瘍内皮細胞マーカー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）；染色体Ｘオープンリーティングフレーム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）；ｇｌｏｂｏＨグリコセラミド（ＧｌｏｂｏＨ）のヘキササッカリド部分；哺乳動物腺分化抗原（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）；アドレナリン受容体ベータ３（ＡＤＲＢ３）；パネキシン３（ＰＡＮＸ３）；Ｇタンパク質共役型受容体２０（ＧＰＲ２０）；リンパ球抗原６複合体、座位Ｋ９（ＬＹ６Ｋ）；嗅覚受容体５１Ｅ２（ＯＲ５１Ｅ２）；ＴＣＲガンマ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）；染色体１２ｐに位置するＥＴＳ転座バリアント遺伝子６（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）；アンジ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変異体；プロステイン；生存；テロメラーゼ；前立

腺癌腫瘍抗原－１、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原１；ラット肉腫（Ｒａｓ）変異体；ヒトテロメラーゼ逆転写酵素（ｈＴＥＲＴ）；肉腫転移ブレークポイント；アポトーシスの黒色腫抑制分子（ＭＬ－ＩＡＰ）；ＥＲＧ（膜貫通プロテアーゼ、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トリ骨髄細胞腫症ウイルス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）；チトクロムＰ４５０　１Ｂ１（ＣＹＰ１Ｂ１）；ＣＣＣＴＣ結合因子（ジンクフィンガータンパク質）様、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）；リンパ球特異的タンパク質チロシンキナーゼ（ＬＣＫ）；Ａキナーゼアンカータンパク質４（ＡＫＡＰ－４）；滑膜肉腫、Ｘブレークポイント２（ＳＳＸ２）；終末糖化産物のための受容体（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）；腸管カルボキシルエステラーゼ；変異熱ショックタンパク質７０－２（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断片（ＦＣＡＲ又はＣＤ８９）；白血病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）；及び免疫グロブリンラムダ様ポリペプチド１（ＩＧＬＬ１）からなる群から選択される抗原に結合する、
請求項１～２５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
【請求項２７】
(ａ)１つ以上の一次シグナル伝達ドメインの１つがＣＤ３－ゼータ刺激ドメインを含む；又は
(ｂ)共刺激シグナル伝達ドメインの１つ以上の１つが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、ＣＤ７、ＣＤ２８７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、ＮＫＧ２Ｄ、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ４６、ＣＤ１６０、Ｂ７－Ｈ３及びＣＤ８３に特異的に結合するリガンドからなる群から選択される共刺激タンパク質に由来する細胞内ドメインである、
請求項２４に記載の融合ポリペプチド。
【請求項２８】
請求項１～２７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドをコードする核酸分子。
【請求項２９】
請求項２８に記載の核酸分子を含むベクター。
【請求項３０】
請求項２９に記載のベクターを含むウイルス粒子。
【請求項３１】
請求項１～２７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド、請求項２８に記載の核酸分子、請求項２９に記載のベクター又は請求項３０に記載のウイルス粒子を含む細胞。
【請求項３２】
細胞がＴ細胞又はＮＫ細胞である、請求項３１に記載の細胞。
【請求項３３】
細胞が請求項１～９もしくは２４～２７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含むか、又は請求項１～９もしくは２４～２７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドをコードする核酸分子を含み、細胞がレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に

許容される塩と接触されるとき、融合ポリペプチドの分解が、細胞がレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩と接触されていない場合の融合ポリペプチドの分解と比較して増大される、請求項３１または３２に記載の細胞。
【請求項３４】
細胞が請求項１０～２７の何れか１項に記載の融合ポリペプチドを含むか、又は請求項１０～２７の何れか１項に記載の融合ポリペプチドをコードする核酸分子を含み、安定化化合物の非存在下において、融合ポリペプチドが細胞の分解経路によって分解される、請求項３１または３２に記載の細胞。
【請求項３５】
細胞が異種プロテアーゼ切断部位を切断できるプロテアーゼをさらに含む、請求項３４に記載の細胞。
【請求項３６】
細胞が安定化化合物をさらに含む、請求項３４または３５に記載の細胞。
【請求項３７】
細胞が安定化化合物及びレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩両方と接触されるとき、融合ポリペプチドの分解が、細胞がレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩ではなく安定化化合物のみと接触される場合の融合ポリペプチドの分解と比較して増大される、請求項３６に記載の細胞。
【請求項３８】
請求項１～２７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド又は請求項３１～３７のいずれか一項に記載の細胞及び薬学的に許容される担体、賦形剤又は安定剤を含む医薬組成物。
【請求項３９】
請求項１～９もしくは２４～２７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド又は前記融合ポリペプチドを含む細胞をレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩と接触させることを含む、融合ポリペプチドを分解するエクスビボ方法。
【請求項４０】
レナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の存在下において、前記融合ポリペプチドの発現レベルが、レナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して減少される、請求項３９に記載の方法。
【請求項４１】
融合ポリペプチドの発現を制御するエクスビボ方法であって、
(ｉ)請求項１０～２７のいずれか１項に記載の融合ポリペプチド又は前記融合ポリペプチドを含む細胞を安定化化合物と接触させる工程であって、
安定化化合物の存在下において、融合ポリペプチドの発現レベルが、安定化化合物の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルと比較して増大される
工程を含む、方法。
【請求項４２】
工程(ｉ)後、
(ii)融合ポリペプチド又は前記融合ポリペプチドを含む細胞をレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩と接触させる工程であって、レナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の存在下において、融合ポリペプチドの発現レベルが、工程(ｉ)後及び工程(ii)前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して減少される、
工程をさらに含む、請求項４１に記載の方法。
【請求項４３】
細胞を作製する方法であって、
(ｉ)前記細胞が請求項３１～３７の何れか一項に記載の細胞であり、請求項２８に記載の核酸分子、請求項２９に記載のベクター又は請求項３０に記載のウイルス粒子を有する細胞をもたらすことを含むか；又は

(ii)請求項１～２７の何れか一項に記載の融合ポリペプチドをコードする核酸分子を含む細胞をもたらし、細胞とエクスビボでレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩を接触させる工程を含む、
方法。
【請求項４４】
対象における腫瘍抗原の発現を伴う疾患を治療するための、請求項１～９又は２４～２７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含む細胞を含む、医薬組成物。
【請求項４５】
細胞が投与前にエクスビボでレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩とエクスビボで接触され、レナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の存在下において、融合ポリペプチドの発現レベルが細胞がレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩と接触される前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して減少される、請求項４４に記載の医薬組成物。
【請求項４６】
細胞が投与前にエクスビボでレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩とエクスビボで接触され、かつ細胞がレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩と接触された後及び細胞が対象に投与される前に、細胞に接触するレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の量は、減少される、請求項４４に記載の医薬組成物。
【請求項４７】
前記医薬組成物の投与後、方法が有効量のレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩を対象にさらに投与し、ここで、
レナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の投与が細胞の投与後及びレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の投与前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを減少させることを特徴とする、請求項４４～４６のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項４８】
レナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の投与が有害作用を低減又は予防する、請求項４７の医薬組成物。
【請求項４９】
レナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の投与後、レナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の投与を中断することを特徴とする、請求項４７または４８に記載の医薬組成物。
【請求項５０】
該細胞が該対象に対して自己である、請求項４４～４９のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項５１】
該細胞が該対象に対して同種異系である、請求項４４～４９のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項５２】
対象における請求項１～９又は２４～２７のいずれか１項に記載の融合ポリペプチドを発現する細胞の副作用を治療するためのレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物であって、対象が腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有し、該細胞を含み、さらに、治療が(ｉ)対象に有効量のレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩を投与することを含む、医薬組成物。
【請求項５３】
レナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の投与がレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の投与前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを減少させる、請求項５２に記載の医薬組成物。

【請求項５４】
治療が、工程(ｉ)後、(ii)レナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の投与がレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の投与を中断する工程をさらに含む、請求項５２または５３に記載の医薬組成物。
【請求項５５】
レナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の投与の中断が腫瘍再発を治療又は予防する、請求項５４に記載の医薬組成物。
【請求項５６】
治療が、工程(ii)の後、工程(iii)工程(ｉ)及び／又は(ii)を繰り返し、それによって前記疾患を治療する工程をさらに含む、請求項５４または５５に記載の使用。
【請求項５７】
対象がレナリドミド又はその薬学的に許容される塩を１日当たり２.５ｍｇ、５ｍｇ、１０ｍｇ、１５ｍｇ又は２５ｍｇを投与される、請求項４７、４８、５２、５３または５６のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項５８】
対象における腫瘍抗原の発現を伴う疾患を治療するための、請求項１０～１７の何れか１項に記載の融合ポリペプチドを含む細胞を含む医薬組成物であって、治療が(ｉ)対象への安定化化合物と組み合わせた有効量の該細胞の投与を含み、それにより、疾患を治療する、医薬組成物。
【請求項５９】
治療がさらに
(ａ)工程(ｉ)後、(ii)前記安定化化合物の投与を中断する工程であって、
安定化化合物の投与の中断が工程(ｉ)の治療に対する対象の応答に対して応答する；
(ｂ)工程(ｉ)後、(iii)安定化化合物の投与を中断する工程であって、安定化化合物の投与の中断が有害作用を低減又は予防する、工程；又は
(ｃ)工程(i)後、(iv)安定化化合物の投与を中断し、有効量のレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩を対象に投与する工程であって、工程(iv)が、有害作用又は急性毒性を低減又は予防する、工程
を含む、請求項５８に記載の医薬組成物。
【請求項６０】
工程(iv)後、工程(ｖ)レナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の投与を中断する、請求項５９に記載の医薬組成物。
【請求項６１】
レナリドミド又はその薬学的に許容される塩が、１日当たり２.５ｍｇ、５ｍｇ、１０ｍｇ、１５ｍｇ又は２５ｍｇで投与される、請求項５９に記載の医薬組成物。
【請求項６２】
治療が、さらに工程(ii)、(iii)、(iv)又は(ｖ)後、工程(vi)有効量の安定化化合物を投与する工程をさらに含み、
(Ｉ)安定化化合物の投与が腫瘍再発を治療又は予防する；または、
(II)方法が工程(vi)後、工程(vii)工程(iii)、(iv)、(ｖ)又は(vi)を繰り返し、それによって疾患を治療する、
請求項６０に記載の医薬組成物。
【請求項６３】
治療が、工程(ｉ)前に、工程(viii)エクスビボで細胞を安定化化合物と接触させる工程を含む、請求項５８～６２のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項６４】
細胞が投与前にエクスビボで細胞が安定化化合物またはレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩と接触されない、請求項５８～６２のいずれか１項に記載の使用のための医薬組成物。
【請求項６５】

安定化化合物が
(ａ)分解ドメインが前記ＥＲドメインであるときバゼドキシフェンもしくは４－ヒドロキシタモキシフェン（４－ＯＨＴ）又はその薬学的に許容される塩である；
(ｂ)分解ドメインが前記ＦＫＢＰドメインであるとき、Ｓｈｉｅｌｄ－１又はその薬学的に許容される塩である；又は
(ｃ)分解ドメインが前記ＤＨＦＲドメインであるとき、トリメトプリム又はその薬学的に許容される塩である、
請求項５８～６４のいずれか一項に記載の医薬組成物。
【請求項６６】
請求項１～２７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド、請求項２８に記載の核酸分子、請求項２９に記載のベクター、請求項３０に記載のウイルス粒子または請求項３１～３７の何れか一項に記載の細胞を含む、医薬組成物。
【請求項６７】
腫瘍抗原の発現を伴う疾患が癌である、請求項４４～５７のいずれか１項に記載の使医薬組成物。
【請求項６８】
腫瘍抗原の発現を伴う疾患が癌である、請求項５８～６６のいずれか１項に記載の使用のための医薬組成物。
【請求項６９】
(ａ)癌が中皮腫；肺癌；膵臓癌；食道腺癌、卵巣癌、乳癌、結腸直腸癌、膀胱癌又はその任意の組合せである；又は
(ｂ)癌が血液癌である、
請求項６８に記載の医薬組成物。
【請求項７０】
(ｉ)血液癌が白血病又はリンパ腫から選択される血液癌である；
(ii)中皮腫が悪性胸膜中皮腫又は少なくとも１つの事前の標準的治療に対して進行してきた対象における中皮腫である；
(iii)肺癌が非小細胞肺癌、小細胞肺癌、扁平細胞肺癌又は肺大細胞癌である；
(iv)膵臓癌が膵管腺癌又は転移性膵管腺癌（ＰＤＡ）又は少なくとも１つの事前の標準的治療に対して進行してきた対象における膵臓癌である；又は
(ｖ)卵巣癌が漿液性卵巣上皮癌又は少なくとも１つの事前の標準的治療のレジメン後に進行してきた対象における卵巣癌である、
請求項６９に記載の医薬組成物。
【請求項７１】
癌が慢性リンパ球性白血病（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細胞前リンパ性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞性リンパ腫（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、ヘアリーセル白血病、小細胞型もしくは大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫（粘膜関連リンパ組織型節外性辺縁帯リンパ腫）、辺縁帯リンパ腫、脊髄形成異常、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腫瘍、ワルデンス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／脾性白血病、びまん性赤脾髄小細胞型Ｂ細胞リンパ腫、ヘアリーセル白血病－バリアント、リンパ形質細胞性リンパ腫、重鎖病、形質細胞性骨髄腫、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の際に生じる大細胞型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）又は分類不能リンパ腫から選択される、請求項６８に記載の医薬組成物。
【請求項７２】
対象における腫瘍抗原の発現を伴う疾患を治療する方法のための医薬の製造における、請求項１～９又は２４～２７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含む細胞の使用。
【請求項７３】
対象における請求項１～９又は２４～２７のいずれか１項に記載の融合ポリペプチドを発現する細胞の副作用を治療する方法のための医薬の製造におけるレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩の使用であって、対象が腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有し、該細胞を含み、さらに、方法が(ｉ)対象に有効量のレナリドミドもしくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩を投与することを含む、使用。
【請求項７４】
対象における腫瘍抗原の発現を伴う疾患を治療する方法のための医薬の製造における、請求項１０～２７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含む細胞の使用であって、治療が(ｉ)対象への安定化化合物と組み合わせた有効量の該細胞の投与を含み、それにより、疾患を治療する、使用。
【請求項７５】
対象における腫瘍抗原の発現を伴う疾患を治療する方法のための医薬の製造における、請求項１～２７のいずれか１項に記載の融合ポリペプチド、請求項２８に記載の核酸分子、請求項２９に記載のベクター、請求項３０に記載のウイルス粒子または請求項３１～３７のいずれか１項に記載の細胞の使用。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願
本出願は、内容が全体として参照により本明細書に組み込まれる、２０１７年１０月１８日に出願された米国仮特許出願第６２／５７４，１８８号明細書に対する優先権を主張するものである。
【０００２】
配列表
本出願は、ＡＳＣＩＩ形式で電子的手段により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。２０１８年１０月１７日に作成された前記ＡＳＣＩＩの複製は、Ｎ２０６７－７１３６ＷＯ＿ＳＬ．ｔｘｔと命名され、サイズが２，０５２，５５４バイトである。
【背景技術】
【０００３】
多くの治療用タンパク質は、疾患を予防又は治療するための重要な薬物として開発されてきた。副作用は、治療中又は治療後に発生する可能性があり、薬効の消失から深刻な毒性まで様々である。治療用タンパク質の発現レベルを調節する、例えば有効性を増大させ且つ／又は副作用を減少させるための治療用タンパク質のレベルを調節する戦略を開発することが望ましい。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００４】
本開示は、少なくとも部分的に、標的化されたタンパク質不活性化のための式（Ｉ）の化合物（ＣＯＦ１）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、式（ＩＩ）の化合物（ＣＯＦ２）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド又は式（ＩＩＩ）の化合物（ＣＯＦ３）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含む融合ポリペプチドを提供する。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、１つ以上のＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び１つ以上の異種ポリペプチド、例えば目的のポリペプチドを含む。ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、

リンカーを介して異種ポリペプチドに作動可能に連結され得る。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１若しくはＣＯＦ２（サリドマイド及びその誘導体（例えば、レナリドミド、ポマリドミド及びサリドマイド）など）の存在下又はＣＯＦ３（例えば、表２９において開示される化合物）の存在下において、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、融合ポリペプチドのレベル及び／又は活性を変化させ；例えば、分解、例えば融合ポリペプチドのプロテアソーム分解を増大させる。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドの分解は、ユビキチン依存的である。

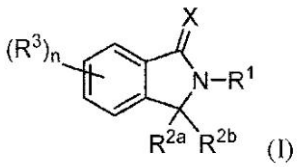
【０００５】

理論に束縛されるものではないが、いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＣＯＦ１若しくはＣＯＦ２（サリドマイド及びその誘導体（例えば、レナリドミド、ポマリドミド及びサリドマイド）など）の存在下又はＣＯＦ３（例えば、表２９において開示される化合物）の存在下において、融合ポリペプチドの翻訳後修飾（例えば、ユビキチン化）をもたらして、修飾された、例えばユビキチン化された融合ポリペプチドをもたらすアミノ酸配列及び／又は構造モチーフを提供する。例えば、融合ポリペプチド中の１つ以上のアミノ酸、例えばリジン又はメチオニンは、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の存在下でユビキチン化され得る。いくつかの実施形態では、ユビキチン化された融合ポリペプチドは、選択的に分解される。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドの翻訳後修飾は、融合ポリペプチドの分解を増大させる（例えば、分解のレベル及び／又は速度の増大）。いくつかの実施形態では、分解のレベル及び／又は速度は、参照ポリペプチド、例えば、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２若しくはＣＯＦ３の非存在下の融合ポリペプチド、異種ポリペプチド又はＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを伴わないか、又はＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド以外の部分を伴う異種ポリペプチドの融合物の分解のレベル及び／又は速度に対して少なくとも１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大される。

【０００６】

一態様では、本明細書では、式（Ｉ）の化合物（ＣＯＦ１）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドを含む融合ポリペプチドが提供され、式（Ｉ）の化合物は、

【化１】



(I)

（式中、

Ｘは、Ｏ又はＳであり；

R^1は、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、１つ以上のR^4によって独立して且つ任意選択により置換され；

R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであるか；又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；

R^3の各々は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）OR^B、－OR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（$R^C$）（$R^D$）又は－Ｎ（$R^C$）Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^6で置換され；

各R^4は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル

、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－C（O）R^A、－C（O）OR^B、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、－S（O）$_x$$R^E$、－S（O）$_x$N（$R^C$）（$R^D$）、－N（$R^C$）S（O）$_x$$R^E$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^7で置換され；
R^A、R^B、R^C、R^D及びR^Eの各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであり；
各R^6は、独立して、C_1～C_6アルキル、オキソ、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^8で置換され；
各R^7は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）又は－N（R^C）C（O）R^Aであり；
各R^8は、独立して、C_1～C_6アルキル、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）又は－N（R^C）C（O）R^Aであり；
ｎは、０、１、２、３又は４であり；及び
ｘは、０、１又は２である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、溶媒和物若しくは互変異性体である。

【０００７】

いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、異種哺乳動物ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、異種細菌ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、異種ウイルスポリペプチドである。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、哺乳動物ポリペプチド、細菌ポリペプチド、ウイルスポリペプチド、植物ポリペプチド、酵母ポリペプチド、真菌ポリペプチド、古細菌ポリペプチド、魚類、例えばゼブラフィッシュポリペプチドからの又はそれらに由来するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、表２におけるポリペプチド、例えば表２に記載されるとおりの細胞質内及び／若しくは核ポリペプチド又は膜貫通ポリペプチドを含む。

【０００８】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、異種ポリペプチドに融合される。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドは、ペプチド結合によって連結される。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドは、ペプチド結合以外の結合によって連結される。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドに直接的に連結される。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドに間接的に連結される。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドは、リンカー、例えばグリシン－セリンリンカー、例えば配列番号２８のアミノ酸配列を含むリンカーを介して作動可能に連結される。いくつかの実施形態では、リンカーは、配列番号２８、３７、３８、３９及び９９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【０００９】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、異種ポリペプチドのＣ末端に連結される。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、異種ポリペプチドのＮ末端に連結される。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、異種ポリペプチドの中間にある。

【００１０】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１の非存在下でのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとセレブロン（ＣＲＢＮ）との会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での

ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＣＯＦ１の非存在下でＣＲＢＮに結合しない。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下である。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、ＣＯＦ１の非存在下でＣＲＢＮに結合しない。いくつかの実施形態では、会合又は結合は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【００１１】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１の非存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチド又は融合ポリペプチドは、ＣＯＦ１の存在下おいて１つ以上のリジン又はメチオニン残基でユビキチン化される。いくつかの実施形態では、ユビキチン化は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【００１２】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドの分解は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドの分解は、ＣＯＦ１の存在下でユビキチン化によって媒介される。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドの分解は、リソソームによって媒介される。いくつかの実施形態では、分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【００１３】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、細胞表面ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１の非存在下での細胞表面から細胞内区画への融合ポリペプチドの再利用速度は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での細胞表面から細胞内区画への融合ポリペプチドの再利用の例えば１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％又は９０％以下である。いくつかの実施形態では、再利用は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【００１４】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、１０～９５のアミノ酸残基長、１５～９０のアミノ酸残基長、２０～８５のアミノ酸残基長、２５～８０のアミノ酸残基長、３０～７５のアミノ酸残基長、３５～７０のアミノ酸残基長、４０～６５のアミノ酸残基長、４５～６０のアミノ酸残基長、５０～６５のアミノ酸残基長又は５５～６５のアミノ酸残基長である。

【００１５】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βターンを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３（例えば、ヒトＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）のβターンを含む。いくつかの実施形

態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βヘアピンを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３（例えば、ヒトＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）のβヘアピンを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βストランドを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３（例えば、ヒトＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）のβストランドを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、αヘリックスを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３（例えば、ヒトＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）のαヘリックスを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド及び第１のαヘリックスを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３（例えば、ヒトＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）の第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド及び第１のαヘリックスを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド、第１のαヘリックス及び第２のαヘリックスを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３（例えば、ヒトＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）の第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド、第１のαヘリックス及び第２のαヘリックスを含む。いくつかの実施形態では、βヘアピン及び第２のαヘリックスは、６０、５０、４０又は３０個以下のアミノ酸残基によって隔てられている。

【００１６】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、天然に存在するポリペプチド又はそのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合変異体に由来するＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、天然に存在するＩＫＺＦポリペプチド又はそのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合変異体に由来するＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、天然に存在するＩＫＺＦ１、ＩＫＺＦ２、ＩＫＺＦ３、ＩＫＺＦ４若しくはＩＫＺＦ５又はそのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合変異体に由来するＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合配列は、天然に存在するポリペプチド、例えば天然に存在するＩＫＺＦポリペプチド、例えば天然に存在するＩＫＺＦ１、ＩＫＺＦ２、ＩＫＺＦ３、ＩＫＺＦ４又はＩＫＺＦ５に由来する２つ以上の非連続的な配列を含む。

【００１７】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦポリペプチド又はその構造モチーフを含む。

【００１８】

いくつかの実施形態では、ＩＫＺＦポリペプチドは、ＩＫＺＦ１ポリペプチド、ＩＫＺＦ３ポリペプチド、Ｈ１４１Ｑ置換（配列番号２１に従って番号付けされる）を有するＩＫＺＦ２ポリペプチド又はＨ１８８Ｑ置換（配列番号２２に従って番号付けされる）を有するＩＫＺＦ４ポリペプチドである。

【００１９】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、

ｉ）ＣＯＦ１の非存在下でのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下でのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；

ｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば

過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ（例えば、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフを含む。

【００２０】

いくつかの実施形態では、会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【００２１】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３の約１０～約９５個のアミノ酸残基、約１５～約９０個のアミノ酸残基、約２０～約８５個のアミノ酸残基、約２５～約８０個のアミノ酸残基、約３０～約７５個のアミノ酸残基、約３５～約７０個のアミノ酸残基、約４０～約６５個のアミノ酸残基、約４５～約６５個のアミノ酸残基、約５０～約６５個のアミノ酸残基又は約５５～約６５個のアミノ酸残基を含む。

【００２２】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、
ｉ）ＣＯＦ１の非存在下でのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下でのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％

又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む。
【００２３】
いくつかの実施形態では、会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。
【００２４】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を含む）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列）（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０から１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸置換を有する配列）を含む。
【００２５】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、
ｉ）ＣＯＦ１の非存在下でのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下でのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１７０に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む。
【００２６】
いくつかの実施形態では、会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。
【００２７】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）（例えば、ＣＯＦ１／

ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号６のアミノ酸配列を含む）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５又は３０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１７０と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５又は３０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列）（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１７０から１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５又は３０個以下のアミノ酸置換を有する配列）を含む。

【００２８】

いくつかの実施形態では、以下のアミノ酸残基：配列番号１９に従って番号付けされる１４７位のグルタミン、１４８位のシステイン、１５０位のグルタミン、１５２位のグリシン、１６１位のロイシン又は１６２位のロイシンの１つ、２つ、３つ又は全ては，不変のままである。いくつかの実施形態では、配列番号１９に従って番号付けされる１４７位のグルタミンは、不変のままである。いくつかの実施形態では、配列番号１９に従って番号付けされる１４８位のシステインは、不変のままである。いくつかの実施形態では、配列番号１９に従って番号付けされる１５０位のグルタミンは、不変のままである。いくつかの実施形態では、配列番号１９に従って番号付けされる１５２位のグリシンは、不変のままである。いくつかの実施形態では、配列番号１９に従って番号付けされる１６１位のロイシンは、不変のままである。いくつかの実施形態では、配列番号１９に従って番号付けされる１６２位のロイシンは、不変のままである。

【００２９】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１３９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含ｍｉ、例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４０のアミノ酸配列を含む。

【００３０】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号７７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列からなる。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列からなる。

【００３１】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号７８のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号６のアミノ酸配列からなる。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号７８のアミノ酸配列からなる。

【００３２】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、

ｉ）ＣＯＦ１の非存在下でのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下でのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；

ｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；

ｉｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む。

【００３３】

いくつかの実施形態では、会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【００３４】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１のアミノ酸配列を含む）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列）（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９から１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸置換を有する配列）を含む。

【００３５】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１のアミノ酸配列を含む。

【００３６】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号９１のアミノ酸配列を含む。

【００３７】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、
ｉ）ＣＯＦ１の非存在下でのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下でのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０

％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０及び２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０及び２３６～２４９に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む。

【００３８】

いくつかの実施形態では、会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【００３９】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第１の配列（例えば、配列番号５のアミノ酸配列を含む第１の配列）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基が異なる第１の配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基が異なる第１の配列）；及びＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第２の配列（例えば、配列番号１１のアミノ酸配列を含む第２の配列）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基が異なる第２の配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基が異なる第２の配列）を含む。

【００４０】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０及び２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号３のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列からなる。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号３のアミノ酸配列からなる。

【００４１】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第１の配列及びＭＡＬＥＫＭＡＬＥＫＭＡＬＥのアミノ酸配列（配列番号９１）を含む第２の配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１４のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号８５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１４のアミノ酸配列からなる。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号８５のアミノ酸配列からなる。

【００４２】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミ

ノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第１の配列及びＭＡＬＥＫＭＡＬＥＫＭＡＬＥのアミノ酸配列（配列番号９１）を含む第２の配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号８６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１５のアミノ酸配列からなる。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号８６のアミノ酸配列からなる。

【００４３】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、対応する天然配列よりも少なくとも１つ少ないリジンを含む。いくつかの実施形態では、対応する天然配列中の１つ以上のリジン残基は、異なるアミノ酸、例えばアルギニンによって置き換えられる。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、１、２、３、４又は５個未満のリジン残基を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、リジン残基を含まない。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、ＣＯＦ１の存在下において、例えば本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ユビキチン化されず、任意選択により、ユビキチン化は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【００４４】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４、４１、４２及び４３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４２のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４３のアミノ酸配列を含む。

【００４５】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号２のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号２のアミノ酸配列からなる。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４のアミノ酸配列からなる。

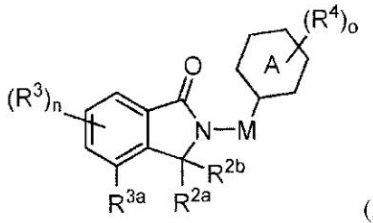
【００４６】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、免疫調節性イミド薬剤（ＩＭｉＤ）又はその薬学的に許容される塩である。

【００４７】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、式（Ｉ－ａ）：

【化２】



(I-a)

（式中、

環Ａは、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{4}で置換され；

Ｍは、存在しないか、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル、Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルケニル、Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルキニル又はＣ$_1$～Ｃ$_6$ヘテロアルキルであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{4}で置換され；

R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであるか；又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；
R^{3a}は、水素、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－C（O）R^A、－C（O）OR^B、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、－S（O）$_x$$R^E$、－S（O）$_x$N（$R^C$）（$R^D$）又は－N（$R^C$）S（O）$_x$$R^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^6で置換され；
R^3の各々は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－C（O）R^A、－C（O）OR^B、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、－S（O）$_x$$R^E$、－S（O）$_x$N（$R^C$）（$R^D$）又は－N（$R^C$）S（O）$_x$$R^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^6で置換され；
各R^4は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－C（O）R^A、－C（O）OR^B、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、S（O）$_x$$R^E$、－S（O）$_x$N（$R^C$）（$R^D$）、－N（$R^C$）S（O）$_x$$R^E$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^7で置換され；
R^A、R^B、R^C、R^D及びR^Eの各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであり；
各R^6は、独立して、C_1～C_6アルキル、オキソ、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^8で置換され；
各R^7は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）又は－N（R^C）C（O）R^Aであり；
各R^8は、独立して、C_1～C_6アルキル、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）又は－N（R^C）C（O）R^Aであり；
ｎは、０、１、２又は３であり；
ｏは、０、１、２、３、４又は５であり；及び
ｘは、０、１又は２である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物若しくは互変異性体の構造を有する。

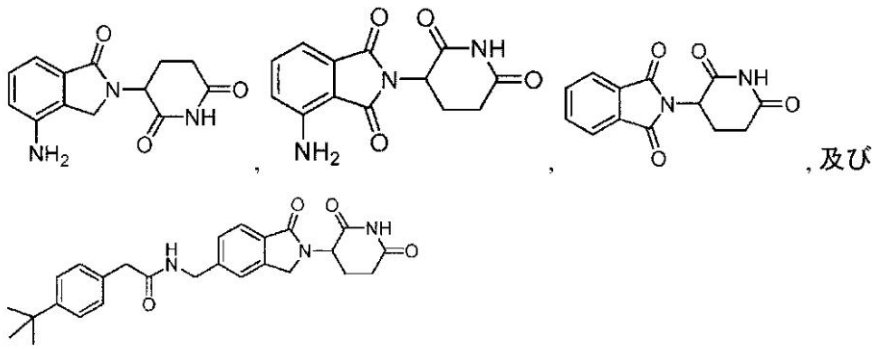
【００４８】

式（Ｉ－ａ）のいくつかの実施形態では、Ｘは、Ｏである。いくつかの実施形態では、Ｍは、存在しない。いくつかの実施形態では、環Ａは、ヘテロシクリル（例えば、窒素含有ヘテロシクリル、例えば２－（２．６－ジオキソピペリジン－３－イル）イソインドリン－１，３－ジオン）である。いくつかの実施形態では、R^4は、オキソ又はOR^B（例えば、－OCH_3又は－OCH_2CH_3）であり、且つｏは、０、１又は２である。いくつかの実施形態では、R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素であるか、又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基を形成する。いくつかの実施形態では、R^{3a}は、ヘテロアルキル（例えば、－CH_2NHC（Ｏ）CH_2）、－N（R^C）（R^D）（例えば、－NH_2）又は－N（R^C）C（O）R^A（例えば、－NHC（Ｏ）CH_3）である。一実施形態では、ｎは、０である。

【００４９】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、サリドマイド又はその類似体若しくは薬学的に許容される塩である。

【００５０】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、レナリドミド、ポマリドミド、サリドマイド及び２－（４－（ｔｅｒｔ－ブチル）フェニル）－Ｎ－（（２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－５－イル）メチル）アセトアミド又はその薬学的に許容される塩からなる群から選択される。
【００５１】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、
【化３】



又はその薬学的に許容される塩からなる群から選択される。
【００５２】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、レナリドミド又はその類似体若しくは薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、レナリドミド又は薬学的に許容される塩である。
【００５３】
いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、分解ドメインをさらに含み、分解ドメインは、異種プロテアーゼ切断部位によってＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドから隔てられている。
【００５４】
いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、
ｉ）分解ドメイン、異種プロテアーゼ切断部位、異種ポリペプチド及びＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド；
ｉｉ）分解ドメイン、異種プロテアーゼ切断部位、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド；
ｉｉｉ）ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種ポリペプチド、異種プロテアーゼ切断部位及び分解ドメイン；又は
ｉｖ）異種ポリペプチド及びＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種プロテアーゼ切断部位及び分解ドメイン
を含む。
【００５５】
いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、分解ドメイン、異種プロテアーゼ切断部位、異種ポリペプチド及びＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含む。
【００５６】
いくつかの実施形態では、分解ドメインは、融合ポリペプチドの発現の第１のレベルと関連する第１の状態及び融合ポリペプチドの発現の第２のレベルと関連する第２の状態を有し、第２のレベルは、例えば、安定化化合物の存在下で第１のレベルの少なくとも２、３、４、５、１０、２０又は３０倍増大される。
【００５７】

いくつかの実施形態では、安定化化合物の非存在下において、融合ポリペプチドは、細胞の分解経路によって分解され、例えば本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、例えば、融合ポリペプチドの少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％以上は、分解される。

【００５８】

いくつかの実施形態では、発現のレベル及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【００５９】

いくつかの実施形態では、安定化化合物の存在下において、

ｉ）分解ドメインは、安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、細胞性分解に対してより耐性のある立体構造をとるか；又は

ｉｉ）融合ポリペプチドの立体構造は、安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、異種プロテアーゼ切断部位での切断により許容的である。

【００６０】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメイン、ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメイン又はジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメインから選択される。

【００６１】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメインである。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４６又は４８と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４８のアミノ酸配列を含む。

【００６２】

いくつかの実施形態では、安定化化合物は、バゼドキシフェン若しくは４－ヒドロキシタモキシフェン（４－ＯＨＴ）又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメインであり、安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含み、安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩である。

【００６３】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメインである。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５０と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５０のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、安定化化合物は、Ｓｈｉｅｌｄ－１又はその薬学的に許容される塩である。

【００６４】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメインである。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５１と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、安定化化合物は、トリメトプリム又はその薬学的に許容される塩である。

【００６５】

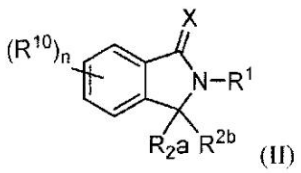
いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、哺乳動物の細胞内プロテアーゼによって切断される。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、フューリン、ＰＣＳＫ１、ＰＣＳＫ５、ＰＣＳＫ６、ＰＣＳＫ７、カテプシンＢ、グランザイムＢ、因子ＸＡ、エンテロキナーゼ、ｇｅｎｅｎａｓｅ、ソルターゼ、ｐｒｅｃｉｓｓｉｏｎプロテアーゼ、トロンビン、ＴＥＶプロテアーゼ，及びエラスターゼ１からなる群から選択されるプロテアーゼによって切断される。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、ＲＸ（Ｋ／Ｒ）Ｒコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあ

り得る；配列番号５２）、ＲＸＸＸ［ＫＲ］Ｒコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号５３）、ＲＲＸコンセンサスモチーフ（配列番号５４）、Ｉ－Ｅ－Ｐ－Ｄ－Ｘコンセンサスモチーフ（配列番号５５）、Ｉｌｅ－Ｇｌｕ／Ａｓｐ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ（配列番号５６）、Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ｌｙｓ（配列番号５７）、Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－Ａｌａ－Ａｌａ－Ｈｉｓ－Ｔｙｒ（配列番号５８）、ＬＰＸＴＧ／Ａコンセンサスモチーフ（配列番号５９）、Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｖａｌ－Ｐｈｅ－Ｇｌｎ－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ（配列番号６０）、Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｐｒｏ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ（配列番号６１）、Ｅ－Ｎ－Ｌ－Ｙ－Ｆ－Ｑ－Ｇ（配列番号６２）及び［ＡＧＳＶ］－Ｘ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号６３）からなる群から選択される切断モチーフを有する配列を含む。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、フューリンによって切断される。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、ＲＴＫＲ（配列番号１２３）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＤＶＧ（配列番号１２５）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲ（配列番号１２７）；ＬＱＷＬＥＱＱＶＡＫＲＲＴＫＲ（配列番号１２９）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＧ（配列番号１３１）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧ（配列番号１３３）；ＳＬＮＬＴＥＳＨＮＳＲＫＫＲ（配列番号１３５）；ＣＫＩＮＧＹＰＫＲＧＲＫＲＲ（配列番号１３７）；及びＳＡＲＮＲＱＫＲ（配列番号３４）からなる群から選択されるフューリン切断部位を含む。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、ＳＡＲＮＲＱＫＲ（配列番号３４）のアミノ酸配列を含まない。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＤＶＧ（配列番号１２５）のフューリン切断部位を含む。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、哺乳動物の細胞外プロテアーゼによって切断される。いくつかの実施形態では、哺乳動物の細胞外プロテアーゼは、因子ＸＡ、エンテロキナーゼ、ｇｅｎｅｎａｓｅ、ソルターゼ、ｐｒｅｃｉｓｓｉｏｎプロテアーゼ、トロンビン、ＴＥＶプロテアーゼ，及びエラスターゼ１からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、Ｉｌｅ－Ｇｌｕ／Ａｓｐ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ（配列番号５６）、Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ｌｙｓ（配列番号５７）、Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－Ａｌａ－Ａｌａ－Ｈｉｓ－Ｔｙｒ（配列番号５８）、ＬＰＸＴＧ／Ａコンセンサスモチーフ（配列番号５９）、Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｖａｌ－Ｐｈｅ－Ｇｌｎ－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ（配列番号６０）、Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｐｒｏ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ（配列番号６１）、Ｅ－Ｎ－Ｌ－Ｙ－Ｆ－Ｑ－Ｇ（配列番号６２）及び［ＡＧＳＶ］－Ｘ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号６３）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【００６６】

一態様では、本明細書では、異種プロテアーゼ切断部位によって隔てられた第１のドメイン及び第２のドメインを含む融合ポリペプチドが提供され、第１のドメインは分解ドメインを含み、第２のドメインは、式（ＩＩ）の化合物（ＣＯＦ２）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド、例えば異種哺乳動物、細菌又はウイルスポリペプチドを含み、式（ＩＩ）の化合物は、

【化４】



(II)

（式中、
Ｘは、Ｏ又はＳであり；
Ｒ１は、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ２～Ｃ６アルケニル、Ｃ２～Ｃ６アルキニル、Ｃ１～Ｃ６ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、１つ以上のＲ４によって独立して且つ任意選択により置換され；

R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであるか；又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；
R^{10}の各々は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－C（O）R^A、－C（O）OR^B、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、－S（O）$_x$$R^E$、－S（O）$_x$N（$R^C$）（$R^D$）若しくは－N（$R^C$）S（O）$_x$$R^E$又はL－タグであり；各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{11}で置換され；
各R^4は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、C（O）R^A、－C（O）OR^B、OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、S（O）$_x$$R^E$、－S（O）$_x$N（$R^C$）（$R^D$）、－N（$R^C$）S（O）$_x$$R^E$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^7で置換され；
R^A、R^B、R^C、R^D及びR^Eの各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであり；
各R^{11}は、独立して、C_1～C_6アルキル、ハロ、オキソ、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^8で置換され；
各R^7は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）又は－N（R^C）C（O）R^Aであり；
各R^8は、独立して、C_1～C_6アルキル、ハロ、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）又は－N（R^C）C（O）R^Aであり；
各Lは、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、－C（O）R^{A1}、－C（O）OR^{B1}、－OR^{B1}、－N（R^{C1}）（R^{D1}）、－C（O）N（R^{C1}）（R^{D1}）、－N（R^{C1}）C（O）R^{A1}、－S（O）$_x$$R^{E1}$、－S（O）$_x$N（$R^{C1}$）（$R^{D1}$）又は－N（$R^{C1}$）S（O）$_x$$R^{E1}$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{12}で置換され；
各タグは、標的タンパク質に結合可能な標的化部分であり；
R^{A1}、R^{B1}、R^{C1}、R^{D1}及びR^{E1}の各々は、独立して、水素、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{12}で置換され；
各R^{12}は、独立して、C_1～C_6アルキル、ハロ、シアノ、カルボシクリル又はヘテロシクリルであり；
nは、０、１、２、３又は４であり；及び
xは、０、１又は２である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、互変異性体若しくはプロドラッグである。

【００６７】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、融合ポリペプチドの発現の第１のレベルと関連する第１の状態及び融合ポリペプチドの発現の第２のレベルと関連する第２の状態を有し、第２のレベルは、例えば、安定化化合物の存在下で第１のレベルの少なくとも２、３、４、５、１０、２０又は３０倍増大される。

【００６８】

いくつかの実施形態では、安定化化合物の非存在下において、融合ポリペプチドは、細胞の分解経路によって分解され、例えば本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、例えば、融合ポリペプチドの少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％以上は、分解される。

【００６９】

いくつかの実施形態では、発現のレベル及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【００７０】

いくつかの実施形態では、安定化化合物の存在下において、

ｉ）分解ドメインは、安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、細胞性分解に対してより耐性のある立体構造をとるか；又は

ｉｉ）融合ポリペプチドの立体構造は、安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、異種プロテアーゼ切断部位での切断により許容的である。

【００７１】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメイン、ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメイン又はジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメインから選択される。

【００７２】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメインである。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４６又は４８と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４８のアミノ酸配列を含む。

【００７３】

いくつかの実施形態では、安定化化合物は、バゼドキシフェン若しくは４－ヒドロキシタモキシフェン（４－ＯＨＴ）又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメインであり、安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含み、安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩である。

【００７４】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメインである。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５０と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５０のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、安定化化合物は、Ｓｈｉｅｌｄ－１又はその薬学的に許容される塩である。

【００７５】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメインである。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５１と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、安定化化合物は、トリメトプリム又はその薬学的に許容される塩である。

【００７６】

いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、哺乳動物の細胞内プロテアーゼによって切断される。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、フューリン、ＰＣＳＫ１、ＰＣＳＫ５、ＰＣＳＫ６、ＰＣＳＫ７、カテプシンＢ、グランザイムＢ、因子ＸＡ、エンテロキナーゼ、ｇｅｎｅｎａｓｅ、ソルターゼ、ｐｒｅｃｉｓｓｉｏｎプロテアーゼ、トロンビン、ＴＥＶプロテアーゼ，及びエラスターゼ１からなる群から選択されるプロテアーゼによって切断される。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、ＲＸ（Ｋ／Ｒ）Ｒコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあ

り得る；配列番号５２）、ＲＸＸＸ［ＫＲ］Ｒコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号５３）、ＲＲＸコンセンサスモチーフ（配列番号５４）、Ｉ－Ｅ－Ｐ－Ｄ－Ｘコンセンサスモチーフ（配列番号５５）、Ｉｌｅ－Ｇｌｕ／Ａｓｐ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ（配列番号５６）、Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ｌｙｓ（配列番号５７）、Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－Ａｌａ－Ａｌａ－Ｈｉｓ－Ｔｙｒ（配列番号５８）、ＬＰＸＴＧ／Ａコンセンサスモチーフ（配列番号５９）、Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｖａｌ－Ｐｈｅ－Ｇｌｎ－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ（配列番号６０）、Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｐｒｏ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ（配列番号６１）、Ｅ－Ｎ－Ｌ－Ｙ－Ｆ－Ｑ－Ｇ（配列番号６２）及び［ＡＧＳＶ］－Ｘ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号６３）からなる群から選択される切断モチーフを有する配列を含む。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、フューリンによって切断される。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、ＲＴＫＲ（配列番号１２３）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＤＶＧ（配列番号１２５）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲ（配列番号１２７）；ＬＱＷＬＥＱＱＶＡＫＲＲＴＫＲ（配列番号１２９）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＧ（配列番号１３１）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧ（配列番号１３３）；ＳＬＮＬＴＥＳＨＮＳＲＫＫＲ（配列番号１３５）；ＣＫＩＮＧＹＰＫＲＧＲＫＲＲ（配列番号１３７）；及びＳＡＲＮＲＱＫＲ（配列番号３４）からなる群から選択されるフューリン切断部位を含む。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、ＳＡＲＮＲＱＫＲ（配列番号３４）のアミノ酸配列を含まない。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＤＶＧ（配列番号１２５）のフューリン切断部位を含む。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、哺乳動物の細胞外プロテアーゼによって切断される。いくつかの実施形態では、哺乳動物の細胞外プロテアーゼは、因子ＸＡ、エンテロキナーゼ、ｇｅｎｅｎａｓｅ、ソルターゼ、ｐｒｅｃｉｓｓｉｏｎプロテアーゼ、トロンビン、ＴＥＶプロテアーゼ，及びエラスターゼ１からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、Ｉｌｅ－Ｇｌｕ／Ａｓｐ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ（配列番号５６）、Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ｌｙｓ（配列番号５７）、Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－Ａｌａ－Ａｌａ－Ｈｉｓ－Ｔｙｒ（配列番号５８）、ＬＰＸＴＧ／Ａコンセンサスモチーフ（配列番号５９）、Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｖａｌ－Ｐｈｅ－Ｇｌｎ－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ（配列番号６０）、Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｐｒｏ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ（配列番号６１）、Ｅ－Ｎ－Ｌ－Ｙ－Ｆ－Ｑ－Ｇ（配列番号６２）及び［ＡＧＳＶ］－Ｘ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号６３）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【００７７】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、異種プロテアーゼ切断部位に融合され、異種プロテアーゼ切断部位は、第２のドメインにさらに融合される。

【００７８】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、

ｉ）分解ドメイン、異種プロテアーゼ切断部位、異種ポリペプチド及びＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド；

ｉｉ）分解ドメイン、異種プロテアーゼ切断部位、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド；

ｉｉｉ）ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種ポリペプチド、異種プロテアーゼ切断部位及び分解ドメイン；又は

ｉｖ）異種ポリペプチド及びＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種プロテアーゼ切断部位及び分解ドメイン

を含む。

【００７９】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、分解ドメイン、異種プロテアーゼ切断部位、異種ポリペプチド及びＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、

分解ドメイン、異種プロテアーゼ切断部位、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種ポリペプチド、異種プロテアーゼ切断部位及び分解ドメインを含む。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、異種ポリペプチド及びＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種プロテアーゼ切断部位及び分解ドメインを含む。

【００８０】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２の非存在下でのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとセレブロン（ＣＲＢＮ）との会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下でのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＣＯＦ２の非存在下でＣＲＢＮに結合しない。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下である。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、ＣＯＦ２の非存在下でＣＲＢＮに結合しない。いくつかの実施形態では、会合及び／又は結合は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【００８１】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２の非存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチド又は融合ポリペプチドは、ＣＯＦ２の存在下おいて１つ以上のリジン又はメチオニン残基でユビキチン化される。いくつかの実施形態では、ユビキチン化は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【００８２】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドの分解は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドの分解は、ＣＯＦ２の存在下でユビキチン化によって媒介される。いくつかの実施形態では、分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【００８３】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、１０～９５のアミノ酸残基長、１５～９０のアミノ酸残基長、２０～８５のアミノ酸残基長、２５～８０のアミノ酸残基長、３０～７５のアミノ酸残基長、３５～７０のアミノ酸残基長、４０～６５のアミノ酸残基長、４５～６０のアミノ酸残基長、５０～６５のアミノ酸残基長又は５５～６５のアミノ酸残基長である。

【００８４】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βターンを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１又はＩＫ

ＺＦ３（例えば、ヒトＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）のβターンを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βヘアピンを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３（例えば、ヒトＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）のβヘアピンを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βストランドを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３（例えば、ヒトＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）のβストランドを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、αヘリックスを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３（例えば、ヒトＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）のαヘリックスを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド及び第１のαヘリックスを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３（例えば、ヒトＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）の第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド及び第１のαヘリックスを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド、第１のαヘリックス及び第２のαヘリックスを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３（例えば、ヒトＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）の第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド、第１のαヘリックス及び第２のαヘリックスを含む。いくつかの実施形態では、βヘアピン及び第２のαヘリックスは、６０、５０、４０又は３０個以下のアミノ酸残基によって隔てられている。

【００８５】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、天然に存在するポリペプチド又はそのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合変異体に由来するＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、天然に存在するＩＫＺＦポリペプチド又はそのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合変異体に由来するＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、天然に存在するＩＫＺＦ１、ＩＫＺＦ２、ＩＫＺＦ３、ＩＫＺＦ４若しくはＩＫＺＦ５又はそのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合変異体に由来するＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合配列は、天然に存在するポリペプチド、例えば天然に存在するＩＫＺＦポリペプチド、例えば天然に存在するＩＫＺＦ１、ＩＫＺＦ２、ＩＫＺＦ３、ＩＫＺＦ４又はＩＫＺＦ５に由来する２つ以上の非連続的な配列を含む。

【００８６】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦポリペプチド又はその構造モチーフを含む。

【００８７】

いくつかの実施形態では、ＩＫＺＦポリペプチドは、ＩＫＺＦ１ポリペプチド、ＩＫＺＦ３ポリペプチド、Ｈ１４１Ｑ置換（配列番号２１に従って番号付けされる）を有するＩＫＺＦ２ポリペプチド又はＨ１８８Ｑ置換（配列番号２２に従って番号付けされる）を有するＩＫＺＦ４ポリペプチドである。

【００８８】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、

ｉ）ＣＯＦ２の非存在下でのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下でのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；

ｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細

書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ（例えば、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフを含む。

【００８９】

いくつかの実施形態では、会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【００９０】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３の約１０～約９５個のアミノ酸残基、約１５～約９０個のアミノ酸残基、約２０～約８５個のアミノ酸残基、約２５～約８０個のアミノ酸残基、約３０～約７５個のアミノ酸残基、約３５～約７０個のアミノ酸残基、約４０～約６５個のアミノ酸残基、約４５～約６５個のアミノ酸残基、約５０～約６５個のアミノ酸残基又は約５５～約６５個のアミノ酸残基を含む。

【００９１】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、
ｉ）ＣＯＦ２の非存在下でのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下でのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドの分解の

例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む。
【００９２】
いくつかの実施形態では、会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。
【００９３】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）（例えば、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を含む）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列）（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０から１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸置換を有する配列）を含む。
【００９４】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、
ｉ）ＣＯＦ２の非存在下でのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下でのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１７０に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む。
【００９５】
いくつかの実施形態では、会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。
【００９６】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミ

ノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）（例えば、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号６のアミノ酸配列を含む）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５又は３０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１７０と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５又は３０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列）（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１７０から１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５又は３０個以下のアミノ酸置換を有する配列）を含む。

【００９７】

いくつかの実施形態では、以下のアミノ酸残基：配列番号１９に従って番号付けされる１４７位のグルタミン、１４８位のシステイン、１５０位のグルタミン、１５２位のグリシン、１６１位のロイシン又は１６２位のロイシンの１つ、２つ、３つ又は全ては、不変のままである。いくつかの実施形態では、配列番号１９に従って番号付けされる１４７位のグルタミンは、不変のままである。いくつかの実施形態では、配列番号１９に従って番号付けされる１４８位のシステインは、不変のままである。いくつかの実施形態では、配列番号１９に従って番号付けされる１５０位のグルタミンは、不変のままである。いくつかの実施形態では、配列番号１９に従って番号付けされる１５２位のグリシンは、不変のままである。いくつかの実施形態では、配列番号１９に従って番号付けされる１６１位のロイシンは、不変のままである。いくつかの実施形態では、配列番号１９に従って番号付けされる１６２位のロイシンは、不変のままである。

【００９８】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１３９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含み、例えば、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４０のアミノ酸配列を含む。

【００９９】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号７７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列からなる。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列からなる。

【０１００】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号７８のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号６のアミノ酸配列からなる。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号７８のアミノ酸配列からなる。

【０１０１】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、

ｉ）ＣＯＦ２の非存在下でのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下でのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；

ｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％

、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む。

【０１０２】

いくつかの実施形態では、会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【０１０３】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）（例えば、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１のアミノ酸配列を含む）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列）（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９から１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸置換を有する配列）を含む。

【０１０４】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１のアミノ酸配列を含む。

【０１０５】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号９１のアミノ酸配列を含む。

【０１０６】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、
ｉ）ＣＯＦ２の非存在下でのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下でのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の

存在下での異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ２の非存在下での融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０及び２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０及び２３６～２４９に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む。

【０１０７】

いくつかの実施形態では、会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【０１０８】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第１の配列（例えば、配列番号５のアミノ酸配列を含む第１の配列）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基が異なる第１の配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基が異なる第１の配列）；及びＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第２の配列（例えば、配列番号１１のアミノ酸配列を含む第２の配列）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基が異なる第２の配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基が異なる第２の配列）を含む。

【０１０９】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０及び２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号３のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１のアミノ酸配列からなる。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号３のアミノ酸配列からなる。

【０１１０】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第１の配列及びＭＡＬＥＫＭＡＬＥＫＭＡＬＥのアミノ酸配列（配列番号９１）を含む第２の配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１４のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号８５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１４のアミノ酸配列からなる。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号８５のアミノ酸配列からなる。

【０１１１】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第１の配列及びＭＡＬＥＫＭＡＬＥＫＭＡＬＥのアミノ酸配列（配列番号９１）を含む第２の配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号８６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１５のアミノ酸配列からなる。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号８６のアミノ酸配列からなる。

【０１１２】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、対応する天然配列よりも少なくとも１つ少ないリジンを含む。いくつかの実施形態では、対応する天然配列中の１つ以上のリジン残基は、異なるアミノ酸、例えばアルギニンによって置き換えられる。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、１、２、３、４又は５個未満のリジン残基を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、リジン残基を含まない。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、ＣＯＦ２の存在下において、例えば本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ユビキチン化されず、任意選択により、ユビキチン化は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【０１１３】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４、４１、４２及び４３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４２のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４３のアミノ酸配列を含む。

【０１１４】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号２のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号２のアミノ酸配列からなる。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４のアミノ酸配列からなる。

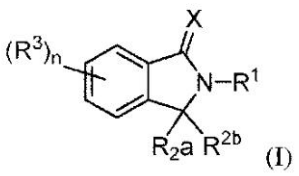
【０１１５】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、免疫調節性イミド薬剤（ＩＭｉＤ）又はその薬学的に許容される塩である。

【０１１６】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、式（Ｉ）：

【化５】



(I)

（式中、

Ｘは、Ｏ又はＳであり；

R^1は、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、１つ以上のR^4によって独立して且つ任意選択により置換され；

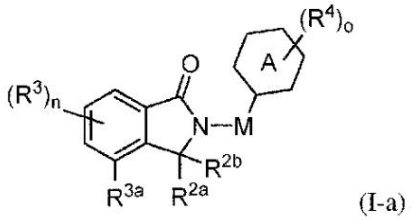
R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであるか；又はR^{2a}

及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；
R^{3}の各々は、独立して、C$_{1}$～C$_{6}$アルキル、C$_{2}$～C$_{6}$アルケニル、C$_{2}$～C$_{6}$アルキニル、C$_{1}$～C$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－C（O）R^{A}、－C（O）OR^{B}、－OR^{B}、－N（R^{C}）（R^{D}）、－C（O）N（R^{C}）（R^{D}）、－N（R^{C}）C（O）R^{A}、－S（O）$_{x}$R^{E}、－S（O）$_{x}$N（R^{C}）（R^{D}）又は－N（R^{C}）S（O）$_{x}$R^{E}であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{6}で置換され；
各R^{4}は、独立して、C$_{1}$～C$_{6}$アルキル、C$_{2}$～C$_{6}$アルケニル、C$_{2}$～C$_{6}$アルキニル、C$_{1}$～C$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－C（O）R^{A}、－C（O）OR^{B}、－OR^{B}、－N（R^{C}）（R^{D}）、－C（O）N（R^{C}）（R^{D}）、－N（R^{C}）C（O）R^{A}、－S（O）$_{x}$R^{E}、－S（O）$_{x}$N（R^{C}）（R^{D}）、－N（R^{C}）S（O）$_{x}$R^{E}、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{7}で置換され；
R^{A}、R^{B}、R^{C}、R^{D}及びR^{E}の各々は、独立して、水素又はC$_{1}$～C$_{6}$アルキルであり；
各R^{6}は、独立して、C$_{1}$～C$_{6}$アルキル、オキソ、シアノ、－OR^{B}、－N（R^{C}）（R^{D}）、－C（O）N（R^{C}）（R^{D}）、－N（R^{C}）C（O）R^{A}、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{8}で置換され；
各R^{7}は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－OR^{B}、－N（R^{C}）（R^{D}）、－C（O）N（R^{C}）（R^{D}）又は－N（R^{C}）C（O）R^{A}であり；
各R^{8}は、独立して、C$_{1}$～C$_{6}$アルキル、シアノ、－OR^{B}、－N（R^{C}）（R^{D}）、－C（O）N（R^{C}）（R^{D}）又は－N（R^{C}）C（O）R^{A}であり；
ｎは、０、１、２、３又は４であり；及び
ｘは、０、１又は２である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、溶媒和物若しくは互変異性体の構造を有する。

【０１１７】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、式（Ｉ－ａ）：

【化６】



(I-a)

（式中、
環Ａは、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{4}で置換され；
Ｍは、存在しないか、C$_{1}$～C$_{6}$アルキル、C$_{2}$～C$_{6}$アルケニル、C$_{2}$～C$_{6}$アルキニル又はC$_{1}$～C$_{6}$ヘテロアルキルであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{4}で置換され；
R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素又はC$_{1}$～C$_{6}$アルキルであるか；又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；
R^{3a}は、水素、C$_{1}$～C$_{6}$アルキル、C$_{2}$～C$_{6}$アルケニル、C$_{2}$～C$_{6}$アルキニル、C$_{1}$

～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－C（O）R^A、－C（O）OR^B、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、－S（O）$_x$$R^E$、－S（O）$_x$N（$R^C$）（$R^D$）又は－N（$R^C$）S（O）$_x$$R^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^6で置換され；
R^3の各々は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－C（O）R^A、－C（O）OR^B、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、－S（O）$_x$$R^E$、－S（O）$_x$N（$R^C$）（$R^D$）又は－N（$R^C$）S（O）$_x$$R^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^6で置換され；
各R^4は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－C（O）R^A、－C（O）OR^B、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、S（O）$_x$$R^E$、－S（O）$_x$N（$R^C$）（$R^D$）、－N（$R^C$）S（O）$_x$$R^E$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^7で置換され；
R^A、R^B、R^C、R^D及びR^Eの各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであり；
各R^6は、独立して、C_1～C_6アルキル、オキソ、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^8で置換され；
各R^7は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）又は－N（R^C）C（O）R^Aであり；
各R^8は、独立して、C_1～C_6アルキル、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）又は－N（R^C）C（O）R^Aであり；
ｎは、０、１、２又は３であり；
ｏは、０、１、２、３、４又は５であり；及び
ｘは、０、１又は２である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物若しくは互変異性体の構造を有する。

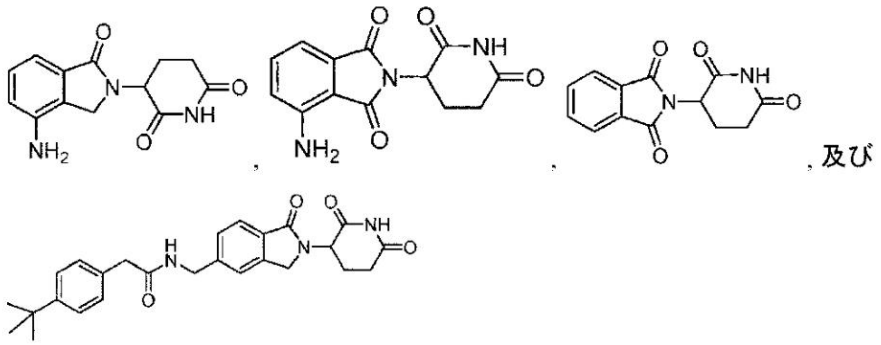
【０１１８】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、サリドマイド又はその類似体若しくは薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、レナリドミド、ポマリドミド、サリドマイド及び２－（４－（ｔｅｒｔ－ブチル）フェニル）－Ｎ－（（２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－５－イル）メチル）アセトアミド又はその薬学的に許容される塩からなる群から選択される。

【０１１９】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、

【化７】



又はその薬学的に許容される塩からなる群から選択される。

【０１２０】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、レナリドミド又はその類似体若しくは薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、レナリドミド又は薬学的に許容される塩である。

【０１２１】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、式（Ｉ）：

【化８】



（式中、

Ｘは、Ｏ又はＳであり；

R^1は、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、１つ以上のR^4によって独立して且つ任意選択により置換され；

R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであるか；又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；

R^3の各々は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）OR^B、－OR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（$R^C$）（$R^D$）又は－Ｎ（$R^C$）Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^6で置換され；

各R^4は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）OR^B、－OR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（$R^C$）（$R^D$）、－Ｎ（$R^C$）Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^7で置換され；

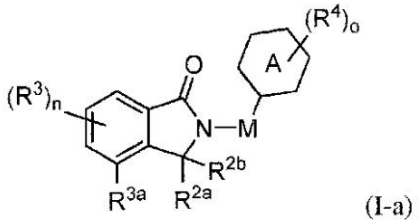
R^A、R^B、R^C、R^D及びR^Eの各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであり；

各R^6は、独立して、C_1～C_6アルキル、オキソ、シアノ、－OR^B、－$N(R^C)(R^D)$、－$C(O)N(R^C)(R^D)$、－$N(R^C)C(O)R^A$、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^8で置換され；
各R^7は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－OR^B、－$N(R^C)(R^D)$、－$C(O)N(R^C)(R^D)$又は－$N(R^C)C(O)R^A$であり；
各R^8は、独立して、C_1～C_6アルキル、シアノ、－OR^B、－$N(R^C)(R^D)$、－$C(O)N(R^C)(R^D)$又は－$N(R^C)C(O)R^A$であり；
ｎは、０、１、２、３又は４であり；及び
ｘは、０、１又は２である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、溶媒和物若しくは互変異性体の構造を含む。

【０１２２】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、式（Ｉ－ａ）：

【化９】



(I-a)

（式中、
環Ａは、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^4で置換され；
Ｍは、存在しないか、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル又はC_1～C_6ヘテロアルキルであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^4で置換され；
R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであるか；又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；
R^{3a}は、水素、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－$C(O)R^A$、－$C(O)OR^B$、－OR^B、－$N(R^C)(R^D)$、－$C(O)N(R^C)(R^D)$、－$N(R^C)C(O)R^A$、－$S(O)_xR^E$、－$S(O)_xN(R^C)(R^D)$又は－$N(R^C)S(O)_xR^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^6で置換され；
R^3の各々は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－$C(O)R^A$、－$C(O)OR^B$、－OR^B、－$N(R^C)(R^D)$、－$C(O)N(R^C)(R^D)$、－$N(R^C)C(O)R^A$、－$S(O)_xR^E$、－$S(O)_xN(R^C)(R^D)$又は－$N(R^C)S(O)_xR^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^6で置換され；
各R^4は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－$C(O)R^A$、－$C(O)OR^B$、－OR^B、－$N(R^C)(R^D)$、－$C(O)N(R^C)(R^D)$、－$N(R^C)C(O)R^A$、$S(O)_xR^E$、－$S(O)_xN(R^C)(R^D)$、－$N(R^C)S(O)_xR^E$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^7で置換され；

R^A、R^B、R^C、R^D及びR^Eの各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであり；
各R^6は、独立して、C_1～C_6アルキル、オキソ、シアノ、－OR^B、－$N(R^C)(R^D)$、－$C(O)N(R^C)(R^D)$、－$N(R^C)C(O)R^A$、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^8で置換され；
各R^7は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－OR^B、－$N(R^C)(R^D)$、－$C(O)N(R^C)(R^D)$又は－$N(R^C)C(O)R^A$であり；
各R^8は、独立して、C_1～C_6アルキル、シアノ、－OR^B、－$N(R^C)(R^D)$、－$C(O)N(R^C)(R^D)$又は－$N(R^C)C(O)R^A$であり；
ｎは、０、１、２又は３であり；
ｏは、０、１、２、３、４又は５であり；及び
ｘは、０、１又は２である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物若しくは互変異性体の構造を含む。

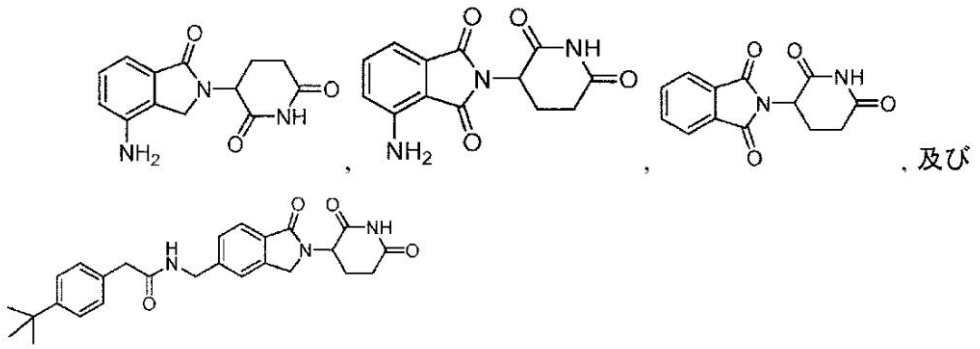
【０１２３】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、免疫調節性イミド薬剤（ＩＭｉＤ）又はその薬学的に許容される塩を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、サリドマイド又はその類似体若しくは薬学的に許容される塩を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、レナリドミド、ポマリドミド、サリドマイド及び２－（４－（ｔｅｒｔ－ブチル）フェニル）－Ｎ－（（２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－５－イル）メチル）アセトアミド又はその薬学的に許容される塩を含む。

【０１２４】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、

【化１０】

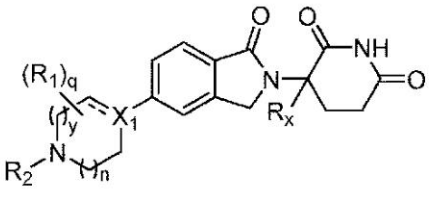

NH2
NH
O
N
NH2
NH
O
N
NH
O
O
O

その薬学的に許容される塩）は、例えば、リンカーを介してリガンドに連結される。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドはリガンドに結合し、リガンドの非存在下でのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＩＭｉＤ（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）との間の結合は、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとリガンドとの間の結合の０．０００１、０．００１、０．０１、０．１、１又は１０％以下であり、例えば、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＭｉＤ（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）に結合せず、任意選択により、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、国際公開第２０１７／０２４３１８号パンフレット（例えば、３６～６５頁）において開示されるｄＴＡＧから選択される。

【０１２７】

一態様では、本明細書では、式（ＩＩＩ）の化合物（ＣＯＦ３）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドを含む融合ポリペプチドが提供され、式（ＩＩＩ）の化合物は、

【化１１】



(III)

（式中、

X_1は、CR_3であり；

【化１２】



は、X_1がCR_3であり且つR_3が存在しない場合、任意選択により二重結合であり；

各R_1は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_1～C_6ハロアルキル、C_1～C_6ヒドロキシアルキル又はハロであるか、又は

２つのR_1は、それらが結合される炭素原子とともに５員又は６員ヘテロシクリル環を形成するか、又は

２つのR_1は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにC_6～C_{10}アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員若しくは６員ヘテロアリール環を形成し；

R_2は、水素、C_1～C_6アルキル、－Ｃ（Ｏ）C_1～C_6アルキル、－Ｃ（Ｏ）（CH_2）$_{0～3}$－C_6～C_{10}アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｏ（CH_2）$_{0～3}$－C_6～C_{10}アリール、C_6～C_{10}アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員若しくは６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７－ヘテロシクリルであり、アルキルは、任意選択により１つ以上のR_4で置換され；及びアリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリルは、任意選択により１つ以上のR_5で置換されるか、又は

R_1及びR_2は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともに５員又は６員ヘテロシクリル環を形成し；

R_3は水素であるか、又は

【化１３】



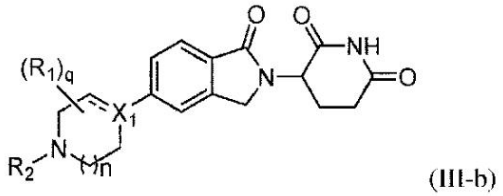
が二重結合であるとき、R_3は、存在せず；
各R_4は、－Ｃ（Ｏ）OR_6、－Ｃ（Ｏ）NR_6R_6、－NR_6Ｃ（Ｏ）R_6、ハロ、－ＯＨ、－NH_2、シアノ、C_6～C_{10}アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～４個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリル環から独立して選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリルは、任意選択により１つ以上のR_7で置換され；
各R_5は、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6アルコキシ、C_1～C_6ハロアルキル、C_1～C_6ハロアルコキシ、C_1～C_6ヒドロキシアルキル、ハロ、－ＯＨ、－NH_2、シアノ、C_3～C_7カルボシクリル、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリル、C_6～C_{10}アリール並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリールから独立して選択されるか、又は
２つのR_5は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにC_6～C_{10}アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員若しくは６員ヘテロアリールを形成し、任意選択により１つ以上のR_{10}で置換されるか、又は
２つのR_5は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにC_5～C_7カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルを形成し、任意選択により１つ以上のR_{10}で置換され；
R_6及びR_6は、それぞれ独立して、水素、C_1～C_6アルキル又はC_6～C_{10}アリールであり；
各R_7は、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6アルコキシ、C_1～C_6ハロアルキル、C_1～C_6ハロアルコキシ、－Ｃ（Ｏ）R_8、－（CH_2）$_{0～3}$Ｃ（Ｏ）OR_8、－Ｃ（Ｏ）NR_8R_9、－NR_8Ｃ（Ｏ）R_9、－NR_8Ｃ（Ｏ）OR_9、－Ｓ（Ｏ）$_p$$NR_8R_9$、－Ｓ（Ｏ）$_p$$R_{12}$、（$C_1$～$C_6$）ヒドロキシアルキル、ハロ、－ＯＨ、－Ｏ（$CH_2$）$_{1～3}$ＣＮ、－$NH_2$、シアノ、－Ｏ（$CH_2$）$_{0～3}$－$C_6$～$C_{10}$アリール、アダマンチル、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む－Ｏ（CH_2）$_{0～3}$－５員又は６員ヘテロアリール、C_6～C_{10}アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む単環式又は二環式５～１０員ヘテロアリール、C_3～C_7カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから独立して選択され、アルキルは、任意選択により１つ以上のR_{11}で置換され、アリール、ヘテロアリール及びヘテロシクリルは、任意選択により、ハロゲン、C_1～C_6アルキル、C_1～C_6ハロアルキル及びC_1～C_6アルコキシからそれぞれ独立して選択される１つ以上の置換基で置換されるか、又は
２つのR_7は、それらが結合される炭素原子とともにａ＝（Ｏ）を形成するか、又は
２つのR_7は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにC_6～C_{10}アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員若しくは６員ヘテロアリールを形成し、任意選択により１つ以上のR_{10}で置換されるか、又は
２つのR_7は、それらが結合される原子とともにC_5～C_7カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルを形成し、任意選択により１つ以上のR_{10}で置換され；
R_8及びR_9は、それぞれ独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであり；
各R_{10}は、C_1～C_6アルキル、C_1～C_6アルコキシ、C_1～C_6ハロアルキル、C_1～C_6ハロアルコキシ、C_1～C_6ヒドロキシアルキル、ハロ、－ＯＨ、－NH_2及びシアノから独立して選択されるか、又は

２つのＲ１０は、それらが結合される炭素原子とともにａ＝（Ｏ）を形成し；
各Ｒ１１は、シアノ、Ｃ１～Ｃ６アルコキシ、Ｃ６～Ｃ１０アリール並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから独立して選択され、各アリール及びヘテロシクリルは、任意選択により、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ１～Ｃ６アルコキシ、Ｃ１～Ｃ６ハロアルキル、Ｃ１～Ｃ６ハロアルコキシ、Ｃ１～Ｃ６ヒドロキシアルキル、ハロ、－ＯＨ、－ＮＨ２及びシアノからそれぞれ独立して選択される１つ以上の置換基で置換され；
Ｒ１２は、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ１～Ｃ６ハロアルキル、Ｃ６～Ｃ１０アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルであり；
Ｒｘは、水素又は重水素であり；
ｐは、０、１又は２であり；
ｎは、０、１又は２であり；
ｙは、１又は２であり、ここで、ｎ＋ｙ≦３であり；及び
ｑは、０、１、２、３又は４である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、溶媒和物若しくは互変異性体である。

【０１２８】

一実施形態では、式（ＩＩＩ）の化合物は、式（ＩＩＩ－ｂ）：

【化１４】



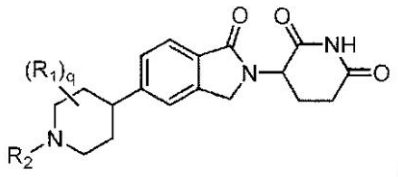
(III-b)

（式中、Ｘ１、Ｒ１、Ｒ２、ｎ、ｑ及びその下位の変数は、式（ＩＩＩ）について上に記載されるとおりに定義される）
の化合物又はその薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、プロドラッグ、立体異性体及び互変異性体である。

【０１２９】

一実施形態では、式（ＩＩＩ）の化合物は、式（ＩＩＩ－ｄ）：

【化１５】



(III-d)

（式中、Ｒ１、Ｒ２、ｑ及びその下位の変数は、式（ＩＩＩ）について上に記載されるとおりに定義される）
の化合物又はその薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、プロドラッグ、立体異性体及び互変異性体である。

【０１３０】

一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、異種ポリペプチドに融合される。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドは、ペプチド結合によって連結される。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドは、ペプチド結合以外の結合によって連結される。一実施形態では、異種ポリペプチドは、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドに直接的に連結される。一実施形態では、異種ポリペプチドは、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドに間接的に連結される。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチ

ドは、リンカー、例えばグリシン－セリンリンカー、例えば配列番号２８のアミノ酸配列を含むリンカーを介して作動可能に連結される。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、異種ポリペプチドのＣ末端に連結される。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、異種ポリペプチドのＮ末端に連結される。

【０１３１】

一実施形態では、ＣＯＦ３の非存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ３、例えば過剰量のＣＯＦ３の存在下での融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下である。一実施形態では、融合ポリペプチドは、ＣＯＦ３の非存在下でＣＲＢＮに結合しない。一実施形態では、ＣＯＦ３の非存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ３、例えば過剰量のＣＯＦ３の存在下での融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である。一実施形態では、融合ポリペプチドは、ＣＯＦ３の存在下おいて１つ以上のリジン又はメチオニン残基でユビキチン化される。一実施形態では、ＣＯＦ３の非存在下での融合ポリペプチドの分解は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ３、例えば過剰量のＣＯＦ３の存在下での融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である。一実施形態では、融合ポリペプチドの分解は、ＣＯＦ３の存在下でユビキチン化によって媒介される。一実施形態では、会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。

【０１３２】

一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、１０～９５のアミノ酸残基長、１５～９０のアミノ酸残基長、２０～８５のアミノ酸残基長、２５～８０のアミノ酸残基長、３０～７５のアミノ酸残基長、３５～７０のアミノ酸残基長、４０～６５のアミノ酸残基長、４５～６０のアミノ酸残基長、５０～６５のアミノ酸残基長又は５５～６５のアミノ酸残基長である。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、５９のアミノ酸残基長である。

【０１３３】

一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βターンを含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βヘアピンを含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βストランドを含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、αヘリックスを含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド及び第１のαヘリックスを含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド、第１のαヘリックス及び第２のαヘリックスを含む。一実施形態では、βヘアピン及び第２のαヘリックスは、６０、５０、４０又は３０個以下のアミノ酸残基によって隔てられている。

【０１３４】

一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、天然に存在するポリペプチド又はそのＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合変異体に由来するＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合配列を含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、天然に存在するＩＫＺＦポリペプチド又はそのＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合変異体に由来するＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合配列を含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、天然に存在するＩＫＺＦ２又はそのＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合変異体に由来するＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合配列を含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合配列は、天然に存在するＩＫＺＦポリペプチド、例えば天然に存在するＩＫＺＦ２に由来する２つ以上の非連続的な配列を含む。

【０１３５】
一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２のアミノ酸残基１３０～１７４（配列番号２１に従って番号付けされる）を含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１３のアミノ酸配列を含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２のアミノ酸残基１３０～１７４（配列番号２１に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列を含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号２１のアミノ酸残基１３０～１７４と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列を含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号２１のアミノ酸残基１３０～１７４から１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸置換を有する配列を含む。
【０１３６】
一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２のアミノ酸残基２３０～２４３（配列番号２１に従って番号付けされる）を含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１４のアミノ酸配列を含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２のアミノ酸残基２３０～２４３（配列番号２１に従って番号付けされる）と１、２、３、４又は１０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列を含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号２１のアミノ酸残基２３０～２４３と１、２、３、４又は１０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列を含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号２１のアミノ酸残基２３０～２４３から、１、２、３、４又は１０個以下のアミノ酸置換を有する配列を含む。
【０１３７】
一実施形態では、配列番号２１に従って番号付けされる１４１位のヒスチジンは、不変のままである。
【０１３８】
一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２のアミノ酸残基１３０～１７４（配列番号２１に従って番号付けされる）を含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１３のアミノ酸配列を含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２のアミノ酸残基２３０～２４３（配列番号２１に従って番号付けされる）を含む。一実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１４のアミノ酸配列を含む。一実施形態において、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１０９のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる。
【０１３９】
いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、分解ドメインをさらに含み、分解ドメインは、異種プロテアーゼ切断部位によってＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドから隔てられている。
【０１４０】
いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、
ｉ）分解ドメイン、異種プロテアーゼ切断部位、異種ポリペプチド及びＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド；
ｉｉ）分解ドメイン、異種プロテアーゼ切断部位、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド；
ｉｉｉ）ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種ポリペプチド、異種プロテアーゼ切断部位及び分解ドメイン；又は
ｉｖ）異種ポリペプチド及びＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種プロテアーゼ切断部位及び分解ドメイン
を含む。

【０１４１】
いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、分解ドメイン、異種プロテアーゼ切断部位、異種ポリペプチド及びＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含む。
【０１４２】
いくつかの実施形態では、分解ドメインは、融合ポリペプチドの発現の第１のレベルと関連する第１の状態及び融合ポリペプチドの発現の第２のレベルと関連する第２の状態を有し、第２のレベルは、例えば、安定化化合物の存在下で第１のレベルの少なくとも２、３、４、５、１０、２０又は３０倍増大される。
【０１４３】
いくつかの実施形態では、安定化化合物の非存在下において、融合ポリペプチドは、細胞の分解経路によって分解され、例えば本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、例えば、融合ポリペプチドの少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％以上は、分解される。
【０１４４】
いくつかの実施形態では、発現のレベル及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである。
【０１４５】
いくつかの実施形態では、安定化化合物の存在下において、
ｉ）分解ドメインは、安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、細胞性分解に対してより耐性のある立体構造をとるか；又は
ｉｉ）融合ポリペプチドの立体構造は、安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、異種プロテアーゼ切断部位での切断により許容的である。
【０１４６】
いくつかの実施形態では、分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメイン、ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメイン又はジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメインから選択される。
【０１４７】
いくつかの実施形態では、分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメインである。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４６又は４８と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４８のアミノ酸配列を含む。
【０１４８】
いくつかの実施形態では、安定化化合物は、バゼドキシフェン若しくは４－ヒドロキシタモキシフェン（４－ＯＨＴ）又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメインであり、安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含み、安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩である。
【０１４９】
いくつかの実施形態では、分解ドメインは、ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメインである。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５０と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５０のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、安定化化合物は、Ｓｈｉｅｌｄ－１又はその薬学的に許容される塩である。
【０１５０】
いくつかの実施形態では、分解ドメインは、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメインである。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５１と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実

施形態では、分解ドメインは、配列番号５１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、安定化化合物は、トリメトプリム又はその薬学的に許容される塩である。

【０１５１】

いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、哺乳動物の細胞内プロテアーゼによって切断される。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、フューリン、ＰＣＳＫ１、ＰＣＳＫ５、ＰＣＳＫ６、ＰＣＳＫ７、カテプシンＢ、グランザイムＢ、因子ＸＡ、エンテロキナーゼ、ｇｅｎｅｎａｓｅ、ソルターゼ、ｐｒｅｃｉｓｓｉｏｎプロテアーゼ、トロンビン、ＴＥＶプロテアーゼ，及びエラスターゼ１からなる群から選択されるプロテアーゼによって切断される。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、ＲＸ（Ｋ／Ｒ）Ｒコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号５２）、ＲＸＸＸ［ＫＲ］Ｒコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号５３）、ＲＲＸコンセンサスモチーフ（配列番号５４）、Ｉ－Ｅ－Ｐ－Ｄ－Ｘコンセンサスモチーフ（配列番号５５）、Ｉｌｅ－Ｇｌｕ／Ａｓｐ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ（配列番号５６）、Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ｌｙｓ（配列番号５７）、Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－Ａｌａ－Ａｌａ－Ｈｉｓ－Ｔｙｒ（配列番号５８）、ＬＰＸＴＧ／Ａコンセンサスモチーフ（配列番号５９）、Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｖａｌ－Ｐｈｅ－Ｇｌｎ－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ（配列番号６０）、Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｐｒｏ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ（配列番号６１）、Ｅ－Ｎ－Ｌ－Ｙ－Ｆ－Ｑ－Ｇ（配列番号６２）及び［ＡＧＳＶ］－Ｘ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号６３）からなる群から選択される切断モチーフを有する配列を含む。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、フューリンによって切断される。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、ＲＴＫＲ（配列番号１２３）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＤＶＧ（配列番号１２５）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲ（配列番号１２７）；ＬＱＷＬＥＱＱＶＡＫＲＲＴＫＲ（配列番号１２９）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＧ（配列番号１３１）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧ（配列番号１３３）；ＳＬＮＬＴＥＳＨＮＳＲＫＫＲ（配列番号１３５）；ＣＫＩＮＧＹＰＫＲＧＲＫＲＲ（配列番号１３７）；及びＳＡＲＮＲＱＫＲ（配列番号３４）からなる群から選択されるフューリン切断部位を含む。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、ＳＡＲＮＲＱＫＲ（配列番号３４）のアミノ酸配列を含まない。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＤＶＧ（配列番号１２５）のフューリン切断部位を含む。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、哺乳動物の細胞外プロテアーゼによって切断される。いくつかの実施形態では、哺乳動物の細胞外プロテアーゼは、因子ＸＡ、エンテロキナーゼ、ｇｅｎｅｎａｓｅ、ソルターゼ、ｐｒｅｃｉｓｓｉｏｎプロテアーゼ、トロンビン、ＴＥＶプロテアーゼ，及びエラスターゼ１からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、Ｉｌｅ－Ｇｌｕ／Ａｓｐ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ（配列番号５６）、Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ｌｙｓ（配列番号５７）、Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－Ａｌａ－Ａｌａ－Ｈｉｓ－Ｔｙｒ（配列番号５８）、ＬＰＸＴＧ／Ａコンセンサスモチーフ（配列番号５９）、Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｖａｌ－Ｐｈｅ－Ｇｌｎ－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ（配列番号６０）、Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｐｒｏ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ（配列番号６１）、Ｅ－Ｎ－Ｌ－Ｙ－Ｆ－Ｑ－Ｇ（配列番号６２）及び［ＡＧＳＶ］－Ｘ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号６３）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【０１５２】

前述の態様の特定の実施形態では、異種ポリペプチドは、細胞質内及び／若しくは核ポリペプチド又は膜貫通ポリペプチド、例えば表２における異種ポリペプチドから選択される。いくつかの実施形態では、細胞質内及び／又は核ポリペプチドは、アポトーシス経路の構成要素（例えば、カスパーゼ９）、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓシステムの構成要素（例えば、Ｃａｓ９）、転写因子（例えば、ＭＩＴＦ、ｃ－Ｍｙｃ、ＳＴＡＴ３、ＳＴＡＴ５、ＮＦ－カッパＢ、ベーター－カテニン、ノッチ、ＧＬＩ又はｃ－ＪＵＮ）、Ｔｅｔメチルシトシンジオキシゲナーゼ２（ＴＥＴ２）、ＦＫＢＰ及びタウからなる群から選択される。

いくつかの実施形態では、膜貫通ポリペプチドは、ＣＤ６２Ｌ、ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ５、ＣＣＲ７、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ６、ＣＴＬＡ４、ＰＤ１、ＢＴＬＡ、ＶＩＳＴＡ、ＣＤ１３７Ｌ、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＴＩＧＩＴ、ＣＤ３、ＣＤ８、ＣＤ１９、ＣＤ２２、ＣＤ２０、ＢＣＭＡ，及びキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓシステムの構成要素（例えば、Ｃａｓ９）、ＣＤ８、ＣＤ１９及びＣＤ２２からなる群から選択される。

【０１５３】

いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）である。いくつかの実施形態では、ＣＡＲは、Ｎ末端からＣ末端方向において、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び１つ以上の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では、細胞内シグナル伝達ドメインは、１つ以上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では、細胞内シグナル伝達ドメインは、１つ以上の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では、１つ以上の一次シグナル伝達ドメインの１つは、ＣＤ３－ゼータ刺激ドメインを含む。いくつかの実施形態では、共刺激シグナル伝達ドメインの１つ以上は、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に特異的に結合するリガンドからなる群から選択される共刺激タンパク質に由来する細胞内ドメインである。いくつかの実施形態では、前記共刺激シグナル伝達ドメインの１つ以上は、４－１ＢＢ共刺激ドメインを含む。いくつかの実施形態では、前記共刺激シグナル伝達ドメインの１つ以上は、ＣＤ２８共刺激ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、ｓｃＦｖである。

【０１５４】

いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、ＣＤ１９；ＣＤ１２３；ＣＤ２２；ＣＤ３０；ＣＤ１７１；ＣＳ－１；Ｃ型レクチン様分子－１、ＣＤ３３；上皮増殖因子受容体バリアントＩＩＩ（ＥＧＦＲｖＩＩＩ）；ガングリオシドＧ２（ＧＤ２）；ガングリオシドＧＤ３；ＴＮＦ受容体ファミリーメンバー；Ｂ細胞成熟抗原；Ｔｎ抗原（（Ｔｎ　Ａｇ）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アルファ－２；メソセリン；インターロイキン１１受容体アルファ（ＩＬ－１１Ｒａ）；前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）；プロテアーゼセリン２１；血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）；ルイス（Ｙ）抗原；ＣＤ２４；血小板由来増殖因子受容体ベータ（ＰＤＧＦＲ－ベータ）；ステージ特異的胎児抗原－４（ＳＳＥＡ－４）；ＣＤ２０；葉酸受容体アルファ；受容体チロシン－タンパク質キナーゼＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）；ムチン１、細胞表面関連（ＭＵＣ１）；上皮増殖因子受容体（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）；変異した伸張因子２（ＥＬＦ２Ｍ）；エフリンＢ２；線維芽細胞活性化タンパク質アルファ（ＦＡＰ）；インスリン様増殖因子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、マクロペイン）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癌遺伝子ホモログ１（Ａｂｌ）（ｂｃｒ－ａｂｌ）からなる癌遺伝子ポリペプチド；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；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）；葉酸受容体ベータ；腫瘍内皮細胞マーカー１（ＴＥＭ１／ＣＤ２４８）；腫瘍内

皮細胞マーカー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）；染色体Ｘオープンリーティングフレーム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）；ｇｌｏｂｏＨグリコセラミド（ＧｌｏｂｏＨ）のヘキササッカリド部分；哺乳動物腺分化抗原（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）；アドレナリン受容体ベータ３（ＡＤＲＢ３）；パネキシン３（ＰＡＮＸ３）；Ｇタンパク質共役型受容体２０（ＧＰＲ２０）；リンパ球抗原６複合体、座位Ｋ９（ＬＹ６Ｋ）；嗅覚受容体５１Ｅ２（ＯＲ５１Ｅ２）；ＴＣＲガンマ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）；染色体１２ｐに位置するＥＴＳ転座バリアント遺伝子６（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）；アンジ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変異体；プロステイン；生存；テロメラーゼ；前立腺癌腫瘍抗原－１、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原１；ラット肉腫（Ｒａｓ）変異体；ヒトテロメラーゼ逆転写酵素（ｈＴＥＲＴ）；肉腫転移ブレークポイント；アポトーシスの黒色腫抑制分子（ＭＬ－ＩＡＰ）；ＥＲＧ（膜貫通プロテアーゼ、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トリ骨髄細胞腫症ウイルス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）；チトクロムＰ４５０　１Ｂ１（ＣＹＰ１Ｂ１）；ＣＣＣＴＣ結合因子（ジンクフィンガータンパク質）様、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）；リンパ球特異的タンパク質チロシンキナーゼ（ＬＣＫ）；Ａキナーゼアンカータンパク質４（ＡＫＡＰ－４）；滑膜肉腫、Ｘブレークポイント２（ＳＳＸ２）；終末糖化産物のための受容体（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）；腸管カルボキシルエステラーゼ；変異熱ショックタンパク質７０－２（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断片（ＦＣＡＲ又はＣＤ８９）；白血病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）；及び免疫グロブリンラムダ様ポリペプチド１（ＩＧＬＬ１）からなる群から選択される抗原に結合する。いくつかの実施形態では、抗原は、ＣＤ１９、ＣＤ２２、ＢＣＭＡ、ＣＤ２０、ＣＤ１２３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ又はメソセリンから選択される。いくつかの実施形態では、抗原は、ＣＤ１９である。いくつかの実施形態では、抗原は、ＣＤ２２である。いくつかの実施形態では、抗原は、ＢＣＭＡである。いくつかの実施形態では、抗原は、ＣＤ２０である。いくつかの実施形態では、抗原は、ＣＤ１２３である。いくつかの実施形態では、抗原は、ＥＧＦＲｖＩＩＩである。

【０１５５】

一態様において、本明細書では、本明細書で開示される融合ポリペプチドをコードする核酸分子が提供される。別の態様において、本明細書では、その核酸分子を含むベクターが提供される。いくつかの実施形態では、ベクターは、ウイルスベクターである。いくつかの実施形態では、ベクターは、レンチウイルスベクターである。別の態様において、本

明細書では、ベクターを含むウイルス粒子が提供される。
【０１５６】
別の態様において、本明細書では、細胞、例えば本明細書で開示される融合ポリペプチド、本明細書で開示される核酸分子又は本明細書で開示されるベクターを含む宿主細胞が提供される。いくつかの実施形態では、細胞、例えば宿主細胞は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞、例えばヒトエフェクター細胞、例えばヒトＴ細胞又はヒトＮＫ細胞である。
【０１５７】
いくつかの実施形態では、細胞、例えば宿主細胞は、ＣＡＲ発現細胞、例えばＣＡＲ－Ｔ細胞である。いくつかの実施形態では、細胞、例えば宿主細胞は、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓシステムの構成要素を含む。いくつかの実施形態では、細胞、例えば宿主細胞は、ヒト癌細胞、例えばヒト腫瘍細胞である。
【０１５８】
いくつかの実施形態では、細胞、例えば宿主細胞は、ユビキチンリガーゼ複合体、例えばＥ３ユビキチンリガーゼ複合体を含み、ユビキチンリガーゼ複合体は、ＣＲＢＮを含む。
【０１５９】
いくつかの実施形態では、細胞は、本明細書で開示される融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドを含む融合ポリペプチド）を含み、細胞がＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１と接触するとき、
ｉ）ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、細胞がＣＯＦ１と接触されていない場合のＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合と比較して少なくとも例えば１０、５０、１００、１０００又は１００００倍増大されるか；
ｉｉ）融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、細胞がＣＯＦ１と接触されていない場合の融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合と比較して少なくとも例えば１０、５０、１００、１０００又は１００００倍増大されるか；
ｉｉｉ）異種ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、細胞がＣＯＦ１と接触されていない場合の異種ポリペプチドのユビキチン化と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；
ｉｖ）融合ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、細胞がＣＯＦ１と接触されていない場合の融合ポリペプチドのユビキチン化と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；
ｖ）融合ポリペプチドの分解は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、細胞がＣＯＦ１と接触されていない場合の融合ポリペプチドの分解と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；又は
ｖｉ）融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、細胞がＣＯＦ１と接触されていない場合の融合ポリペプチドの発現レベルと比較して例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である。
【０１６０】
いくつかの実施形態では、細胞は、ＣＯＦ１、例えばレナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩をさらに含む。
【０１６１】
いくつかの実施形態では、細胞は、本明細書で開示される融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドを含む融合ポリペプチド）を含み、細胞がＣＯＦ３、例えば、過剰量のＣＯＦ３と接触するとき、

ｉ）ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、細胞がＣＯＦ３と接触していない場合のＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合と比較して少なくとも例えば１０、５０、１００、１０００又は１００００倍増大されるか；
ｉｉ）融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、細胞がＣＯＦ３と接触していない場合の融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合と比較して少なくとも例えば１０、５０、１００、１０００又は１００００倍増大されるか；
ｉｉｉ）異種ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、細胞がＣＯＦ３と接触していない場合の異種ポリペプチドのユビキチン化と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；
ｉｖ）融合ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、細胞がＣＯＦ３と接触していない場合の融合ポリペプチドのユビキチン化と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；
ｖ）融合ポリペプチドの分解は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、細胞がＣＯＦ３と接触していない場合の融合ポリペプチドの分解と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；又は
ｖｉ）融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、細胞がＣＯＦ３と接触していない場合の融合ポリペプチドの発現レベルと比較して例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である。

【０１６２】

いくつかの実施形態では、細胞は、ＣＯＦ３、例えば表２９において開示される化合物又はその薬学的に許容されるさらに塩を含む。

【０１６３】

いくつかの実施形態では、細胞は、本明細書で開示される融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種ポリペプチド及び分解ドメインを含む融合ポリペプチド）を含み、安定化化合物の非存在下において、融合ポリペプチドは、細胞の分解経路によって分解され、例えば本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、例えば、融合ポリペプチドの少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％以上は、分解される。

【０１６４】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、異種プロテアーゼ切断部位をさらに含む。いくつかの実施形態では、細胞は、異種プロテアーゼ切断部位を切断できるプロテアーゼをさらに含む。

【０１６５】

いくつかの実施形態では、細胞は、本明細書で開示される融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種ポリペプチド及び分解ドメインを含む融合ポリペプチド）を含み、細胞が安定化化合物、例えば過剰量の安定化化合物と接触するとき、
ｉ）分解ドメインは、安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、細胞性分解に対してより耐性のある立体構造をとるか；
ｉｉ）融合ポリペプチドの立体構造は、安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、異種プロテアーゼ切断部位での切断により許容的であるか；又は
ｉｉｉ）融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例

えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、細胞が安定化化合物と接触されていない場合の融合ポリペプチドの発現レベルと比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大される。

【０１６６】

いくつかの実施形態では、細胞は、安定化化合物をさらに含む。いくつかの実施形態では、安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む。

【０１６７】

いくつかの実施形態では、細胞は、本明細書で開示される融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種ポリペプチド及び分解ドメインを含む融合ポリペプチド）を含み、細胞が安定化化合物、例えば過剰量の安定化化合物及びＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３、例えば、過剰量のＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の両方と接触するとき、

ｉ）ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、細胞が安定化化合物のみと接触し、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３と接触しない場合のＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合と比較して少なくとも例えば１０、５０、１００、１０００又は１００００倍増大されるか；

ｉｉ）融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、細胞が安定化化合物のみと接触し、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３と接触しない場合の融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合と比較して少なくとも例えば１０、５０、１００、１０００又は１００００倍増大されるか；

ｉｉｉ）異種ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、細胞が安定化化合物のみと接触し、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３と接触しない場合の異種ポリペプチドのユビキチン化と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；

ｉｖ）融合ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、細胞が安定化化合物のみと接触し、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３と接触しない場合の融合ポリペプチドのユビキチン化と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；

ｖ）融合ポリペプチドの分解は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、細胞が安定化化合物のみと接触し、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３と接触しない場合の融合ポリペプチドの分解と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；又は

ｖｉ）融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、細胞が安定化化合物のみと接触し、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３と接触しない場合の融合ポリペプチドの発現レベルと比較して例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である。

【０１６８】

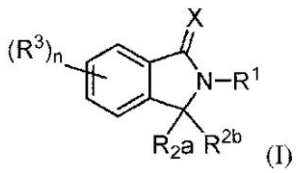
いくつかの実施形態では、細胞は、ＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）、ＣＯＦ２（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）又はＣＯＦ３（例えば、表２９において開示される化合物又はその薬学的に許容される塩）をさらに含む。

【０１６９】

いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）であり、任意選択により、ＣＡＲは、Ｎ末端からＣ末端方向において、抗原結合ドメイン、膜貫通

ドメイン及び１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。
【０１７０】
一態様において、本明細書では、本明細書で開示される融合ポリペプチド又は本明細書で開示される細胞及び薬学的に許容される担体、賦形剤又は安定剤を含む医薬組成物が開示される。
【０１７１】
一態様において、本明細書では、本明細書で開示される細胞を作製する方法が開示される。
【０１７２】
一態様において、本明細書では、本明細書で開示される融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド（例えば、ＣＡＲポリペプチド）を含む融合ポリペプチド）を分解する方法であって、融合ポリペプチド又は前記融合ポリペプチドを含む細胞をＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）と接触させることを含む方法が開示される。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）の存在下において、前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント実質的に減少される。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド又は細胞は、エクスビボでＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）と接触される。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド又は細胞は、インビボでＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）と接触される。
【０１７３】
一態様において、本明細書では、本明細書で開示される融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種ポリペプチド（例えば、ＣＡＲポリペプチド）及び分解ドメインを含む融合ポリペプチド）の発現を制御する方法であって、
ｉ）融合ポリペプチド又は融合ポリペプチドを含む細胞を安定化化合物と接触させる工程であって、任意選択により安定化化合物の存在下において、
ａ）分解ドメインは、安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、細胞性分解に対してより耐性のある立体構造をとるか；
ｂ）融合ポリペプチドの立体構造は、安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、異種プロテアーゼ切断部位での切断により許容的であるか；又は
ｃ）融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、安定化化合物の非存在下での融合ポリペプチドの発現レベルと比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大される、工程
を含む方法が開示される。
【０１７４】
いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉ）後、
ｉｉ）融合ポリペプチド又は融合ポリペプチドを含む細胞をＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）又はＣＯＦ２（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）と接触させる工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１又はＣＯＦ２の存在下において、融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、

８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント実質的に減少される、工程
をさらに含む。
【０１７５】
いくつかの実施形態では、安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む。
【０１７６】
いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド又は細胞は、エクスビボでＣＯＦ１若しくはＣＯＦ２（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）及び／又は安定化化合物と接触される。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド又は細胞は、インビボでＣＯＦ１若しくはＣＯＦ２（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）及び／又は安定化合物と接触される。
【０１７７】
いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）である。いくつかの実施形態では、ＣＡＲは、Ｎ末端からＣ末端方向において、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。
【０１７８】
一態様において、本明細書では、細胞を作製する方法であって、
ｉ）式１の化合物（ＣＯＦ１）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及びキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を含む融合ポリペプチドをコードする核酸分子を含む細胞をもたらす工程であって、任意選択により、ＣＡＲは、Ｎ末端からＣ末端方向において、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含む、工程；及び
ｉｉ）細胞をエクスビボでＣＯＦ１と接触させる工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１の存在下において、融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１の非存在下での融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント実質的に減少される、工程
を含み、式（Ｉ）の化合物は、
【化１６】



（式中、
Ｘは、Ｏ又はＳであり；
R^1は、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、１つ以上のR^4によって独立して且つ任意選択により置換され；
R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであるか；又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；
R^3の各々は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）OR^B、－OR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（$R^C$）（$R^D$）又は－Ｎ（$R^C$）Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意

選択により１つ以上のＲ^{6}で置換され；
各Ｒ^{4}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{7}で置換され；
Ｒ^{A}、Ｒ^{B}、Ｒ^{C}、Ｒ^{D}及びＲ^{E}の各々は、独立して、水素又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルであり；
各Ｒ^{6}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、オキソ、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{8}で置換され；
各Ｒ^{7}は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}であり；
各Ｒ^{8}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}であり；
ｎは、０、１、２、３又は４であり；及び
ｘは、０、１又は２である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、溶媒和物若しくは互変異性体である、方法が開示される。

【０１７９】

いくつかの実施形態では、細胞をエクスビボでＣＯＦ１と接触させた後、細胞の増殖は、ＣＯＦ１と接触される前の細胞の増殖に対して少なくとも例えば１．２、１．５、２、５又は１０倍増大される。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１～６、１１～１５、４０、４１～４３、７７、７８、８４～８６及び１００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる）。

【０１８０】

一態様において、本明細書では、腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）本明細書で開示される細胞（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド（例えば、ＣＡＲポリペプチド）を含む融合ポリペプチドを含む細胞）をエクスビボでＣＯＦ１と接触させる工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１の存在下において、融合ポリペプチドの発現レベルは、細胞がエクスビボでＣＯＦ１と接触される前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少される、工程、及び
ｉｉ）有効量の細胞を対象に投与する工程
を含み、任意選択により、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前に、
細胞に例えば細胞の内部及び／又は周囲で接触するＣＯＦ１の量を減少させ、それによって疾患を治療する工程
をさらに含む方法が提供される。

【０１８１】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｉ）後、
ｉｉｉ）有効量のＣＯＦ１を対象に投与する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１の投与は、工程ｉｉ）後及び工程ｉｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合

ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させ、任意選択により、
ａ）対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ１の投与は、対象における有害反応の発生に応答するか、又は対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ１の投与は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む。

【０１８２】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｉｉ）後、
ｉｖ）ＣＯＦ１の投与を中断する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１の投与の中断は、工程ｉｉｉ）後及び工程ｉｖ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ（例えば、ＣＯＦ１の投与の中断は、工程ｉｉ）後及び工程ｉｉｉ）前の発現レベルに融合ポリペプチドの発現レベルを回復させる）、任意選択により、
ａ）対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ１の投与の中断は、対象における腫瘍再発に応答するか、又は対象における再発の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ１の投与の中断は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む。

【０１８３】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｖ）後、
ｖ）工程ｉｉｉ）及び／又はｉｖ）を繰り返し、それによって疾患を治療する工程
をさらに含む。

【０１８４】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１～６、１１～１５、４０、４１～４３、７７、７８、８４～８６及び１００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる）。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、レナリドミド又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、レナリドミド又はその薬学的に許容される塩は、例えば、１日当たり２．５ｍｇ、５ｍｇ、１０ｍｇ、１５ｍｇ又は２５ｍｇで投与される。

【０１８５】

一態様において、本明細書では、腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）有効量の本明細書で開示される細胞（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド（例えば、ＣＡＲポリペプチド）を含む融合ポリペプチドを含む細胞）を対象に投与する工程であって、任意選択により、細胞は、投与前にエクスビボでＣＯＦ１と接触され、任意選択により、ＣＯＦ１の存在下において、融合ポリペプチドの発現レベルは、細胞がエクスビボでＣＯＦ１と接触される前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少され、任意選択により、細胞がエクスビボでＣＯＦ１と接触された後及び細胞が対象に投与される前に、細胞に例えば細胞の内部及び／又は周囲で接触するＣＯＦ１の量は、減少され、それによって疾患を治療する、工程
を含む方法が提供される。

【０１８６】

いくつかの実施形態では、細胞は、投与前にエクスビボでＣＯＦ１と接触されない。

【０１８７】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉ）後、
ｉｉ）有効量のＣＯＦ１を対象に投与する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１の投与は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させ、任意選択により、
ａ）対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ１の投与は、対象における有害反応の発生に応答するか、又は対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ１の投与は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む。

【０１８８】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｉ）後、
ｉｉｉ）ＣＯＦ１の投与を中断する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１の投与の中断は、工程ｉｉ）後及び工程ｉｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ（例えば、ＣＯＦ１の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の発現レベルに融合ポリペプチドの発現レベルを回復させる）、任意選択により、
ａ）対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ１の投与の中断は、対象における腫瘍再発に応答するか、又は対象における再発の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ１の投与の中断は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む。

【０１８９】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｉｉ）後、
ｉｖ）工程ｉｉ）及び／又はｉｉｉ）を繰り返し、それによって疾患を治療する工程
をさらに含む。

【０１９０】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１～６、１１～１５、４０、４１～４３、７７、７８、８４～８６及び１００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる）。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、レナリドミド又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、レナリドミド又はその薬学的に許容される塩は、例えば、１日当たり２．５ｍｇ、５ｍｇ、１０ｍｇ、１５ｍｇ又は２５ｍｇで投与される。

【０１９１】

一態様において、本明細書では、腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）有効量のＣＯＦ１を対象に投与する工程であって、対象は、本明細書で開示される細胞（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド（例えば、ＣＡＲポリペプチド）を含む融合ポリペプチドを含む細胞）を含み、任意選択により、ＣＯＦ１の投与は、ＣＯＦ１の投与前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させ、任意選択により、
ａ）対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ１の投与は、対象における有害反応の発生に応答するか、又は対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ１の投与は、有害作用を低減又は予防する、工程

を含む方法が提供される。
【０１９２】
いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉ）後、
ｉｉ）ＣＯＦ１の投与を中断する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ（例えば、ＣＯＦ１の投与の中断は、ＣＯＦ１の投与前の発現レベルに融合ポリペプチドの発現レベルを回復させる）、任意選択により、
ａ）対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ１の投与の中断は、対象における腫瘍再発に応答するか、又は対象における再発の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ１の投与の中断は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む。
【０１９３】
いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｉ）後、
ｉｉｉ）工程ｉ）及び／又はｉｉ）を繰り返し、それによって疾患を治療する工程
をさらに含む。
【０１９４】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１～６、１１～１５、４０、４１～４３、７７、７８、８４～８６及び１００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる）。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、レナリドミド又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、レナリドミド又はその薬学的に許容される塩は、例えば、１日当たり２．５ｍｇ、５ｍｇ、１０ｍｇ、１５ｍｇ又は２５ｍｇで投与される。
【０１９５】
一態様において、本明細書では、腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）対象に、
（１）安定化化合物、及び
（２）有効量の本明細書で開示される細胞（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種ポリペプチド（例えば、ＣＡＲポリペプチド）及び分解ドメインを含む融合ポリペプチドを含む細胞）
を投与する工程であって、任意選択により、安定化化合物の存在下での融合ポリペプチドの発現レベルは、安定化化合物の非存在下での融合ポリペプチドの発現レベルより例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍高く、それによって疾患を治療する、工程
を含む方法が提供される。
【０１９６】
いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉ）後、
ｉｉ）安定化化合物の投与を中断する工程であって、任意選択により、安定化化合物の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現に対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍減少させ、任意選択により、
ａ）対象は、工程ｉ）の治療に応答し（例えば、対象は、工程ｉ）の治療に対して完全奏功を有するか、対象は、腫瘍塊における縮小を示すか、対象は、腫瘍細胞の減少を示すか、又は工程ｉ）の治療は、対象において有効である）、且つ／又は
ｂ）安定化化合物の投与の中断は、工程ｉ）の治療に対する対象の応答に対して応答する（例えば、対象は、工程ｉ）の治療に対して完全奏功を有するか、対象は、腫瘍塊におけ

る縮小を示すか、対象は、腫瘍細胞の減少を示すか、又は工程ｉ）の治療は、対象において有効である）、工程
をさらに含む。
【０１９７】
いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉ）後、
ｉｉｉ）安定化化合物の投与を中断する工程であって、任意選択により、安定化化合物の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現に対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍減少させ、任意選択により、
ａ）対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）安定化化合物の投与の中断は、対象における有害反応の発生に応答するか、又は対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）安定化化合物の投与の中断は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む。
【０１９８】
いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉ）後、
ｉｖ）安定化化合物の投与を中断し、且つ有効量のＣＯＦ１又はＣＯＦ２を対象に投与する工程であって、任意選択により、工程ｉｖ）は、工程ｉ）後及び工程ｉｖ）前の融合ポリペプチドの発現に対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍減少させ、任意選択により、
ａ）対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）工程ｉｖ）は、対象における有害反応の発生に応答するか、又は対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）工程ｉｖ）は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む。いくつかの実施形態では、有害作用は、急性毒性である。
【０１９９】
いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｖ）後、
ｖ）例えば、表面に融合ポリペプチドを発現する細胞の量が既定値より小さくなった後、例えば１日、５日、１０日又は１５日間にわたり、ＣＯＦ１又はＣＯＦ２の投与を中断する工程
をさらに含む。
【０２００】
いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｉ）、ｉｉｉ）、ｉｖ）又はｖ）後、
ｖｉ）有効量の安定化化合物を投与する工程であって、任意選択により、安定化化合物の投与は、工程ｉｉ）、ｉｉｉ）、ｉｖ）又はｖ）後及び工程ｖｉ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ、任意選択により、
ａ）対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）安定化化合物の投与は、対象における腫瘍再発に応答するか、又は対象における再発の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）安定化化合物の投与は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む。
【０２０１】
いくつかの実施形態では、方法は、工程ｖｉ）後、
ｖｉｉ）工程ｉｉｉ）、ｉｖ）、ｖ）又はｖｉ）を繰り返し、それによって疾患を治療する工程
をさらに含む。
【０２０２】
いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉ）前に、
ｖｉｉｉ）エクスビボで細胞を安定化化合物と接触させる工程であって、任意選択により

、安定化化合物の存在下での融合ポリペプチドの発現レベルは、安定化化合物の非存在下での融合ポリペプチドの発現レベルより例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍高い、工程
をさらに含む。
【０２０３】
いくつかの実施形態では、細胞は、投与前にエクスビボで安定化化合物と接触されない。いくつかの実施形態では、細胞は、投与前にエクスビボで安定化化合物、ＣＯＦ１又はＣＯＦ２のいずれとも接触されない。
【０２０４】
いくつかの実施形態では、安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む。
【０２０５】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１～６、１１～１５、４０、４１～４３、７７、７８、８４～８６及び１００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる）。
【０２０６】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１～６、１１～１５、４０、４１～４３、７７、７８、８４～８６及び１００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる）。
【０２０７】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１又はＣＯＦ２は、レナリドミド又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、レナリドミド又はその薬学的に許容される塩は、例えば、１日当たり２．５ｍｇ、５ｍｇ、１０ｍｇ、１５ｍｇ又は２５ｍｇで投与される。
【０２０８】
一態様において、本明細書では、本明細書で開示される融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド（例えば、ＣＡＲポリペプチド）を含む融合ポリペプチド）を分解する方法であって、融合ポリペプチド又は前記融合ポリペプチドを含む細胞をＣＯＦ３（例えば、表２９において開示される化合物又はその薬学的に許容される塩）と接触させることを含む方法が開示される。一実施形態では、ＣＯＦ３の存在下において、前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ３の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント実質的に減少される。一実施形態では、融合ポリペプチド又は細胞は、エクスビボでＣＯＦ３と接触される。一実施形態では、融合ポリペプチド又は細胞は、インビボでＣＯＦ３と接触される。
【０２０９】
一態様において、本明細書では、本明細書で開示される融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種ポリペプチド（例えば、ＣＡＲポリペプチド）及び分解ドメインを含む融合ポリペプチド）の発現を制御する方法であって、
ｉ）融合ポリペプチド又は融合ポリペプチドを含む細胞を安定化化合物と接触させる工程であって、任意選択により安定化化合物の存在下において、
ａ）分解ドメインは、安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、細胞性分解に対してより耐性のある立体構造をとるか；
ｂ）融合ポリペプチドの立体構造は、安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、異種プロテアーゼ切断部位での切断により許容的であるか；又は

ｃ）融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、安定化化合物の非存在下での融合ポリペプチドの発現レベルと比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大される、工程
を含む方法が開示される。
【０２１０】
いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉ）後、
ｉｉ）融合ポリペプチド又は融合ポリペプチドを含む細胞をＣＯＦ３（例えば、表２９において開示される化合物又はその薬学的に許容される塩）と接触させる工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の存在下において、融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント実質的に減少される、工程
をさらに含む。
【０２１１】
いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド又は細胞は、エクスビボでＣＯＦ３と接触される。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド又は細胞は、インビボでＣＯＦ３と接触される。いくつかの実施形態では、安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む。
【０２１２】
一態様において、本明細書では、細胞を作製する方法であって、
ｉ）ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及びキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を含む融合ポリペプチドをコードする核酸分子を含む細胞をもたらす工程であって、任意選択により、ＣＡＲは、Ｎ末端からＣ末端方向において、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含む、工程；及び
ｉｉ）細胞をエクスビボでＣＯＦ３と接触させる工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の存在下において、融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ３の非存在下での融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント実質的に減少される、工程
を含む方法が開示される。
【０２１３】
一態様において、本明細書では、腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）本明細書で開示される細胞（例えば、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド（例えば、ＣＡＲポリペプチド）を含む融合ポリペプチドを含む細胞）をエクスビボでＣＯＦ３と接触させる工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の存在下において、融合ポリペプチドの発現レベルは、細胞がエクスビボでＣＯＦ３と接触される前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少される、工程、及び
ｉｉ）有効量の細胞を対象に投与する工程
を含み、任意選択により、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前に、
細胞に例えば細胞の内部及び／又は周囲で接触するＣＯＦ３の量を減少させ、それによって疾患を治療する工程
をさらに含む方法が提供される。

【０２１４】
いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｉ）後、
ｉｉｉ）有効量のＣＯＦ３を対象に投与する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の投与は、工程ｉｉ）後及び工程ｉｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させ、任意選択により、
ａ）対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ３の投与は、対象における有害反応の発生に応答するか、又は対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ３の投与は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む。
【０２１５】
いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｉｉ）後、
ｉｖ）ＣＯＦ３の投与を中断する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の投与の中断は、工程ｉｉｉ）後及び工程ｉｖ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ（例えば、ＣＯＦ３の投与の中断は、工程ｉｉ）後及び工程ｉｉｉ）前の発現レベルに融合ポリペプチドの発現レベルを回復させる）、任意選択により、
ａ）対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ３の投与の中断は、対象における腫瘍再発に応答するか、又は対象における再発の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ３の投与の中断は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む。
【０２１６】
いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｖ）後、
ｖ）工程ｉｉｉ）及び／又はｉｖ）を繰り返し、それによって疾患を治療する工程
をさらに含む。
【０２１７】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３は、表２９において開示される化合物又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１０９のアミノ酸配列又はそれと少なくとも８０、８５、９０又は９５％の同一性を有するアミノ酸配列を含むか又はそれからなる。
【０２１８】
一態様において、本明細書では、腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）有効量の本明細書で開示される細胞（例えば、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド（例えば、ＣＡＲポリペプチド）を含む融合ポリペプチドを含む細胞）を対象に投与する工程であって、任意選択により、細胞は、投与前にエクスビボでＣＯＦ３と接触され、任意選択により、ＣＯＦ３の存在下において、融合ポリペプチドの発現レベルは、細胞がエクスビボでＣＯＦ３と接触される前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少され、任意選択により、細胞がエクスビボでＣＯＦ３と接触された後及び細胞が対象に投与される前に、細胞に例えば細胞の内部及び／又は周囲で接触するＣＯＦ３の量は、減少され、それによって疾患を治療する、工程
を含む方法が提供される。
【０２１９】
いくつかの実施形態では、細胞は、投与前にエクスビボでＣＯＦ３と接触されない。
【０２２０】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉ）後、
ｉｉ）有効量のＣＯＦ３を対象に投与する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の投与は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させ、任意選択により、
ａ）対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ３の投与は、対象における有害反応の発生に応答するか、又は対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ３の投与は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む。

【０２２１】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｉ）後、
ｉｉｉ）ＣＯＦ３の投与を中断する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の投与の中断は、工程ｉｉ）後及び工程ｉｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ（例えば、ＣＯＦ３の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の発現レベルに融合ポリペプチドの発現レベルを回復させる）、任意選択により、
ａ）対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ３の投与の中断は、対象における腫瘍再発に応答するか、又は対象における再発の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ３の投与の中断は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む。

【０２２２】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｉｉ）後、
ｉｖ）工程ｉｉ）及び／又はｉｉｉ）を繰り返し、それによって疾患を治療する工程
をさらに含む。

【０２２３】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３は、表２９において開示される化合物又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１０９のアミノ酸配列又はそれと少なくとも８０、８５、９０又は９５％の同一性を有するアミノ酸配列を含むか又はそれからなる。

【０２２４】

一態様において、本明細書では、腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）有効量のＣＯＦ３を対象に投与する工程であって、対象は、本明細書で開示される細胞（例えば、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド（例えば、ＣＡＲポリペプチド）を含む融合ポリペプチドを含む細胞）を含み、任意選択により、ＣＯＦ３の投与は、ＣＯＦ３の投与前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させ、任意選択により、
ａ）対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ３の投与は、対象における有害反応の発生に応答するか、又は対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ３の投与は、有害作用を低減又は予防する、工程
を含む方法が提供される。

【０２２５】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉ）後、
ｉｉ）ＣＯＦ３の投与を中断する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の投与の中断

は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ（例えば、ＣＯＦ３の投与の中断は、ＣＯＦ３の投与前の発現レベルに融合ポリペプチドの発現レベルを回復させる）、任意選択により、
ａ）対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ３の投与の中断は、対象における腫瘍再発に応答するか、又は対象における再発の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ３の投与の中断は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む。

【０２２６】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｉ）後、
ｉｉｉ）工程ｉ）及び／又はｉｉ）を繰り返し、それによって疾患を治療する工程
をさらに含む。

【０２２７】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３は、表２９において開示される化合物又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１０９のアミノ酸配列又はそれと少なくとも８０、８５、９０又は９５％の同一性を有するアミノ酸配列を含むか又はそれからなる。

【０２２８】

一態様において、本明細書では、腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）対象に、
（１）安定化化合物、及び
（２）有効量の本明細書で開示される細胞（例えば、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種ポリペプチド（例えば、ＣＡＲポリペプチド）及び分解ドメインを含む融合ポリペプチドを含む細胞）
を投与する工程であって、任意選択により、安定化化合物の存在下での融合ポリペプチドの発現レベルは、安定化化合物の非存在下での融合ポリペプチドの発現レベルより例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍高く、それによって疾患を治療する、工程
を含む方法が提供される。

【０２２９】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉ）後、
ｉｉ）安定化化合物の投与を中断する工程であって、任意選択により、安定化化合物の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現に対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍減少させ、任意選択により、
ａ）対象は、工程ｉ）の治療に応答し（例えば、対象は、工程ｉ）の治療に対して完全奏功を有するか、対象は、腫瘍塊における縮小を示すか、対象は、腫瘍細胞の減少を示すか、又は工程ｉ）の治療は、対象において有効である）、且つ／又は
ｂ）安定化化合物の投与の中断は、工程ｉ）の治療に対する対象の応答に対して応答する（例えば、対象は、工程ｉ）の治療に対して完全奏功を有するか、対象は、腫瘍塊における縮小を示すか、対象は、腫瘍細胞の減少を示すか、又は工程ｉ）の治療は、対象において有効である）、工程
をさらに含む。

【０２３０】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉ）後、
ｉｉｉ）安定化化合物の投与を中断する工程であって、任意選択により、安定化化合物の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現に対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０

、４０又は５０倍減少させ、任意選択により、
ａ）対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）安定化化合物の投与の中断は、対象における有害反応の発生に応答するか、又は対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）安定化化合物の投与の中断は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む。

【０２３１】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉ）後、
ｉｖ）安定化化合物の投与を中断し、且つ有効量のＣＯＦ３を対象に投与する工程であって、任意選択により、工程ｉｖ）は、工程ｉ）後及び工程ｉｖ）前の融合ポリペプチドの発現に対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍減少させ、任意選択により、
ａ）対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）工程ｉｖ）は、対象における有害反応の発生に応答するか、又は対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）工程ｉｖ）は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む。いくつかの実施形態では、有害作用は、急性毒性である。

【０２３２】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｖ）後、
ｖ）例えば、表面に融合ポリペプチドを発現する細胞の量が既定値より小さくなった後、例えば１日、５日、１０日又は１５日間にわたり、ＣＯＦ３の投与を中断する工程
をさらに含む。

【０２３３】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉｉ）、ｉｉｉ）、ｉｖ）又はｖ）後、
ｖｉ）有効量の安定化化合物を投与する工程であって、任意選択により、安定化化合物の投与は、工程ｉｉ）、ｉｉｉ）、ｉｖ）又はｖ）後及び工程ｖｉ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ、任意選択により、
ａ）対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）安定化化合物の投与は、対象における腫瘍再発に応答するか、又は対象における再発の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）安定化化合物の投与は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む。

【０２３４】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｖｉ）後、
ｖｉｉ）工程ｉｉｉ）、ｉｖ）、ｖ）又はｖｉ）を繰り返し、それによって疾患を治療する工程
をさらに含む。

【０２３５】

いくつかの実施形態では、方法は、工程ｉ）前に、
ｖｉｉｉ）エクスビボで細胞を安定化化合物と接触させる工程であって、任意選択により、安定化化合物の存在下での融合ポリペプチドの発現レベルは、安定化化合物の非存在下での融合ポリペプチドの発現レベルより例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍高い、工程
をさらに含む。

【０２３６】

いくつかの実施形態では、細胞は、投与前にエクスビボで安定化化合物と接触されない。

【０２３７】

いくつかの実施形態では、安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む。

【０２３８】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３は、表２９において開示される化合物又はその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１０９のアミノ酸配列又はそれと少なくとも８０、８５、９０又は９５％の同一性を有するアミノ酸配列を含むか又はそれからなる。
【０２３９】
いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドの異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）であり、任意選択により、ＣＡＲは、Ｎ末端からＣ末端方向において、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。
【０２４０】
一態様では、本発明は、医薬としての使用のための本明細書で開示される融合ポリペプチド、核酸分子、ベクター、ウイルス粒子、細胞又は医薬組成物も提供する。一態様では、本発明は、腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象の治療における使用のための、本明細書で開示される融合ポリペプチド、核酸分子、ベクター、ウイルス粒子、細胞又は医薬組成物も提供する。
【０２４１】
前述の方法の特定の実施形態では、腫瘍抗原の発現を伴う疾患は、癌である。
【０２４２】
いくつかの実施形態では、癌は、例えば、少なくとも１つの事前の標準的治療に対して進行してきた対象における中皮腫（例えば、悪性胸膜中皮腫）；肺癌（例えば、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、扁平細胞肺癌又は肺大細胞癌）；膵臓癌（例えば、少なくとも１つの事前の標準的治療に対して進行してきた対象における例えば膵管腺癌又は転移性膵管腺癌（ＰＤＡ））；食道腺癌、卵巣癌（例えば、少なくとも１つの事前の標準的治療のレジメン後に進行してきた対象における例えば漿液性卵巣上皮癌）、乳癌、結腸直腸癌、膀胱癌又はその任意の組合せである。
【０２４３】
いくつかの実施形態では、腫瘍抗原の発現を伴う疾患は、血液癌、例えば白血病又はリンパ腫から選択される血液癌である。いくつかの実施形態において、癌は、慢性リンパ球性白血病（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細胞前リンパ性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞性リンパ腫（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、ヘアリーセル白血病、小細胞型若しくは大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫（粘膜関連リンパ組織型節外性辺縁帯リンパ腫）、辺縁帯リンパ腫、脊髄形成異常、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腫瘍、ワルデンス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／脾性白血病、びまん性赤脾髄小細胞型Ｂ細胞リンパ腫、ヘアリーセル白血病－バリアント、リンパ形質細胞性リンパ腫、重鎖病、形質細胞性骨髄腫、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の際に生じる大細胞型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）又は分類不能リンパ腫から選択される。
【０２４４】
いくつかの実施形態では、癌は、ＭＣＬ、ＣＬＬ、ＡＬＬ、ホジキンリンパ腫、ＡＭＬ又は多発性骨髄腫から選択される
【０２４５】
前述の方法の特定の実施形態では、細胞は、前記対象に対して自己由来である。前述の

方法の特定の実施形態では、細胞は、前記対象に対して同種異系である。いくつかの実施形態では、細胞は、ＣＡＲ発現細胞、例えばＣＡＲＴ細胞である。

【０２４６】

いくつかの実施形態では、対象は、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の投与前に、本明細書で開示される少なくとも１つの融合ポリペプチドを発現する細胞を投与される。

【０２４７】

一態様において、本明細書では、特定の生物学的表現型と関連する遺伝因子、例えば癌の発症及び／又は進行と関連する遺伝因子を同定する方法であって、

ｉ）細胞における本明細書で開示される融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドを含む融合ポリペプチド）の発現を、前記細胞をＣＯＦ１又はＣＯＦ３、例えばレナリドミド又はその薬学的に許容される塩に暴露することによって調節する工程、

（ｉｉ）目的の表現型、例えば癌の発症及び／又は進行と関連する表現型を有する細胞を選択する工程、及び

（ｉｉｉ）目的の前記表現型を誘導する前記融合ポリペプチドを同定する工程

を含み、

ＣＯＦ１又はＣＯＦ３、例えばレナリドミド又はその薬学的に許容される塩に対する前記細胞の暴露は、ＣＯＦ１又はＣＯＦ３、例えばレナリドミド又はその薬学的に許容される塩に対する暴露前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させる、方法が開示される。

【０２４８】

一態様において、本明細書では、特定の生物学的表現型と関連する遺伝因子、例えば癌の発症及び／又は進行と関連する遺伝因子を同定する方法であって、

ｉ）細胞における本明細書で開示される融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種ポリペプチド及び分解ドメインを含む融合ポリペプチド）の発現を、前記細胞を安定化化合物、例えばバゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩及び続いてＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３、例えばレナリドミド又はその薬学的に許容される塩に暴露することによって調節する工程、

（ｉｉ）目的の表現型、例えば癌の発症及び／又は進行と関連する表現型を有する細胞を選択する工程、及び

（ｉｉｉ）目的の前記表現型を誘導する前記融合ポリペプチドを同定する工程

を含み、

安定化化合物、例えばバゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩に対する前記細胞の暴露は、安定化化合物、例えばバゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩に対する暴露前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３、例えばレナリドミド又はその薬学的に許容される塩に対する前記細胞の暴露は、安定化化合物に対する暴露後及びＣＯＦ１又はＣＯＦ２（サリドマイド及びその誘導体など（例えば、レナリドミド、ポマリドミド及びサリドマイド））又はＣＯＦ３（例えば、表２９において開示される化合物）に対する暴露前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させる、方法が開示される。

【０２４９】

前述の態様の特定の実施形態では、異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、ＣＡＲポリペプチドは、本明細書で開示されるアミノ酸配列、例えば表３において開示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実

施形態では、ＣＡＲポリペプチドは、抗ＣＤ１９　ＣＡＲポリペプチドであり、且つ本明細書で開示されるアミノ酸配列、例えば表５、表６、表７及び表３０のいずれかにおいて開示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＡＲポリペプチドは、抗ＣＤ１２３　ＣＡＲポリペプチドであり、且つ本明細書で開示されるアミノ酸配列、例えば表８、表９、表１０、表１１、表１２、表１３及び表１４のいずれかにおいて開示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＡＲポリペプチドは、抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲポリペプチドであり、且つ本明細書で開示されるアミノ酸配列、例えば表１５、表１６、表１７、表１８及び表３１のいずれかにおいて開示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＡＲポリペプチドは、抗ＣＤ２２　ＣＡＲポリペプチドであり、且つ本明細書で開示されるアミノ酸配列、例えば表１９及び表２０のいずれかにおいて開示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＡＲポリペプチドは、抗ＣＤ２０　ＣＡＲポリペプチドであり、且つ本明細書で開示されるアミノ酸配列、例えば表３２において開示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＡＲポリペプチドは、抗ＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲポリペプチドであり、且つ本明細書で開示されるアミノ酸配列、例えば表３３において開示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＡＲポリペプチドは、抗メソセリンＣＡＲポリペプチドであり、且つ本明細書で開示されるアミノ酸配列、例えば表３４において開示されるアミノ酸配列を含む。

【０２５０】

前述の態様の特定の実施形態では、融合ポリペプチドは、本明細書で開示されるアミノ酸配列、例えば表４又は表２８において開示されるアミノ酸配列を含む。

【０２５１】

前述の態様の特定の実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、本明細書で開示されるアミノ酸配列、例えば表１において開示されるアミノ酸配列を含む。

【０２５２】

前述の態様の特定の実施形態では、分解ドメインは、本明細書で開示されるアミノ酸配列、例えば表２２において開示されるアミノ酸配列を含む。

【０２５３】

前述の態様の特定の実施形態では、異種プロテアーゼ切断部位は、本明細書で開示されるアミノ酸配列、例えば表２３において開示されるアミノ酸配列を含む。

【図面の簡単な説明】

【０２５４】

【図１Ａ】１６個のグリシン－セリンリンカーを介してナノルシフェラーゼに融合されたＨｉｌＤ－タグ１３６～１８０及び２３６～２４９デグロンの概略図である。

【図１Ｂ】ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９に連結されたナノルシフェラーゼをコードする５０ｎｇのｐＮＬ１．１ＣＭＶコンストラトでリバーストランスフェクトされたＨＥＫ２９３Ｔ細胞から測定された発光のレベルを示すグラフである。ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９は、ＤＭＳＯのみで処理された細胞と比較して、１μＭ、１０μＭ又は１００μＭのレナリドミドで６時間処理された細胞において発光の低減を促進した。ＭＧ１３２処理は、ナノルシフェラーゼのレナリドミド依存的分解を遮断した。

【図２】ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９が、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きナノルシフェラーゼをコードするｐＮＬ１．１ＣＭＶコンストラトでトランスフェクトされたＨＥＫ２９３ＧＴ細胞におけるナノルシフェラーゼのレナリドミド依存的分解を促進した（ＩＣ５０＝１０ｎＭ）ことを示すウエスタンブロットである。レナリドミド依存的分解は、同様にトランスフェクトされたＨＥＫ２９３ＧＴセレブロン（ＣＲＢＮ）ＫＯ細胞において観察されなかった。プロテアソーム阻害剤ＭＧ１３２による処理は、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９のレナリドミド依存的分解を促進する能力を遮断した。

【図３Ａ】ヘアピン及びα－ヘリックスに隣接する２つのβ－シート並びに追加のα－ヘ

リックスとして予測されるＩＫＺＦ３の２３６～２４９を含有するＩＫＺＦ３の１３６～１８０を示す概略図である。下の概略図は、Ｎ及びＣ末端のアミノ酸を除去しているＩＫＺＦ３の１３６～１８０デグロンの短縮バージョンの図である（それぞれ掲載順に配列番号３、５及び７～１０）。

【図３Ｂ】種々のＩＫＺＦ３に基づく分解タグに融合されたナノルシフェラーゼのレナリドミド依存的分解を試験する試験からの結果を示すウエスタンブロットである。ＩＫＺＦ３に基づく分解タグは、ナノルシフェラーゼのＮ末端に融合され、ｐＮＬ１．１ＣＭＶベクターにクローン化され、ＨＥＫ２９３Ｔ細胞にトランスフェクトされた。トランスフェクト細胞をＤＭＳＯ又は１０μＭのレナリドミドのいずれかで４時間処理した後、ウエスタンブロットにより分析した。２種類の暴露（長時間及び短時間の暴露）は、ナノルシフェラーゼ（「Ｎａｎｏｌｕｃ」）に関して示された。ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９　Ｋ２４５Ｒ、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９　Ｋ２４５Ｓ、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０　ＭＡＬＥＫ並びにＩＫＺＦ３の１３６～１７０　ＭＡＬＥＫは全て、レナリドミド依存的分解を促進したが、ＩＫＺＦ３の１４０～１７０　ＭＡＬＥＫ、ＩＫＺＦ３の１４１～１６３ＭＡＬＥＫ及びＩＫＺＦ３の１４５～１５５のＭＡＬＥＫは、レナリドミド誘導性分解を媒介しなかった。

【図４Ａ－４Ｂ】ＨＥＫ２９３Ｔ細胞におけるＩＫＺＦ３の１３６～１８０タグ付きナノルシフェラーゼ（図４Ａ）又はＩＫＺＦ３の１３６～１７０ＭＡＬＥＫタグ付きナノルシフェラーゼ（図４Ｂ）の、両方の場合において２時間のレナリドミド処理によりおよそ１００ｎＭのＩＣ５０を伴うレナリミド依存的分解を示すウエスタンブロットのグラフである。タグ付きナノルシフェラーゼ融合物は、ｐＮＬ１．１ＣＭＶコンストラクトを用いて発現された。

【図４Ｃ】ＨＥＫ２９３Ｔ細胞におけるＩＫＺＦ３の１３６～１８０タグ付きナノルシフェラーゼのレナリドミド依存的分解の時間経過を示すウエスタンブロットであり、１時間で直ちに分解し、４時間でほぼ完全に分解することを示す。タグ付きナノルシフェラーゼ融合物は、ｐＮＬ１．１ＣＭＶコンストラクトを用いて発現された。

【図５Ａ】ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きメラニン形成関連転写因子（ＭＩＴＦ）（左パネル）並びにＩＫＺＦ３の１３６～１８０タグ付きＭＩＴＦ（右パネル）のレナリドミド依存的分解を示すウエスタンブロットである。タグ付きＭＩＴＦ融合物は、ｐＮＬ１．１ＣＭＶコンストラクトを用いてＨＥＫ２９３Ｔにトランスフェクトされた。ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＭＩＴＦの分解は、約１００ｎＭのＩＣ５０を示す。この分解は、分解がＭＧ１３２処理によって遮断されたため、プロテアソームの活性に依存した。ＩＫＺＦ３の１３６～１８０は、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９より少ない程度であるが、レナリドミド依存的分解も媒介した。

【図５Ｂ】これらの融合タンパク質を発現する細胞を種々の時間の間１０μＭのレナリドミドで処理した後の、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＭＩＴＦ（左パネル）並びにＩＫＺＦ３の１３６～１８０タグ付きＭＩＴＦ（右パネル）のレナリドミド依存的分解を示すウエスタンブロットである。試験された時点の中では、４時間の処理が最大量の分解を示す。

【図６Ａ－６Ｂ】ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９（図６Ａ）又はタグ中の全てのリジン残基がアルギニンに変異されたＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９（「リジンを含まないＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９」）（図６Ｂ）でタグ付けされたＭＩＴＦのレナリドミド依存的分解を示すウエスタンブロットのグラフである。ｐＮＬ１．１ＣＭＶコンストラクトを使用してタグ付きＭＩＴＦ融合物を発現するＨＥＫ２９３Ｔ細胞を、種々の濃度のレナリドミドで２４時間処理した。ＩＣ５０は、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＭＩＴＦ（図６Ａ）に関してはおよそ１０ｎＭであり、リジンを含まないＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＭＩＴＦ（図６Ｂ）に関しては１００ｎＭ未満である。両方の場合におい

て、分解がプロテアソーム阻害剤ＭＧ１３２によって遮断され得たため、レナリドミド依存的分解はプロテアソームに依存した。このデータは、ＩＫＺＦ３デグロンタグではなくＭＩＴＦがユビキチン化されていたことを示唆する。

【図６Ｃ】リジンを含まないＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＭＩＴＦのレナリドミド依存的分解を示すウエスタンブロットである。ｐＮＬ１．１ＣＭＶコンストラクトを使用してタグ付きＭＩＴＦ融合物を発現するＨＥＫ２９３Ｔ細胞を、２時間、４時間、８時間又は２４時間１０μＭレナリドミドで処理した。

【図６Ｄ】ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＭＩＴＦ（左パネル）並びにリジンを含まないＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＭＩＴＦ（右パネル）のウエスタンブロットである。ｐＮＬ１．１ＣＭＶコンストラクトを使用してタグ付きＭＩＴＦ融合物を発現するＨＥＫ２９３Ｔ細胞を、細胞をウエスタンブロット分析にかける前に２４時間１０μＭのレナリドミド、ポマリドミド、サリドマイド、ＣＲＢＮに結合できるが、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３に結合できない陰性対照ＩＭｉＤ又はＤＭＳＯで処理した。ポマリドミドは、タグ付きＭＩＴＦの分解をレナリドミドより若干高い程度まで媒介したが、サリドマイドは、そのような分解を媒介するのに非常に低い効果のみがあった。

【図７】ＩＫＺＦ３の１３６～１８０　Ｑ１４７Ｈタグ付きＭＩＴＦのレナリドミド依存的分解を示すウエスタンブロットである。タグ付きＭＩＴＦ融合物をコードするｐＮＬ１．１ＣＭＶでトランスフェクトされたＨＥＫ２９３Ｔ細胞を、種々のレナリドミド用量で２４時間処理した。ＩＫＺＦ３の１３６～１８０　Ｑ１４７Ｈタグ付きＭＩＴＦは、レナリドミドの存在下で分解を示さなかった。

【図８】およそ１０ｎＭのＩＣ５０を有するＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きトリ骨髄細胞腫症ウイルス癌遺伝子（ＭＹＣ）ホモログのレナリドミド依存的分解を示すウエスタンブロットである。ｐＮＬ１．１ＣＭＶコンストラクトを使用してタグ付きＭＩＴＦ融合物を発現するＨＥＫ２９３Ｔ細胞を、種々の濃度のレナリドミドで４時間処理した。

【図９Ａ】Ｃ末端のデグロンタグ付き一回膜貫通型タンパク質、ＣＤ３ゼータ、ＣＤ８／ＣＤ３ゼータキメラ、ＣＤ８、ＣＤ１９及びＣＤ２２の４時間のレナリドミド依存的分解を示すウエスタンブロットである。ジャーカット細胞を、ｐＮＧＸ＿ＬＶ＿Ｖ００２－ＣＤｘ－ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９コンストラクトウイルスで感染させ、Ｇ４１８で選択し、１０μＭのレナリドミド又はＤＭＳＯで処理した。図９Ａでは、抗Ｖ５抗体（長い１分の暴露及び短い１秒の暴露の両方が示される）及び抗ベータ－アクチン抗体を使用する染色が示される。全てのコンストラクトが発現され、１０μＭのレナリノミド処理で分解された。図９Ａにおける表は、各タンパク質に関するタンパク質分子量（ＭＷ）、細胞質ゾルのアミノ酸残基（「細胞質ゾルＡＡ」）の数及び細胞質ゾルのリジンの数を示す。興味深いことに、分解は、細胞質ゾルのリジン残基の数よりも細胞質内のアミノ酸（「ＡＡ」）の総数とより相関する。

【図９Ｂ－９Ｄ】Ｃ末端タグ付きＣＤ１９（図９Ｂ）、Ｃ末端タグ付きＣＤ３ゼータ（図９Ｃ）及びＣ末端タグ付きＣＤ８／ＣＤ３ゼータ（図９Ｄ）のレナリドミド依存的分解を示すウエスタンブロットのグラフである。ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＣＤ１９、ＣＤ３ゼータ又はＣＤ８／ＣＤ３ゼータを発現する細胞を、１０μＭのレナリドミドで６時間又は種々のレナリドミド用量で２４時間処理した。図９Ｂにおいて、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＣＤ１９の分解は、およそ１００ｎＭのＩＣ５０を示し、強力な分解が６時間で検出された。図９Ｃにおいて示されるＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＣＤ３ゼータの分解は、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＣＤ１９のものより弱い。タグ付きＣＤ３ゼータの分解は、細胞を１０μＭのレナリドミドで２４時間処理した後に顕在化した。図９Ｄにおいて示されるＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＣＤ８／ＣＤ３ゼータの分解は、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＣＤ３ゼータのものより強い。

【図１０Ａ－１０Ｄ】１μＭ又は１０μＭのレナリドミドで１時間（図１０Ａ）、６時間（図１０Ｂ）、１６時間（図１０Ｃ）又は２４時間（図１０Ｄ）処理したジャーカット細胞上のＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＣＤ１９の細胞表面発現を比較する一連のフローサイトメトリーのヒストグラムである。一部の細胞を、１０μＭのレナリドミドによる処理の前に１０μＭのＭＧ１３２で前処理した。ＤＭＳＯは、溶媒対照の役割を果たした。ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９は、ＣＤ１９のＣ末端に融合された。

【図１０Ｅ－１０Ｆ】試験された全てのレナリドミド用量及び時点にわたる％ＣＤ１９陽性細胞（図１０Ｅ）又はＣＤ１９陽性細胞の平均蛍光強度（ＭＦＩ）（図１０Ｆ）を示す棒グラフである。１時間で最小限の分解及び６時間で微量の分解があった。分解は、１μＭ及び１０μＭの処理群の両方において１６時間及び２４時間でより一層顕在化し、この分解は、プロテアソーム阻害剤ＭＧ１３２によって部分的に遮断され得た。１μＭ及び１０μＭの処理群の両方において１６時間でＣＤ１９陽性細胞のおよそ５０％の減少があり（図１０Ｅ）、この減少はＭＦＩにおける減少と一致した（図１０Ｆ）。

【図１１】分解ドメイン（デグロン）、プロテアーゼ切断部位及び第２のタンパク質ドメイン（ＣＡＲ）を含む例示的な融合タンパク質並びに薬物、例えば安定化化合物の存在下での融合タンパク質の分解の変化を示す概略図である。

【図１２Ａ－１２Ｃ】ＦｕｒＯＮ（図１２Ａ）、ＨｉｌＤ（図１２Ｂ）又はＦｕｒＯＮ及びＨｉｌＤの両方（図１２Ｃ）に融合されたＣＡＲ分子の制御を示す概略図である。図１２Ａに示されるとおり、ＦｕｒＯＮに融合されたＣＡＲを、安定化化合物（例えば、分解ドメインに結合し、安定化する小分子リガンド、例えば、バゼドキシフェン（ＢＺＡ））を投与することによって活性化できるか、又は安定化化合物を中止することによって不活性化できる。図１２Ｂに示されるとおり、ＨｉｌＤタグに融合されたＣＡＲを、ＩＭｉＤ化合物（例えば、レナリドミド又はポマリドミド）を投与することによって不活性でき、且つＩＭｉＤ化合物の投与を停止することによって再び活性化できる。図１２Ｃに示されるとおり、ＦｕｒＯＮ及びＨｉｌＤタグの両方に融合されたＣＡＲを、安定化化合物を投与することによって活性化でき、安定化化合物を中断すること及びＩＭｉＤ化合物を投与することによって不活性化でき、ＩＭｉＤ化合物を中断すること及び安定化化合物を投与することによって再び活性化できる。ＦｕｒＯＮスイッチ及びＨｉｌＤスイッチを組み合わせることが、ＣＡＲ分子の発現及び活性に対してさらなるレイヤーの制御を加える。

【図１３Ａ－１３Ｃ】ＣＡＲ分子のレナリドミド依存的分解を示すウエスタンブロットのグラフである。コンストラクト７６５（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９）（図１３Ａ）、コンストラクト７６６（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ＿Ｖ５）（図１３Ｂ）又はコンストラクト７６７（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）（図１３Ｃ）を発現するＪＮＬ細胞を、１０μＭのレナリドミド（「＋」）又はＤＭＳＯ（「－」）の存在下でウエスタンブロット分析前の２４時間インキュベートした。全ての試料は、１μＭのバゼドキシフェンを受容した。「Ａ」は、２７５μＬのウイルス上清で形質導入された細胞を表す。「Ｂ」は、７００μＬのウイルス上清で形質導入された細胞を表す。

【図１４Ａ－１４Ｄ】ＣＡＲ分子のレナリドミド依存的分解を示すウエスタンブロットのグラフである。コンストラクト７７１（ＣＡＲ１９＿ＨｉｌＤタグ＿Ｖ５）（図１４Ａ）、コンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）（図１４Ｂ）、コンストラクト７６８（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ＿Ｖ５）（図１４Ｃ）又はコンストラクト７７０（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ＿ＮｏＫ）を発現するＪＮＬ細胞を、１０μＭのレナリドミド（「＋」）又はＤＭＳＯ（「－」）の存在下でウエスタンブロット分析前の２４時間インキュベートした。「Ａ」は、２７５μＬのウイルス上清で形質導入された細胞を表す。「Ｂ」は、７００μＬのウイルス上清で形質導入された細胞を表す。

【図１５Ａ－１５Ｂ】ＣＡＲ分子のレナリドミド依存的分解を示すウエスタンブロットのグラフである。ウエスタンブロット分析の前にコンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６

ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）を発現するＪＮＬ細胞を、１０μＭのレナリドミド又はＤＭＳＯで２、４、８、１６又は２４時間インキュベートしたか（図１５Ａ）又は種々の用量のレナリドミド又はＤＭＳＯで２４時間インキュベートした（図１５Ｂ）。図１５Ａは、１０μＭのレナリドミド処理の時間経過を示す。図１５Ｂは、２４時間でのレナリドミドの用量反応を示す。

【図１６Ａ－１６Ｇ】レナリドミドの存在下又は非存在下での表面ＣＡＲ発現を示すフローサイトメトリーヒストグラムのセットである。試験されたコンストラクトとしては、コンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）（図１６Ａ）、コンストラクト７７１（ＣＡＲ１９＿ＨｉｌＤタグ＿Ｖ５）（図１６Ｂ）、コンストラクト６７６１（ＣＡＲ１９＿１６ＫＧＳ＿ＨｉｌＤタグ＿Ｖ５）（図１６Ｃ）、コンストラクト７６８（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ＿Ｖ５）（図１６Ｄ）、コンストラクト７７０（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ＿ＮｏＫ）（図１６Ｅ）、コンストラクト７７３（ＨｉｌＤタグ＿ＣＡＲ１９＿ｍｏｄＳｉｇＰｅｐ）（図１６Ｆ）及びコンストラクト７７４（ＨｉｌＤタグ＿ＣＡＲ１９）（図１６Ｇ）が挙げられる。指定のコンストラクトを発現するＪＮＬ細胞を、１０μＭのレナリドミドとともに又は伴わずに２４時間インキュベートし、続いてフローサイトメトリー分析にかけた。

【図１７Ａ－１７Ｃ】レナリドミド及び／又はバゼドキシフェン（ＢＺＡ）によって制御される表面ＣＡＲ発現を示すフローサイトメトリーヒストグラムのセットである。試験されたコンストラクトとしては、コンストラクト７６５（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９）（図１７Ａ）、コンストラクト７６７（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）（図１７Ｂ）及びコンストラクト７６６（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ＿Ｖ５）（図１７Ｃ）が挙げられる。指定のコンストラクトを発現するＪＮＬ細胞を、レナリドミド及び／又はバゼドキシフェン（ＢＺＡ）の存在下又は非存在下でフローサイトメトリー分析の前に２４時間インキュベートした。

【図１８Ａ－１８Ｄ】種々の濃度のレナリドミドの存在下又は非存在下での表面ＣＡＲ発現を示すフローサイトメトリーヒストグラムのセットである。試験されたコンストラクトとしては、コンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）（図１８Ａ及び１８Ｃ）及びコンストラクト７７０（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ＿ＮｏＫ）（図１８Ｂ及び１８Ｄ）が挙げられる。指定のコンストラクトを発現するＪＮＬ細胞を、レナリドミドの存在下又は非存在下でフローサイトメトリー分析の前に４時間（図１８Ａ及び１８Ｂ）又は２０時間（図１８Ｃ及び１８Ｄ）インキュベートした。　図【０２５５】

試験された各細胞株及び各レナリドミド濃度に関する％ＣＡＲ発現（図１８Ｅ）又は平均蛍光強度（図１８Ｆ）を示す棒グラフである。

【図１９Ａ－１９Ｂ】ＪＮＬ標的細胞株処理条件、標的細胞株処理の時間の長さ、レナリドミド処理の時間及び細胞の数の間のレナリドミド反応の比較を示す一連の棒グラフである。図１９Ａは、試験からの発光シグナルを示すグラフのセットであり、コンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）を発現するＪＮＬ細胞（９０００又は１２０００細胞／ウェル）を、１０μＭのレナリドミドで４時間又は２４時間処理し、続いてＮａｌｍ６細胞、ＣＤ１９発現Ｋ５６２細胞（「Ｋ５６２＋ＣＤ１９」）、Ｋ５６２細胞又は培地（細胞なし）とともに４時間、８時間又は２０時間インキュベートした。図１９Ｂは、図１９Ａにおいて記載された試験からのデータのサブセットを示すグラフのセットである：コンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）を発現するＪＮＬ細胞（９０００細胞／ウェル）を、１０μＭのレナリドミドで４時間処理し、続いてＮａｌｍ６細胞、ＣＤ１９発現Ｋ５６２細胞（「Ｋ５６２＋ＣＤ１９」）、Ｋ５６２細胞又は培地（細胞なし）とともに２０時間インキュベートした。図１９Ｂにおけるｙ軸は、バックグラウンドシグナル（培地試料からのシグナル）を減じた後の発光シグナルを示す。図１９Ａ及び１９Ｂの両方において、各グラフにおける２つの棒は、それぞれＤＭＳＯで処理された試料（「ＤＭＳＯ」）及びレナリドミドで処理された試料（「レナリドミド（１０μＭ）」）を表す。

【図２０Ａ－２０Ｂ】ＪＮＬ標的細胞処理条件、標的細胞処理の時間の長さ、レナリドミド処理の時間及び細胞の数の間のレナリドミド反応の比較を示す一連の棒グラフである。図２０Ａは、試験からの発光シグナルを示すグラフのセットであり、コンストラクト７６７（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）を発現するＪＮＬ細胞（９０００又は１２０００細胞／ウェル）を、１０μＭのレナリドミドで４時間又は２４時間処理し、続いてＮａｌｍ６細胞、ＣＤ１９発現Ｋ５６２細胞（「Ｋ５６２＋ＣＤ１９」）、Ｋ５６２細胞又は培地（細胞なし）とともに４時間、８時間又は２０時間インキュベートした。図２０Ｂは、図２０Ａにおいて記載された試験からのデータのサブセットを示すグラフのセットである：コンストラクト７６７（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）を発現するＪＮＬ細胞（９０００細胞／ウェル）を、１０μＭのレナリドミドで４時間処理し、続いてＮａｌｍ６細胞、ＣＤ１９発現Ｋ５６２細胞（「Ｋ５６２＋ＣＤ１９」）、Ｋ５６２細胞又は培地（細胞なし）とともに２０時間インキュベートした。図２０Ｂにおけるｙ軸は、バックグラウンドシグナル（培地試料からのシグナル）を減じた後の発光シグナルを示す。図２０Ａ及び２０Ｂの両方において、各グラフにおける４つの棒は、それぞれレナリドミドでもバゼドキシフェンでも処理されていない試料（「ＤＭＳＯ＞＞ＤＭＳＯ」）、レナリドミドではなくバゼドキシフェンで処理された試料（「ＤＭＳＯ＞＞ＢＺＡ（１μＭ）」）、バゼドキシフェンではなくレナリドミドで処理された試料（「レナリドミド（１０μＭ）＞＞ＤＭＳＯ」）及びレナリドミド及びバゼドキシフェンの両方で処理された試料（「レナリドミド（１０μＭ）＞＞ＢＺＡ（１μＭ）」）を表す。

【図２１Ａ－２１Ｄ】３つの処理時点にわたるＮＦＡＴルシフェラーゼレポーターに対するレナリドミドの用量反応効果を示すグラフである。コンストラクト７６５（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９）（図２１Ａ）、コンストラクト７６７（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）（図２１Ｂ）、コンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）（図２１Ｃ）又はコンストラクト７７０（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ＿ＮｏＫ）（図２１Ｄ）を発現するＪＮＬ細胞を、Ｋ５６２標的細胞（「Ｋ５６２」）又はＣＤ１９を発現するＫ５６２標的細胞（「Ｋ５６２＋ＣＤ１９」）とともにインキュベートした。レナリドミドを、標的細胞を加える２０時間前（４４時間レナリドミド処理、「２０時間前標的細胞」）、標的細胞を加える４時間前（２８時間レナリドミド処理、「４時間前標的細胞」）又は標的細胞を加えた１６時間後（８時間レナリドミド処理、「１６時間後標的細胞」）に加えた。コンストラクト７６５（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９）（図２１Ａ）又はコンストラクト７６７（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）（図２１Ｂ）を発現するＪＮＬ細胞は、バゼドキシフェンでも処理した。各グラフにおいて、未加工の発光を、指定のレナリドミド濃度に対してプロットした。

【図２２Ａ－２２Ｄ】図２１Ａ、２１Ｂ、２１Ｃ及び２１Ｄにおいて記載された試験からのデータを示すグラフであり、ＪＮＬ細胞を、Ｋ５６２＋ＣＤ１９標的細胞処理の５時間前にＭＧ１３２で処理し、Ｋ５６２＋ＣＤ１９標的細胞処理の４時間前にレナリドミドで処理した。試験された細胞としては、コンストラクト７６５（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９）（図２２Ａ）、コンストラクト７６７（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）（図２２Ｂ）、コンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）（図２２Ｃ）又はコンストラクト７７０（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ＿ＮｏＫ）（図２２Ｄ）を発現するＪＮＬ細胞が挙げられる。各グラフにおける４つの棒は、それぞれバゼドキシフェン（ＢＺＡ）、ＭＧ１３２及びレナリドミドで処理された試料（「ＢＺＡ、ＭＧ１３２、レナリドミド」）、バゼドキシフェン（ＢＺＡ）及びレナリドミドで処理された試料（「ＢＺＡ、レナリドミド」）、バゼドキシフェン（ＢＺＡ）で処理された試料（「ＢＺＡ」）及びＤＭＳＯのみで処理された試料（「ＤＭＳＯ」）を表す。各グラフにおけるｙ軸は、未加工の発光を示す。

【図２３】ＨｉｌＤ－タウ融合コンストラクトを示す概略図のセットである。０Ｎ４Ｒタウアイソフォームを使用し、これは、Ｃ末端反復ドメインエクソンを含むが、Ｎ末端エクソンを含まない。レンチウイルスコンストラクトを使用したが、全てのコンストラクトは、リポフェクタミントランスフェクション又はヌクレオフェクションにより導入された。

融合産物は、ＣＡＧ又はＣＭＶプロモーターの下流で発現された。
【図２４Ａ－２４Ｂ】Ｅ３リガーゼ ＣＲＢＮのＨｉｌＤ－タウ融合タンパク質への動員を試験する試験の設計及び結果を示すグラフである。図２４Ａ：実験の図。レナリドミドは、Ｅ３リガーゼセレブロン（ＣＲＢＮ）をＩＫＺＦ３　βヘアピンに動員して、関連タンパク質のユビキチン化及び分解をもたらす。この動員がＨｉｌＤ－タウ融合物において生じたことを試験するために、ＨｉｌＤ－タウ－ビオチンリガーゼ融合物が作製された。ビオチンの存在下において、ビオチンリガーゼは、近傍のタンパク質に共有結合する反応性ビオチン種を生成する。レナリドミドが加えられる場合、ＣＲＢＮは、ＨｉｌＤ－タウ融合物に動員されるはずであり、ビオチンリガーゼ媒介性ビオチン化の範囲内にあるはずである。図２４Ｂ：ＨＥＫ２９３Ｔ細胞は、ＦＬＡＧタグ付きＣＲＢＮ及びＨｉｌＤ－タウ－ビオチンリガーゼ又はタウ－ビオチンリガーゼ融合物でトランスフェクトされた。トランスフェクションの４８時間後、細胞を、５０μＭのビオチン及びＤＭＳＯ又は１μＭのレナリドミドのいずれかで２１時間処理した。次に、細胞をＰＢＳ中で洗浄し、続いて氷冷Ｍ－ＰＥＲ緩衝液及びプロテアーゼ阻害剤中で溶解させた。およそ１００万個の細胞が、３００μＬの量において溶解されると推定された。細胞ライセートのウエスタン分析は、抗タウ（ＨＴ７）又は抗ＧＡＰＤＨ抗体で探索された下段のブロットにおいて示される。ビオチン化タンパク質は、２０％の細胞ライセートと５０μＬのストレプトアビジン磁性ビーズ（Ｄｙｎａｂｅａｄｓ　Ｍ－２８０）を室温で３０分間インキュベートすることによって免疫沈降された。ビオチン化タンパク質を、煮沸することによってビーズから溶出し、続いてウエスタンにより分析した。ＦＬＡＧ－ＣＲＢＮ上のＦＬＡＧシグナルに関して探索すると、強力なバンドは、レナリドミドで処理され、ＨｉｌＤタグを含有するＨＥＫ２９３Ｔ細胞に由来する免疫沈降材料においてのみ観察されたが、ＤＭＳＯで処理された細胞又はレナリドミドで処理されたがＨｉｌＤタグを含有しないタウコンストラクトでトランスフェクトされた細胞において観察されなかった。
【図２５Ａ－２５Ｃ】Ｅ３リガーゼ ＣＲＢＮの誘導性の動員による毒性タウタンパク質の減少を示すグラフである。ＨＥＫ２９３Ｔ細胞は、ＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰ融合コンストラクトでトランスフェクトされた。タウ（Ｐ３０１Ｓ）は、家族性神経変性疾患を有する患者において同定されたタウの凝集傾向のある形態である。レナリドミドで一晩処理すると、ＹＦＰ蛍光は、ＹＦＰ蛍光の画像処理において見られるとおり、レナリドミドによって用量依存的様式で減少された（図２５Ａ）。条件毎に９つの視野が示される。図２５Ｂ：ＹＦＰ蛍光強度は、種々の用量でのレナリドミド処理の後に定量化された。図２５Ｃ：凝集傾向のあるタウの過剰発現に起因する毒性が認められ、Ｈｏｅｃｈｔ色素蛍光の分割によって同定された細胞の数によって定量化された。細胞死は、レナリドミド処理及びタウレベルの減少によって抑制されたが、これは、レナリドミド誘導性分解が毒性タンパク質の標的化タンパク質分解の細胞保護的作用を明らかにすることができることを示している。
【図２６Ａ－２６Ｄ】ＣＲＢＮの誘導的動員によるＨＥＫ２９３Ｔ細胞におけるタウタンパク質の減少及びタウの特定の形態の減少の定量化を示すグラフである。図２６Ａ：ＨＥＫ２９３Ｔ細胞は、ＨｉｌＤ－タウ（野生型）融合コンストラクトでトランスフェクトされ、種々の用量のレナリドミド又はＤＭＳＯのいずれかで処理された。上段及び下段のウエスタンブロットは、三つ組で反復された実験の代表例である。ポリクローナル抗タウ抗体（Ｄａｋｏ）又はタウのリン酸化形態に対する抗体（ＡＴ８）のいずれかに由来するタウバンドの強度は、抗アクチンバンド強度への正規化によって定量化された。この実験において減少した量のＤＮＡをトランスフェクションすると、タウのリン酸化された形態がより大きく減少した（１Ｘ　ＤＮＡ：１．５μＬのリポフェクタミン２０００を含む５０μＬのＯｐｔｉｍｅｍ培地中でトランスフェクトされた０．６２５マイクログラムのＤＮＡ；０．１Ｘ　ＤＮＡ＝０．０６２５マイクログラム；２４ウェルプレートのＨＥＫ細胞に対して）。これは、この系がＥ３リガーゼ媒介性のタウの分解の能力を測定できることを示唆する。示された実験において、レナリドミドは、トランスフェクションの４時間後（より高いＤＮＡ濃度のトランスフェクションに関する）又はトランスフェクションの２

４時間後（より低いＤＮＡ濃度のトランスフェクションに関する）に投与された。図２６Ｂ：左パネル、ＨｉｌＤタグを有しないタウは、レナリドミド処理によって減少されなかった。右パネル、セレブロン（ＣＲＢＮ）についてノックアウトされたＨＥＫ２９３Ｔ細胞におけるレナリドミド処理によるタウレベルの減少はなかった。図２６Ｃ：野生型（ＷＴ）細胞に対するセレブロン（ＣＲＢＮ）ノックアウト（ＫＯ）細胞におけるＹＦＰ強度に対するレナリドミド処理の用量反応の定量化（野生型細胞に関しては図２６Ｂにおいて示されたものと同じデータ）。図２６Ｄ：ＭＬＮ４９２４による１時間の前処理を含むＮＥＤＤ付加阻害剤ＭＬＮ４９２４（１μＭ）との同時処理は、タウの分解も妨げた。まとめると、このデータは、ＣＲＢＮのＥ３リガーゼ機能がレナリドミド誘導性ＨｉｌＤ－タウ融合物分解に必要であることを示す。

【図２７】齧歯類皮質神経細胞において発現されたＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰ融合物の凝集傾向の評価を示すグラフのセットである。齧歯類皮質神経細胞は、ＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰ融合物でヌクレオフェクトされ、続いて内製のタウトランスジェニックマウスから単離された不溶性タウ画分とインキュベートされた。実際のＹＦＰ蛍光を、ＩｎＣｅｌｌ　６０００分析計を用いて画像化した。中段及び下段のパネルは、上段パネルにおいて同定された神経細胞の拡大を示す。強い点状のＹＦＰ蛍光によって示されるとおり、タウ凝集体は明瞭に見える。

【図２８】ラット神経細胞において発現されたＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰのレナリドミド媒介性分解を示すグラフのセットである。齧歯類皮質神経細胞は、ＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰ融合物又はタウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰ融合物でヌクレオフェクトされた。ＦＬＡＧタグ付きＣＲＢＮによるコトランスフェクションも試験された（最上段）。インビトロで９日目から、神経細胞を指定の用量のレナリドミドで処理した。神経細胞を、指定の間隔でＹＦＰ蛍光についてライブイメージングした。レナリドミド処理により、ＤＭＳＯで処理されたＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰ発現神経細胞又はレナリドミドで処理されたタウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰ発現神経細胞に対して経時的にＹＦＰ蛍光が減少した。分解は、ヒトＣＲＢＮのコトランスフェクションの有無にかかわらず発生し、このことは、ＨｉｌＤ－タウ融合物が、齧歯類又はヒトＣＲＢＮのいずれかによってレナリドミドにより分解され得ることを示している。

【図２９】ラット神経細胞において発現されたＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰのレナリドミド媒介性分解を示すグラフのセットである。胚性幹細胞由来のインビトロで６３日目の解離した古いヒト神経球の単一細胞懸濁液を、ＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰでヌクレオフェクトした。神経球は、神経細胞及び神経前駆細胞の両方を含有する。１０日間の培養後、神経細胞をレナリドミドで処理した（インビトロで合計７３日齢）。画像は、指定の用量で２０時間のレナリドミド処理後のＹＦＰ蛍光を示す。レナリドミドは、用量依存的な様式でＹＦＰ蛍光強度を大幅に減少させた。

【図３０Ａ－３０Ｂ】ＣＡＲ１９－１６ＧＳ－ＨｉｌＤタグのレナリドミド媒介性分解を示すグラフのセットである。図３０Ａは、経時的に単一用量のレナリドミドで処理されたＣＡＲ１９－ＨｉｌＤタグ形質導入ジャーカット細胞のウエスタンブロットのグラフのセットである。化合物処理後又は洗い出し期間後の試料が試験された。図３０Ｂは、ウエスタンブロット分析において使用された同じ試料を分析するフローサイトメトリーヒストグラムのセットである。抗ＣＤ３ゼータ抗体がウエスタンブロット分析において使用され、ＣＤ１９－ＰＥコンジュゲートがフローサイトメトリー分析において使用された。

【図３１Ａ－３１Ｃ】異なる条件下でのＣＡＲ発現を分析するフローサイトメトリーヒストグラムのセットである。図３１Ａは、初代Ｔ細胞におけるＣＡＲ発現を示すフローサイトメトリーヒストグラムのセットである。２４時間目のＣＡＲ１９発現に対するレナリドミドの効果は図３１Ｂにおいて示される。２４又は４８時間目のＣＡＲ１９－ＨｉｌＤ発現に対するレナリドミドの効果は図３１Ｃにおいて示される。

【図３２Ａ－３２Ｃ】ＣＡＲＴ細胞によって媒介される％死滅を示すグラフのセットである。図３２Ａは、ＣＤ１９陰性細胞に対する死滅のパーセントを示すグラフである。図３２Ｂ及び３２Ｃは、１μＭのレナリドミドの存在下又は非存在下でのＣＤ１９陽性細胞に

対するＣＡＲ１９　Ｔ細胞（図３２Ｂ）又はＣＡＲ１９－ＨｉｌＤ　Ｔ細胞（図３２Ｃ）の死滅のパーセントを示すグラフである。
【図３３Ａ－３３Ｂ】それぞれ１μＭのレナリドミドの存在下又は非存在下でＣＡＲ１９又はＣＡＲ１９－ＨｉｌＤを発現するＴ細胞から分泌されたＩＦＮガンマ及びＩＬ２のレベルを示すグラフである。ｘ軸上にレナリドミドの濃度がμＭで示される。
【図３４】レナリドミドがインビボでＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤの腫瘍増殖を制御する能力を消失させることを示すグラフである。ＲＯＩの全光束は、Ｎａｌｍ６移植後の日数に対してプロットされる。
【図３５】レナリドミド処理後のＣＡＲ１９－ＨｉｌＤ発現の減少を示すフローサイトメトリープロットのセットである。
【図３６】種々の処理群における腫瘍制御のレベルを示すグラフである。ＲＯＩの全光束は、Ｎａｌｍ６移植後の日数に対してプロットされる。レナリドミドの早期の注入は、ＣＡＲＴ－ＨｉｌＤで処理されたマウスにおいてＣＡＲＴ発現を効率的に消失させ、この群では腫瘍制御の欠如をもたらした。レナリドミドの後処理（ＣＡＲＴ注入後５日目）も、マウスのこの群での腫瘍制御の喪失によって示されるとおり、ＣＡＲＴの機能を低下させた。
【図３７Ａ－３７Ｅ】脾細胞由来のＣＤ３＋細胞におけるＣＡＲ発現を分析するグラフである。図３７Ａは、ＣＡＲＴ－ＨｉｌＤで処理されたマウスの脾細胞由来のＣＤ３＋細胞におけるＣＡＲ発現を示すグラフである（群１）。図３７Ｂ、３７Ｃ及び３７Ｄは、ＣＡＲＴ－ＨｉｌＤ及びレナリドミドで処理されたマウスの脾細胞由来のＣＤ３＋細胞におけるＣＡＲ発現を示すグラフである（それぞれ、群２、群３及び群４）。図３７Ａ～３７Ｄにおけるピークは、個々のマウスのＣＤ３発現レベルを表す。群１．ＣＡＲ１９．ＨｉｌＤ（５ｘ１０６）。群２．ＣＡＲＴ１９－ＨｉｌＤ（５ｘ１０６）＋Ｌｅｎａ　ｑｄ。群３．ＣＡＲＴ１９－ＨｉｌＤ（５ｘ１０６）＋Ｌｅｎａ　ｂｉｄ。群４．ＣＡＲ１９．ＨｉｌＤ（５ｘ１０６）＋Ｌｅｎａ＋５日。図３７Ｅは、データを要約するグラフである。
【図３８Ａ－３８Ｃ】ＣＡＲ１９－ＣＡＲＢタグの発現及び活性に対する化合物Ｉ－１１２の影響を示すグラフである。図３８Ａは、種々の用量の化合物Ｉ－１１２又はＤＭＳＯで２４時間処理されたＣＡＲ１９－ＣＡＲＢタグを発現するジャーカットＮＦＡＴルシフェラーゼ（ＪＮＬ）細胞のウエスタンブロットであり、ＣＡＲ１９－ＣＡＲＢタグの用量反応分解を示す。図３８Ｂは、１０μＭの化合物Ｉ－１１２による処理後のタグなしＣＡＲ１９細胞と比較したＪＮＬ　ＣＡＲ１９－ＣＡＲＢタグ細胞におけるＣＡＲ１９の表面発現のフローサイトメトリー分析を示すヒストグラムのセットである。図３８Ｃは、ＣＡＲ１９－ＣＡＲＢタグを発現するＪＮＬルシフェラーゼ細胞を、１５時間の化合物Ｉ－１１２の用量反応で処理した後、Ｋ５６２（ＣＤ１９－）細胞又はＮａｌｍ６（ＣＤ１９＋）細胞のいずれかと同時処理し、ルシフェラーゼ活性の読み出しを行ったＪＮＬアッセイ結果を示すグラフである。
【図３９】ＣＡＲＢタグ－ＭＩＴＦ－ＦＬＡＧで一過的にトランスフェクトし、１０μＭ、１μＭ、０．１μＭ又は０．０１μＭの化合物Ｉ－１１２若しくはレナリドミド又はＤＭＳＯで処理したＨＥＫ２９３Ｔ細胞のウエスタンブロットであり、ＣＡＲＢタグ付きＭＩＴＦのＩ－１１２特異的な分解を示している。
【図４０Ａ－４０Ｂ】ＢＣＭＡＣＡＲ１９－ＨｉｌＤタグの発現及び活性に対するレナリドミドの影響を分析するグラフである。図４０Ａは、２４時間のレナリドミドの用量反応で処理されたＢＣＭＡＣＡＲ　ＨｉｌＤ－タグで感染させたＪＮＬ細胞のフローサイトメトリー分析結果を示すヒストグラムのセットであり、ＢＣＭＡＣＡＲのレナリドミド用量依存的な分解を示す。図４０Ｂは、ＢＣＭＡ－ＨｉｌＤタグを発現するジャーカットＮＦＡＴルシフェラーゼ細胞を、１５時間のレナリドミドの用量反応で処理した後、ＫＭＳ１１細胞と同時処理し、ルシフェラーゼ活性の読み出しを行ったＪＮＬアッセイ結果を示すグラフである。
【発明を実施するための形態】
【０２５６】

本開示は、少なくとも部分的に、標的化されたタンパク質不活性化のための式（Ｉ）の化合物（ＣＯＦ１）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、式（ＩＩ）の化合物（ＣＯＦ２）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド又は式（ＩＩＩ）の化合物（ＣＯＦ３）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含む融合ポリペプチドを提供する。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは、１つ以上のＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び１つ以上の異種ポリペプチド、例えば異種哺乳動物、細菌又はウイルスポリペプチド、例えば、１つ以上の目的のポリペプチドを含む。ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、リンカーを介して異種ポリペプチドに作動可能に連結され得る。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１若しくはＣＯＦ２（サリドマイド及びその誘導体（例えば、レナリドミド、ポマリドミド及びサリドマイド）など）の存在下又はＣＯＦ３（例えば、表２９において開示される化合物）の存在下、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、分解、例えば、融合ポリペプチドのユビキチン化媒介性分解を増大させ；且つ／又は融合ポリペプチドのレベル及び／又は活性を変化させる。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドの分解は、ユビキチン依存的である。

【０２５７】

理論に束縛されるものではないが、いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＣＯＦ１若しくはＣＯＦ２（サリドマイド及びその誘導体（例えば、レナリドミド、ポマリドミド及びサリドマイド）など）の存在下又はＣＯＦ３（例えば、表２９において開示される化合物）の存在下、融合ポリペプチドの翻訳後修飾（例えば、ユビキチン化）をもたらして、修飾された、例えば、ユビキチン化された融合ポリペプチドをもたらすアミノ酸配列及び／又は構造モチーフを提供する。例えば、融合ポリペプチド中の１つ以上のアミノ酸、例えば、リジン又はメチオニンは、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の存在下でユビキチン化され得る。いくつかの実施形態では、ユビキチン化された融合ポリペプチドは、選択的に分解される。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドの翻訳後修飾は、融合ポリペプチド（例えば、異種ポリペプチドの全て又は一部）の分解を増大させる（例えば、分解のレベル及び／又は速度の増大）。いくつかの実施形態では、分解のレベル及び／又は速度の増大は、参照タンパク質、例えば、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２若しくはＣＯＦ３の非存在下の融合ポリペプチド、異種ポリペプチド、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを伴わない異種ポリペプチドの融合物又はＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド以外の部分を伴う異種ポリペプチドの融合物の分解のレベル及び／又は速度より、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、１００％、２００％、５００％、１０倍、１００倍、１，０００倍又はそれ以上である。

【０２５８】

理論に束縛されるものではないが、融合ポリペプチドの分解は、以下のステップ：（１）ＣＯＦ１若しくはＣＯＦ２（例えば、サリドマイド及びその誘導体（例えば、レナリドミド））又はＣＯＦ３（例えば、表２９において開示される化合物）の、ユビキチンリガーゼ複合体（例えば、Ｅ３ユビキチンリガーゼ複合体）の１つ以上のサブユニットに対する結合、例えば、ＣＵＬ４、ＲＢＸ１、ＤＤＢＩ及び／又はＣＲＢＮ（ＣＲＬ４（ＣＲＢＮ）としても知られる）、典型的には、ＤＤＢ１－ＣＲＢＮ複合体に対する結合により、ＣＯＦ１－リガーゼ又はＣＯＦ２－リガーゼ複合体を形成するステップ；

（２）ＣＯＦ１－リガーゼ、ＣＯＦ２－リガーゼ又はＣＯＦ３－リガーゼ複合体が、融合ポリペプチド中の１つ以上のアミノ酸、例えば、リジン又はメチオニンのユビキチン化に結合し、且つそれを増大させることにより、ユビキチン化された融合ポリペプチド、例えば、モノ又はポリユビキチン化融合ポリペプチドを形成するステップ；及び

（３）ユビキチン化融合ポリペプチドが、分解のために標的化され、例えば、融合ポリペプチドが、分解のために、例えば、プロテアソームに選択的に標的化されるステップ

の１つ、２つ又は全てを含み得る。

【０２５９】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１（例えば、配列番号２０）又はＩＫＺＦ３（例えば、配列番号１９）の約１０～約９５個のアミノ酸残基、約１５～約９０個のアミノ酸残基、約２０～約８５個のアミノ酸残基、約２５～約８０個のアミノ酸残基、約３０～約７５個のアミノ酸残基、約３５～約７０個のアミノ酸残基、約４０～約６５個のアミノ酸残基、約４５～約６５個のアミノ酸残基、約５０～約６５個のアミノ酸残基又は約５５～約６５個のアミノ酸残基を含む。

【０２６０】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２（例えば、配列番号２１）の約１０～約９５個のアミノ酸残基、約１５～約９０個のアミノ酸残基、約２０～約８５個のアミノ酸残基、約２５～約８０個のアミノ酸残基、約３０～約７５個のアミノ酸残基、約３５～約７０個のアミノ酸残基、約４０～約６５個のアミノ酸残基、約４５～約６５個のアミノ酸残基、約５０～約６５個のアミノ酸残基又は約５５～約６５個のアミノ酸残基を含む。

【０２６１】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βターン（例えば、ＩＫＺＦ３のβターン）を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βターン（例えば、ＩＫＺＦ３のβターン）及びαヘリックス（例えば、ＩＫＺＦ３のαヘリックス）を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０若しくは１３６～１８０及び／若しくは２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）又はそれと実質的に同一な（例えば、それと少なくとも８５、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一な）アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１～６、１１～１５、４０、４１～４３、７７、７８、８４～８６及び１００からなる群から選択されるアミノ酸配列又はそれと実質的に同一な（例えば、それと少なくとも８５、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一な）アミノ酸配列を含む。

【０２６２】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βターン（例えば、ＩＫＺＦ２のβターン）を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βターン（例えば、ＩＫＺＦ２のβターン）及びαヘリックス（例えば、ＩＫＺＦ２のαヘリックス）を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２のアミノ酸残基１３０～１７４及び／又は２３０～２４３（配列番号２１に従って番号付けされる）又はそれと実質的に同一な（例えば、それと少なくとも８５、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一な）アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１０９、１１３及び１１４からなる群から選択されるアミノ酸配列、又はそれと実質的に同一な（例えば、それと少なくとも８５、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一な）アミノ酸配列を含む。

【０２６３】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βターン（例えば、ＩＫＺＦ１のβターン）を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βターン（例えば、ＩＫＺＦ１のβターン）及びαヘリックス（例えば、ＩＫＺＦ１のαヘリックス）を含む。

【０２６４】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドの異種ポリペプチドは、翻訳後修飾（例えば、１つ以上の残基でのユビキチン化）及びＣＯＦ１若しくはＣＯＦ２（例えば、サリド

マイド及びその誘導体、例えば、レナリドミド、ポマリドミド及びサリドマイド）の存在下又はＣＯＦ３（例えば、表２９において開示される化合物）の存在下で分解を受けやすい。

【０２６５】

任意選択により、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドは、例えば、リンカー、例えばグリシン－セリンリンカー（例えば、配列番号２８、３７、３８、３９又は９９）を介して作動可能に連結され得る。例えば、融合ポリペプチドは、３つの要素：ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、例えば、分解アミノ酸配列（例えば、デグロン）の一部、分解される目的の異種ポリペプチド及び２つを隔てるリンカーを含み得る。異種ポリペプチドは、細胞質ゾルタンパク質、核タンパク質、膜貫通タンパク質（例えば、１つ以上の膜貫通ドメインを含む）又は分泌タンパク質であり得る。例えば、目的の異種ポリペプチドは、例えば、本明細書に記載されるとおりの、例えば、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、ＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質、ＣＤ８、ＣＤ１９、ＣＤ２２、転写因子（例えば、ＳＴＡＴ３、ＳＴＡＴ５、ＮＦ－カッパＢ、ベーター－カテニン、ノッチ、ＧＬＩ又はｃ－ＪＵＮ）を含み得る。

【０２６６】

いくつかの実施形態では、本発明の融合ポリペプチドはさらに、分解ドメインを含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、融合ポリペプチドの発現の第１のレベルと関連する第１の状態及び融合ポリペプチドの発現の第２のレベルと関連する第２の状態を有し、第２のレベルは、例えば、安定化化合物の存在下で第１のレベルの少なくとも２、３、４、５、１０、２０又は３０倍増大される。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、異種切断部位によってＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドから隔てられている。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、異種切断部位によってＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドから隔てられている。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、異種切断部位によってＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドから隔てられている。

【０２６７】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドは第１のドメイン及び第２のドメインを含み、第１のドメインは分解ドメインを含み、第２のドメインはＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第１のドメイン及び第２のドメインは、異種切断部位によって隔てられている。理論に束縛されるものではないが、融合ポリペプチドの発現レベルは、安定化化合物及びＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３によって制御され得る。いくつかの実施形態では、安定化化合物の非存在下では、分解ドメインは、適切な立体構造をとることができず、融合ポリペプチドの残部とともに細胞内分解経路による分解に関して標的化される。いくつかの実施形態では、安定化化合物の存在下では、分解ドメインは、適切な立体構造をとり、細胞内分解経路による分解をより受けにくい。いくつかの実施形態では、安定化化合物の存在下では、分解ドメインの適切なフォールディングは異種切断部位を露出させ、異種切断部位の切断及び融合ポリペプチドの残部からの分解ドメインの除去に委ねる。融合ポリペプチドのレベルはさらに、上記のとおりＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３によって制御され得る。

【０２６８】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメイン、ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメイン又はジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメインから選択される。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメインであり、配列番号４６又は４８と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含み、例えば、分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメインであり、安定化化合物は、バゼドキシフェン又は４－ヒドロキシタモキシ

フェン（４－ＯＨＴ）である。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメインであり、例えば、分解ドメインは、配列番号５０と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含み、例えば、分解ドメインは、配列番号５０のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメインであり、安定化化合物は、Ｓｈｉｅｌｄ－１である。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメインであり、例えば、分解ドメインは、配列番号５１と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含み、例えば、分解ドメインは、配列番号５１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメインであり、安定化化合物は、トリメトプリムである。

【０２６９】

したがって、本明細書では、異種ポリペプチド、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び／又は分解ドメインを含む融合ポリペプチド、例えば、選択的なタンパク質分解のための目的のポリペプチド並びに融合ポリペプチドをコードする核酸分子、ベクター及び細胞、例えば、前述の融合ポリペプチドを含む宿主細胞が開示される。本明細書で開示される融合ポリペプチド及び関連組成物は、治療法、例えば、分泌療法、細胞療法又は膜貫通療法（例えば、ＣＡＲ療法）の制御、遺伝子発現の制御（例えば、ＣＲＩＳＰＲ／ＣＡＳシステムの構成要素の発現及び／又は活性の制御を介して）、標的の検証並びにライブラリーのスクリーニングのために、様々な標的タンパク質を活性化又は不活性化、例えば、分解するために使用され得る。例えば、対象を治療するための前記融合ポリペプチドを選択的に制御する（例えば、分解する）ための方法がさらに開示される。

【０２７０】

本明細書に開示される組成物及び方法は、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドが、タンパク質レベル（ｍＲＮＡとは対照的に）で作用し、細胞内の既存及び新規に作られたタンパク質の活性分解を引き起こする（新生タンパク質の産生を遮断するのとは対照的に）という事実を含む、当技術分野で知られる制御システムを超える新規且つ進歩的な特徴を提供す。加えて、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、短い長さを有する場合があり、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２及びＣＯＦ３は通常、低分子量である。

【０２７１】

理論に束縛されるものではないが、実施例１６に記載されるとおり、ＣＯＦ１又はＣＯＦ２（例えば、サリドマイド及びその誘導体（例えば、レナリドミド、ポマリドミド及びサリドマイド））は、本明細書に記載されるＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含む融合ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるＣＡＲＢタグを含む融合ポリペプチド、例えば、配列番号１０９、１１３及び１１４からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＡＲＢタグを含む融合ポリペプチド）の分解を引き起こさないか又は実質的に引き起こさない。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１又はＣＯＦ２の存在下での本明細書に記載されるＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含む融合ポリペプチドの分解は、同じ条件下でのＣＯＦ３の存在下の前記融合ポリペプチドの分解の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５又は２０％以下である。

【０２７２】

同様に、ＣＯＦ３（例えば、表２９において開示される化合物）は、本明細書に記載されるＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含む融合ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるＨｉｌＤタグを含む融合ポリペプチド、例えば、配列番号１～６、１１～１５、４０、４１～４３、７７、７８、８４～８６及び１００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＨｉｌＤタグを含む融合ポリペプチド）の分解を引き起こさないか又は実質的に引き起こさない。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３の存在下での本明細書に記載されるＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプ

チドを含む融合ポリペプチドの分解は、同じ条件下でのＣＯＦ１又はＣＯＦ２の存在下の前記融合ポリペプチドの分解の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５又は２０％以下である。

【０２７３】

したがって、一方はＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドでタグ付けされ（例えば、本明細書に記載されるＨｉｌＤタグ）、他方はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドでタグ付けされた（例えば、本明細書に記載されるＣＡＲＢタグ）２つの標的ポリペプチドは、ＣＯＦ１又はＣＯＦ２及びＣＯＦ３を用いて独立して制御され得る。例えば、ＨｉｌＤタグ付きタンパク質及びＣＡＲＢタグ付きタンパク質を発現する細胞は、ＨｉｌＤタグ付きタンパク質のみを発現するか（例えば、細胞をＣＯＦ３と接触させることによって）、ＣＡＲＢタグ付きタンパク質のみを発現するか（例えば、細胞をＣＯＦ１又はＣＯＦ２と接触させることによって）、又はどちらのタンパク質も発現しない（例えば、細胞をＣＯＦ１又はＣＯＦ２及びＣＯＦ３と接触させることによって）ように操作され得る。

【０２７４】

定義

別途定義されていない限り、本明細書で使用する全ての技術用語及び科学用語は、本発明が関係する分野の当業者に一般に理解されている意味と同じ意味を有する。

【０２７５】

本明細書で使用する場合、用語「式（Ｉ）の化合物（ＣＯＦ１）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド」は、ＣＯＦ１に結合するポリペプチド、ＣＯＦ１とＣＲＢＮの複合体に結合するポリペプチド又はＣＯＦ１の存在下でＣＲＢＮに結合するポリペプチドを指す。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、当技術分野で認められる方法、例えば、Ｂｉａｃｏｒｅによって測定されるとおり、10^{-3}、10^{-4}、10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}又は10^{-8}Ｍ未満の親和性（K_D）を有してＣＯＦ１に結合する。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、当技術分野で認められる方法、例えば、Ｂｉａｃｏｒｅによって測定されるとおり、10^{-3}、10^{-4}、10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}又は10^{-8}Ｍ未満の親和性（K_D）を有してＣＯＦ１とＣＲＢＮの複合体に結合する。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、当技術分野で認められる方法、例えば、Ｂｉａｃｏｒｅによって測定されるとおり、10^{-3}、10^{-4}、10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}又は10^{-8}Ｍ未満の親和性（K_D）を有してＣＯＦ１の存在下でＣＲＢＮに結合する。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド中に存在する場合（例えば、異種ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド）に作動可能に連結される）、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、融合ポリペプチドのユビキチン化の増大をもたらし得る。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド中に存在する場合（例えば、異種ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド）に作動可能に連結される）、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、融合ポリペプチドの分解の増大をもたらし得る。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド中に存在する場合（例えば、異種ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド）に作動可能に連結される）、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、融合ポリペプチドの不活性化の増大をもたらし得る。いくつかの実施形態では、ユビキチン化、分解及び／又は不活性化の増大は、ＣＯＦ１及びユビキチン化リガーゼ複合体の１つ以上の構成要素（例えば、ＣＲＢＮ）の存在下で生じる。いくつかの実施形態では、ユビキチン化、分解及び／又は不活性化の増大は、参照ポリペプチド、例えば、ＣＯＦ１の非存在下でＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを伴う参照融合ポリペプチド又はＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを伴わない参照ポリペプチドのユビキチン化、分解及び／又は不活性化より少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、１００％、２００％、５００％、１０倍、１００倍、１，０００倍又はそれ以上高い。いくつかの実施形態で

は、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含有する融合ポリペプチドの分解は、ユビキチン依存的である。例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを伴う融合ポリペプチド中の１つ以上のアミノ酸、例えば、リジン又はメチオニンは、ＣＯＦ１の存在下でユビキチン化される。

【０２７６】

本明細書で使用する場合、用語「式（ＩＩ）の化合物（ＣＯＦ２）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド」は、ＣＯＦ２に結合するポリペプチド、ＣＯＦ２とＣＲＢＮの複合体に結合するポリペプチド又はＣＯＦ２の存在下でＣＲＢＮに結合するポリペプチドを指す。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、当技術分野で認められる方法、例えば、Ｂｉａｃｏｒｅによって測定されるとおり、10^{-3}、10^{-4}、10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}又は10^{-8}Ｍ未満の親和性（K_D）を有してＣＯＦ２に結合する。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、当技術分野で認められる方法、例えば、Ｂｉａｃｏｒｅによって測定されるとおり、10^{-3}、10^{-4}、10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}又は10^{-8}Ｍ未満の親和性（K_D）を有してＣＯＦ２とＣＲＢＮの複合体に結合する。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、当技術分野で認められる方法、例えば、Ｂｉａｃｏｒｅによって測定されるとおり、10^{-3}、10^{-4}、10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}又は10^{-8}Ｍ未満の親和性（K_D）を有してＣＯＦ２の存在下でＣＲＢＮに結合する。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド中に存在する場合（例えば、異種ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド）に作動可能に連結される）、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、融合ポリペプチドのユビキチン化の増大をもたらし得る。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド中に存在する場合（例えば、異種ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド）に作動可能に連結される）、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、融合ポリペプチドの分解の増大をもたらし得る。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド中に存在する場合（例えば、異種ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド）に作動可能に連結される）、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、融合ポリペプチドの不活性化の増大をもたらし得る。いくつかの実施形態では、ユビキチン化、分解及び／又は不活性化の増大は、ＣＯＦ２及びユビキチン化リガーゼ複合体の１つ以上の構成要素（例えば、ＣＲＢＮ）の存在下で生じる。いくつかの実施形態では、ユビキチン化、分解及び／又は不活性化の増大は、参照ポリペプチド、例えば、ＣＯＦ２の非存在下でＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを伴う参照融合ポリペプチド又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを伴わない参照ポリペプチドのユビキチン化、分解及び／又は不活性化より少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、１００％、２００％、５００％、１０倍、１００倍、１，０００倍又はそれ以上高い。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含有する融合ポリペプチドの分解は、ユビキチン依存的である。例えば、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを伴う融合ポリペプチド中の１つ以上のアミノ酸、例えば、リジン又はメチオニンは、ＣＯＦ２の存在下でユビキチン化される。

【０２７７】

本明細書で使用する場合、用語「式（ＩＩＩ）の化合物（ＣＯＦ３）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド」は、ＣＯＦ３に結合するポリペプチド、ＣＯＦ３とＣＲＢＮの複合体に結合するポリペプチド又はＣＯＦ３の存在下でＣＲＢＮに結合するポリペプチドを指す。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、当技術分野で認められる方法、例えば、Ｂｉａｃｏｒｅによって測定されるとおり、10^{-3}、10^{-4}、10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}又は10^{-8}Ｍ未満の親和性（K_D）を有してＣＯＦ３に結合する。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、当技術分野で認められる方法、例えば、Ｂｉａｃｏｒｅによって測定されるとおり、10^{-3}、10^{-4}、10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}又は10^{-8}Ｍ未満の親和性（K_D）を有してＣ

ＯＦ３とＣＲＢＮの複合体に結合する。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、当技術分野で認められる方法、例えば、Ｂｉａｃｏｒｅによって測定されるとおり、10^{-3}、10^{-4}、10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}又は10^{-8}Ｍ未満の親和性（K_D）を有してＣＯＦ３の存在下でＣＲＢＮに結合する。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド中に存在する場合（例えば、異種ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド）に作動可能に連結される）、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、融合ポリペプチドのユビキチン化の増大をもたらし得る。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド中に存在する場合（例えば、異種ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド）に作動可能に連結される）、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、融合ポリペプチドの分解の増大をもたらし得る。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド中に存在する場合（例えば、異種ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド）に作動可能に連結される）、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、融合ポリペプチドの不活性化の増大をもたらし得る。いくつかの実施形態では、ユビキチン化、分解及び／又は不活性化の増大は、ＣＯＦ３及びユビキチン化リガーゼ複合体の１つ以上の構成要素（例えば、ＣＲＢＮ）の存在下で生じる。いくつかの実施形態では、ユビキチン化、分解及び／又は不活性化の増大は、参照ポリペプチド、例えば、ＣＯＦ３の非存在下でＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを伴う参照融合ポリペプチド又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを伴わない参照ポリペプチドのユビキチン化、分解及び／又は不活性化より少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、１００％、２００％、５００％、１０倍、１００倍、１，０００倍又はそれ以上高い。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含有する融合ポリペプチドの分解は、ユビキチン依存的である。例えば、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを伴う融合ポリペプチド中の１つ以上のアミノ酸、例えば、リジン又はメチオニンは、ＣＯＦ３の存在下でユビキチン化される。

【０２７８】

本明細書で使用する場合、「ユビキチン化」は、ユビキチン分子、例えば、単一のユビキチン（モノ－ユビキチン化）又は２つ以上のユビキチン（例えば、ユビキチン分子の鎖又はポリ－ユビキチン化）の付加を指す。ユビキチン化は、ユビキチン活性化酵素（Ｅ１）、ユビキチン結合酵素（Ｅ２）及びユビキチンリガーゼ（Ｅ３）の１つ以上を含む酵素機構によって行われ得る。

【０２７９】

本明細書で使用する場合、用語「ＣＲＢＮ」は、ヒトにおいてＣＲＢＮ遺伝子によってコードされるタンパク質又はその断片若しくは変異体（例えば、それと実質的に同一な、例えば、それと少なくとも８５、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一なアミノ酸配列）を指す。Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受入番号Ｑ９６ＳＷ２は、例示的なヒトＣＲＢＮアミノ酸配列を提供する。

【０２８０】

本明細書で使用する場合、「ＩＫＺＦポリペプチド」は、ＩＫＺＦ又はその断片若しくは変異体（例えば、それと実質的に同一な、例えば、それと少なくとも８５、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一なアミノ酸配列）を指す。

【０２８１】

本明細書で使用する場合、用語「ＩＫＺＦ３」は、ヒトにおいてＩＫＺＦ３遺伝子によってコードされるタンパク質を指す。Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受入番号Ｑ９ＵＫＴ９は、例示的なヒトＩＫＺＦ３アミノ酸配列を提供する。例示的なヒトＩＫＺＦ３アミノ酸配列は、配列番号１９によって提供される。用語「ＩＫＺＦ３ポリペプチド」は、ＩＫＺＦ３又はその断片若しくは変異体（例えば、それと実質的に同一な、例えば、それと少なくとも８５、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一なアミノ酸配列）を指す。

【０２８２】

本明細書で使用する場合、用語「ＩＫＺＦ１」は、ヒトにおいてＩＫＺＦ１遺伝子によってコードされるタンパク質を指す。Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受入番号Ｑ１３４２２は、例示的なヒトＩＫＺＦ１アミノ酸配列を提供する。例示的なヒトＩＫＺＦ１アミノ酸配列は、配列番号２０によって提供される。用語「ＩＫＺＦ１ポリペプチド」は、ＩＫＺＦ１又はその断片若しくは変異体（例えば、それと実質的に同一な、例えば、それと少なくとも８５、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一なアミノ酸配列）を指す。

【０２８３】

本明細書で使用する場合、用語「ＩＫＺＦ２」は、ヒトにおいてＩＫＺＦ２遺伝子によってコードされるタンパク質を指す。Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受入番号Ｑ９ＵＫＳ７は、例示的なヒトＩＫＺＦ２アミノ酸配列を提供する。例示的なヒトＩＫＺＦ２アミノ酸配列は、配列番号２１によって提供される。用語「ＩＫＺＦ２ポリペプチド」は、ＩＫＺＦ２又はその断片若しくは変異体（例えば、それと実質的に同一な、例えば、それと少なくとも８５、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一なアミノ酸配列）を指す。

【０２８４】

本明細書で使用する場合、用語「ＩＫＺＦ４」は、ヒトにおいてＩＫＺＦ４遺伝子によってコードされるタンパク質を指す。Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受入番号Ｑ９Ｈ２Ｓ９は、例示的なヒトＩＫＺＦ４アミノ酸配列を提供する。例示的なヒトＩＫＺＦ４アミノ酸配列は、配列番号２２によって提供される。用語「ＩＫＺＦ４ポリペプチド」は、ＩＫＺＦ４又はその断片若しくは変異体（例えば、それと実質的に同一な、例えば、それと少なくとも８５、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一なアミノ酸配列）を指す。

【０２８５】

本明細書で使用する場合、用語「ＩＫＺＦ５」は、ヒトにおいてＩＫＺＦ５遺伝子によってコードされるタンパク質を指す。Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受入番号Ｑ９Ｈ５Ｖ７は、例示的なヒトＩＫＺＦ５アミノ酸配列を提供する。例示的なヒトＩＫＺＦ５アミノ酸配列は、配列番号２３によって提供される。用語「ＩＫＺＦ５ポリペプチド」は、ＩＫＺＦ５又はその断片若しくは変異体（例えば、それと実質的に同一な、例えば、それと少なくとも８５、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一なアミノ酸配列）を指す。

【０２８６】

本明細書で使用する場合、「融合ポリペプチド」又は「キメラポリペプチド」は、単一の連続的なポリペプチドにおいて２つ以上の異種アミノ酸配列及び／又はタンパク質ドメインを含むポリペプチドを指す。いくつかの実施形態では、２つ以上の異種タンパク質ドメインは、例えば、リンカーを介して直接的に又は間接的に共有結合される。

【０２８７】

本明細書で使用する場合、用語「エストロゲン受容体（ＥＲ）」は、ヒトにおいてＥＳＲ１遺伝子によってコードされるタンパク質を指す。Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受入番号Ｐ０３３７２は、例示的なヒトエストロゲン受容体（ＥＲ）アミノ酸配列を提供する。「エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメイン」は、エストロゲン受容体又はその断片若しくは変異体（例えば、それと実質的に同一な、例えば、それと少なくとも８５、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一なアミノ酸配列）を指す。例示的なエストロゲン受容体（ＥＲ）ドメインアミノ酸配列は、配列番号４４、４６及び４８において提供される。例示的なエストロゲン受容体（ＥＲ）ドメインヌクレオチド配列は、配列番号４５、４７及び４９において提供される。

【０２８８】

本明細書で使用する場合、「ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメイン」は、ＦＫＢＰ又はその断片若しくは変異体を指す。例示的なＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメインアミノ酸配列は、配列番号５０によって提供される。

【０２８９】

本明細書で使用する場合、用語「ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）」は、ヒトにおいてＤＨＦＲ遺伝子によってコードされるタンパク質を指す。Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受入番号Ｐ００３７４は、例示的なジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）アミノ酸配列を

提供する。「ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメイン」は、ＤＨＦＲ又はその断片若しくは変異体を指す。例示的なジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメインアミノ酸配列は、配列番号５１によって提供される。

【０２９０】

本明細書で使用する場合、用語「分解ドメイン」は、安定化化合物の存在下で発現されるときに安定な立体構造をとる融合ポリペプチドのドメインを指す。目的の細胞で発現されるときに安定な立体構造をとらない大部分の分解ドメイン（及び典型的には、それらが融合される任意のタンパク質）は、内因性の細胞機構によって分解されることになる。注目すべきことに、分解ドメインは、天然に存在するタンパク質のドメインではなく、安定化化合物との接触がないと不安定になるように設計されている。したがって、分解ドメインは、以下の特徴によって同定可能である：（１）それが天然に存在していない；（２）その発現が、分解速度の増大又は低下によって翻訳と同時に又は翻訳後に制御される；（３）分解の速度が、安定化化合物の存在下で実質的に低下する。いくつかの実施形態では、安定化化合物がない場合、融合ポリペプチドの分解ドメイン又は他のドメインは、細胞内又は細胞上で実質的に検出されない。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、安定化化合物の非存在下で不安定化された状態にある。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、安定化化合物の非存在下で自己会合しない、例えば、ホモ二量体化しない。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、異種プロテアーゼ切断部位に融合され、安定化化合物の存在下において、異種プロテアーゼ切断部位の切断が、安定化化合物の非存在下より効率的である。

【０２９１】

分解ドメインは、ＰＣＴ出願番号ＰＣＴ／米国特許出願公開第２０１７／０２７７７８号明細書において定義されるとおりの凝集ドメインではない。

【０２９２】

「安定化化合物」又は「安定化させる化合物」は、分解ドメインを発現する細胞に添加した場合、分解ドメイン及びそれに融合された任意のタンパク質を安定化し、その後分解される速度を低下させる化合物を意味する。安定化化合物又は安定化させる化合物は、天然に存在するか又は合成的であり得る。

【０２９３】

用語「異種ポリペプチド」は、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドと（例えば、少なくとも１つのアミノ酸が）異なり、且つ活性ルシフェラーゼドメインではないか又はルシフェラーゼ配列を有するアミノ酸配列（例えば、タンパク質ドメイン）を意味する。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、レポーターポリペプチド、例えば、ルシフェラーゼ、緑色蛍光タンパク質又はｂ－ガラクトシダーゼではない。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、哺乳動物ポリペプチド、細菌ポリペプチド、ウイルスポリペプチド、植物ポリペプチド、酵母ポリペプチド、真菌ポリペプチド、古細菌ポリペプチド又は魚類、例えば、ゼブラフィッシュポリペプチドからの又はそれらに由来するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、表２におけるポリペプチド、例えば表２に記載されるとおりの細胞質内及び／若しくは核ポリペプチド、分泌ポリペプチド又は膜貫通ポリペプチドを含む。

【０２９４】

さらに、「異種プロテアーゼ切断部位」は、それが融合される１つ以上のタンパク質ドメインと異なる起源を有する（例えば、他の参照されるドメインの少なくとも１つに自然に融合されていない）プロテアーゼ切断部位を意味する。

【０２９５】

「プロテアーゼ」は、切断されることになるタンパク質における切断部位の存在に基づいて別のタンパク質を切断するタンパク質を意味する。

【０２９６】

「細胞内プロテアーゼ」は、目的の細胞内部で自然に発現されるプロテアーゼを意味する。

【０２９７】
「細胞外プロテアーゼ」は、生物体（例えば、哺乳動物）中で自然に発現され、細胞の外部（例えば、血液中又は皮膚の表面）に分泌されるか又は露出されるプロテアーゼを意味する。
【０２９８】
本明細書で使用する場合、用語「切断」は、核酸分子の骨格中などの共有結合の切断又はペプチド結合の加水分解を指す。切断は、リン酸ジエステル結合の酵素的又は化学的加水分解を含むがこれに限定されない、様々な方法によって開始され得る。一本鎖切断及び二本鎖切断の両方が可能である。二本鎖切断は、２つの異なる一本鎖切断現象の結果として生じる場合がある。
【０２９９】
追加の用語を以下に記載する。
【０３００】
用語「１つの（ａ）」及び「１つの（ａｎ）」は、冠詞の文法的目的語の１つ又は２つ以上（すなわち、少なくとも１つ）を指す。一例として、「要素」は、１つの要素又は２つ以上の要素を意味する。
【０３０１】
用語「約」は、量、経時的な持続時間などの測定可能な値を指す場合、指定された値から、±２０％の変動、又はいくつかの場合において±１０％の変動、又はいくつかの場合において±５％の変動、又はいくつかの場合において±１％の変動、又はいくつかの場合において±０．１％の変動を包含することを意味しており、それは、このような変動が開示される方法を実施するのに適切であるためである。
【０３０２】
本明細書で使用する場合、用語「抗体」は、抗原と特異的に結合する免疫グロブリン分子由来のタンパク質又はポリペプチド配列を指す。抗体は、ポリクローナル若しくはモノクローナル、複数鎖若しくは一本鎖又はインタクト免疫グロブリンであり得、且つ天然源由来又は組換え源由来であり得る。抗体は、免疫グロブリン分子の四量体であり得る。
【０３０３】
用語「抗体断片」は、抗原のエピトープと（例えば、結合、立体障害、安定化／不安定化、空間分布によって）特異的に相互作用する能力を保持する抗体の少なくとも一部分を指す。抗体断片の例としては、限定はされないが、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ断片、ｓｃＦｖ抗体断片、ジスルフィド結合Ｆｖ（ｓｄＦｖ）、ＶＨ及びＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片、直鎖抗体、ｓｄＡｂなどの単一ドメイン抗体（ＶＬ又はＶＨのいずれか）、ラクダ科ＶＨＨドメイン、ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって結合された２つのＦａｂ断片を含む二価断片などの抗体断片から形成される多重特異性抗体並びに単離されたＣＤＲ又は抗体の他のエピトープ結合断片が挙げられる。抗原結合断片は、単一ドメイン抗体、マキシボディ、ミニボディ、ナノボディ、細胞内抗体、二重特異性抗体、三重特異性抗体、四重特異性抗体、ｖ－ＮＡＲ及びビス－ｓｃＦｖにも組み込まれ得る（例えば、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ ａｎｄ Ｈｕｄｓｏｎ，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２３：１１２６－１１３６，２００５を参照）。抗原結合断片は、フィブロネクチンＩＩＩ型（Ｆｎ３）などのポリペプチドに基づく足場にも移植され得る（フィブロネクチンポリペプチドミニボディを記載する米国特許第６，７０３，１９９号明細書を参照）。
【０３０４】
用語「抗体重鎖」は、それらの天然に存在する立体構造の抗体分子中に存在する２つのタイプのポリペプチド鎖のうち大きい方を指し、これは通常、抗体が属するクラスを決定する。
【０３０５】
用語「抗体軽鎖」は、それらの天然に存在する立体構造の抗体分子中に存在する２つのタイプのポリペプチド鎖のうち小さい方を指す。カッパ（κ）及びラムダ（λ）軽鎖は、２つの主要な抗体軽鎖アイソタイプを指す。

【０３０６】
用語「抗原」、「Ａｇ」又は「抗原分子」は、免疫応答を惹起する分子を指す。免疫応答は、抗体産生若しくは特定の免疫適格細胞の活性化のいずれか又は両方を必要とする。いくつかの実施形態では、抗原は、全てのタンパク質又はペプチドを含む任意の巨大分子である。他の実施形態では、抗原は、組換え又はゲノムＤＮＡに由来する。したがって、免疫応答を誘発す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なヌクレオチド配列を含む任意のＤＮＡが、本明細書で使用される用語である「抗原」をコードする。
【０３０７】
抗原は、遺伝子の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。実施形態において、抗原は、２つ以上の遺伝子の部分的なヌクレオチド配列の使用及び所望の免疫応答を誘発するポリペプチドをコードするように、これらのヌクレオチド配列が様々な組合せで配置されることを含むが、これらに限定されない。ある実施形態では、抗原は、「遺伝子」によってコードされる必要はない。一実施形態では、抗原は、合成的に作製され得るか又は生体試料に由来し得るか、又はポリペプチド以外の巨大分子である可能性がある。このような生体試料としては、組織試料、腫瘍試料、細胞又は他の生物学的構成成分を伴う液体が挙げられ得るが、これらに限定されない。実施形態において、抗原としては、例えば、炭水化物（例えば、単糖、二糖、オリゴ糖及び多糖）が挙げられる。
【０３０８】
用語「抗原提示細胞」又は「ＡＰＣ」は、その表面上で主要組織適合抗原複合体（ＭＨＣ）と複合体を形成した外来抗原を提示するアクセサリー細胞（例えば、Ｂ細胞、樹状細胞など）などの免疫系細胞を指す。Ｔ細胞は、それらのＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を用いてこれらの複合体を認識し得る。ＡＰＣは抗原をプロセシングし、それらをＴ細胞に提示する。
【０３０９】
用語「キメラ抗原受容体」又は代わりに「ＣＡＲ」は、免疫エフェクター細胞中にあるとき、標的細胞、典型的には癌細胞への特異性及び細胞内シグナルの生成をその細胞にもたらすポリペプチドのセット、最も簡単な実施形態では典型的には２つのポリペプチドのセットを指す。いくつかの実施形態では、ＣＡＲは、細胞外抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン並びに下記で定義されるとおりの刺激分子及び／又は共刺激分子由来の機能的なシグナル伝達ドメインを含む細胞質内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）を少なくとも含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチドのセットは、同じポリペプチド鎖中にある（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では、ポリペプチドのセットは、互いに連続していない、例えば、異なるポリペプチド鎖中にある。いくつかの実施形態では、ポリペプチドのセットは、互いに連続していない、例えば、異なるポリペプチド鎖中にある。いくつかの実施形態では、ポリペプチドのセットは、二量体化分子の存在時に融合ポリペプチドを互いに結合することができ、例えば、抗原結合ドメインを細胞内シグナル伝達ドメインに結合することができる二量体化スイッチを含む。一態様では、刺激分子は、Ｔ細胞受容体複合体と会合されるゼータ鎖である。一態様では、細胞質内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。一態様では、細胞質内シグナル伝達ドメインは、下記で定義されるとおりの少なくとも１つの共刺激分子由来の１つ以上の機能的なシグナル伝達ドメインをさらに含む。一態様では、ＣＡＲの共刺激分子は、本明細書に記載される共刺激分子、例えば４－１ＢＢ（すなわちＣＤ１３７）、ＣＤ２７、ＩＣＯＳ及び／又はＣＤ２８から選択される。一態様では、ＣＡＲは、細胞外抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン並びに刺激分子由来の機能的な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キメラ融合タンパク質を含む。一態様では、ＣＡＲは、細胞外抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン並びに共刺激分子由来の機能的なシグナル伝達ドメイン及び刺激分子由来の機能的な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キメラ融合タンパク質を含む。一態様では、ＣＡＲは、細胞外抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン並びに１つ以上の共刺激分子由来の２つの機能的な

シグナル伝達ドメイン及び刺激分子由来の機能的な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キメラ融合タンパク質を含む。一態様では、ＣＡＲは、細胞外抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン並びに１つ以上の共刺激分子由来の少なくとも２つの機能的なシグナル伝達ドメイン及び刺激分子由来の機能的な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キメラ融合タンパク質を含む。一態様では、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。一態様では、ＣＡＲは、細胞外抗原結合ドメインのＮ末端でリーダー配列をさらに含み、ここで、リーダー配列は、細胞内プロセシング及び細胞膜へのＣＡＲの局在化中、抗原結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）から任意選択的に切断される。

【０３１０】

用語「癌」は、制御されていない異常な細胞の増殖によって特徴づられる疾患を指す。癌細胞は、局所的に又は血流及びリンパ系を介して体の他の部分に広がることができる。様々な癌の例は、本明細書に記載され、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、子宮頸癌、皮膚癌、膵臓癌、結腸直腸癌、腎臓癌、肝臓癌、脳癌、リンパ腫、白血病、肺癌などが挙げられるが、これらに限定されない。用語「腫瘍」及び「癌」は、本明細書において互換的に使用され、例えば、両方の用語が、固形及び液性の、例えば、散在性又は循環性腫瘍を包含する。本明細書で使用する場合、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。

【０３１１】

「ＣＡＲ分子」は、文脈に依存して、ＣＡＲ（例えば、ＣＡＲポリペプチド）、ＣＡＲをコードする核酸又は両方を指す。

【０３１２】

本明細書に記載されるものなどの特定の腫瘍抗原Ｘを標的化する抗原結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ又はＴＣＲ）を含むＣＡＲは、ＸＣＡＲとも称される。例えば、ＣＤ１９又はＢＣＭＡを標的化する抗原結合ドメインを含むＣＡＲは、それぞれＣＤ１９ＣＡＲ又はＢＣＭＡＣＡＲと称される。

【０３１３】

本明細書で使用する場合、用語「ＢＣＭＡ」は、Ｂ細胞成熟抗原を指す。ＢＣＭＡ（ＴＮＦＲＳＦ１７、ＢＣＭ又はＣＤ２６９としても知られる）は、腫瘍壊死受容体（ＴＮＦＲ）ファミリーのメンバーであり、最終分化Ｂ細胞、例えば、メモリーＢ細胞及び形質細胞上で主に発現される。そのリガンドは、ＴＮＦファミリーのＢ細胞活性化因子（ＢＡＦＦ）及び増殖誘導リガンド（ＡＰＲＩＬ）と呼ばれる。ＢＣＭＡは、長期間の体液性免疫を維持するための形質細胞の生存の媒介に関与する。ＢＣＭＡに関する遺伝子は第１６染色体上にコードされ、１８４個のアミノ酸のタンパク質（ＮＰ＿００１１８３．２）をコードする９９４ヌクレオチド長の一次ｍＲＮＡ転写物（ＮＣＢＩ目録ＮＭ＿００１１９２．２）を生成する。ＢＣＭＡ座位に由来する第２のアンチセンス転写物が記載されており、これはＢＣＭＡ発現の制御において役割を果たし得る。（Ｌａａｂｉ　Ｙ．ｅｔ　ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．，１９９４，２２：１１４７－１１５４）。重要性が不明なさらなる転写物バリアントが記載されている（Ｓｍｉｒｎｏｖａ　ＡＳ　ｅｔ　ａｌ．Ｍｏｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．，２００８，４５（４）：１１７９－１１８３。ＴＶ４としても知られる第２のアイソフォームが同定されている（Ｕｎｉｐｒｏｔ識別子Ｑ０２２２３－２）。本明細書で使用する場合、「ＢＣＭＡ」は、全長野生型ＢＣＭＡの変異、例えば、点変異、断片、挿入、欠失及びスプライスバリアントを含むタンパク質を含む。

【０３１４】

本明細書で使用する場合、用語「ＣＤ１９」は、白血病前駆細胞上で検出可能な抗原決定基である表面抗原分類１９タンパク質を指す。ヒト及びマウスのアミノ酸及び核酸配列は、ＧｅｎＢａｎｋ、Ｕｎｉｐｒｏｔ及びＳｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔなどの公的データベースにおいて見出すことができる。例えば、ヒトＣＤ１９のアミノ酸配列は、ＵｎｉＰｒｏｔ／Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ受入番号Ｐ１５３９１として見出すことができ、ヒトＣＤ１９のヌクレオチド配列のコード化は、受入番号ＮＭ＿００１１７８０９８で見出すことができ

る。本明細書で使用する場合、「ＣＤ１９」は、全長野生型ＣＤ１９の変異、例えば、点変異、断片、挿入、欠失及びスプライスバリアントを含むタンパク質を含む。

【０３１５】

ＣＤ１９は、例えば、急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ球白血病及び非ホジキンリンパ腫を含む大部分のＢ細胞系列癌上で発現される。ＣＤ１９を発現する他の細胞は、「ＣＤ１９の発現を伴う疾患」の定義において下に提供される。それは、Ｂ細胞前駆体の早期のマーカーでもある。例えば、Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎ．３４（１６－１７）：１１５７－１１６５（１９９７）を参照されたい。一態様では、ＣＡＲＴの抗原結合部分は、ＣＤ１９タンパク質の細胞外ドメイン内の抗原を認識し、それに結合する。一態様では、ＣＤ１９タンパク質は、癌細胞上に発現される。

【０３１６】

本明細書で使用する場合、用語「ＣＤ２０」は、Ｂ細胞上で検出可能であると知られる抗原決定基を指す。ヒトＣＤ２０は、膜貫通４ドメイン、サブファミリーＡ、メンバー１（ＭＳ４Ａ１）とも呼ばれる。ヒト及びマウスのアミノ酸及び核酸配列は、ＧｅｎＢａｎｋ、Ｕｎｉｐｒｏｔ及びＳｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔなどの公的データベースにおいて見出すことができる。例えば、ヒトＣＤ２０のアミノ酸配列は、受入番号ＮＰ＿６９０６０５．１及びＮＰ＿０６８７６９．２で見出すことができ、ヒトＣＤ２０の転写物バリアント１及び３をコードするヌクレオチド配列は、それぞれ受入番号ＮＭ＿１５２８６６．２及びＮＭ＿０２１９５０．３で見出すことができる。一態様では、ＣＡＲの抗原結合部分は、ＣＤ２０タンパク質の細胞外ドメイン内の抗原を認識し、それに結合する。一態様では、ＣＤ２０タンパク質は、癌細胞上に発現される。本明細書で使用する場合、「ＣＤ２０」は、全長野生型ＣＤ２０の変異、例えば、点変異、断片、挿入、欠失及びスプライスバリアントを含むタンパク質を含む。

【０３１７】

本明細書で使用する場合、用語「ＣＤ２２」は、白血病前駆細胞上で検出可能であると知られる抗原決定基を指す。ヒト及びマウスのアミノ酸及び核酸配列は、ＧｅｎＢａｎｋ、Ｕｎｉｐｒｏｔ及びＳｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔなどの公的データベースにおいて見出すことができる。例えば、アイソフォーム１～５のヒトＣＤ２２のアミノ酸配列は、それぞれ受入番号ＮＰ ００１７６２．２、ＮＰ ００１１７２０２８．１、ＮＰ ００１１７２０２９．１、ＮＰ ００１１７２０３０．１及びＮＰ ００１２６５３４６で見出され、ヒトＣＤ２２のバリアント１～５をコードするヌクレオチド配列は、それぞれ受入番号ＮＭ ００１７７１．３、ＮＭ ００１１８５０９９．１、ＮＭ ００１１８５１００．１、ＮＭ ００１１８５１０１．１及びＮＭ ００１２７８４１７．１で見出すことができる。一態様では、ＣＡＲの抗原結合部分は、ＣＤ２２タンパク質の細胞外ドメイン内の抗原を認識し、それに結合する。一態様では、ＣＤ２２タンパク質は、癌細胞上に発現される。本明細書で使用する場合、「ＣＤ２２」は、全長野生型ＣＤ２２の変異、例えば、点変異、断片、挿入、欠失及びスプライスバリアントを含むタンパク質を含む。

【０３１８】

本明細書で使用する場合、用語「ＣＤ１２３」は、一部の悪性血液癌、例えば、白血病細胞上で検出可能であると知られる抗原決定基を指す。ヒト及びマウスのアミノ酸及び核酸配列は、ＧｅｎＢａｎｋ、Ｕｎｉｐｒｏｔ及びＳｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔなどの公的データベースにおいて見出すことができる。例えば、ヒトＣＤ１２３のアミノ酸配列は、受入番号ＮＰ＿００２１７４．１（アイソフォーム１前駆体）；ＮＰ＿００１２５４６４２．１（アイソフォーム２前駆体）で見出すことができ、それらをコードするｍＲＮＡ配列は、受入番号ＮＭ＿００２１８３．３（バリアント１）；ＮＭ＿００１２６７７１３．１（バリアント２）で見出すことができる。一態様では、ＣＡＲの抗原結合部分は、ＣＤ１２３タンパク質の細胞外ドメイン内の抗原を認識し、それに結合する。一態様では、ＣＤ１２３タンパク質は、癌細胞上に発現される。本明細書で使用する場合、「ＣＤ１２３」は、全長野生型ＣＤ１２３の変異、例えば、点変異、断片、挿入、欠失及びスプライスバリアントを含むタンパク質を含む。

【０３１９】
抗体又はその抗体断片を含むＣＡＲの部分は、様々な形態において存在し得、抗原結合ドメインは、例えば、単一ドメイン抗体断片（ｓｄＡｂ）、単鎖抗体（ｓｃＦｖ）、ヒト化抗体又は二重特異性抗体を含む連続的なポリペプチド鎖の一部として発現される（Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｉｎ：Ｕｓｉｎｇ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ；Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｉｎ：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）。一態様では、本発明のＣＡＲ組成物の抗原結合ドメインは、抗体断片を含む。さらなる態様では、ＣＡＲは、ｓｃＦｖを含む抗体断片を含む。

【０３２０】
用語「同族抗原分子」は、本明細書に記載される任意の抗原を指す。一実施形態では、それは、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書に記載される任意のＣＡＲによって認識される、例えば、標的化される抗原を指す。別の実施形態では、それは、本明細書に記載される癌関連抗原を指す。一実施形態では、同族抗原分子は組換え分子である。

【０３２１】
用語「保存的配列改変」は、アミノ酸配列を含有する抗体若しくは抗体断片の結合特性に実質的に影響しないか又はそれを変化させないアミノ酸改変を指す。このような保存的改変としては、アミノ酸の置換、付加及び欠失が挙げられる。改変は、当技術分野で知られる標準技術、例えば部位特異的変異誘発及びＰＣＲによる変異誘発により本発明の抗体又は抗体断片に導入され得る。保存的アミノ酸置換は、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基と置換される置換である。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当技術分野で定義されている。これらのファミリーとしては、塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、β分岐側鎖を有するアミノ酸（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）及び芳香族側鎖を有するアミノ酸（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が挙げられる。したがって、本明細書に記載される目的のポリペプチド（例えば、ＣＡＲ）内の１つ以上のアミノ酸残基は、同一の側鎖ファミリー由来の他のアミノ酸残基と置換することができ、且つ改変された目的のポリペプチド（例えば、ＣＡＲ）は、本明細書に記載される機能性アッセイを使用して試験することができる。

【０３２２】
用語「共刺激分子」は、共刺激リガンドと特異的に結合し、それにより、限定されないが、増殖などのＴ細胞による共刺激応答を媒介するＴ細胞上の同族の結合パートナーを指す。共刺激分子は、抗原受容体以外の細胞表面分子又は効率的な免疫応答に必要とされるそれらのリガンドである。共刺激分子としては、ＭＨＣクラスＩ分子、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性活性化分子（ＳＬＡＭタンパク質）、活性化ＮＫ細胞受容体、ＢＬＴＡ、トールリガンド受容体、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ７、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）、ＧＩＴＲ、ＢＡＦＦＲ、ＬＩＧＨＴ、ＨＶＥＭ（ＬＩＧＨＴＲ）、ＫＩＲＤＳ２、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０（ＫＬＲＦ１）、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４６、ＣＤ１９、ＣＤ４、ＣＤ８アルファ、ＣＤ８ベータ、ＩＬ２Ｒベータ、ＩＬ２Ｒガンマ、ＩＬ７Ｒアルファ、ＩＴＧ

Ａ４、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が挙げられるが、これらに限定されない。共刺激細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激分子の細胞内部分を指す。細胞内シグナル伝達ドメインは、それが由来する分子の全体の細胞内部分若しくは全体の天然の細胞内シグナル伝達ドメイン又はその機能性断片を含み得る。細胞内シグナル伝達ドメインは、それが由来する分子の全体の細胞内部分若しくは全体の天然の細胞内シグナル伝達ドメイン又はその機能性断片を含み得る。

【０３２３】

「に由来する」は、その用語が本明細書で使用される場合、第１の分子と第２の分子の間の関係性を示す。それは一般に、第１の分子と第２の分子の間の構造的類似性を指し、第２の分子に由来する第１の分子におけるプロセス又は源の限定を暗示又は包含しない。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において、細胞内シグナル伝達ドメインは、必要な機能、すなわち、適切な条件下でシグナルを生成する能力を有するように十分なＣＤ３ゼータ構造を保持する。それは、細胞内シグナル伝達ドメインを生成する特定のプロセスの限定を暗示又は包含せず、例えば、それは、細胞内シグナル伝達ドメインを提供するために、ＣＤ３ゼータ配列から出発し、細胞内シグナル伝達ドメインに到達するために不必要な配列を除去するか又は変異を課さなければならないことを意味しない。

【０３２４】

本明細書に記載されるとおりの語句「腫瘍抗原の発現を伴う疾患」としては、本明細書に記載されるとおりの腫瘍抗原の発現を伴う疾患又は本明細書に記載されるとおりの腫瘍抗原を発現する細胞を伴う状態、例えば、癌若しくは悪性腫瘍又は骨髄形成異常、骨髄異形成症候群若しくは前白血病などの前癌性状態などの増殖性疾患；又は本明細書に記載される腫瘍抗原を発現する細胞を伴う非癌性の関連徴候が挙げられるが、これらに限定されない。一実施形態では、本明細書に記載されるとおりの腫瘍抗原の発現を伴う癌は、血液癌である。一実施形態では、本明細書に記載されるとおりの腫瘍抗原の発現を伴う癌は、固形癌である。本明細書に記載されるとおりの腫瘍抗原の発現を伴うさらなる疾患としては、例えば、本明細書に記載されるとおりの非定型及び／又は非古典的癌、悪性腫瘍、前癌状態又は腫瘍抗原の発現を伴う増殖性疾患が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書に記載されるとおりの腫瘍抗原の発現を伴う非癌関連徴候としては、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）及び移植が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原発現細胞は、腫瘍抗原をコードするｍＲＮＡを発現するか又は随時発現した。ある実施形態では、腫瘍抗原発現細胞は、腫瘍抗原タンパク質（例えば、野生型又は変異体）を産生し、腫瘍抗原タンパク質は、通常のレベル又は低下したレベルで存在し得る。ある実施形態では、腫瘍抗原発現細胞は、ある時点で検出可能なレベルの腫瘍抗原タンパク質を産生し、その後、実質的に検出可能な腫瘍抗原タンパク質を産生しなかった。

【０３２５】

語句「ＣＤ１９の発現を伴う疾患」としては、ＣＤ１９（例えば、野生型又は変異体ＣＤ１９）を発現する細胞を伴う疾患又はＣＤ１９（例えば、野生型又は変異体ＣＤ１９）を発現するか又は随時発現した細胞を伴う状態、例えば、癌若しくは悪性腫瘍又は骨髄形

成異常、骨髄異形成症候群若しくは前白血病などの前癌性状態などの増殖性疾患；又はＣＤ１９を発現する細胞を伴う非癌性の関連徴候が挙げられるが、これらに限定されない。疑義を回避するために述べると、ＣＤ１９の発現を伴う疾患は、例えば、ＣＤ１９を標的化する分子、例えば、ＣＤ１９　ＣＡＲによる治療のために、ＣＤ１９の発現が下方制御されたために、目下ＣＤ１９を発現しないが、一度はＣＤ１９を発現した細胞を伴う状態を含み得る。一態様では、ＣＤ１９の発現を伴う癌は、血液癌である。一態様では、血液癌は、白血病又はリンパ腫である。一態様では、ＣＤ１９の発現を伴う癌としては、例えば、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、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）を含むが、これらに限定されない１つ以上の急性白血病；例えば、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）を含むが、これらに限定されない１つ以上の慢性白血病を含むが、これらに限定されない癌及び悪性腫瘍が挙げられる。ＣＤ１９の発現を伴うさらなる癌又は血液学的状態は、例えば、Ｂ細胞前リンパ性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、ヘアリーセル白血病、小細胞型又は大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性のリンパ球増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、骨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、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ワルデンストレーム高ガンマグロブリン血症、骨髄増殖性腫瘍；組織球性障害（例えば、マスト細胞障害又は芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍）；マスト細胞障害、例えば、全身性マスト細胞症又はマスト細胞白血病；Ｂ細胞前リンパ性白血病、形質細胞性骨髄腫及び骨髄血液細胞の無効な産生（形成異常）によってまとめられる血液学的状態の多様な集合である「前白血病」などを含むが、これらに限定されない。

【０３２６】

ＣＤ１９発現の発現を伴うさらなる疾患としては、例えば、非定型及び／又は非古典的癌、悪性腫瘍、前癌状態又はＣＤ１９の発現を伴う増殖性疾患が挙げられるが、これらに限定されない。ＣＤ１９の発現を伴う非癌関連徴候としては、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）及び移植が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、ＣＤ１９発現細胞は、ＣＤ１９　ｍＲＮＡを発現するか又は随時発現した。ある実施形態では、ＣＤ１９発現細胞は、ＣＤ１９タンパク質（例えば、野生型又は変異体）を産生し、ＣＤ１９タンパク質は、通常のレベル又は低下したレベルで存在し得る。ある実施形態では、ＣＤ１９発現細胞は、ある時点で検出可能なレベルのＣＤ１９タンパク質を産生し、その後、実質的に検出可能なＣＤ１９タンパク質を産生しなかった。

【０３２７】

いくつかの実施形態では、腫瘍抗原発現細胞は、腫瘍抗原をコードするｍＲＮＡを発現するか又は随時発現した。ある実施形態では、腫瘍抗原発現細胞は、腫瘍抗原タンパク質（例えば、野生型又は変異体）を産生し、腫瘍抗原タンパク質は、通常のレベル又は低下したレベルで存在し得る。ある実施形態では、腫瘍抗原発現細胞は、ある時点で検出可能なレベルの腫瘍抗原タンパク質を産生し、その後、実質的に検出可能な腫瘍抗原タンパク質を産生しなかった。他の実施形態では、疾患は、ＣＤ１９陰性癌、例えば、ＣＤ１９陰性再発性癌である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原（例えば、ＣＤ１９）発現細胞は、腫瘍抗原をコードするｍＲＮＡを発現するか又は随時発現した。ある実施形態では、腫瘍抗原（例えば、ＣＤ１９）発現細胞は、腫瘍抗原タンパク質（例えば、野生型又は変異体）を産生し、腫瘍抗原タンパク質は、通常のレベル又は低下したレベルで存在し得る。ある実施形態では、腫瘍抗原（例えば、ＣＤ１９）発現細胞は、ある時点で検出可能なレベルの腫瘍抗原タンパク質を産生し、その後、実質的に検出可能な腫瘍抗原タンパク質を産生しなかった。

【０３２８】

用語「エフェクター機能」は、特殊化された細胞の機能を指す。Ｔ細胞のエフェクター機能は、例えば、サイトカインの分泌を含む細胞溶解活性又はヘルパー活性であり得る。

用語「コードする」は、ヌクレオチド（例えば、ｒＲＮＡ、ｔＲＮＡ及びｍＲＮＡ）の規定の配列又はアミノ酸の規定の配列のいずれかを有する、生物学的プロセスにおける他のポリマー及び巨大分子の合成のための鋳型として機能する、遺伝子、ｃＤＮＡ又はｍＲＮＡなどのポリヌクレオチド中のヌクレオチドの特定の配列の固有の特性及びそれにより生じる生物学的特性を指す。したがって、遺伝子、ｃＤＮＡ又はＲＮＡは、細胞又は他の生物系中で、その遺伝子に対応するｍＲＮＡの転写及び翻訳によりタンパク質が産生される場合、タンパク質をコードする。ヌクレオチド配列がｍＲＮＡ配列と同一であり、通常、配列表において提供されるコード鎖及び遺伝子又はｃＤＮＡの転写のための鋳型として使用される非コード鎖は両方ともに、その遺伝子又はｃＤＮＡのタンパク質又は他の生成物をコードするものとして参照され得る。

【０３２９】

用語「内因性」は、生物体、細胞、組織又は系の内部に由来するか又はその内部で産生される任意の物質を指す。

【０３３０】

用語「外因性」は、生物体、細胞、組織又は系の外部から導入されるか又はその外部で産生される任意の物質を指す。

【０３３１】

用語「発現」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。

【０３３２】

用語「４－１ＢＢ」は、ＧｅｎＢａｎｋ　Ａｃｃ．Ｎｏ．ＡＡＡ６２４７８．２又は例えばマウス、齧歯類、サル、類人猿などの非ヒト種に由来する同等の残基として提供されるアミノ酸配列を有するＴＮＦＲスーパーファミリーのメンバーを指し；及び「４－１ＢＢ共刺激ドメイン」は、ＧｅｎＢａｎｋ　Ａｃｃ．Ｎｏ．ＡＡＡ６２４７８．２のアミノ酸残基２１４～２５５又は例えばマウス、齧歯類、サル、類人猿などの非ヒト種に由来する同等の残基として定義される。一態様では、「４－１ＢＢ共刺激ドメイン」は、配列番号１５８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、類人猿などに由来する同等の残基である。

【０３３３】

用語「発現ベクター」は、発現されることにな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、発現のための十分なシスエレメントを含み；発現のための他のエレメントは、宿主細胞によって又はインビトロ発現系において供給され得る。発現ベクターは、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中に含有される）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）を含む、当技術分野で知られる全てのものを含む。

【０３３４】

用語「相同」又は「同一性」は、２つのポリマー分子間、例えば、２つの核酸分子間、例えば、２つのＤＮＡ分子又は２つのＲＮＡ分子間又は２つのポリペプチド分子間のサブユニット配列の同一性を指す。２つの分子の両方におけるサブユニットの位置が同じモノマーのサブユニットで占められている場合、例えば、２つのＤＮＡ分子それぞれにおける位置がアデニンで占められている場合、それらは、その位置において相同又は同一である。２つの配列間の相同性は、マッチした位置又は相同な位置の数の一次関数であり、例えば、２つの配列中の位置の半分（例えば、ポリマーの長さが１０個のサブユニット中の５個の位置）が相同である場合、２つの配列は５０％相同であり、位置の９０％（例えば、１０個のうち９個）がマッチしているか又は相同である場合、２つの配列は９０％相同である。

【０３３５】

本発明の組成物及び方法は、指定された配列又はそれに対して実質的に同一若しくは類似した配列、例えば、指定された配列と少なくとも８５％、９０％、９５％以上同一な配

列を有するポリペプチド及び核酸を包含する。アミノ酸配列に関連して、用語「実質的に同一」は、第１及び第２のアミノ酸配列が共通の構造ドメイン及び／又は共通の機能的活性を有し得るように、第２のアミノ酸配列とｉ）同一又はｉｉ）整列されたアミノ酸残基の保存的置換である十分又は最小数のアミノ酸残基を含有する、第１のアミノ酸を指すために本明細書で使用される。例えば、参照配列、例えば本明細書で提供される配列と少なくとも約８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％の同一性を有する共通の構造ドメインを含有するアミノ酸配列である。

【０３３６】

ヌクレオチド配列に関連して、用語「実質的に同一」は、第１及び第２のヌクレオチド配列が共通の機能活性を有するポリペプチドをコードするか、又は共通の構造的ポリペプチドドメイン若しくは共通の機能的ポリペプチド活性をコードするように、第２のヌクレオチド配列において整列されたヌクレオチドと同一である十分又は最小数のヌクレオチドを含有する第１の核酸配列を指すために本明細書で使用される。例えば、参照配列、例えば本明細書で提供される配列と少なくとも約８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％の同一性を有するヌクレオチド配列である。

【０３３７】

用語「変異体」は、天然に存在する配列と実質的に同一なアミノ酸配列を有するか、又は実質的に同一なヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドを指す。いくつかの実施形態では、変異体は、機能的変異体である。

【０３３８】

用語「機能的変異体」は、天然に存在する配列と実質的に同一のアミノ酸配列を有するか、又は実質的に同一のヌクレオチド配列によってコードされ、且つ天然に存在する配列の１つ以上の活性を有することができるポリペプチドを指す。

【０３３９】

配列Ｘの用語「ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合変異体」は、（１）配列Ｘと実質的に同一なアミノ酸配列を有し、且つ（２）ＣＯＦ１に結合し、ＣＯＦ１とＣＲＢＮの複合体に結合するか、又はＣＯＦ１の存在下でＣＲＢＮに結合するポリペプチドを指す。

【０３４０】

配列Ｘの用語「ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合変異体」は、（１）配列Ｘと実質的に同一なアミノ酸配列を有し、且つ（２）ＣＯＦ２に結合し、ＣＯＦ２とＣＲＢＮの複合体に結合するか、又はＣＯＦ２の存在下でＣＲＢＮに結合するポリペプチドを指す。

【０３４１】

配列Ｘの用語「ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合変異体」は、（１）配列Ｘと実質的に同一なアミノ酸配列を有し、且つ（２）ＣＯＦ３に結合し、ＣＯＦ３とＣＲＢＮの複合体に結合するか、又はＣＯＦ３の存在下でＣＲＢＮに結合するポリペプチドを指す。

【０３４２】

「免疫エフェクター細胞」は、その用語が本明細書で使用される場合、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、例えばアルファ／ベータＴ細胞及びガンマ／デルタ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、マスト細胞及び骨髄由来貪食細胞が挙げられる。

【０３４３】

「免疫エフェクター機能又は免疫エフェクター応答」は、その用語が本明細書で使用される場合、例えば、標的細胞の免疫攻撃を増強又は促進する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、標的細胞の殺傷又は標的細胞の成長若しくは増殖の阻害を促進するＴ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。

【０３４４】

用語「阻害」又は「阻害剤」は、特定のパラメーター、例えば、所与の分子、例えば、

ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ１０、ＣＤ２２、ＣＤ３４、ＣＤ１２３、ＦＬＴ－３、ＲＯＲ１、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ１７９ｂ、メソセリン又はＣＤ７９ａの活性の低下を含む。例えば、活性、例えば、ＣＤ２０、ＣＤ１０、ＣＤ１９、ＣＤ２２、ＣＤ３４、ＣＤ１２３、ＦＬＴ－３、ＲＯＲ１、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ１７９ｂ、メソセリン又はＣＤ７９ａの活性の少なくとも５％、１０％、２０％、３０％、４０％以上の阻害が、この用語によって含まれる。このように、阻害は１００％である必要はない。阻害剤に関する活性は、本明細書に記載されるとおり又は当技術分野において知られるアッセイによって決定され得る。

【０３４５】

「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場合、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ＣＡＲＴ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ことができる。例えば、ＣＡＲＴ細胞における免疫エフェクター機能の例としては、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挙げられる。実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、エフェクター機能シグナルを伝達し、且つ細胞を特殊化された機能を発揮するように方向づけるタンパク質の部分である。細胞内シグナル伝達ドメインの全体が利用され得るが、多くの場合、全体の鎖を使用する必要はない。細胞内シグナル伝達ドメインのトランケートされた部分が使用される範囲で、そのようなトランケートされた部分は、エフェクター機能シグナルを伝達する限り、無傷の鎖の代わりに使用され得る。したがって、細胞内シグナル伝達ドメインという用語は、エフェクター機能シグナルを伝達するのに十分な細胞内シグナル伝達ドメインのいずれかのトランケートされた部分を含むものとする。

【０３４６】

ある実施形態では、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。例示的な一次細胞内シグナル伝達ドメインとしては、一次刺激又は抗原依存的刺激に関与する分子に由来するものが挙げられる。ある実施形態では、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。例示的な共刺激細胞内シグナル伝達ドメインとしては、共刺激シグナル又は抗原依存的刺激に関与する分子に由来するものが挙げられる。例えば、ＣＡＲＴの場合、一次細胞内シグナル伝達ドメインは、Ｔ細胞受容体の細胞質内配列を含み得、且つ共刺激細胞内シグナル伝達ドメインは、共受容体又は共刺激分子由来の細胞質内配列を含み得る。

【０３４７】

一次細胞内シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン系活性化モチーフ又はＩＴＡＭとしても知られるシグナル伝達モチーフを含み得る。一次細胞質内シグナル伝達配列を含有するＩＴＡＭの例としては、ＣＤ３ゼータ、ＦｃＲガンマ、ＦｃＲベータ、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ５、ＣＤ２２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ２７８（「ＩＣＯＳ」）、ＦｃεＲＩ、ＣＤ６６ｄ、ＣＤ３２、ＤＡＰ１０及びＤＡＰ１２に由来するものが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３４８】

用語「単離された」は、天然の状態から改変されたか又は取り出された状態を意味する。例えば、生存している動物内に天然に存在する核酸又はペプチドは、「単離されて」いないが、その天然の状態の共存物質から部分的に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」。単離された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の非天然環境において存在することができる。

【０３４９】

本明細書で使用する場合、用語「メソセリン」は、４０ｋＤａのタンパク質であるメソセリンを指し、これは、グリコシルホスファチジルイノシトール（ＧＰＩ）結合及び巨核球（ｍｅｇｋａｒｙｏｃｙｔｅ）増強因子（ＭＰＦ）と呼ばれるアミノ末端の３１ｋＤａの取り除かれる断片によって細胞膜で固定される。両方の断片が、Ｎ－グリコシル化部位を含有する。本用語は、「可溶性メソセリン／ＭＰＦ関連」とも呼ばれる４０ｋＤａのカルボキシ末端断片の可溶性スプライスバリアントも指す。好ましくは、本用語は、例えば

、細胞膜、例えば癌細胞膜上で発現されるＧｅｎＢａｎｋ受入番号ＡＡＨ０３５１２．１のヒトメソセリン及び自然に切断されるその部分を指す。本明細書で使用する場合、「メソセリン」は、全長野生型メソセリンの変異、例えば、点変異、断片、挿入、欠失及びスプライスバリアントを含むタンパク質を含む。

【０３５０】

別段の指定がない限り、「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、且つ同じアミノ酸配列をコードする全てのヌクレオチド配列を含む。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は、タンパク質をコードするヌクレオチド配列が、いくつかのバージョンにおいて、イントロンを含有し得る範囲までイントロンも含み得る。

【０３５１】

本発明に関連して、一般に存在する核酸塩基に関する以下の略語が使用される。「Ａ」はアデノシンを指し、「Ｃ」はシトシンを指し、「Ｇ」はグアノシンを指し、「Ｔ」はチミジンを指し、「Ｕ」はウリジンを指す。

【０３５２】

用語「核酸」又は「ポリヌクレオチド」は、デオキシリボ核酸（ＤＮＡ）若しくはリボ核酸（ＲＮＡ）又はそのＤＮＡ若しくはＲＮＡの組合せ及び一本鎖又は二本鎖形態のいずれかのそのポリマーを指す。用語「核酸」は、遺伝子、ｃＤＮＡ又はｍＲＮＡを含む。一実施形態では、核酸分子は、合成的（例えば、化学的に合成される）又は組換え体である。特に限定しない限り、本用語は、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様式で代謝される、天然ヌクレオチドの類似体又は誘導体を含有する核酸を包含する。別段の指示がない限り、特定の核酸配列は、明示的に示される配列だけでなく、保存的に改変されたその変異体（例えば、縮重コドン置換）、アレル、オルソログ、ＳＮＰ及び相補的配列も暗示的に包含する。とりわけ、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作製することによって実現し得る（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））。

【０３５３】

用語「ペプチド」、「ポリペプチド」及び「タンパク質」は、互換的に使用され、ペプチド結合によって共有結合され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、タンパク質又はペプチドの配列を含み得るアミノ酸数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り連結した２つ以上のアミノ酸を含むあらゆるペプチド又はタンパク質を含む。本明細書で使用する場合、本用語は、例えば、当技術分野で一般にペプチド、オリゴペプチド及びオリゴマーと呼ばれる短鎖並びに当技術分野で一般にタンパク質と呼ばれ、多くの種類が存在する長鎖の両方を指す。「ポリペプチド」は、とりわけ、例えば、生物学的に活性な断片、実質的に相同のポリペプチド、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、融合タンパク質を含む。ポリペプチドは天然ペプチド、組換えペプチド又はこれらの組合せを含む。

【０３５４】

用語「作動可能に連結された」又は「転写制御」は、制御配列と異種核酸配列との間の後者の発現をもたらす機能的連結を指す。例えば、第１の核酸配列は、第１の核酸配列が第２の核酸配列と機能的な関係に置かれるとき、第２の核酸配列と作動可能に連結されている。例えば、プロモーターは、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にコード配列と作動可能に連結されている。作動可能に連結されたＤＮＡ配列は、互いに連続し得、例えば２つのタンパク質のコード領域を結合するために必要な場合、同じ読み枠内にある。

【０３５５】
免疫原性組成物の用語「非経口」投与としては、例えば、皮下（ｓ．ｃ．）、静脈内（ｉ．ｖ．）、筋肉内（ｉ．ｍ．）若しくは胸骨内注射、腫瘍内又は注入技術が挙げられる。
【０３５６】
用語「プロモーター」は、ポリヌクレオチド配列の特定の転写を開始するために必要な、細胞の合成装置又は導入された合成装置によって認識されるＤＮＡ配列を指す。
【０３５７】
用語「プロモーター／制御配列」は、プロモーター／制御配列に作動可能に連結された遺伝子産物の発現に必要とされる核酸配列を指す。いくつかの場合、この配列は、コアプロモーター配列である場合があり、他の場合、この配列は、遺伝子産物の発現に必要とされるエンハンサー配列及び他の調節エレメントも含む場合がある。プロモーター／制御配列は、例えば、組織特異的様式において遺伝子産物を発現するものであり得る。
【０３５８】
用語「シグナル伝達ドメイン」は、二次メッセンジャーの生成により又はこのようなメッセンジャーに応答することによってエフェクターとして機能することにより、規定されたシグナル伝達経路を経て細胞活性を制御するために、細胞内で情報を伝達することにより作用するタンパク質の機能性部分を指す。
【０３５９】
用語「ｓｃＦｖ」は、軽鎖の可変領域を含む少なくとも１つの抗体断片と重鎖の可変領域を含む少なくとも１つの抗体断片とを含む融合タンパク質を指し、軽鎖可変領域と重鎖可変領域は、例えば合成リンカー、例えば短いフレキシブルポリペプチドリンカーを介し隣接して結合され、且つ一本鎖ポリペプチドとして発現することが可能であり、ｓｃＦｖは、それが由来するインタクト抗体の特異性を保持する。指定がない限り、本明細書で使用する場合、ｓｃＦｖは、ＶＬ及びＶＨ可変領域を次のいずれかの順序で有し得、例えば、融合ポリペプチドのＮ末端及びＣ末端に対して、ｓｃＦｖはＶＬ－リンカー－ＶＨを含み得るか、又はＶＨ－リンカー－ＶＬを含み得る。
【０３６０】
抗体又はその抗体断片を含むＣＡＲの部分は、様々な形態において存在し得、抗原結合ドメインは、例えば、単一ドメイン抗体断片（ｓｄＡｂ）、単鎖抗体（ｓｃＦｖ）及びヒト化抗体を含む連続的なポリペプチド鎖の一部として発現される（Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｉｎ：Ｕｓｉｎｇ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ；Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｉｎ：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）。一実施形態では、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、抗体断片を含む。さらなる実施形態では、ＣＡＲは、ｓｃＦｖを含む抗体断片を含む。本明細書で使用する場合、用語「結合ドメイン」又は「抗体分子」は、タンパク質、例えば少なくとも１つの免疫グロブリン可変ドメイン配列を含む免疫グロブリン鎖又はその断片を指す。用語「結合ドメイン」又は「抗体分子」は、抗体及び抗体断片を包含する。ある実施形態では、抗体分子は、多重特異性抗体分子であり、例えば、それは、複数の免疫グロブリン可変ドメイン配列を含み、その複数のうちの第１の免疫グロブリン可変ドメイン配列は、第１のエピトープに対する結合特異性を有し、その複数のうちの第２の免疫グロブリン可変ドメイン配列は、第２のエピトープに対する結合特異性を有する。ある実施形態では、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つ以下の抗原に対する特異性を有する。二重特異性抗体分子は、第１のエピトープに対する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のエピトープに対する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。
【０３６１】

用語「刺激」は、刺激分子（例えば、ＴＣＲ／ＣＤ３複合体又はＣＡＲ）とその同族リガンド（例えば、抗原分子）の結合により、限定はされないが、ＴＣＲ／ＣＤ３複合体を介する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するシグナル伝達などのシグナル伝達現象を媒介することによって誘導される一次応答を指す。刺激は、特定の分子の改変された発現を媒介することができる。

【０３６２】

用語「刺激分子」は、免疫細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞、Ｂ細胞）によって発現される分子を指し、この分子は、免疫細胞シグナル伝達経路の少なくとも一部の態様に対して刺激性の様式で免疫細胞の活性化を制御する細胞質内シグナル伝達配列を提供する。一態様では、シグナルは、例えば、ペプチドを担持したＭＨＣ分子とＴＣＲ／ＣＤ３複合体との結合によって開始され、増殖、活性化、分化などを含むがこれらに限定されないＴ細胞応答の媒介をもたらす一次シグナルである。刺激性の様式において作用する一次細胞内シグナル伝達配列（「一次シグナル伝達ドメイン」とも称される）は、免疫受容体チロシン系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有し得る。本発明において特に有用な細胞質内シグナル伝達配列を含有するＩＴＡＭの例としては、ＣＤ３ゼータ、共通の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デルタ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＤＡＰ１０及びＤＡＰ１２に由来するものが挙げられるが、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ＣＡＲＳ中の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１６３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、類人猿などに由来する同等の残基である。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１６６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、類人猿などに由来する同等の残基である。

【０３６３】

用語「トランファーベクター」は、単離された核酸を含み且つ細胞の内部に単離された核酸を送達するために使用され得る物質の組成物を指す。線状ポリヌクレオチド、イオン性又は両親媒性化合物と結合したポリヌクレオチド、プラスミド及びウイルスを含むが、これらに限定されない多数のベクターが当技術分野で知られている。したがって、用語「トランスファーベクター」は、自律的に複製するプラスミド又はウイルスを含む。本用語は、細胞への核酸の移送を容易にする非プラスミド及び非ウイルス化合物、例えば、ポリリジン化合物、リポソームなどをさらに含むようにも解釈されるべきである。ウイルストランスファーベクターの例としては、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レトロウイルスベクター、レンチウイルスベクターなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３６４】

用語「ゼータ」又は代わりに「ゼータ鎖」、「ＣＤ３－ゼータ」若しくは「ＴＣＲ－ゼータ」は、ＧｅｎＢａｎｋ　Ａｃｃ．Ｎｏ．ＢＡＧ３６６６４．１又は非ヒト種、例えば、マウス、齧歯類、サル、類人猿などに由来する同等の残基として提供されるタンパク質として定義され、また「ゼータ刺激ドメイン」又は代わりに「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、Ｔ細胞活性化に必要な最初の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内ドメインに由来するアミノ酸残基として定義される。一態様では、ゼータの細胞質内ドメインは、ＧｅｎＢａｎｋ　Ａｃｃ．Ｎｏ．ＢＡＧ３６６６４．１の残基５２～１６４又はその機能的オルソログである、例えばマウス、齧歯類、サル、類人猿などの非ヒト種に由来する同等の残基を含む。一態様では、「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１６３（変異体ＣＤ３ゼータ）として提供される配列である。一態様では、「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１６６（野生型ヒトＣＤ３ゼータ）として提供される配列である。

【０３６５】
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指定するポリヌクレオチドと作動可能に連結されるとき、細胞の大部分又は全ての生理的条件下の細胞において産生されることになる遺伝子産物をもたらすヌクレオチド配列を指す。
【０３６６】
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指定するポリヌクレオチドと作動可能に連結されるとき、実質的にプロモーターに対応する誘導因子が細胞中に存在するときのみ細胞において産生されることになる遺伝子産物をもたらすヌクレオチド配列を指す。
【０３６７】
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遺伝子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のみ細胞において産生されることになる遺伝子産物をもたらすヌクレオチド配列を指す。
【０３６８】
用語「癌関連抗原」、「腫瘍抗原」、「過剰増殖障害抗原」及び「過剰増殖障害と関連する抗原」は、特定の過剰増殖障害に共通する抗原を互換的に指す。いくつかの実施形態では、これらの用語は、全体的に又は断片（例えば、ＭＨＣ／ペプチド）のいずれかとして癌細胞の表面上で発現される分子（通常、タンパク質、炭水化物又は脂質）を指し、これは、癌細胞に対する薬理学的薬剤の優先的な標的化に有用である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原は、正常細胞及び癌細胞、例えば系統マーカー、例えばＢ細胞上のＣＤ１９の両方によって発現されるマーカーである。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原は、正常細胞と比較して癌細胞において過剰発現される細胞表面分子であり、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倍以上の過剰発現である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原は、癌細胞において不適切に合成される細胞表面分子、例えば正常細胞上で発現される分子と比較して欠失、付加又は変異を含有する分子である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原は、癌細胞の細胞表面上で全体的に又は断片（例えば、ＭＨＣ／ペプチド）として排他的に発現されることになり、正常細胞の表面上で合成又は発現されない。特定の態様では、本発明の過剰増殖障害抗原は、原発性又は転移性黒色腫、胸腺腫、リンパ腫、肉腫、肺癌、肝臓癌、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、白血病、子宮癌、子宮頸癌、膀胱癌、腎臓癌及び乳癌などの腺癌、前立腺癌（例えば、去勢抵抗性若しくは治療抵抗性前立腺癌又は転移性前立腺癌）、卵巣癌、膵臓癌など、又は形質細胞増殖性障害、例えば、無症候性骨髄腫（くすぶり型多発性骨髄腫又は緩徐進行型骨髄腫）、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症（ＭＧＵＳ）、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、形質細胞腫（例えば、形質細胞異常増殖症、孤立性骨髄腫、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫及び多発性形質細胞腫）、全身性アミロイド軽鎖アミロイド症及びＰＯＥＭＳ症候群（クロウ・深瀬症候群、高月病及びＰＥＰ症候群としても知られる）を含むが、これらに限定されない癌に由来する。いくつかの実施形態では、本発明のＣＡＲとしては、ＭＨＣ提示ペプチドに結合する抗原結合ドメイン（例えば、抗体又は抗体断片）を含むＣＡＲが挙げられる。通常、内因性タンパク質に由来するペプチドは、主要組織適合抗原複合体（ＭＨＣ）クラスＩ分子のポケットをふさぎ、且つ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、全ての有核細胞によって構成的に発現される。癌において、ウイルス特異的及び／又は腫瘍特異的ペプチド／ＭＨＣ複合体は、免疫療法に関する細胞表面標的の特有のクラスを表す。ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）－Ａ１又はＨＬＡ－Ａ２との関係においてウイルス又は腫瘍抗原に由来するペプチドを標的化する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ーなどのライブラリーをスクリーニングすることから同定され得る。

【０３６９】

使用される用語「フレキシブルポリペプチドリンカー」又は「リンカー」は、２つのポリペプチド、例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドと異種ポリペプチド又は可変重鎖領域と可変軽鎖領域を合わせてに連結するために、単独で又は組み合わせて使用されるグリシン及び／又はセリン残基などのアミノ酸を含むか又はそれらからなるペプチドリンカーを指す。一実施形態では、フレキシブルポリペプチドリンカーはＧｌｙ／Ｓｅｒリンカーであり、アミノ酸配列（Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ）ｎ（配列番号１７３）を含み、ｎは、１以上の正の整数である。例えば、ｎ＝１、ｎ＝２、ｎ＝３、ｎ＝４、ｎ＝５，ｎ＝６、ｎ＝７、ｎ＝８、ｎ＝９及びｎ＝１０である。一実施形態では、フレキシブルポリペプチドリンカーとしては、（Ｇｌｙ４ Ｓｅｒ）４（配列番号１４１）又は（Ｇｌｙ４ Ｓｅｒ）３（配列番号１４２）が挙げられるが、これらに限定されない。別の実施形態では、リンカーは、（Ｇｌｙ２Ｓｅｒ）、（ＧｌｙＳｅｒ）又は（Ｇｌｙ３Ｓｅｒ）（配列番号１４３）の複数の反復を含む。参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１２／１３８４７５号パンフレットにおいて記載されるリンカーも本発明の範囲に含まれる。

【０３７０】

本明細書で使用する場合、「一過的な」は、数時間、数日又は数週間の期間の組み込まれていない導入遺伝子の発現を指し、その発現の期間は、ゲノムに組み込まれるか又は細胞中の安定なプラスミドレプリコン内に含有される場合の遺伝子の発現のための期間よりも短い。実施形態において、ＣＡＲ分子は、細胞、例えば宿主細胞中で、限られた時間又は細胞複製数、例えば、５０日未満（例えば、４０日未満、３０日、２５日、２０日、１５日、１０日、５日、４日、３日、２日又はそれ以下）、一過的に発現される。一実施形態では、一過的な発現は、インビトロで転写されたＲＮＡを用いてもたらされる。

【０３７１】

本明細書で使用する場合、「安定な」は、一過的な発現より長い時間の導入遺伝子の発現を指す。実施形態において、導入遺伝子は、細胞、例えば宿主細胞のゲノムに組み込まれるか又は細胞中の安定なプラスミドレプリコン内に含有される。一実施形態において、導入遺伝子は、遺伝子送達ベクター、例えばレンチウイルスベクターなどのレトロウイルスベクターを使用して、細胞ゲノムに組み込まれる。

【０３７２】

本明細書で使用する場合、用語「治療する」、「治療」及び「治療すること」は、１つ以上の治療剤（例えば、本発明のＣＡＲなどの１以上の治療剤）の投与に起因する、増殖性障害の進行、重症度及び／又は持続の低減又は改善、又は増殖性障害の１つ以上の症状（例えば、１つ以上の識別可能な症状）の改善を指す。特定の実施形態では、用語「治療する」、「治療」及び「治療すること」は、患者によって必ずしも識別可能ではない腫瘍の増殖などの増殖性障害の少なくとも１つの測定可能な身体的パラメーターの改善を指す。他の実施形態では、用語「治療する」、「治療」又は「治療すること」は、身体的に、例えば、識別可能な症状の安定化、生理学的に、例えば、身体的パラメーターの安定化のいずれか又は両方による増殖性障害の進行の阻害を指す。他の実施形態では、用語「治療する」、「治療」又は「治療すること」は、腫瘍サイズ又は癌性細胞の数の低減又は安定化を指す。治療は１００％である必要はなく、いくつかの実施形態において、疾患又は障害の少なくとも１つの症状の少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％又は９９％の低減又は遅延が、これらの用語の範囲内と見なされるのに十分である。

【０３７３】

用語「対象」は、免疫応答が誘発され得る生存している生物（例えば、哺乳動物、例え

ば、ヒト）を含むことが意図される。対象の例としては、ヒト、サル、チンパンジー、イヌ、ネコ、マウス、ラット及びそのトランスジェニック種が挙げられる。Ｔ細胞は、末梢血単核球、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位由来の組織、腹水、胸水、脾臓組織及び腫瘍を含む、いくつかの供給源から得ることができる。

【０３７４】

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、外因性核酸が宿主細胞に移行又は導入される方法を指す。「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、外因性核酸でトランスフェクトされたか、形質転換されたか又は形質導入されたものである。細胞は初代対象細胞及びその子孫を含む。

【０３７５】

用語「特異的に結合する」は、試料に存在する同族結合パートナータンパク質を認識し、且つそれに結合する抗体又はリガンドを指すが、その抗体又はリガンドは試料における他の分子を実質的に認識しないか又はそれに結合しない。

【０３７６】

範囲：この開示全体にわたって、本発明の種々の態様が範囲の形で提供され得る。範囲の形での記載は単に利便性及び簡潔さのためであり、本発明の範囲の確固たる限定として解釈されるべきではないことが理解されるべきである。したがって、範囲の記載は、全ての可能な部分範囲並びにその範囲内の個々の数値が具体的に開示されていると解釈されるべきである。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などの部分範囲並びにその範囲内の個々の数値、例えば、１、２、２．７、３、４、５、５．３及び６が具体的に開示されていると解釈されるべきである。別の例として、９５～９９％同一性などの範囲は、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％同一性を有するものを含み、９６～９９％、９６～９８％、９６～９７％、９７～９９％、９７～９８％及び９８～９９％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。

【０３７７】

特定の官能基及び化学用語の定義は、以下でより詳細に記載される。化学元素は、Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｐｈｙｓｉｃｓ，７５ｔｈ Ｅｄ．の内表紙にあるＣＡＳ方式の元素周期表に従って特定され、且つ特定の官能基は一般的に、そこに記載のとおり定義される。さらに、有機化学の一般原則並びに特定の官能部分及び反応性は、Ｔｈｏｍａｓ Ｓｏｒｒｅｌｌ，Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｂｏｏｋｓ，Ｓａｕｓａｌｉｔｏ，１９９９； Ｓｍｉｔｈ ａｎｄ Ｍａｒｃｈ，Ｍａｒｃｈ’ｓ Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，５ｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，２００１；Ｌａｒｏｃｋ，Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｔｒａｎｓｆｏｒｍａｔｉｏｎｓ，ＶＣＨ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８９；及びＣａｒｒｕｔｈｅｒｓ，Ｓｏｍｅ Ｍｏｄｅｒｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，３ｒｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，１９８７に記載されている。

【０３７８】

本明細書で使用する場合、用語「アルキル」は、１～１２個、１～１０個又は１～６個の炭素原子の直鎖状又は分岐状の基などの一価飽和、直鎖状又は分岐状鎖の炭化水素を指し、本明細書ではそれぞれ、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{12}$アルキル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$アルキル及びＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルと呼ばれる。アルキル基の例としては、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、イソ－ブチル、ｓｅｃ－ブチル、ｓｅｃ－ペンチル、イソ－ペンチル、ｔｅｒｔ－ブチル、ｎ－ペンチル、ネオペンチル、ｎ－ヘキシル、ｓｅｃ－ヘキシルなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３７９】

本明細書で使用する場合、用語「アルケニル」及び「アルキニル」は、上記のアルキルに対して長さ及び可能な置換が類似するが、それぞれ少なくとも１つの二重結合又は三重結合を含有する不飽和脂肪族基を指す。例示的なアルケニル基としては、ＣＨ＝ＣＨ$_2$及びＣＨ$_2$ＣＨ＝ＣＨ$_2$が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３８０】

本明細書で使用する場合、用語「アルコキシ」は、鎖中に末端「Ｏ」を含有する１～１２個の炭素原子を含有する直鎖又は分岐鎖の鎖飽和炭化水素、例えば、－Ｏ（アルキル）を指す。アルコキシ基の例としては、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシ、ｔ－ブトキシ又はペントキシ基が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３８１】

本明細書で使用する場合、用語「アリール」は、少なくとも１つの環が芳香族である、単環式、二環式又は多環式炭化水素環系を指す。代表的なアリール基としては、フェニル（例えば、（Ｃ$_6$）アリール）、ナフチル（例えば、（Ｃ$_{10}$）アリール）及びアントラセニル（例えば、（Ｃ$_{14}$）アリール）などの完全な芳香族環系並びに芳香族炭素環が、インダニル、フタルイミジル、ナフチミジル又はテトラヒドロナフチルなどの１つ以上の非芳香族炭素環に縮合される環系が挙げられる。

【０３８２】

本明細書で使用する場合、用語「カルボシクリル」は、３～１８個の炭素原子を含有する単環式又は縮合、スピロ縮合及び／若しくは架橋二環式又は多環式炭化水素環系を指し、各環は、完全に飽和されているか又は１つ以上の不飽和の単位を含有するが、環は芳香族ではない。代表的なカルボシクリル基としては、シクロアルキル基（例えば、シクロペンチル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルなど）及びシクロアルケニル基（例えば、シクロペンテニル、シクロヘキセニル、シクロペンタジエニルなど）が挙げられる。

【０３８３】

本明細書で使用する場合、用語「カルボニル」は、－Ｃ＝Ｏを指す。

【０３８４】

本明細書で使用する場合、用語「シアノ」は、－ＣＮを指す。

【０３８５】

本明細書で使用する場合、用語「ハロ」又は「ハロゲン」は、フッ素（フルオロ、－Ｆ）、塩素（クロロ、－Ｃｌ）、臭素（ブロモ、－Ｂｒ）又はヨウ素（ヨード、－Ｉ）を指す。

【０３８６】

本明細書で使用する場合、用語「ハロアルキル」は、鎖中の少なくとも１つの炭素原子が１つ以上のハロゲン原子で置換されている、一価飽和直鎖状又は分岐状アルキル鎖を指す。いくつかの実施形態では、ハロアルキル基は、例えば、１～１２、１～１０又は１～６個の炭素原子を含み得、本明細書でＣ$_1$～Ｃ$_{12}$ハロアルキル、Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$ハロアルキル及びＣ$_1$～Ｃ$_6$ハロアルキルとして参照される。ハロアルキル基の例としては、トリフルオロメチル、ジフルオロメチル、ペンタフルオロエチル、トリクロロメチルなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３８７】

用語「ハロアルコキシ」は、鎖中に末端「Ｏ」を含有する１～１２個の炭素原子を含有する直鎖又は分岐鎖の飽和炭化水素を指し、鎖中の少なくとも１つの炭素原子が１つ以上のハロゲンで置換されている。ハロアルコキシ基の例としては、トリフルオロメトキシ、ジフルオロメトキシ、ペンタフルオロエトキシ、トリクロロメトキシなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３８８】

本明細書で使用する場合、用語「ヘテロアルキル」は、一価飽和直鎖状又は分岐状アルキル鎖を指し、鎖中の少なくとも１つの炭素原子は、Ｏ、Ｓ又はＮなどのヘテロ原子で置換されるが、但し、置換される際、鎖は少なくとも１つの炭素原子を含む。いくつかの実

施形態では、ヘテロアルキル基は、例えば、１～１２、１～１０又は１～６個の炭素原子を含み得、本明細書でC_1～C_{12}ヘテロアルキル、C_1～C_{10}ヘテロアルキル及びC_1～C_6ヘテロアルキルとして参照される。特定の場合において、ヘテロアルキル基は、アルキル鎖中の１、２、３又は４個の個々の炭素原子の代わりに、１、２、３又は４個の独立して選択されるヘテロ原子を含む。代表的なヘテロアルキル基としては、$-CH_2NHC(O)CH_3$、$-CH_2CH_2OCH_3$、$-CH_2CH_2NHCH_3$、$-CH_2CH_2N(CH_3)CH_3$などが挙げられる。

【０３８９】

本明細書で使用する場合、用語「アルケン」、「アルケニレン」、「アルキニレン」及び「ヘテロアルキレン」は、それぞれアルキル、アルケニル、アルキニル又はヘテロアルキル基の二価の基を指す。一価のアルキル、アルケニル、アルキニル又はヘテロアルキル基のいずれかは、アルキル、アルケニル、アルキニル又はヘテロアルキル基からの２つ目の水素の除去によるアルキレン、アルケニレン、アルキニレン又はヘテロアルキレンであり得る。

【０３９０】

本明細書で使用する場合、用語「ヘテロアリール」は、少なくとも１つの環が両方とも芳香族であり、且つヘテロ原子を含み；且つ他の環がヘテロシクリルではない（下に定義されるとおり）、単環式、二環式又は多環式環系を指す。代表的なヘテロアリール基としては、（ｉ）各環がヘテロ原子を含み、且つ芳香族、例えば、イミダゾリル、オキサゾリル、チアゾリル、トリアゾリル、ピロリル、フラニル、チオフェニル、ピラゾリル、ピリジニル、ピラジニル、ピリダジニル、ピリミジニル、インドリジニル、プリニル、ナフチリジニル及びプテリジニルである；（ｉｉ）各環が、芳香族又はカルボシクリルであり、少なくとも１つの芳香環がヘテロ原子を含み、且つ少なくとも１つの他の環が、炭化水素環又は例えば、インドリル、イソインドリル、ベンゾチエニル、ベンゾフラニル、ジベンゾフラニル、インダゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンズチアゾリル、キノリル、イソキノリル、シンノリニル、フタラジニル、キナゾリニル、キノキサリニル、カルバゾリル、アクリジニル、フェナジニル、フェノチアジニル、フェノキサジニル、ピリド［２，３－ｂ］－１，４－オキサジン－３－（４Ｈ）－オン、チアゾロ－［４，５－ｃ］－ピリジニル、４，５，６，７－テトラヒドロチエノ［２，３－ｃ］ピリジニル、５，６－ジヒドロ－４Ｈ－チエノ［２，３－ｃ］ピロリル、４，５，６，７，８－テトラヒドロキノリニル及び５，６，７，８－テトラヒドロイソキノリニルであり；且つ（ｉｉｉ）各環が、芳香族又はカルボシクリルであり、且つ少なくとも１つの芳香族環が、橋頭ヘテロ原子を別の芳香族環と共有する（例えば、４Ｈ－キノリジニル）、環系が挙げられる。特定の実施形態では、ヘテロアリールは、単環式又は二環式環であり、前記環の各々は、５又は６個の環原子を含有し、１、２、３又は４個の前記環原子は、Ｎ、Ｏ及びＳから独立して選択されるヘテロ原子である。

【０３９１】

本明細書で使用する場合、用語「ヘテロシクリル」は、少なくとも１つの環が飽和又は部分的に不飽和（しかし、芳香族ではない）であり、且つヘテロ原子を含む、単環式又は縮合、スピロ縮合及び／若しくは架橋二環式及び多環式炭化水素環系を指す。ヘテロシクリルは、安定な構造をもたらす任意のヘテロ原子又は炭素原子でそのペンダント基に結合することができ、環原子のいずれかは任意選択により置換され得る。代表的なヘテロシクリルとしては、（ｉ）全ての環が非芳香族であり、且つ少なくとも１つの環がヘテロ原子を含み、例えば、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロチエニル、ピロリジニル、ピロリドニル、ピペリジニル、ピロリニル、デカヒドロキノリニル、オキサゾリジニル、ピペラジニル、ジオキサニル、ジオキソラニル、ジアゼピニル、オキサゼピニル、チアゼピニル、モルホリニル及びキヌクリジニル；（ｉｉ）少なくとも１つの環が、非芳香族であり、且つヘテロ原子を含み、且つ少なくとも１つの他の環が、芳香族炭素環、例えば、１，２，３，４－テトラヒドロキノリニルであり；且つ（ｉｉｉ）少なくとも１つの環が、非芳香族であり、且つヘテロ原子を含み、且つ少なくとも１つの他の

環が、芳香族であり、且つヘテロ原子を含む（例えば、３，４－ジヒドロ－１Ｈ－ピラノ［４，３－ｃ］ピリジン及び１，２，３，４－テトラヒドロ－２，６－ナフチリジン）、環系が挙げられる。特定の実施形態では、ヘテロシクリルは、単環式又は二環式環であり、前記環の各々は、３～７個の環原子を含有し、１、２、３又は４個の前記環原子は、Ｎ、Ｏ及びＳから独立して選択されるヘテロ原子である。

【０３９２】

本明細書で記載されるとおり、本発明の化合物は、「任意選択により置換された」部分を含有し得る。一般に、用語「置換された」は、用語「任意選択により」が先行するかどうかに関わらず、指定された部位の１つ以上の水素が好適な置換基で置き換えられていることを意味する。別段の指示がない限り、「任意選択により置換された」基は、基の各々の置換可能な位置に好適な置換基を有し得、任意の所与の構造における２つ以上の位置が、指定の基から選択される２つ以上の置換基で置換され得る場合、置換基は、各々の位置で同じであるか又は異なり得る。本発明の下で想定される置換基の組み合わせは、好ましくは、安定な又は化学的に実現可能な化合物の形成をもたらすものである。本明細書で使用する場合、用語「安定な」は、それらの生成、検出並びに特定の実施形態では、それらの回収、精製及び本明細書で開示される目的の１つ以上のための使用を可能にする条件に供されたときに、実質的に変化しない化合物を指す。

【０３９３】

本明細書で使用する場合、用語「オキソ」は、＝Ｏを指す。

【０３９４】

本明細書で使用する場合、用語「チオカルボニル」は、Ｃ＝Ｓを指す。

【０３９５】

本明細書で使用する場合、用語「薬学的に許容される塩」は、適切な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー応答などを伴わずに、ヒト及び下等動物の組織と接触して使用するのに適し、妥当な利益／リスク比に相応する塩を指す。薬学的に許容される塩は、当技術分野でよく知られている。例えば、Ｂｅｒｇｅらは、参照によって本明細書に組み込まれるＪ．Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１９７７，６６、１－１９において詳細に薬学的に許容される塩を記載している。本発明の化合物の薬学的に許容される塩は、好適な無機及び有機酸並びに塩基から誘導されるものを含む。薬学的に許容される、非毒性の酸付加塩の例は、塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸及び過塩素酸などの無機酸又は酢酸、シュウ酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、コハク酸若しくはマロン酸などの有機酸により形成されるか、或いはイオン交換などの当技術分野において知られる他の方法を使用することによって形成されるアミノ基の塩である。他の薬学的に許容される塩としては、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、ショウノウ酸塩、カンファースルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、ギ酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、グルコン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサン酸塩、ヨウ化水素酸塩、２－ヒドロキシ－エタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、２－ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、３－フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、ｐ－トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩などが挙げられる。適切な塩基から誘導される塩としては、アルカリ金属、アルカリ土類金属、アンモニウム及びN^+（$C_{1\sim4}$アルキル）$_4$塩が挙げられる。代表的なアルカリ金属又はアルカリ土類金属としては、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどが挙げられる。さらなる薬学的に許容される塩としては、適切な場合、ハロゲン化物、水酸化物、カルボン酸塩、硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩、低級アルキルスルホン酸塩及びアリールスルホン酸塩などの対イオンを使用して形成される非毒性アンモニウム

、第四級アンモニウム及びアミンカチオンが挙げられる。

【０３９６】

用語「溶媒和物」は、通常、加溶媒分解反応によって溶媒と会合されている化合物の形態を指す。この物理的会合は、水素結合を含み得る。通常の溶媒としては、水、メタノール、エタノール、酢酸、ＤＭＳＯ、ＴＨＦ、ジエチルエーテルなどが挙げられる。式（Ｉ）、式（Ｉ－ａ）及び／又は式（ＩＩ）の化合物は、例えば、結晶形態で作製及び溶媒和され得る。好適な溶媒和物としては、薬学的に許容される溶媒和物を含み、化学量論的な溶媒和物及び非化学量論的な溶媒和物の両方をさらに含む。特定の場合において、溶媒和物は、例えば、１つ以上の溶媒分子が結晶性固体の結晶格子に組み込まれている場合、単離が可能になる。「溶媒和物」は、溶液相及び単離可能な溶媒和物の両方を包含する。代表的な溶媒和物としては、水和物、エタノール付加物及びメタノール付加物が挙げられる。

【０３９７】

用語「水和物」は、水と会合されている化合物を指す。通常、化合物の水和物中に含有される水分子の数は、水和物中の化合物分子の数に対して一定の比にある。したがって、化合物の水和物は、例えば、一般式Ｒ・ｘ　Ｈ$_2$Ｏによって表され得、式中、Ｒは化合物であり、ｘは０よりも大きい数である。所与の化合物は、例えば、一水和物（ｘは１である）、低水和物（ｘは０よりも大きく、１よりも小さい数である、例えば、半水和物（Ｒ・０．５Ｈ$_2$Ｏ））及び多水和物（ｘは１よりも大きい数である、例えば、二水和物（Ｒ・２Ｈ$_2$Ｏ）及び六水和物（Ｒ・６Ｈ$_2$Ｏ））を含む、２つ以上の型の水和物を形成し得る。

【０３９８】

同じ分子式を有するが、それらの原子の結合の性質若しくは順序又は空間中のそれらの原子の配置が異なる化合物は、「異性体」と呼ばれることを理解されたい。空間中の原子の配置が異なる異性体を「立体異性体」と呼ぶ。

【０３９９】

互いに鏡像でない立体異性体は「ジアステレオマー」と呼ばれ、互いに重ねることができない鏡像であるものは「エナンチオマー」と呼ばれる。化合物が不斉中心を有する場合、例えば、４つの異なる基に結合され、一対のエナンチオマーが可能である。エナンチオマーは、その不斉中心の絶対配置によって特徴付けられ得、カーン・プレログのＲ－及びＳ－順位則によって記載されるか、又は分子が偏光面を回転させる様式により、右旋性若しくは左旋性（すなわち、それぞれ、（＋）異性体又は（－）異性体）として指定される。キラル化合物は、個々のエナンチオマー又はその混合物として存在し得る。等比率のエナンチオマーを含有する混合物は、「ラセミ混合物」と呼ばれる。

【０４００】

用語「互変異性体」は、特定の化合物構造の互換的な形態であり、水素原子及び電子の置換において変動する化合物を指す。したがって、２つの構造は、π電子及び原子（通常、Ｈ）の移動を通して、等価であり得る。例えば、エノール及びケトンは、酸又は塩基のいずれかによる処理によって迅速に相互変換されるため、互変異性体である。互変異性の別の例は、フェニルニトロメタンのａｃｉ形態及びニトロ形態であって、これらは、酸又は塩基による処理によって同様に形成される。

【０４０１】

互変異性形態は、目的の化合物の最適な化学的反応性及び生物学的活性の達成に関連し得る。

【０４０２】

別段の指定のない限り、本明細書に示される構造は、その構造の全ての異性（例えば、鏡像異性、ジアステレオ異性及び幾何的（又は立体構造的））形態；例えば、各不斉中心に対するＲ及びＳ立体配置、Ｚ及びＥ二重結合異性体並びにＺ及びＥ立体構造的異性体も含むものとする。したがって、本化合物の単一の立体化学的異性体並びに鏡像異性、ジアステレオ異性及び幾何的（又は立体構造的）混合物は、本発明の範囲内である。別段の指定のない限り、本発明の化合物の全ての互変異性形態は、本発明の範囲内である。さらに

、別段の指定のない限り、本明細書に示される構造は、１つ以上の同位体的に富化された原子が存在することのみが異なる化合物も含むものとする。例えば、水素の重水素若しくはトリチウムによる置き換え又は炭素の^{13}Ｃ富化炭素若しくは^{14}Ｃ富化炭素による置き換えを含む本構造を有する化合物は、本発明の範囲内である。実施形態において、本明細書で開示される化合物（例えば、式（Ｉ）の化合物）のいずれか１つの中に存在する水素原子は、重水素に同位体濃縮される。そのような化合物は、例えば、分析ツールとして、生物学的アッセイにおけるプローブとして又は本発明による治療剤として、有用である。

【０４０３】

特定のエナンチオマーが好ましい場合、いくつかの実施形態では、それは対応するエナンチオマーを実質的に含まずに付与され得、「光学的に富化された」と称され得る。本明細書で使用する場合、「光学的に富化された」とは、化合物が、有意に高い割合の一方のエナンチオマーから構成されていることを意味する。特定の実施形態では、化合物は、少なくとも約９０重量％の好ましいエナンチオマーから構成される。他の実施形態では、化合物は、少なくとも約９５重量％、９８重量％又は９９重量％の好ましいエナンチオマーから構成される。好ましいエナンチオマーは、キラル高圧液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）並びにキラル塩の形成及び結晶化を含む、当業者に知られる任意の方法によってラセミ混合物から単離されても、不斉合成によって調製され得る。例えば、Ｊａｃｑｕｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｅｎａｎｔｉｏｍｅｒｓ，Ｒａｃｅｍａｔｅｓ ａｎｄ Ｒｅｓｏｌｕｔｉｏｎｓ（Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８１）；Ｗｉｌｅｎ，ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ ３３：２７２５（１９７７）；Ｅｌｉｅｌ，Ｅ．Ｌ．Ｓｔｅｒｅｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｆ Ｃａｒｂｏｎ Ｃｏｍｐｏｕｎｄｓ（ＭｃＧｒａｗＨｉｌｌ，ＮＹ，１９６２）；Ｗｉｌｅｎ，Ｓ．Ｈ．Ｔａｂｌｅｓ ｏｆ Ｒｅｓｏｌｖｉｎｇ Ａｇｅｎｔｓ ａｎｄ Ｏｐｔｉｃａｌ Ｒｅｓｏｌｕｔｉｏｎｓ ｐ．２６８（Ｅ．Ｌ．Ｅｌｉｅｌ，Ｅｄ．，Ｕｎｉｖ．ｏｆ Ｎｏｔｒｅ Ｄａｍｅ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｏｔｒｅ Ｄａｍｅ，ＩＮ １９７２）を参照されたい。

【０４０４】

これらの及び他の例示的置換基は、発明を実施するための形態、図面、実施例及び特許請求の範囲においてより詳細に記載される。本発明は、上記の例示的な置換基のリストによって何ら限定されることを意図するものではない。

【０４０５】

ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド

本明細書では、とりわけ、式（Ｉ）の化合物（ＣＯＦ１）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、式（ＩＩ）の化合物（ＣＯＦ２）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド又は式（ＩＩＩ）の化合物（ＣＯＦ３）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含む融合ポリペプチドが開示される。実施形態において、ＣＯＦ１若しくはＣＯＦ２（サリドマイド及びその誘導体、例えば、レナリドミド、ポマリドミド及びサリドマイド）の存在下又はＣＯＦ３（例えば、表２９において開示される化合物）の存在下、融合ポリペプチド中のＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、翻訳後修飾及び／又は融合ポリペプチドの分解を増大させる。いくつかの実施形態では、翻訳後修飾は、融合ポリペプチド（例えば、異種ポリペプチド及び／又はＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドの全て又は一部の１つ又は全て）中の１つ以上のアミノ酸残基、例えば、１つ以上のリジン又はメチオニンのユビキチン化（例えば、モノ又はポリユビキチン化）を含み得る。

【０４０６】

特定の実施形態では、融合ポリペプチド（例えば、異種ポリペプチド及び／又はＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドの全て又は一部）の１つ以上のリジン残基がユビキチン化される。いくつかの実施形態では、融合ポリペプチド（例えば、異種ポリペプチド及び／又はＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドの全て又は一部）の１つ以上のメ

チオニン残基がユビキチン化（例えば、モノ又はポリユビキチン化）される。
【０４０７】
理論に束縛されるものではないが、いくつかの実施形態では、本明細書に記載される融合ポリペプチドの不活性化、例えば、分解は、例えば、細胞又は反応混合物における以下のステップの１つ、２つ、３つ又は全てを含み得る：
（１）ＣＯＦ１若しくはＣＯＦ２（例えば、サリドマイド及びその誘導体（例えば、レナリドミド））の存在下又はＣＯＦ３（例えば、表２９において開示される化合物）の存在下、ユビキチンリガーゼ複合体（例えば、Ｅ３ユビキチンリガーゼ複合体）の１つ以上のサブユニット（例えば、ＣＲＢＮ）に対する、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含む融合ポリペプチドの会合；
（２）融合ポリペプチドのユビキチン化（例えば、異種ポリペプチド及び／又はＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドでのユビキチン化）により、ユビキチン化融合ポリペプチドをもたらすこと；及び
（３）ユビキチン化融合ポリペプチドの分解。
【０４０８】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるいずれかのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の存在下において、例えば、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の非存在下での修飾及び／又は分解と比較して、融合ポリペプチドの翻訳後修飾及び／又は分解を増大させる。一実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の存在下において、例えば、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の非存在下でのユビキチン化と比較して、融合ポリペプチドの選択的なビキチン化を増大させる。
【０４０９】
いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の存在下でユビキチンリガーゼ複合体（例えば、Ｅ３ユビキチンリガーゼ複合体）の１つ以上の構成要素に結合するアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、ドメイン）に由来する。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１又はＣＯＦ２は、例えば、本明細書に記載されるとおり、化合物のサリドマイドクラス（例えば、レナリドミド、ポマリドミド及びサリドマイド）である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３は、表２９において開示される化合物である。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ジンクフィンガードメイン（例えば、ジンクフィンガー２ドメイン）又はその部分を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βターンを含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、転写因子のイカロスファミリー、例えば、ＩＫＺＦ１若しくはＩＫＺＦ３のβターン又はそれと実質的に同一な（例えば、それと少なくとも８５％、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一な）配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、転写因子のイカロスファミリー、例えば、ＩＫＺＦ１若しくはＩＫＺＦ３のβヘアピン又はそれと実質的に同一な（例えば、Ｋｒｏｎｋｅ，Ｊ．ｅｔａｌ．（２０１４）Ｓｃｉｅｎｃｅ　３４３（６１６８）：３０１－５）において記載されるとおりのＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３のβヘアピンと例えば少なくとも８５％、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一な）配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２のβターン又はそれと実質的に同一な（例えば、それと少なくとも８５％、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一な）配列を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２のβヘアピン又はそれと実質的に同一な（例えば、それと少なくとも８５％、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一な）配列を含む。
【０４１０】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１（例えば、配列番号２０）若しくはＩＫＺＦ３（例えば、配列番号１９）又はそれと実質的に同一な（例えば、それと少なくとも８５％、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一な）配列の約１０～約９５個のアミノ酸残基、約１５～約９０個のアミノ酸残基、約２０～約８５個のアミノ酸残基、約２５～約８０個のアミノ酸残基、約３０～約７５個のアミノ酸残基、約３５～約７０個のアミノ酸残基、約４０～約６５個のアミノ酸残基、約４５～約６５個のアミノ酸残基、約５０～約６５個のアミノ酸残基又は約５５～約６５個のアミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１（例えば、配列番号２０）若しくはＩＫＺＦ３（例えば、配列番号１９）又はそれと実質的に同一な（例えば、それと少なくとも８５％、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一な）配列の少なくとも１０個のアミノ酸、少なくとも１５個のアミノ酸、少なくとも２０個のアミノ酸、少なくとも２５個のアミノ酸、少なくとも３０個のアミノ酸、少なくとも３５個のアミノ酸、少なくとも４０個のアミノ酸、少なくとも４５個のアミノ酸、少なくとも５０個のアミノ酸、少なくとも５５個のアミノ酸、少なくとも６０個のアミノ酸、少なくとも６５個のアミノ酸、少なくとも７０個のアミノ酸、少なくとも７５個のアミノ酸、少なくとも８０個のアミノ酸、少なくとも８５個のアミノ酸、少なくとも９０個のアミノ酸、少なくとも９０個のアミノ酸又は少なくとも９５個のアミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１～６、１１～１５、４０、４１～４３、７７、７８、８４～８６及び１００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれらからなる。

【０４１１】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２（例えば、配列番号２１）又はそれと実質的に同一な（例えば、それと少なくとも８５％、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一な）配列の約１０～約９５個のアミノ酸残基、約１５～約９０個のアミノ酸残基、約２０～約８５個のアミノ酸残基、約２５～約８０個のアミノ酸残基、約３０～約７５個のアミノ酸残基、約３５～約７０個のアミノ酸残基、約４０～約６５個のアミノ酸残基、約４５～約６５個のアミノ酸残基、約５０～約６５個のアミノ酸残基又は約５５～約６５個のアミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２（例えば、配列番号２１）又はそれと実質的に同一な（例えば、それと少なくとも８５％、８７、９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一な）配列の少なくとも１０個のアミノ酸、少なくとも１５個のアミノ酸、少なくとも２０個のアミノ酸、少なくとも２５個のアミノ酸、少なくとも３０個のアミノ酸、少なくとも３５個のアミノ酸、少なくとも４０個のアミノ酸、少なくとも４５個のアミノ酸、少なくとも５０個のアミノ酸、少なくとも５５個のアミノ酸、少なくとも６０個のアミノ酸、少なくとも６５個のアミノ酸、少なくとも７０個のアミノ酸、少なくとも７５個のアミノ酸、少なくとも８０個のアミノ酸、少なくとも８５個のアミノ酸、少なくとも９０個のアミノ酸、少なくとも９０個のアミノ酸又は少なくとも９５個のアミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１０９、１１３及び１１４からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれらからなる。

【０４１２】

いくつかの実施形態では、ＩＫＺＦ１、ＩＫＺＦ２、ＩＫＺＦ３、ＩＫＺＦ４及びＩＫＺＦ５又はその断片の例示的な全長配列は、表１において提供される。

【０４１３】

【表１】

表 1. 例示的な IKZF 配列、変異体、又は断片

配列番号	説明	配列
配列番号 1	IKZF3 136-180 及び 236-249 (N 末端メチオニンを有する)	MHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNTASAEARHIKAEMG
配列番号 3	IKZF3 136-180 及び 236-249 (N 末端メチオニンを有しない)	HKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNTASAEARHIKAEMG

【０４１４】

【表２】

配列番号2	リジンを含まない IKZF3 136-180 及び 236-249 変異体 (N 末端メチオニンを有する)	MHRRSHTGERPFQCNQCGASFTQRGNLLRHIRLHTGERPFRCHLCNTASAEARHIRAEMG
配列番号4	リジンを含まない IKZF3 136-180 及び 236-249 変異体 (N 末端メチオニンを有しない)	HRRSHTGERPFQCNQCGASFTQRGNLLRHIRLHTGERPFRCHLCNTASAEARHIRAEMG
配列番号77	IKZF3 136-180 (N 末端メチオニンを有する)	MHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCN
配列番号5	IKZF3 136-180 (N 末端メチオニンを有しない)	HKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCN
配列番号41	リジンを含まない IKZF3 136-180	HRRSHTGERPFQCNQCGASFTQRGNLLRHIRLHTGERPFRCHLCN
配列番号78	IKZF3 136-170 (N 末端メチオニンを有する)	MHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTG
配列番号6	IKZF3 136-170 (N 末端メチオニンを有しない)	HKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTG
配列番号42	リジンを含まない IKZF3 136-170	HRRSHTGERPFQCNQCGASFTQRGNLLRHIRLHTG
配列番号79	IKZF3 140-170 (N 末端メチオニンを有する)	MHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTG
配列番号7	IKZF3 140-170 (N 末端メチオニンを有しない)	HTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTG
配列番号80	IKZF3 140-169 (N 末端メチオニンを有する)	MHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHT
配列番号24	IKZF3 140-169 (N 末端メチオニンを有しない)	HTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHT
配列番号81	IKZF3 141-163 (N 末端メチオニンを有する)	MTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLR
配列番号8	IKZF3 141-163 (N 末端メチオニンを有しない)	TGERPFQCNQCGASFTQKGNLLR
配列番号82	IKZF3 145-170 (N 末端メチオニンを有する)	MPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTG
配列番号9	IKZF3 145-170 (N 末端メチオニンを有しない)	PFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTG
配列番号83	IKZF3 145-155 (N 末端メチオニンを有する)	MPFQCNQCGASF
配列番号10	IKZF3 145-155 (N 末端メチオニンを有しない)	PFQCNQCGASF
配列番号11	IKZF3 236-249	TASAEARHIKAEMG
配列番号43	リジンを含まない IKZF3 236-249	TASAEARHIRAEMG
配列番号12	IKZF3 136-180 及び 236-249 K245R (N 末端メチオニンを有する)	MHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNTASAEARHIRAEMG
配列番号84	IKZF3 136-180 及び 236-249 K245R (N 末端メチオニンを有しない)	HKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNTASAEARHIRAEMG

【０４１５】

【表３】

配列番号13	IKZF3 136-180 及び 236-249 K245S (N 末端メチオニンを有する)	MHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNTASAEARHISAEMG
配列番号100	IKZF3 136-180 及び 236-249 K245S (N 末端メチオニンを有しない)	HKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNTASAEARHISAEMG
配列番号14	IKZF3 136-180 MALEK (N 末端メチオニンを有する)	MHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNMALEKMALEKMALE
配列番号85	IKZF3 136-180 MALEK (N 末端メチオニンを有しない)	HKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNMALEKMALEKMALE
配列番号15	IKZF3 136-170 MALEK (N 末端メチオニンを有する)	MHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGMALEKMALEKMALE
配列番号86	IKZF3 136-170 MALEK (N 末端メチオニンを有しない)	HKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGMALEKMALEKMALE
配列番号16	IKZF3 140-170 MALEK (N 末端メチオニンを有する)	MHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGMALEKMALEKMALE
配列番号87	IKZF3 140-170 MALEK (N 末端メチオニンを有しない)	HTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGMALEKMALEKMALE
配列番号17	IKZF3 141-163 MALEK (N 末端メチオニンを有する)	MTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRMALEKMALEKMALE
配列番号88	IKZF3 141-163 MALEK (N 末端メチオニンを有しない)	TGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRMALEKMALEKMALE
配列番号18	IKZF3 145-155 MALEK (N 末端メチオニンを有する)	MPFQCNQCGASFMALEKMALEKMALE
配列番号89	IKZF3 145-155 MALEK (N 末端メチオニンを有しない)	PFQCNQCGASFMALEKMALEKMALE
配列番号27	IKZF3 136-180 Q147H (N 末端メチオニンを有する)	MHKRSHTGERPFHCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCN
配列番号90	IKZF3 136-180 Q147H (N 末端メチオニンを有しない)	HKRSHTGERPFHCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCN
配列番号109	IKZF2 130-174 及び 230-243	HKRSHTGERPFHCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHSGEKPFKCPFCSAGQVMSHHVPPMED
配列番号113	IKZF2 130-174	HKRSHTGERPFHCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHSGEKPFKCPFCS
配列番号114	IKZF2 230-243	AGQVMSHHVPPMED

【０４１６】

【表４】

配列番号 19	IKZF3 全長	MEDIQTNAELKSTQEQSVPAESAAVLNDYSLTKSHEME NVDSGEGPANEDEDIGDDSMKVKDEYSERDENVLKSE PMGNAEEPEIPYSYSREYNEYENIKLERHVVSFDSSRPT SGKMNCDVCGLSCISFNVLMVHKRSHTGERPFQCNQC GASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNYACQRRDAL TGHLRTHSVEKPYKCEFCGRSYKQRSSLEEHKERCRTF LQSTDPGDTASAEARHIKAEMGSERALVLDRLASNVA KRKSSMPQKFIGEKRHCFDVNYNSSYMYEKESELIQTR MMDQAINNAISYLGAEALRPLVQTPPAPTSEMVPVISS MYPIALTRAEMSNGAPQELEKKSIHLPEKSVPSERGLSP NNSGHDSTDTDSNHEERQNHIYQQNHMVLSRARNGMP LLKEVPRSYELLKPPPICPRDSVKVINKEGEVMDVYRC DHCRVLFLDYVMFTIHMGCHGFRDPFECNMCGYRSHD RYEFSSHIARGEHRALLK
配列番号 20	IKZF1 全長	MDADEGQDMSQVSGKESPPVSDTPDEGDEPMPIPEDLS TTSGGQQSSKSDRVVASNVKVETQSDEENGRACEMNG EECAEDLRMLDASGEKMNGSHRDQGSSALSGVGGIRL PNGKLKCDICGIICIGPNVLMVHKRSHTGERPFQCNQCG ASFTQKGNLLRIIIKLHSGEKPFKCHLCNYACRRRDALT GHLRTHSVGKPHKCGYCGRSYKQRSSLEEHKERCHNY LESMGLPGTLYPVIKEETNHSEMAEDLCKIGSERSLVLD RLASNVAKRKSSMPQKFLGDKGLSDTPYDSSASYEKEN EMMKSHVMDQAINNAINYLGAESLRPLVQTPPGGSEV VPVISPMYQLHKPLAEGTPRSNHSAQDSAVENLLLLSK AKLVPSEREASPSNSCQDSTDTESNNEEQRSGLIYLTNH IAPHARNGLSLKEEHRAYDLLRAASENSQDALRVVSTS GEQMKVYKCEHCRVLFLDHVMYTIHMGCHGFRDPFEC NMCGYHSQDRYEFSSHITRGEHRFHMS
配列番号 21	IKZF2 全長	METEAIDGYITCDNELSPEREHSNMAIDLTSSTPNGQHA SPSHMTSTNSVKLEMQSDEECDRKPLSREDEIRGHDEG SSLEEPLIESSEVADNRKVQELQGEGGIRLPNGKLKCDV CGMVCIGPNVLMVHKRSHTGERPFHCNQCGASFTQKG NLLRHIKLHSGEKPFKCPFCSYACRRRDALTGHLRTHS VGKPHKCNYCGRSYKQRSSLEEHKERCHNYLQNVSME AAGQVMSHHVPPMEDCKEQEPIMDNNISLVPFERPAVI EKLTGNMGKRKSSTPQKFVGEKLMRFSYPDIHFDMNL TYEKEAELMQSHMMDQAINNAITYLGAEALHPLMQHP PSTIAEVAPVISSAYSQVYHPNRIERPISRETADSHENNM DGPISLIRPKSRPQEREASPSNSCLDSTDSESSHDDHQSY QGHPALNPKRKQSPAYMKEDVKALDTTKAPKGSLKDI YKVFNGEGEQIRAFKCEHCRVLFLDHVMYTIHMGCHG YRDPLECNICGYRSQDRYEFSSHIVRGEHTFH

【０４１７】

【表５】

配列番号 22	IKZF4 全長	MHTPPALPRRFQGGGRVRTPGSHRQGKDNLERDPSGG CVPDFLPQAQDSNHFIMESLFCESSGDSSLEKEFLGAPV GPSVSTPNSQHSSPSRSLSANSIKVEMYSDEESSRLLGPD ERLLEKDDSVIVEDSLSEPLGYCDGSGPEPHSPGGIRLPN GKLKCDVCGMVCIGPNVLMVHKRSHTGERPFHCNQCG ASFTQKGNLLRHIKLHSGEKPFKCPFCNYACRRRDALT GHLRTHSVSSPTVGKPYKCNYCGRSYKQQSTLEEHKER CHNYLQSLSTEAQALAGQPGDEIRDLEMVPDSMLHSSS ERPTFIDRLANSLTKRKRSTPQKFVGEKQMRFSLSDLPY DVNSGGYEKDVELVAHHSLEPGFGSSLAFVGAEHLRPL RLPPTNCISELTPVISSVYTQMQPLPGRLELPGSREAGEG PEDLADGGPLLYRPRGPLTDPGASPSNGCQDSTDTESN HEDRVAGVVSLPQGPPPQPPPTIVVGRHSPAYAKEDPK PQEGLLRGTPGPSKEVLRVVGESGEPVKAFKCEHCRILF LDHVMFTIHMGCHGFRDPFECNICGYHSQDRYEFSSHI VRGEHKVG
配列番号 23	IKZF5 全長	MGEKKPEPLDFVKDFQEYLTQQTHHVNMISGSVSGDK EAEALQGAGTDGDQNGLDHPSVEVSLDENSGMLVDGF ERTFDGKLKCRYCNYASKGTARLIEHIRIHTGEKPHRCH LCPFASAYERHLEAHMRSHTGEKPYKCELCSFRCSDRS NLSHHRRRKHKMVPIKGTRSSLSSKKMWGVLQKKTSN LGYSRRALINLSPPSMVVQKPDYLNDFTHEIPNIQTDSY ESMAKTTPTGGLPRDPQELMVDNPLNQLSTLAGQLSSL PPENQNPASPDVVPCPDEKPFMIQQPSTQAVVSAVSASI PQSSSPTSPEPRPSHSQRNYSPVAGPSSEPSAHTSTPSIGN SQPSTPAPALPVQDPQLLHHCQHCDMYFADNILYTIHM GCHGYENPFQCNICGCKCKNKYDFACHFARGQHNQH

【０４１８】

分解化合物

本明細書では、とりわけ、例えば、分解タグを含む融合タンパク質のユビキチン化及び／又は分解を増大させることができる分解化合物が開示される。

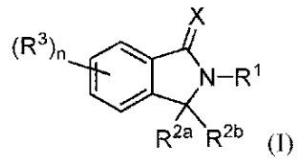
【０４１９】

いくつかの実施形態では、分解化合物は、化合物のサリドマイドクラスのメンバーを含む。いくつかの実施形態では、化合物のサリドマイドクラスのメンバーとしては、レナリドミド（ＣＣ－５０１３）、ポマリドミド（ＣＣ－４０４７又はＡＣＴＩＭＩＤ）、サリドマイド又はその塩若しくは誘導体が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、分解化合物は、化合物のサリドマイドクラスの１つ、２つ、３つ又はそれ以上のメンバーの混合物であり得る。サリドマイド類似体及びサリドマイド類似体の免疫調節性特性は、参照により全体として本明細書に組み込まれるＢｏｄｅｒａ ａｎｄ Ｓｔａｎｋｉｅｗｉｃｚ，Ｒｅｃｅｎｔ Ｐａｔ Ｅｎｄｏｃｒ Ｍｅｔａｂ Ｉｍｍｕｎｅ Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ．２０１１ Ｓｅｐ；５（３）：１９２－６において記載される。サリドマイド類似体及びＥ３ユビキチンの構造複合体は、参照により全体として本明細書に組み込まれるＧａｎｄｈｉ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ Ｊ Ｈａｅｍａｔｏｌ．２０１４ Ｍａｒ；１６４（６）：８１１－２１において記載される。サリドマイド類似体によるＥ３ユビキチンリガーゼの調節は、参照により全体として本明細書に組み込まれるＦｉｓｃｈｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ．２０１４ Ａｕｇ ７；５１２（７５１２）：４９－５３において記載される。

【０４２０】

いくつかの実施形態では、分解化合物は、式（Ｉ）：

【化１７】



（式中、
Ｘは、Ｏ又はＳであり；
Ｒ^{1}は、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、１つ以上のＲ^{4}によって独立して且つ任意選択により置換され；
Ｒ^{2a}及びＲ^{2b}の各々は、独立して、水素又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルであるか；又はＲ^{2a}及びＲ^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；
Ｒ^{3}の各々は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{6}で置換され；
各Ｒ^{4}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{7}で置換され；
Ｒ^{A}、Ｒ^{B}、Ｒ^{C}、Ｒ^{D}及びＲ^{E}の各々は、独立して、水素又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルであり；
各Ｒ^{6}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、オキソ、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{8}で置換され；
各Ｒ^{7}は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}であり；
各Ｒ^{8}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}であり；
ｎは、０、１、２、３又は４であり；及び
ｘは、０、１又は２である）
の化合物又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、溶媒和物若しくは互変異性体を含む。

【０４２１】
いくつかの実施形態では、Ｘは、Ｏである。

【０４２２】
いくつかの実施形態では、Ｒ^{1}は、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、独立して且つ任意選択により１～１２個のＲ^{4}（例えば、１個のＲ^{4}、２個のＲ^{4}、３個のＲ^{4}、４個のＲ^{4}、５個のＲ^{4}、６個のＲ^{4}、７個のＲ^{4}、８個のＲ^{4}、９個のＲ^{4}、１０個のＲ^{4}、１１個のＲ^{4}又は１２個のＲ^{4}

）により置換される。いくつかの実施形態では、R^1は、ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、R^1は、６員ヘテロシクリル又は５員ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、R^1は、６員ヘテロシクリル又は５員ヘテロシクリルであり、それらの各々は、独立して且つ任意選択により１～６個のR^4（例えば、１個のR^4、２個のR^4、３個のR^4、４個のR^4、５個のR^4又は６個のR^4）により置換される。いくつかの実施形態では、R^1は、窒素含有ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、R^1は、ピペリジニル（例えば、ピペリジン－２，６－ジオニル）である。

【０４２３】

いくつかの実施形態では、R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して水素である。いくつかの実施形態では、R^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合する炭素と合わせてカルボニル基を形成する。

【０４２４】

いくつかの実施形態では、R^3の各々は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）ＯR^B、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（$R^C$）（$R^D$）又は－Ｎ（$R^C$）Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１～１２個のR^6（例えば、１個のR^6、２個のR^6、３個のR^6、４個のR^6、５個のR^6、６個のR^6、７個のR^6、８個のR^6、９個のR^6、１０個のR^6、１１個のR^6又は１２個のR^6）で置換される。いくつかの実施形態では、R^3は、C_1～C_6ヘテロアルキル、－Ｎ（R^C）（R^D）又は－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^Aである。いくつかの実施形態では、R^3は、C_1～C_6ヘテロアルキル（例えば、CH_2NHC（Ｏ）CH_2－フェニル－ｔ－ブチル）、－Ｎ（R^C）（R^D）（例えば、NH_2）又は－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A（例えば、ＮＨＣ（Ｏ）CH_3）である。いくつかの実施形態では、R^3は、１～６個のR^6（例えば、１個のR^6、２個のR^6、３個のR^6、４個のR^6、５個のR^6又は６個のR^6）で任意選択により置換されたC_1～C_6ヘテロアルキルである。

【０４２５】

いくつかの実施形態では、各R^4は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）ＯR^B、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（$R^C$）（$R^D$）、－Ｎ（$R^C$）Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１～１２個のR^7（例えば、１個のR^7、２個のR^7、３個のR^7、４個のR^7、５個のR^7、６個のR^7、７個のR^7、８個のR^7、９個のR^7、１０個のR^7、１１個のR^7又は１２個のR^7）で置換される。

【０４２６】

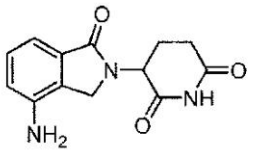
いくつかの実施形態では、各R^6は、独立して、C_1～C_6アルキル、オキソ、シアノ、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１～６個のR^8（例えば、１個のR^8、２個のR^8、３個のR^8、４個のR^8、５個のR^8又は６個のR^8）で置換される。

【０４２７】

ある実施形態では、Ｘは、Ｏである。ある実施形態では、R^1は、ヘテロシクリル（例えば、ピペリジン－２，６－ジオニル）である。ある実施形態では、R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して水素である。ある実施形態では、ｎは１である。ある実施形態では、R^3は、－Ｎ（R^C）（R^D）（例えば、－NH_2）である。ある実施形態では、分解化合物は、レナリドミド、例えば、３－（４－アミノ－１－オキソイソインドリン－２－イル）ピ

ペリジン－２，６－ジオン又はその薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、分解化合物は、例えば、以下の式：

【化１８】

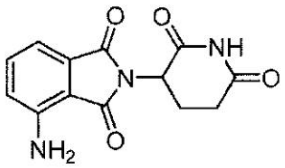


によるレナリドミドである。

【０４２８】

ある実施形態では、Ｘは、Ｏである。ある実施形態では、R^1は、ヘテロシクリル（例えば、ピペリジニル－２，６－ジオニル）である。いくつかの実施形態では、R^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合する炭素と合わせてカルボニル基を形成する。ある実施形態では、ｎは１である。ある実施形態では、R^3は、－Ｎ（R^C）（R^D）（例えば、$-NH_2$）である。ある実施形態では、分解化合物は、ポマリドミド、例えば、４－アミノ－２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）イソインドリン－１，３－ジオン又はその薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、分解化合物は、例えば、以下の式：

【化１９】

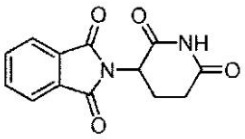


によるポマリドミドである。

【０４２９】

ある実施形態では、Ｘは、Ｏである。ある実施形態では、R^1は、ヘテロシクリル（例えば、ピペリジニル－２，６－ジオニル）である。ある実施形態では、R^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合する炭素と合わせてカルボニル基を形成する。ある実施形態では、ｎは０である。ある実施形態では、分解化合物は、サリドマイド、例えば、２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）イソインドリン－１，３－ジオン又はその薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、分解産物は、例えば、以下の式：

【化２０】

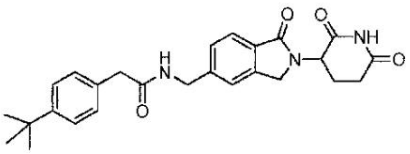


によるサリドマイドである。

【０４３０】

ある実施形態では、Ｘは、Ｏである。ある実施形態では、R^1は、ヘテロシクリル（例えば、ピペリジン－２，６－ジオニル）である。ある実施形態では、R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して水素である。ある実施形態では、ｎは１である。ある実施形態では、R^3は、C_1～C_6ヘテロアルキル（例えば、CH_2NHC（Ｏ）CH_2－フェニル－ｔ－ブチル）である。ある実施形態では、R^3は、１個のR^6で置換されたC_1～C_6ヘテロアルキル（例えば、CH_2NHC（Ｏ）CH_2－フェニル－ｔ－ブチル）である。ある実施形態では、分解化合物は、２－（４－（ｔｅｒｔ－ブチル）フェニル）－Ｎ－（（２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－５－イル）メチル）アセトアミド又はその薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、分解化合物は、以下の式：

【化２１】

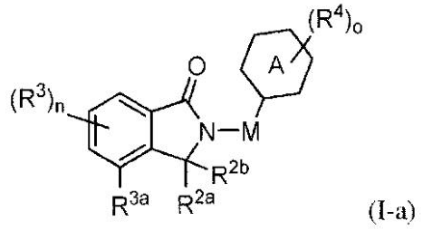


において示されるとおりの構造を有する。

【０４３１】

いくつかの実施形態では、分解化合物は、式（Ｉ－ａ）：

【化２２】



(I-a)

（式中、

環Ａは、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{4}で置換され；

Ｍは、存在しないか、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキルであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{4}で置換され；

Ｒ^{2a}及びＲ^{2b}の各々は、独立して、水素又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルであるか；又はＲ^{2a}及びＲ^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；

Ｒ^{3a}は、水素、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{6}で置換され；

Ｒ^{3}の各々は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{6}で置換され；

各Ｒ^{4}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{7}で置換され；

Ｒ^{A}、Ｒ^{B}、Ｒ^{C}、Ｒ^{D}及びＲ^{E}の各々は、独立して、水素又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルであり；

各Ｒ^{6}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、オキソ、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ

^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{8}で置換され；
各Ｒ^{7}は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}であり；
各Ｒ^{8}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}であり；
ｎは、０、１、２又は３であり；
ｏは、０、１、２、３、４又は５であり；及び
ｘは、０、１又は２である）
の化合物又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物若しくは互変異性体である。

【０４３２】

いくつかの実施形態では、Ｘは、Ｏである。

【０４３３】

いくつかの実施形態では、Ｍは、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキルであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１～６個のＲ^{4}（例えば、１個のＲ^{4}、２個のＲ^{4}、３個のＲ^{4}、４個のＲ^{4}、５個のＲ^{4}又は６個のＲ^{4}）で置換される。いくつかの実施形態では、Ｍは存在しない。

【０４３４】

いくつかの実施形態では、環Ａは、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、独立して且つ任意選択により１～６個のＲ^{4}（例えば、１個のＲ^{4}、２個のＲ^{4}、３個のＲ^{4}、４個のＲ^{4}、５個のＲ^{4}又は６個のＲ^{4}）で置換される。いくつかの実施形態では、環Ａは、ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、環Ａは、ヘテロシクリル、例えば、６員ヘテロシクリル又は５員ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、環Ａは、窒素含有ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、環Ａは、ピペリジニル（例えば、ピペリジン－２，６－ジオニル）である。

【０４３５】

いくつかの実施形態では、Ｍは存在せず、且つ環Ａはヘテロシクリル（例えば、ピペリジニル、例えば、ピペリジン－２，６－ジオニル）である。

【０４３６】

いくつかの実施形態では、Ｒ^{2a}及びＲ^{2b}の各々は、独立して水素である。いくつかの実施形態では、Ｒ^{2a}及びＲ^{2b}は、それらが結合する炭素と合わせてカルボニル基を形成する。

【０４３７】

いくつかの実施形態では、Ｒ^{3a}は、水素、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１～１２個のＲ^{6}（例えば、１個のＲ^{6}、２個のＲ^{6}、３個のＲ^{6}、４個のＲ^{6}、５個のＲ^{6}、６個のＲ^{6}、７個のＲ^{6}、８個のＲ^{6}、９個のＲ^{6}、１０個のＲ^{6}、１１個のＲ^{6}又は１２個のＲ^{6}）で置換される。いくつかの実施形態では、Ｒ^{3a}は、水素、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}である。いくつかの実施形態では、Ｒ^{3a}は、水素である。いくつかの実施形態では、Ｒ^{3a}は、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）（例えば、－ＮＨ$_{2}$）である。いくつかの実施形態では、Ｒ^{3a}は、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}（例えば、ＮＨＣ（Ｏ）ＣＨ$_{3}$）である。

【０４３８】

いくつかの実施形態では、各Ｒ^{3}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケ

ニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－C（O）R^A、－C（O）OR^B、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、－S（O）$_x$$R^E$、－S（O）$_x$N（$R^C$）（$R^D$）又は－N（$R^C$）S（O）$_x$$R^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１～１２個のR^6（例えば、１個のR^6、２個のR^6、３個のR^6、４個のR^6、５個のR^6、６個のR^6、７個のR^6、８個のR^6、９個のR^6、１０個のR^6、１１個のR^6又は１２個のR^6）で置換される。いくつかの実施形態では、R^3は、C_1～C_6ヘテロアルキル（例えば、CH_2NHC（O）CH_2－フェニル－t－ブチル）である。

【０４３９】

いくつかの実施形態では、各R^4は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－C（O）R^A、－C（O）OR^B、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、－S（O）$_x$$R^E$、－S（O）$_x$N（$R^C$）（$R^D$）又は－N（$R^C$）S（O）$_x$$R^E$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１～１２個のR^7（例えば、１個のR^7、２個のR^7、３個のR^7、４個のR^7、５個のR^7、６個のR^7、７個のR^7、８個のR^7、９個のR^7、１０個のR^7、１１個のR^7又は１２個のR^7）で置換される。

【０４４０】

いくつかの実施形態では、各R^6は、独立して、C_1～C_6アルキル、オキソ、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１～６個のR^8（例えば、１個のR^8、２個のR^8、３個のR^8、４個のR^8、５個のR^8又は６個のR^8）で置換される。

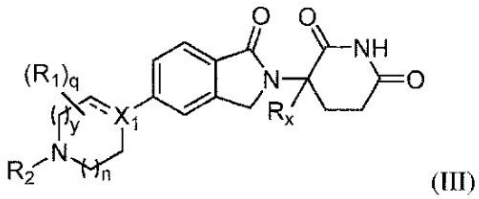
【０４４１】

いくつかの実施形態では、ｎは、０又は１である。一実施形態では、ｎは０である。一実施形態では、ｎは１である。

【０４４２】

いくつかの実施形態では、分解化合物は、式（ＩＩＩ）：

【化２３】



(III)

（式中、

X_1は、CR_3であり；

【化２４】

は、X_1がCR_3であり且つR_3が存在しない場合、任意選択により二重結合であり；

各R_1は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_1～C_6ハロアルキル、C_1～C_6ヒドロキシアルキル若しくはハロであるか、又は

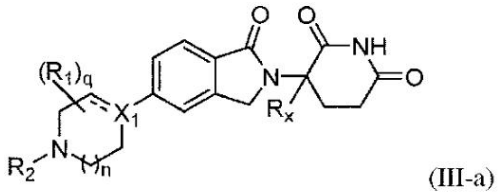
２つのR_1は、それらが結合される炭素原子とともに５員又は６員ヘテロシクリル環を形

成するか、又は
２つのＲ１は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにＣ６～Ｃ１０アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員若しくは６員ヘテロアリール環を形成し；
Ｒ２は、水素、Ｃ１～Ｃ６アルキル、－Ｃ（Ｏ）Ｃ１～Ｃ６アルキル、－Ｃ（Ｏ）（ＣＨ２）０～３－Ｃ６～Ｃ１０アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｏ（ＣＨ２）０～３－Ｃ６～Ｃ１０アリール、Ｃ６～Ｃ１０アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員若しくは６員ヘテロアリール、Ｃ３～Ｃ８カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７－ヘテロシクリルであり、アルキルは、任意選択により１つ以上のＲ４で置換され；及びアリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリルは、任意選択により１つ以上のＲ５で置換されるか、又は
Ｒ１及びＲ２は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともに５員又は６員ヘテロシクリル環を形成し；
Ｒ３は、水素であるか、又は
【化２５】

が二重結合であるとき、Ｒ３は、存在せず；
各Ｒ４は、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ６、－Ｃ（Ｏ）ＮＲ６Ｒ６ヽ、－ＮＲ６Ｃ（Ｏ）Ｒ６ヽ、ハロ、－ＯＨ、－ＮＨ２、シアノ、Ｃ６～Ｃ１０アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～４個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、Ｃ３～Ｃ８カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリル環から独立して選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリルは、任意選択により１つ以上のＲ７で置換され；
各Ｒ５は、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ２～Ｃ６アルケニル、Ｃ２～Ｃ６アルキニル、Ｃ１～Ｃ６アルコキシ、Ｃ１～Ｃ６ハロアルキル、Ｃ１～Ｃ６ハロアルコキシ、Ｃ１～Ｃ６ヒドロキシアルキル、ハロ、－ＯＨ、－ＮＨ２、シアノ、Ｃ３～Ｃ７カルボシクリル、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリル、Ｃ６～Ｃ１０アリール並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリールから独立して選択されるか、又は
２つのＲ５は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにＣ６～Ｃ１０アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員若しくは６員ヘテロアリールを形成し、任意選択により１つ以上のＲ１０で置換されるか、又は
２つのＲ５は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにＣ５～Ｃ７カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルを形成し、任意選択により１つ以上のＲ１０で置換され；
Ｒ６及びＲ６ は、それぞれ独立して、水素、Ｃ１～Ｃ６アルキル又はＣ６～Ｃ１０アリールであり；
各Ｒ７は、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ２～Ｃ６アルケニル、Ｃ２～Ｃ６アルキニル、Ｃ１～Ｃ６アルコキシ、Ｃ１～Ｃ６ハロアルキル、Ｃ１～Ｃ６ハロアルコキシ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ８、－（ＣＨ２）０～３Ｃ（Ｏ）ＯＲ８、－Ｃ（Ｏ）ＮＲ８Ｒ９、－ＮＲ８Ｃ（Ｏ）Ｒ９、－ＮＲ８Ｃ（Ｏ）ＯＲ９、－Ｓ（Ｏ）ｐＮＲ８Ｒ９、－Ｓ（Ｏ）ｐＲ１２、（Ｃ１～Ｃ６）ヒドロキシアルキル、ハロ、－ＯＨ、－Ｏ（ＣＨ２）１～３ＣＮ、－ＮＨ２、シアノ、－Ｏ（ＣＨ２）０～３－Ｃ６～Ｃ１０アリール、アダマンチル、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む－Ｏ（ＣＨ２）０～３－５員又は６員ヘテロアリール、Ｃ６～Ｃ１０アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む単環式又は二環式５～１０員ヘテロアリール、Ｃ３～Ｃ７カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから独立して選択され、アルキルは、任

意選択により１つ以上のＲ１１で置換され、且つアリール、ヘテロアリール及びヘテロシクリルは、任意選択により、ハロゲン、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ１～Ｃ６ハロアルキル及びＣ１～Ｃ６アルコキシからそれぞれ独立して選択される１つ以上の置換基で置換されるか、又は
２つのＲ７は、それらが結合される炭素原子とともにａ＝（Ｏ）を形成するか、又は
２つのＲ７は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにＣ６～Ｃ１０アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員若しくは６員ヘテロアリールを形成し、任意選択により１つ以上のＲ１０で置換されるか、又は
２つのＲ７は、それらが結合される原子とともにＣ５～Ｃ７カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルを形成し、任意選択により１つ以上のＲ１０で置換され；
Ｒ８及びＲ９は、それぞれ独立して、水素又はＣ１～Ｃ６アルキルであり；
各Ｒ１０は、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ１～Ｃ６アルコキシ、Ｃ１～Ｃ６ハロアルキル、Ｃ１～Ｃ６ハロアルコキシ、Ｃ１～Ｃ６ヒドロキシアルキル、ハロ、－ＯＨ、－ＮＨ２及びシアノから独立して選択されるか、又は
２つのＲ１０は、それらが結合される炭素原子とともにａ＝（Ｏ）を形成し；
各Ｒ１１は、シアノ、Ｃ１～Ｃ６アルコキシ、Ｃ６～Ｃ１０アリール並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから独立して選択され、各アリール及びヘテロシクリルは、任意選択により、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ１～Ｃ６アルコキシ、Ｃ１～Ｃ６ハロアルキル、Ｃ１～Ｃ６ハロアルコキシ、Ｃ１～Ｃ６ヒドロキシアルキル、ハロ、－ＯＨ、－ＮＨ２及びシアノからそれぞれ独立して選択される１つ以上の置換基で置換され；
Ｒ１２は、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ１～Ｃ６ハロアルキル、Ｃ６～Ｃ１０アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルであり；
Ｒｘは、水素又は重水素であり；
ｐは、０、１又は２であり；
ｎは、０、１又は２であり；
ｙは、１又は２であり、ここで、ｎ＋ｙ≦３であり；及び
ｑは、０、１、２、３又は４である）
の化合物又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物若しくは互変異性体である。

【０４４３】
いくつかの実施形態では、式（ＩＩＩ）の分解化合物は、式（ＩＩＩ－ａ）：
【化２６】



(III-a)

（式中、
Ｘ１は、ＣＲ３であり；
【化２７】



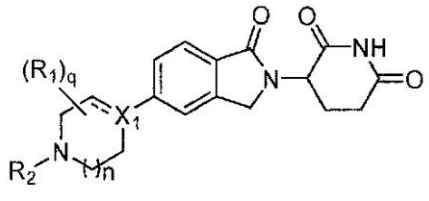
は、Ｘ１がＣＲ３であり且つＲ３が存在しない場合、任意選択により二重結合であり；
各Ｒ１は、独立して、Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ１～Ｃ６ハロアルキル、Ｃ１～Ｃ６ヒドロキシアルキル若しくはハロであり；

R_2は、水素、C_1～C_6アルキル、C_6～C_{10}アリール又はO、N及びSから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員若しくは６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル又はO、N及びSから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５－ヘテロシクリル～７－ヘテロシクリルであり、アルキルは、任意選択により１つ以上のR_4で置換され；及びアリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリルは、任意選択により１つ以上のR_5で置換され；
R_3は水素であるか、又は
【化２８】



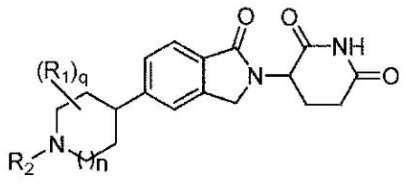
が二重結合であるとき、R_3は、存在せず；
各R_4は、－C（O）OR_6、－C（O）NR_6R_6、－NR_6C（O）R_6、C_6～C_{10}アリール、O、N及びSから選択される１～４個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにO、N及びSから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリル環から独立して選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリルは、任意選択により１つ以上のR_7で置換され；
各R_5は、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6アルコキシ、C_1～C_6ハロアルキル、C_1～C_6ハロアルコキシ、C_1～C_6ヒドロキシアルキル、ハロ、－OH、－NH_2、シアノ、C_3～C_7カルボシクリル、O、N及びSから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリル、C_6～C_{10}アリール並びにO、N及びSから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリールから独立して選択されるか、又は
２つのR_5は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにC_6～C_{10}アリール又はO、N及びSから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリールを形成し、任意選択により１つ以上のR_{10}で置換されるか、又は
２つのR_5は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにC_5～C_7カルボシクリル又はO、N及びSから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルを形成し、任意選択により１つ以上のR_{10}で置換され；
R_6及びR_6は、それぞれ独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであり；
各R_7は、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6アルコキシ、C_1～C_6ハロアルキル、C_1～C_6ハロアルコキシ、－C（O）R_8、－C（O）NR_8R_9、－NR_8C（O）R_9、－NR_8C（O）OR_9、（C_1～C_6）ヒドロキシアルキル、ハロ、－OH、－NH_2、シアノ、C_6～C_{10}アリール、O、N及びSから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_7カルボシクリル並びにO、N及びSから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから独立して選択されるか、又は
２つのR_7は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにC_6～C_{10}アリール又はO、N及びSから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリールを形成し、任意選択により１つ以上のR_{10}で置換されるか、又は
２つのR_7は、それらが結合される原子とともにC_5～C_7カルボシクリル又はO、N及びSから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルを形成し、任意選択により１つ以上のR_{10}で置換され；
R_8及びR_9は、それぞれ独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであり；
各R_{10}は、C_1～C_6アルキル、C_1～C_6アルコキシ、C_1～C_6ハロアルキル、C_1～C_6ハロアルコキシ、C_1～C_6ヒドロキシアルキル、ハロ、－OH、－NH_2及びシアノから独立して選択され；
R_xは、水素又は重水素であり；
nは、１又は２であり；及び

ｑは、０、１、２、３又は４である）
の化合物又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物若しくは互変異性体である。
【０４４４】
ある実施形態では、式（ＩＩＩ）の化合物は、式（ＩＩＩ－ｂ）：
【化２９】



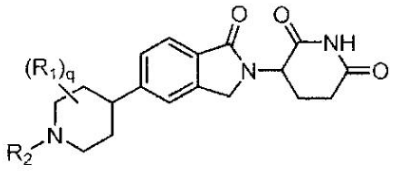
(III-b)

の化合物又はその薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、プロドラッグ、立体異性体及び互変異性体であり、式中、X_1、R_1、R_2、ｎ、ｑ及びその下位の変数は、式（ＩＩＩ）について上に記載されるとおりに定義される。
【０４４５】
ある実施形態では、式（ＩＩＩ）の化合物は、式（ＩＩＩ－ｃ）：
【化３０】



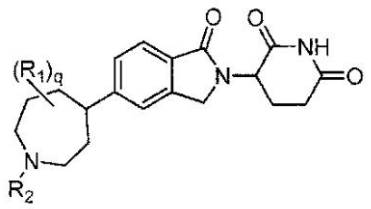
(III-c)

の化合物又はその薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、プロドラッグ、立体異性体及び互変異性体であり、式中、R_1、R_2、ｎ、ｑ及びその下位の変数は、式（ＩＩＩ）について記載されるとおりに定義される。
【０４４６】
ある実施形態では、式（ＩＩＩ）の化合物は、式（ＩＩＩ－ｄ）：
【化３１】



(III-d)

の化合物又はその薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、プロドラッグ、立体異性体及び互変異性体であり、R_1、R_2、ｑ及びその下位の変数は、式（ＩＩＩ）について記載されるとおりに定義される。
【０４４７】
ある実施形態では、式（ＩＩＩ）の化合物は、式（ＩＩＩ－ｅ）
【化３２】



(III-e)

の化合物又はその薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、プロドラッグ、立体異性体

及び互変異性体であり、式中、R_1、R_2、q及びその下位の変数は、式（ＩＩＩ）について記載されるとおりに定義される。

【０４４８】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり且つｎは１である。別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、且つｑは０である。

【０４４９】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、且つｑは０又は１である。別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０又は１であり、且つR_1はC_1～C_6アルキルである。別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０又は１であり、R_1はC_1～C_6アルキルであり、且つR_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルである。別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０又は１であり、R_1はC_1～C_6アルキルであり、且つR_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルである。

【０４５０】

別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、且つR_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルである。別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、且つR_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルである。

【０４５１】

上記の式のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０又は１であり、R_1はC_1～C_6アルキルであり、R_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、－Ｃ（Ｏ）ＯR_6、C_6～C_{10}アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリルは、１～３個のR_7で任意選択により置換される。

【０４５２】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０又は１であり、R_1はC_1～C_6アルキルであり、R_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、－Ｃ（Ｏ）ＯR_6、C_6～C_{10}アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。

【０４５３】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０又は１であり、R_1はC_1～C_6アルキルであり、R_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、C_6～C_{10}アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。

【０４５４】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０又は１であり、R_1はC_1～C_6アルキルであり、R_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、C_6～C_{10}アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。

【０４５５】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、且つR_2は、C_6～C_{10}アリール、C_3～C_8カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルであり、アリール、カルボシクリル及びヘテロシクリルは、１～３個のR_5で任意選択により置換される。さらに別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、且つR_2は、C_6～C_{10}アリール、C_3～C_8カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルである。
【０４５６】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、且つR_2は、１～３個のR_5で任意選択により置換されたC_6～C_{10}アリールである。別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、且つR_2は、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含み、１～３個のR_5で任意選択により置換された５員又は６員ヘテロアリールである。さらに別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、且つR_2は、１～３個のR_5で任意選択により置換されたC_3～C_8カルボシクリルである。別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、且つR_2は、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含み、１～３個のR_5で任意選択により置換された５～７員ヘテロシクリルである。
【０４５７】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０又は１であり、R_1は、C_1～C_6アルキルであり、且つR_2は、C_6～C_{10}アリール、C_3～C_8カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルであり、アリール、カルボシクリル及びヘテロシクリルは、１～３個のR_5で任意選択により置換される。さらに別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０又は１であり、R_1は、C_1～C_6アルキルであり、且つR_2は、C_6～C_{10}アリール、C_3～C_8カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルである。
【０４５８】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０又は１であり、R_1はC_1～C_6アルキルであり、且つR_2は、１～３個のR_5で任意選択により置換されたC_6～C_{10}アリールである。別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、且つR_2は、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含み、１～３個のR_5で任意選択により置換された５員又は６員ヘテロアリールである。さらに別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０又は１であり、R_1はC_1～C_6アルキルであり、且つR_2は、１～３個のR_5で任意選択により置換されたC_3～C_8カルボシクリルである。別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０又は１であり、R_1はC_1～C_6アルキルであり、且つR_2は、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含み、１～３個のR_5で任意選択により置換された５～７員ヘテロシクリルである。
【０４５９】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、且つR_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルである。別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、且つR_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルである。
【０４６０】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、－Ｃ（Ｏ）ＯR_6、C_6～C_{10}アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシク

リルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のＲ$_7$で任意選択により置換される。

【０４６１】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、Ｘ$_1$はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、Ｒ$_2$は、１～３個のＲ$_4$で置換されたＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキルであり、且つ各Ｒ$_4$は、独立して、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ$_6$、Ｃ$_6$～Ｃ$_{10}$アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、Ｃ$_3$～Ｃ$_8$カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のＲ$_7$で任意選択により置換される。

【０４６２】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、Ｘ$_1$はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、Ｒ$_2$は、１～３個のＲ$_4$で任意選択により置換されたＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキルであり、且つ各Ｒ$_4$は、独立して、ハロ、－ＯＨ、Ｃ$_6$～Ｃ$_{10}$アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、Ｃ$_3$～Ｃ$_8$カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のＲ$_7$で任意選択により置換される。

【０４６３】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、Ｘ$_1$はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、Ｒ$_2$は、１～３個のＲ$_4$で置換されたＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキルであり、且つ各Ｒ$_4$は、独立して、ハロ、－ＯＨ、Ｃ$_6$～Ｃ$_{10}$アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、Ｃ$_3$～Ｃ$_8$カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のＲ$_7$で任意選択により置換される。

【０４６４】

上の式のいくつかの実施形態では、Ｘ$_1$はＣＨであり、ｎは１であり、ｎ１は１であり、ｑは０であり、Ｒ$_2$は、１～３個のＲ$_4$で任意選択により置換されたＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキルであり、且つ各Ｒ$_4$は、独立して、ハロ、－ＯＨ、Ｃ$_6$～Ｃ$_{10}$アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、Ｃ$_3$～Ｃ$_8$カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のＲ$_7$で任意選択により置換される。

【０４６５】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、Ｘ$_1$はＣＨであり、ｎは１であり、ｎ１は１であり、ｑは０であり、Ｒ$_2$は、１～３個のＲ$_4$で置換されたＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキルであり、且つ各Ｒ$_4$は、独立して、ハロ、－ＯＨ、Ｃ$_6$～Ｃ$_{10}$アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、Ｃ$_3$～Ｃ$_8$カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のＲ$_7$で任意選択により置換される。

【０４６６】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、Ｘ$_1$はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、Ｒ$_2$は、１～３個のＲ$_4$で任意選択により置換されたＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキルであり、且つ各Ｒ$_4$は、独立して、Ｃ$_6$～Ｃ$_{10}$アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、Ｃ$_3$～Ｃ$_8$カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のＲ$_7$で任意選択により置換される。

【０４６７】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、C_6～C_{10}アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。
【０４６８】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、ハロ、－ＯＨ、フェニル、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。
【０４６９】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、ハロ、－ＯＨ、フェニル、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。
【０４７０】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｎ１は１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、ハロ、－ＯＨ、フェニル、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。
【０４７１】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｎ１は１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、ハロ、－ＯＨ、フェニル、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、フェニル、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。
【０４７２】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、フェニル、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、フェニル、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。
【０４７３】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０で

あり、R_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、フェニル、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、フェニル、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。

【０４７４】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｎ１は１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、フェニル、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、フェニル、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。

【０４７５】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｎ１は１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、フェニル、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、フェニル、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。

【０４７６】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、フェニル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリールから選択され、フェニル及びヘテロアリール基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。

【０４７７】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、フェニル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、フェニル及びヘテロアリール基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。

【０４７８】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｎ１は１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、フェニル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリールから選択され、フェニル及びヘテロアリール基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。

【０４７９】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｎ１は１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、フェニル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、フェニル及びヘテロアリール基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。

【０４８０】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルであり、且

つ各R_4は、１～３個のR_7で任意選択により置換されたフェニルである。
【０４８１】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、１～３個のR_7で任意選択により置換されたフェニルである。
【０４８２】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｎ１は１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、１～３個のR_7で任意選択により置換されたフェニルである。
【０４８３】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは１であり、ｎ１は１であり、ｑは０であり、R_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、１～３個のR_7で任意選択により置換されたフェニルである。
【０４８４】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、且つｎは２である。別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは２であり、且つｑは０である。さらに別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは２であり、且つｑは０又は１である。別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０又は１であり、且つR_1はC_1～C_6アルキルである。
【０４８５】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０又は１であり、R_1はC_1～C_6アルキルであり、且つR_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルである。別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０又は１であり、R_1はC_1～C_6アルキルであり、且つR_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルである。
【０４８６】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０であり、且つR_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルである。別の実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０であり、且つR_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルである。
【０４８７】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０又は１であり、R_1はC_1～C_6アルキルであり、R_2は、１～３個のR_4で任意選択により置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、－Ｃ（Ｏ）ＯR_6、C_6～C_{10}アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。
【０４８８】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０又は１であり、R_1はC_1～C_6アルキルであり、R_2は、１～３個のR_4で置換されたC_1～C_6アルキルであり、且つ各R_4は、独立して、－Ｃ（Ｏ）ＯR_6、C_6～C_{10}アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のR_7で任意選択により置換される。
【０４８９】
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、X_1はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０又は１であり、R_1はC_1～C_6アルキルであり、R_2は、１～３個のR_4で任意選択により

置換されたＣ１～Ｃ６アルキルであり、且つ各Ｒ４は、独立して、Ｃ６～Ｃ１０アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、Ｃ３～Ｃ８カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のＲ７で任意選択により置換される。

【０４９０】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、Ｘ１はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０又は１であり、Ｒ１はＣ１～Ｃ６アルキルであり、Ｒ２は、１～３個のＲ４で置換されたＣ１～Ｃ６アルキルであり、且つ各Ｒ４は、独立して、Ｃ６～Ｃ１０アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、Ｃ３～Ｃ８カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから選択され、アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリル基は、１～３個のＲ７で任意選択により置換される。

【０４９１】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、Ｘ１はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０であり、且つＲ２は、Ｃ６～Ｃ１０アリール、Ｃ３～Ｃ８カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルであり、アリール、カルボシクリル及びヘテロシクリルは、１～３個のＲ５で任意選択により置換される。さらに別の実施形態では、Ｘ１はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０であり、且つＲ２は、Ｃ６～Ｃ１０アリール、Ｃ３～Ｃ８カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルである。

【０４９２】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、Ｘ１はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０であり、且つＲ２は、１～３個のＲ５で任意選択により置換されたＣ６～Ｃ１０アリールである。別の実施形態では、Ｘ１はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０であり、且つＲ２は、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含み、１～３個のＲ５で任意選択により置換された５員又は６員ヘテロアリールである。さらに別の実施形態では、Ｘ１はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０であり、且つＲ２は、１～３個のＲ５で任意選択により置換されたＣ３～Ｃ８カルボシクリルである。別の実施形態では、Ｘ１はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０であり、且つＲ２は、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含み、１～３個のＲ５で任意選択により置換された５～７員ヘテロシクリルである。

【０４９３】

式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、Ｘ１はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０又は１であり、Ｒ１は、Ｃ１～Ｃ６アルキルであり、且つＲ２は、Ｃ６～Ｃ１０アリール、Ｃ３～Ｃ８カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルであり、アリール、カルボシクリル及びヘテロシクリルは、１～３個のＲ５で任意選択により置換される。さらに別の実施形態では、Ｘ１はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０又は１であり、Ｒ１は、Ｃ１～Ｃ６アルキルであり、且つＲ２は、Ｃ６～Ｃ１０アリール、Ｃ３～Ｃ８カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルである。

【０４９４】

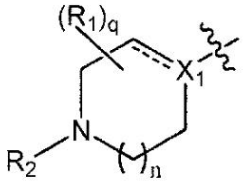
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、Ｘ１はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０又は１であり、Ｒ１はＣ１～Ｃ６アルキルであり、且つＲ２は、１～３個のＲ５で任意選択により置換されたＣ６～Ｃ１０アリールである。別の実施形態では、Ｘ１はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０であり、且つＲ２は、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含み、１～３個のＲ５で任意選択により置換された５員又は６員ヘテロアリールである。さらに別の実施形態では、Ｘ１はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０又は１であり、Ｒ１はＣ１～Ｃ６アルキルであり、且つＲ２は、１～３個のＲ５で任意選択により置換されたＣ３～Ｃ８カルボシクリルである。別の実施形態では、Ｘ１はＣＨであり、ｎは２であり、ｑは０又は１であり、Ｒ１はＣ１～Ｃ６アルキルであり、且つＲ２は、Ｏ、Ｎ及びＳから

選択される１～３個のヘテロ原子を含み、１～３個のＲ$_5$で任意選択により置換された５～７員ヘテロシクリルである。

【０４９５】

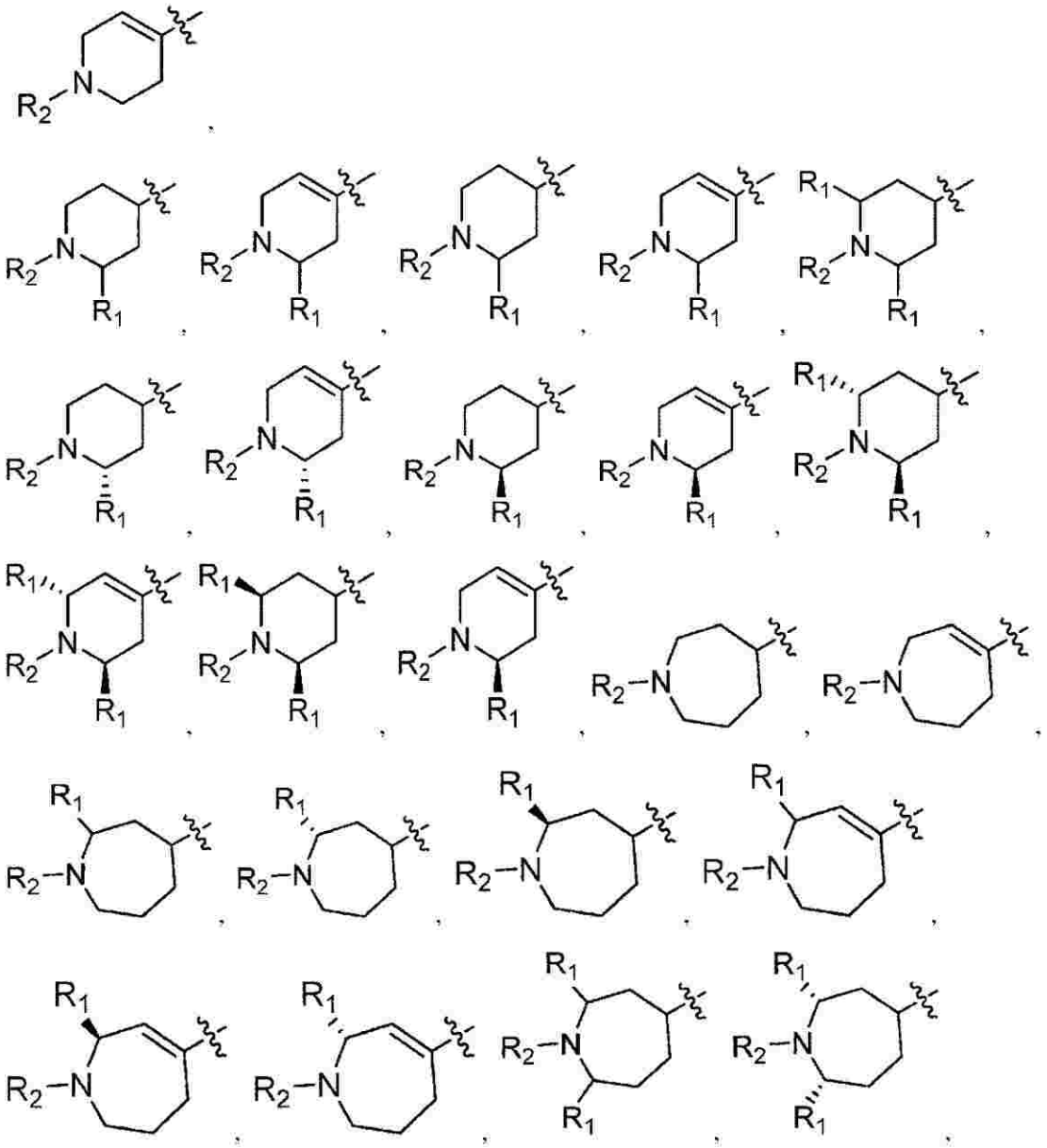
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、

【化３３】

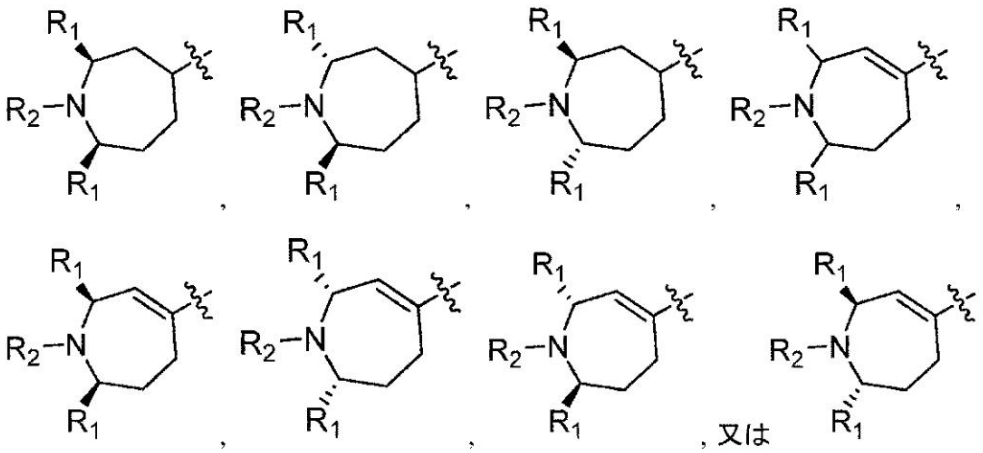


は、

【化３４】



【化３５】

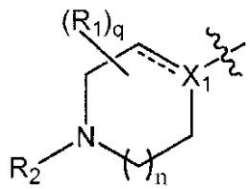


である。

【０４９６】

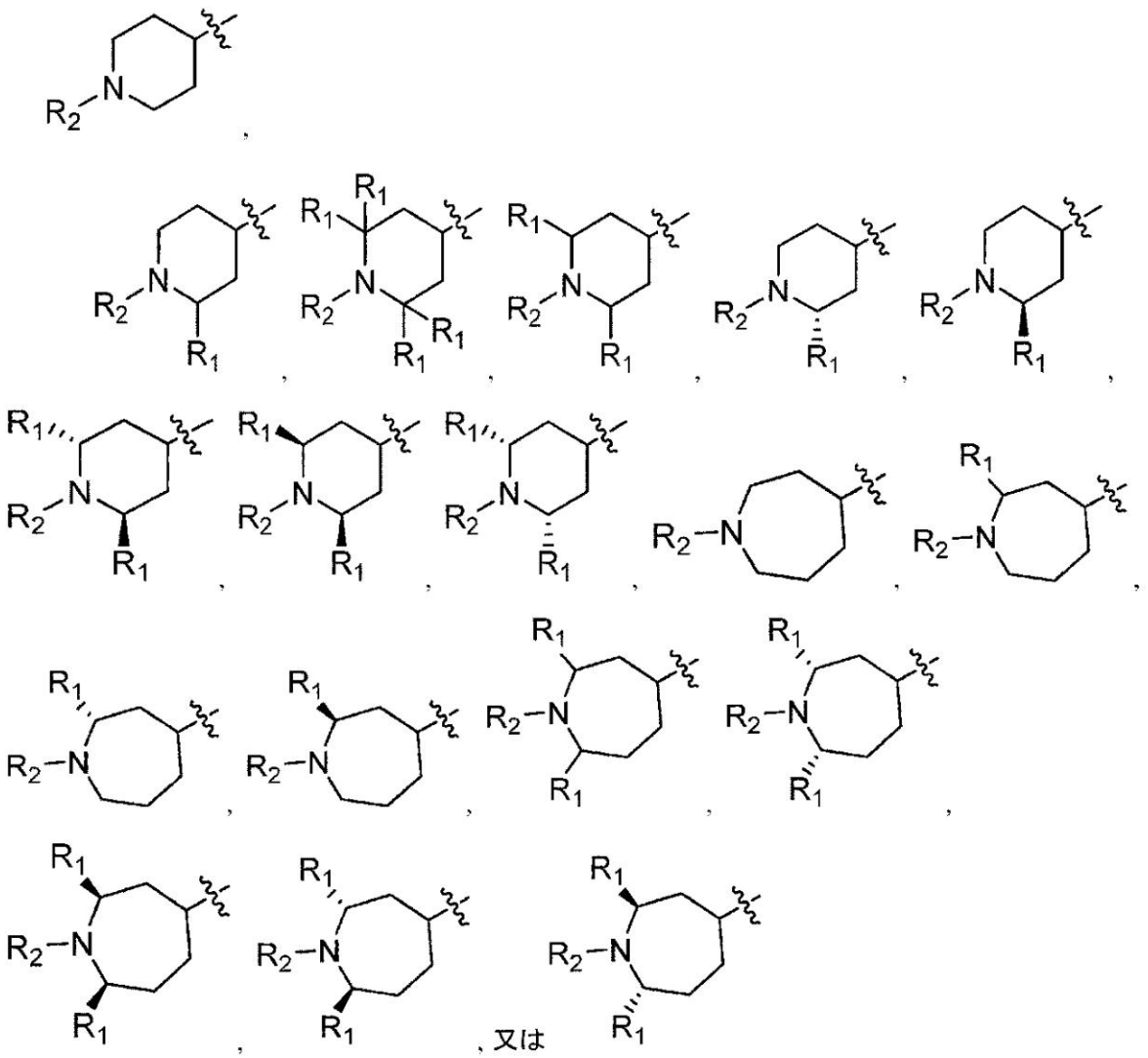
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、

【化３６】



は、

【化３７】

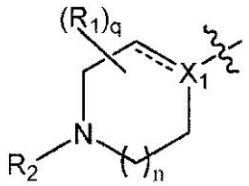


である。

【０４９７】

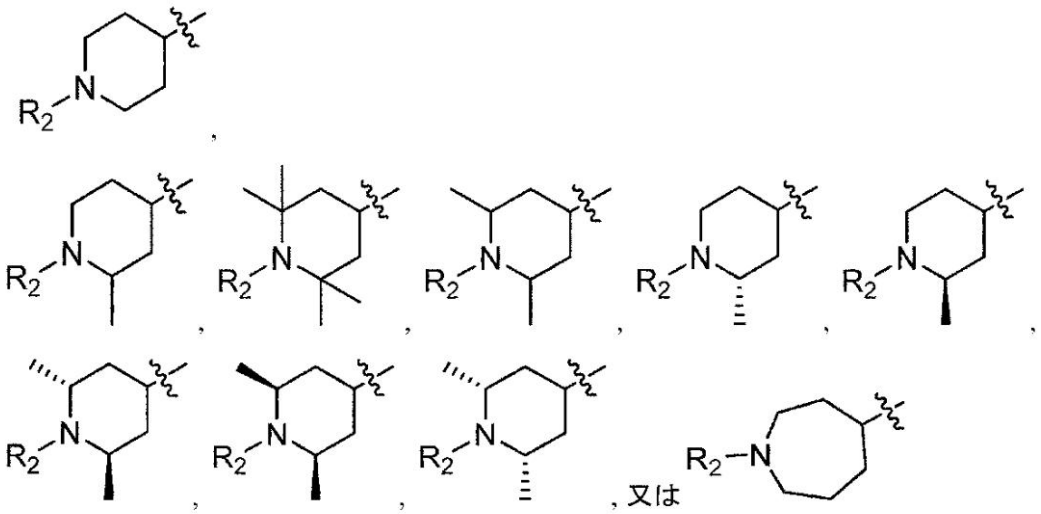
式（ＩＩＩ）のいくつかの実施形態では、

【化３８】



は、

【化３９】



である。

【０４９８】

分解化合物は、１つ以上のキラル中心を含み得るし、１つ以上の立体異性体として存在し得る。いくつかの実施形態では、分解化合物は、１つのキラル中心を含み、立体異性体、例えば、Ｒ立体異性体及びＳ立体異性体の混合物である。いくつかの実施形態では、混合物は、Ｒ立体異性体とＳ立体異性体の比、例えば、約１：１比のＲ立体異性体とＳ立体異性体（すなわち、ラセミ混合物）を含む。いくつかの実施形態では、混合物は、約５１：４９、約５２：４８、約５３：４７、約５４：４６、約５５：４５、約６０：４０、約６５：３５、約７０：３０、約７５：２５、約８０：２０、約８５：１５、約９０：１０、約９５：５又は約９９：１のＲ立体異性体とＳ立体異性体の比を含む。いくつかの実施形態では、混合物は、約５１：４９、約５２：４８、約５３：４７、約５４：４６、約５５：４５、約６０：４０、約６５：３５、約７０：３０、約７５：２５、約８０：２０、約８５：１５、約９０：１０、約９５：５又は約９９：１のＳ立体異性体とＲ立体異性体の比を含む。いくつかの実施形態では、分解化合物は、式（Ｉ）又は式（Ｉ－ａ）の単一の立体異性体、例えば、単一のＲ立体異性体又は単一のＳ立体異性体である。

【０４９９】

いくつかの実施形態では、分解化合物（例えば、式（Ｉ）、式（Ｉ－ａ）、（ＩＩＩ）、（ＩＩＩ－ａ）、（ＩＩＩ－ｂ）、（ＩＩＩ－ｃ）、（ＩＩＩ－ｄ）又は（ＩＩＩ－ｅ）の化合物）は、リンカー又は結合基に結合されない。いくつかの実施形態では、分解化合物（例えば、式（Ｉ）、式（Ｉ－ａ）、（ＩＩＩ）、（ＩＩＩ－ａ）、（ＩＩＩ－ｂ）、（ＩＩＩ－ｃ）、（ＩＩＩ－ｄ）又は（ＩＩＩ－ｅ）の化合物）は、別の部分、例えば、リガンド、標的化剤又は二量体化できる部分を含まない。

【０５００】

ある実施形態では、分解化合物は、式（Ｉ）の化合物又はその薬学的に許容される塩である。ある実施形態では、分解化合物は、式（Ｉ－ａ）の化合物又はその薬学的に許容される塩である。ある実施形態では、分解化合物は、式（ＩＩＩ）の化合物又はその薬学的に許容される塩である。ある実施形態では、分解化合物は、式（ＩＩＩ－ａ）の化合物又はその薬学的に許容される塩である。ある実施形態では、分解化合物は、式（ＩＩＩ－ｂ）の化合物又はその薬学的に許容される塩である。ある実施形態では、分解化合物は、式（ＩＩＩ－ｃ）の化合物又はその薬学的に許容される塩である。ある実施形態では、分解化合物は、式（ＩＩＩ－ｄ）の化合物又はその薬学的に許容される塩である。ある実施形態では、分解化合物は、式（ＩＩＩ－ｅ）の化合物又はその薬学的に許容される塩である。

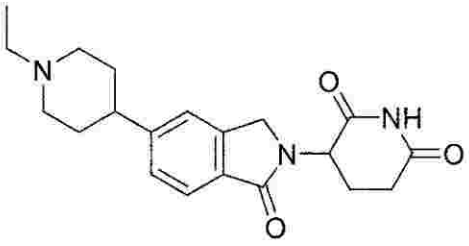
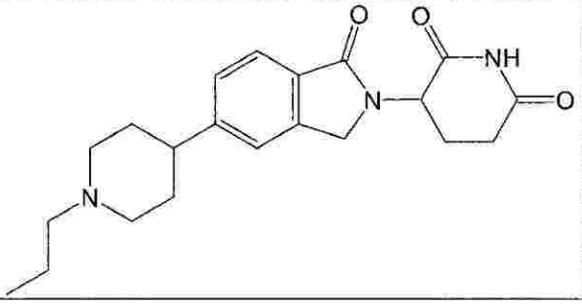
【０５０１】

本開示の例示的な分解化合物（例えば、式（ＩＩＩ）、式（ＩＩＩ－ａ）、式（ＩＩＩ－ｂ）、式（ＩＩＩ－ｃ）、式（ＩＩＩ－ｄ）若しくは式（ＩＩＩ－ｅ）の化合物又はその薬学的に許容される塩）としては、表２９におけるものが挙げられる。

【０５０２】

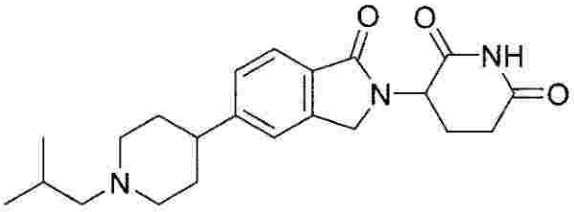
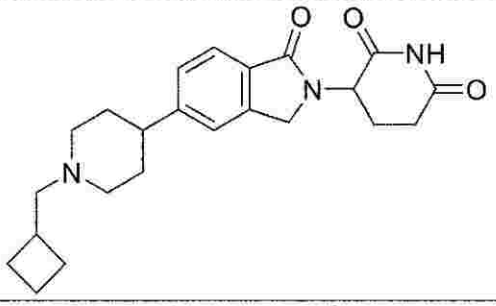
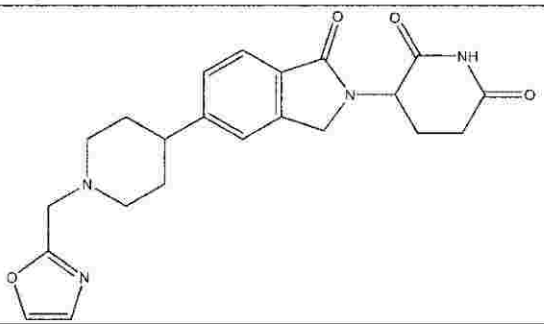
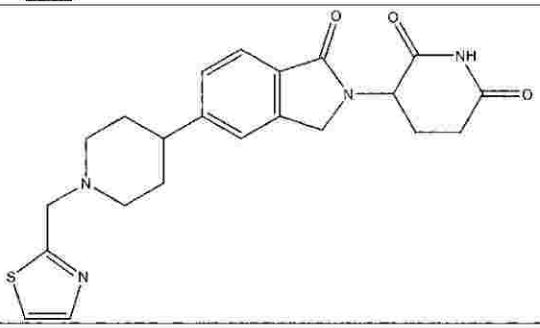
【表６】

表 29. 例示的な分解化合物

化合物番号	構造	化合物名
I-1		3-(5-(1-エチルピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-2		3-(1-オキソ-5-(1-プロピルピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-3		3-(5-(1-(シクロプロピルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

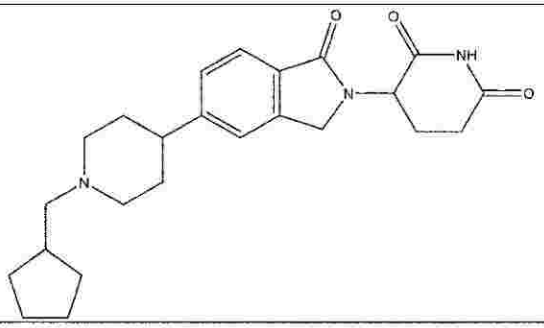
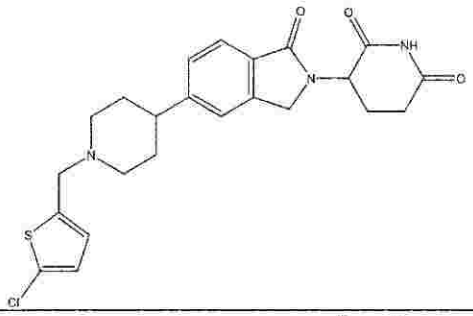
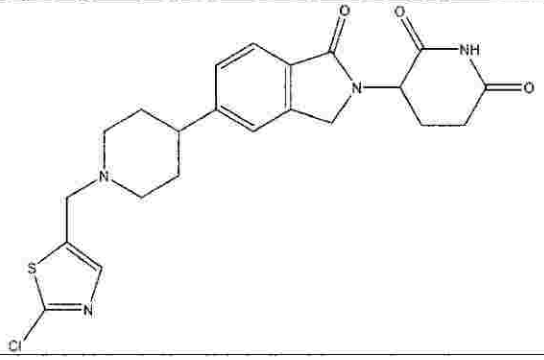
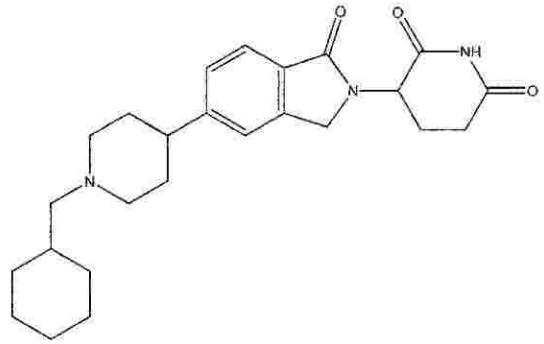
【０５０３】

【表７】

化合物番号	構造	化合物名
I-4		3-(5-(1-イソブチルピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-5		3-(5-(1-(シクロブチルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-6		3-(5-(1-(オキサゾール-2-イルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-7		3-(1-オキソ-5-(1-(チアゾール-2-イルメチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

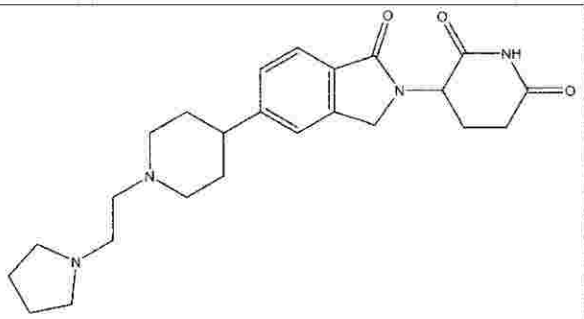
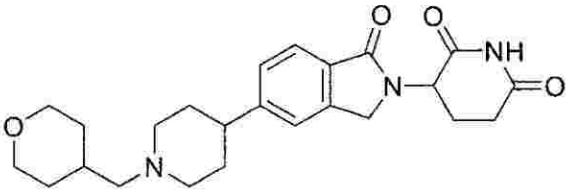
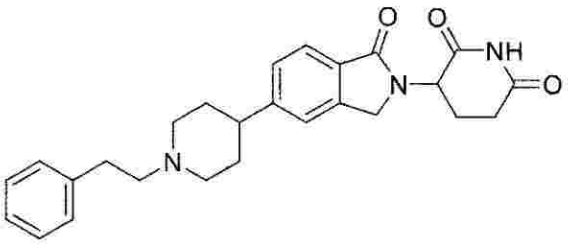
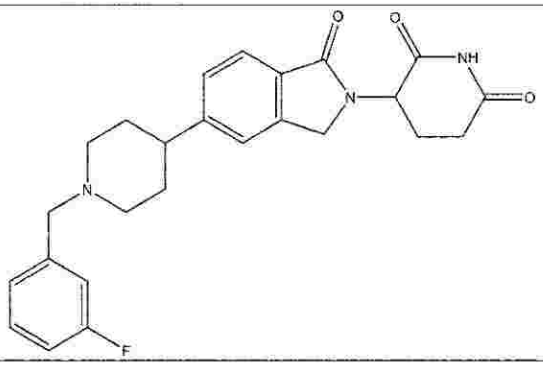
【０５０４】

【表８】

化合物番号	構造	化合物名
I-8		3-(5-(1-(シクロペンチルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-9		3-(5-(1-((5-クロロチオフェン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-10		3-(5-(1-((2-クロロチアゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-11		3-(5-(1-(シクロヘキシルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

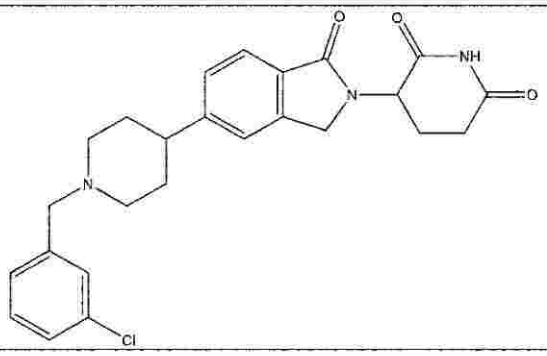
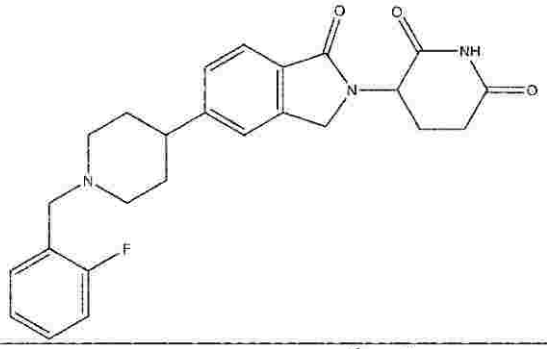
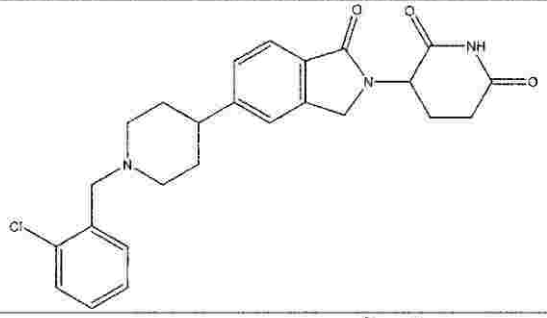
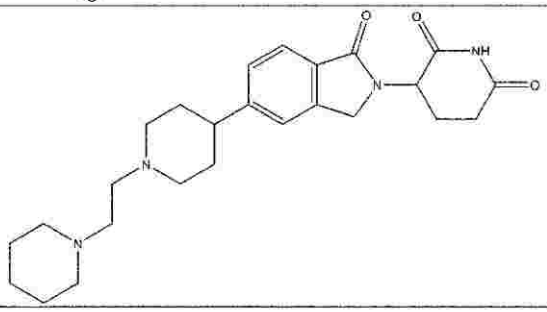
【０５０５】

【表９】

化合物番号	構造	化合物名
I-12		3-(1-オキソ-5-(1-(2-(ピロリジン-1-イル)エチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-13		3-(1-オキソ-5-(1-((テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-14		3-(1-オキソ-5-(1-フェネチルピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-15		3-(5-(1-(3-フルオロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

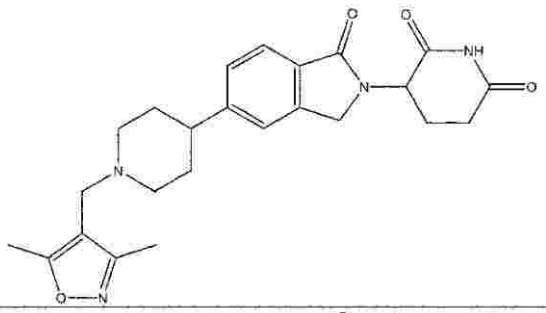
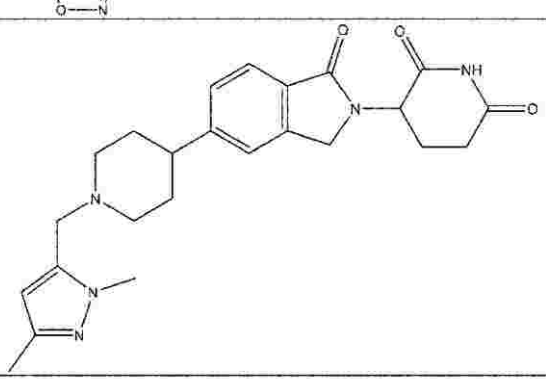
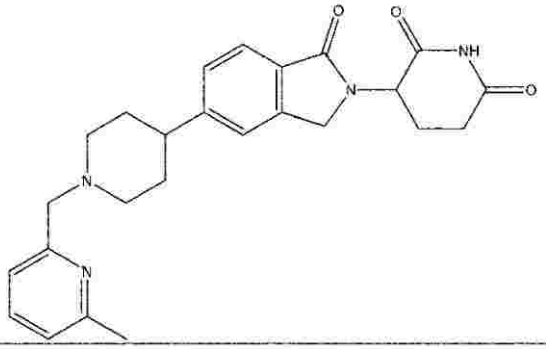
【０５０６】

【表１０】

化合物番号	構造	化合物名
I-16		3-(5-(1-(3-クロロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-17		3-(5-(1-(2-フルオロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-18		3-(5-(1-(2-クロロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-19		3-(1-オキソ-5-(1-(2-(ピペリジン-1-イル)エチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

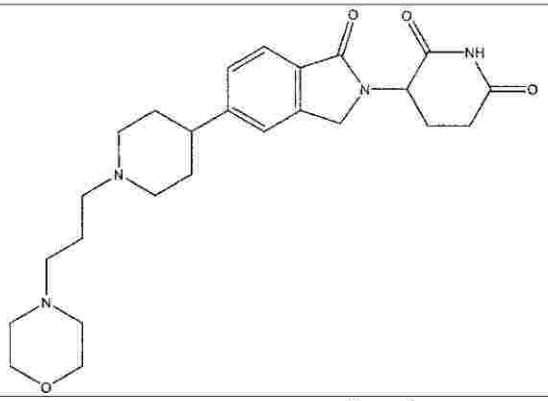
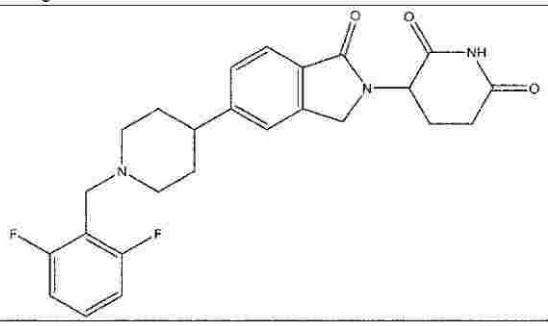
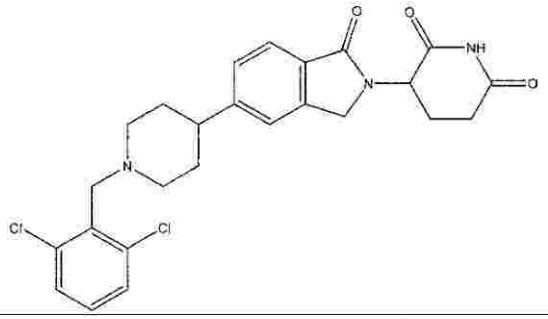
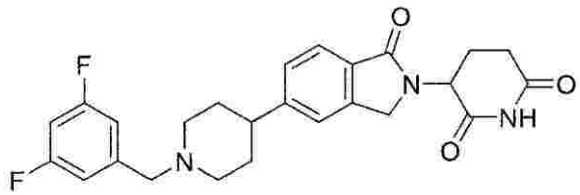
【０５０７】

【表１１】

化合物番号	構造	化合物名
I-20		3-(5-(1-((3,5-ジメチルイソオキサゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-21		3-(5-(1-((1,3-ジメチル-1H-ピラゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-22		3-(5-(1-((6-メチルピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

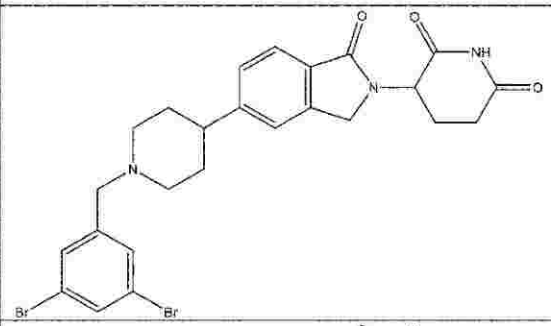
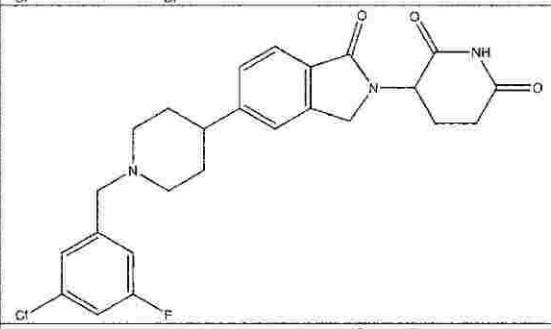
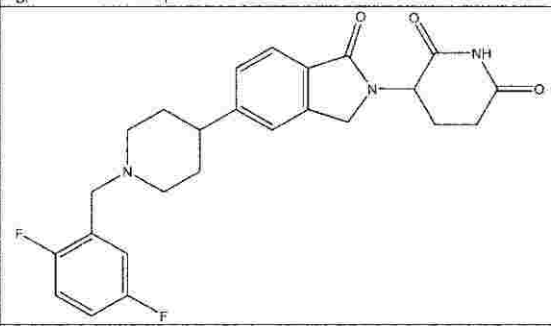
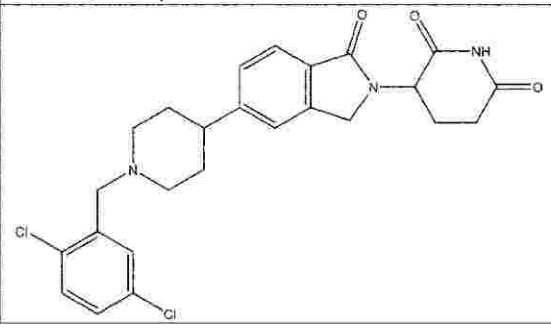
【０５０８】

【表１２】

化合物番号	構造	化合物名
I-23		3-(5-(1-(3-モルホリノプロピル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-24		3-(5-(1-(2,6-ジフルオロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-25		3-(5-(1-(2,6-ジクロロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-26		3-(5-(1-(3,5-ジフルオロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

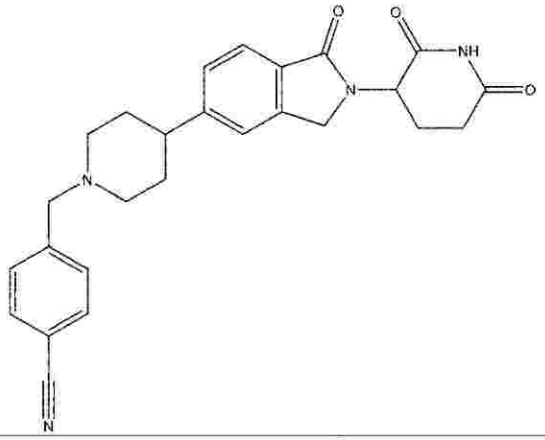
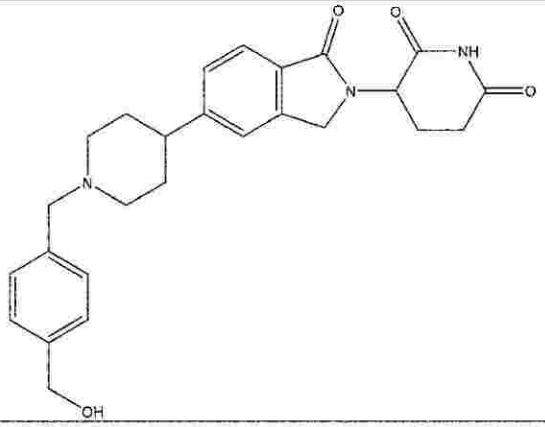
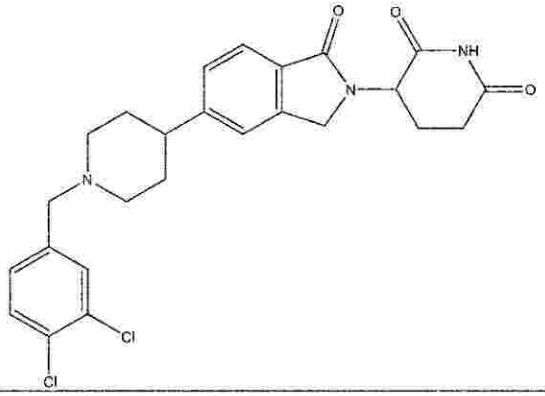
【０５０９】

【表１３】

化合物番号	構造	化合物名
I-27		3-(5-(1-(3,5-ジブロモベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-28		3-(5-(1-(3-クロロ-5-フルオロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-29		3-(5-(1-(2,5-ジフルオロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-30		3-(5-(1-(2,5-ジクロロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

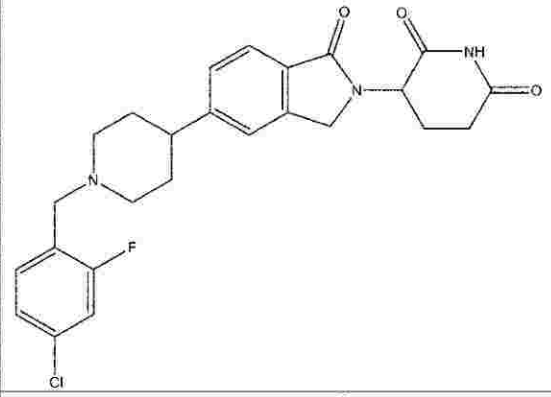
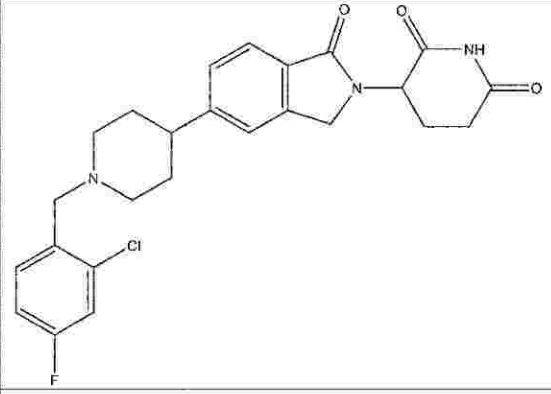
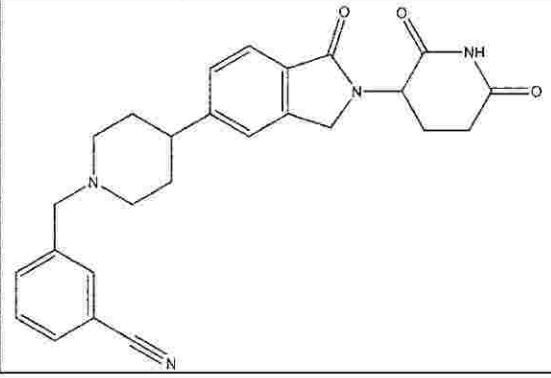
【０５１０】

【表１４】

化合物番号	構造	化合物名
I-31		4-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)ベンゾニトリル(又は 3-(5-(1-(4-ニトリルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン)
I-32		3-(5-(1-(4-(ヒドロキシメチル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-33		3-(5-(1-(3,4-ジクロロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

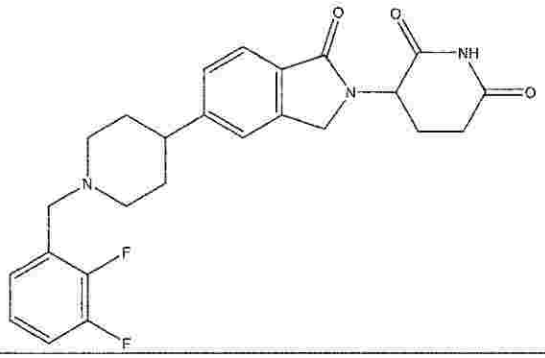
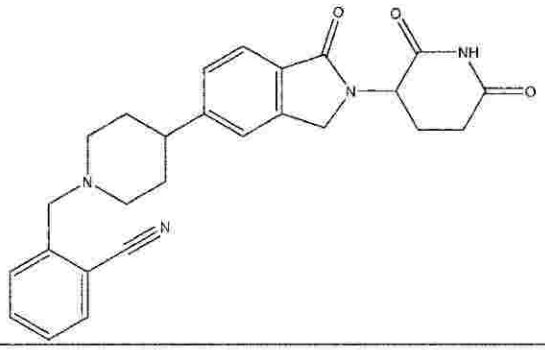
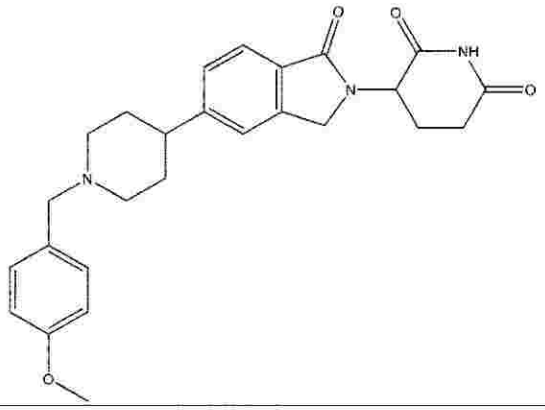
【０５１１】

【表１５】

化合物番号	構造	化合物名
I-34		3-(5-(1-(4-クロロ-2-フルオロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-35		3-(5-(1-(2-クロロ-4-フルオロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-36		3-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)ベンゾニトリル

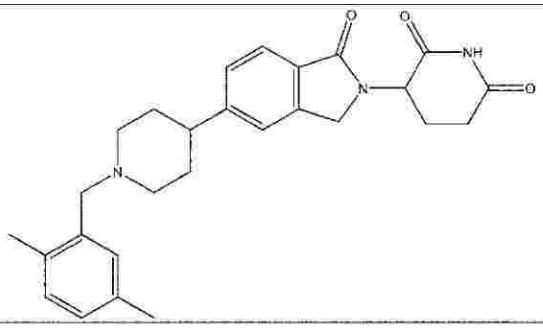
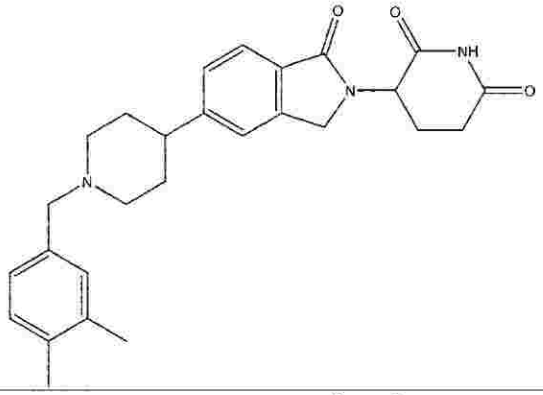
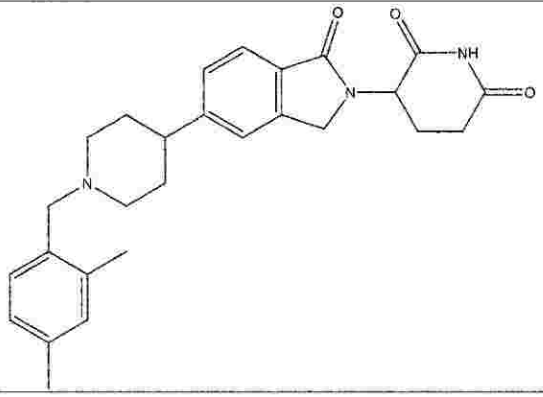
【０５１２】

【表１６】

化合物番号	構造	化合物名
I-37		3-(5-(1-(2,3-ジフルオロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-38		2-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)ベンゾニトリル
I-39		3-(5-(1-(4-メトキシベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

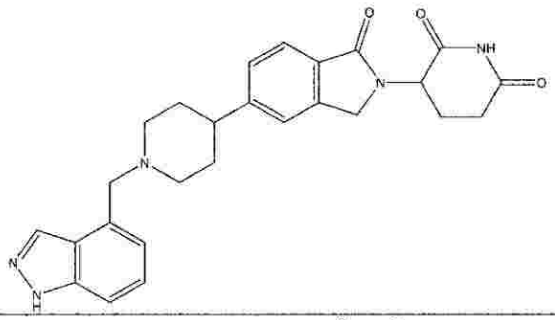
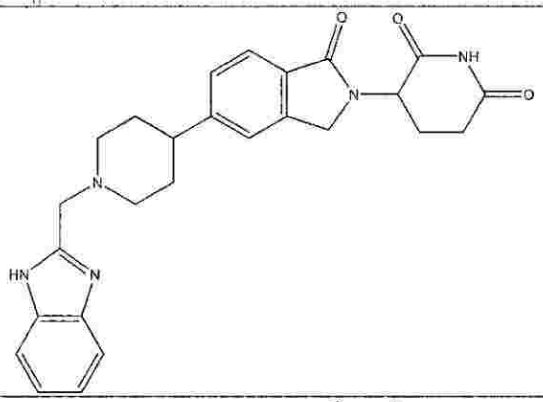
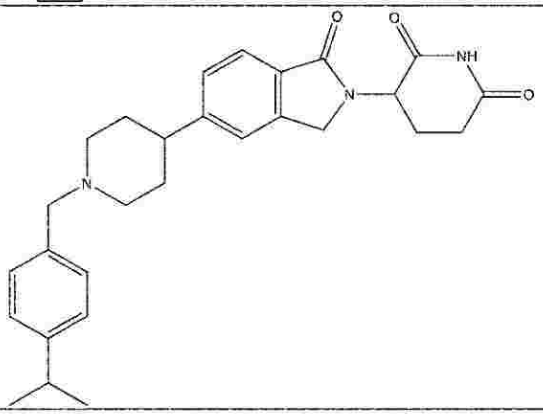
【０５１３】

【表１７】

化合物番号	構造	化合物名
I-40		3-(5-(1-(2,5-ジメチルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-41		3-(5-(1-(3,4-ジメチルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-42		3-(5-(1-(2,4-ジメチルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

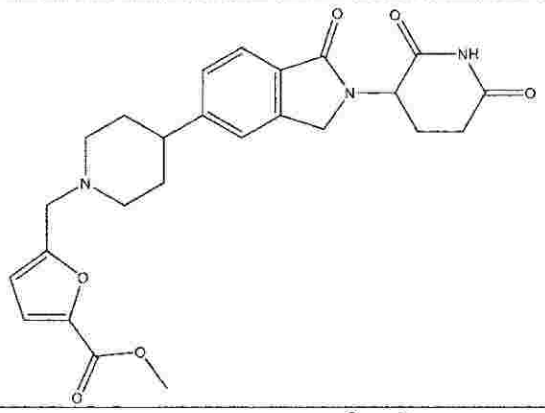
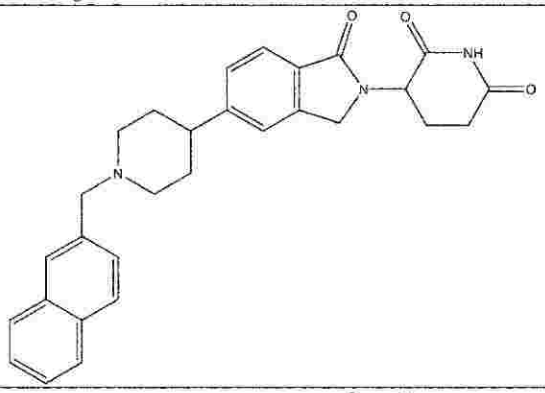
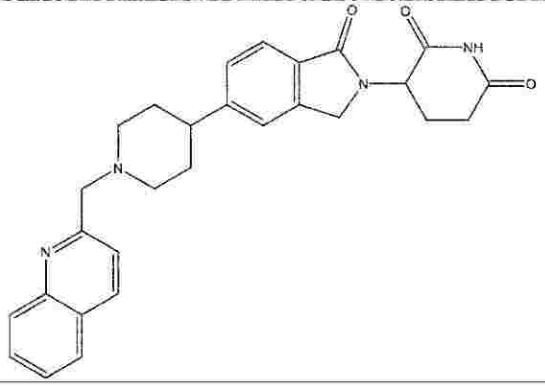
【０５１４】

【表１８】

化合物番号	構造	化合物名
I-43		3-(5-(1-((1H-インダゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-44		3-(5-(1-((1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-45		3-(5-(1-(4-イソプロピルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

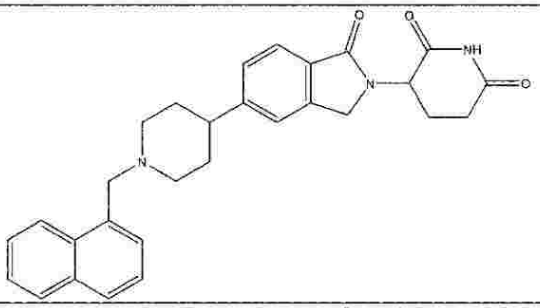
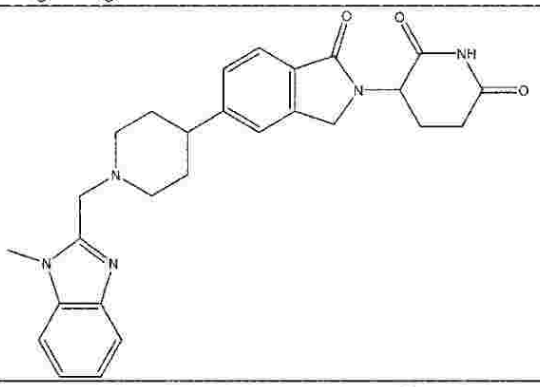
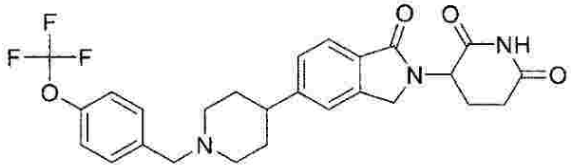
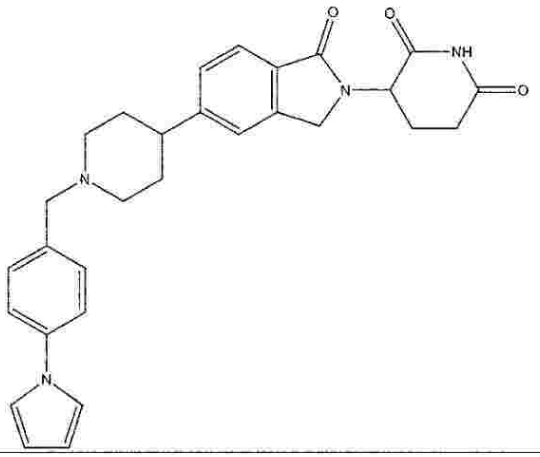
【０５１５】

【表１９】

化合物番号	構造	化合物名
I-46		5-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)フラン-2-カルボン酸メチル
I-47		3-(5-(1-(ナフタレン-2-イルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-48		3-(1-オキソ-5-(1-(キノリン-2-イルメチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

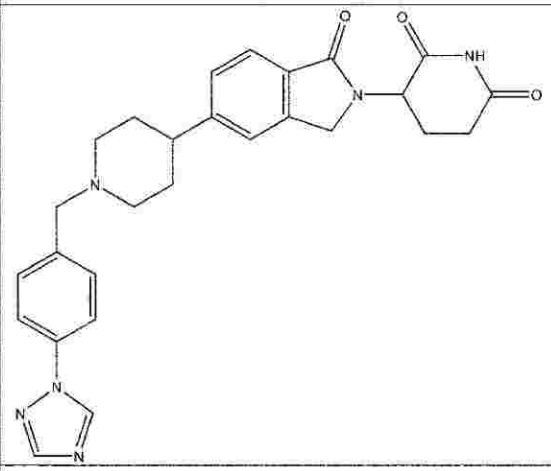
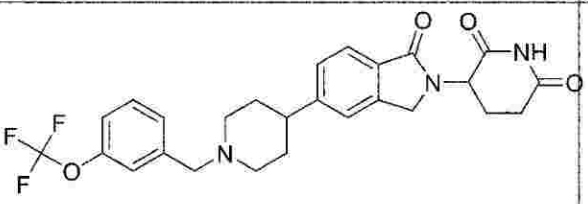
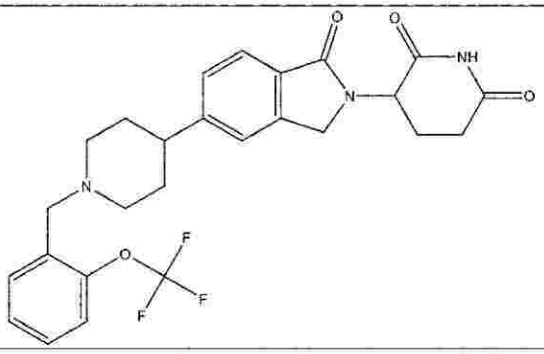
【０５１６】

【表２０】

化合物番号	構造	化合物名
I-49		3-(5-(1-(ナフタレン-1-イルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-50		3-(5-(1-((1-メチル-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-51		3-(1-オキソ-5-(1-(4-(トリフルオロメトキシ)ベンジル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-52		3-(5-(1-(4-(1H-ピロール-1-イル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

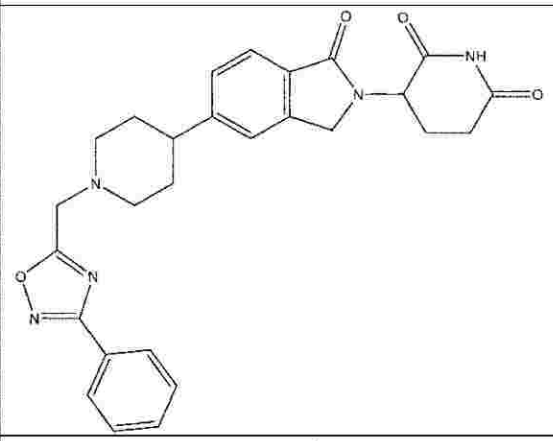
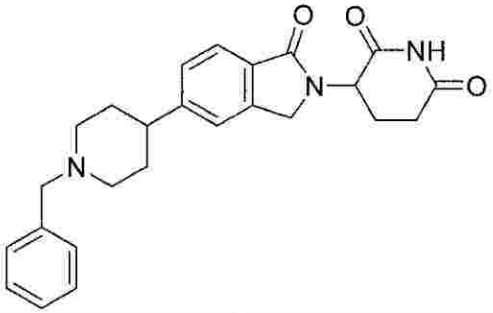
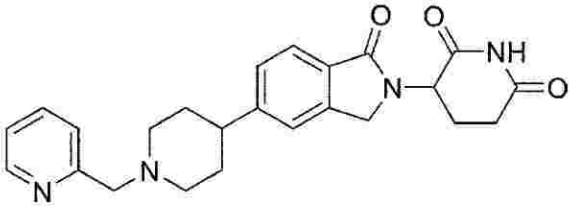
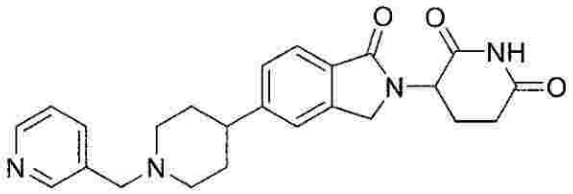
【０５１７】

【表２１】

化合物番号	構造	化合物名
I-53		3-(5-(1-(4-(1H-1,2,4-チアゾール-1-イル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-54		3-(1-オキソ-5-(1-(3-(トリフルオロメトキシ)ベンジル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-55		3-(1-オキソ-5-(1-(2-(トリフルオロメトキシ)ベンジル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

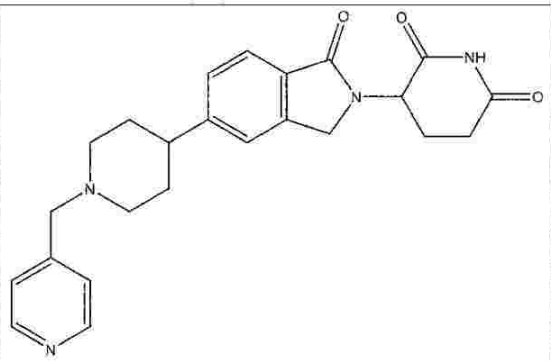
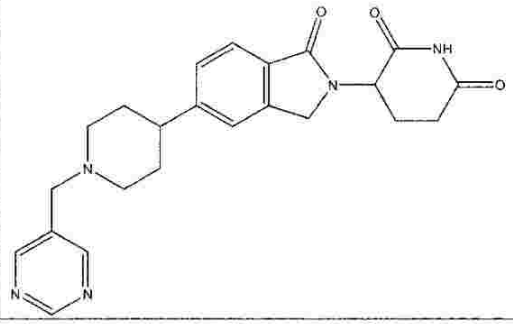
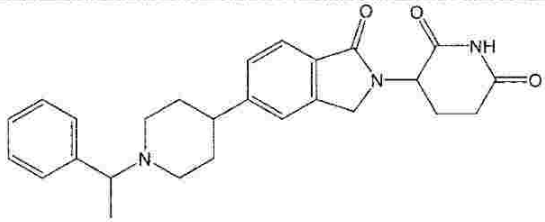
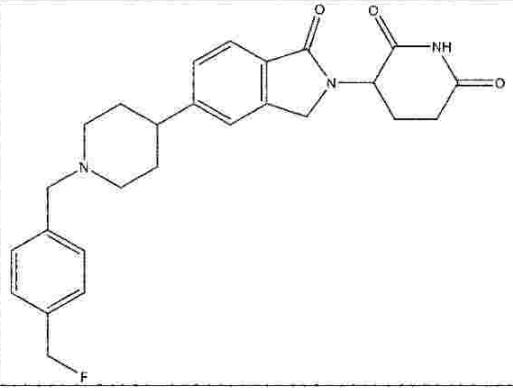
【０５１８】

【表２２】

化合物番号	構造	化合物名
I-56		3-(1-オキソ-5-(1-((3-フェニル-1,2,4-オキサジアゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-57		3-(5-(1-ベンジルピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-58		3-(1-オキソ-5-(1-(ピリジン-2-イルメチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-59		3-(1-オキソ-5-(1-(ピリジン-3-イルメチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

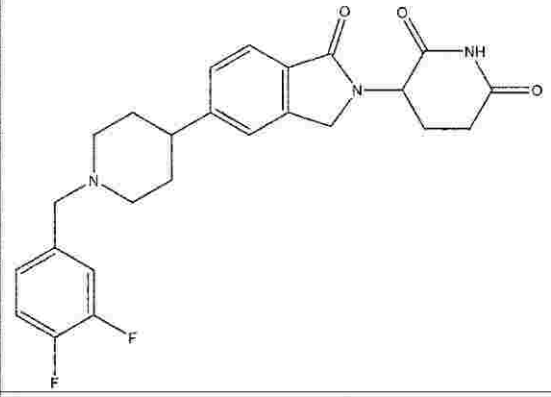
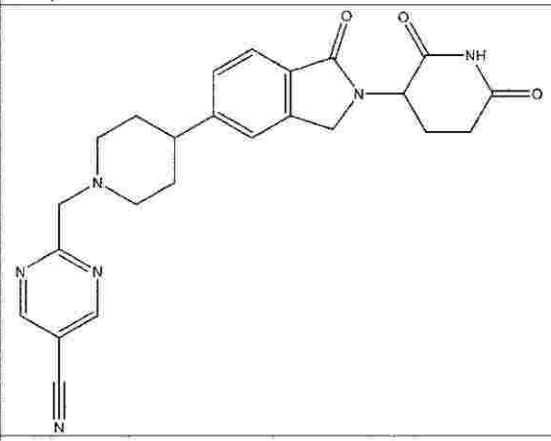
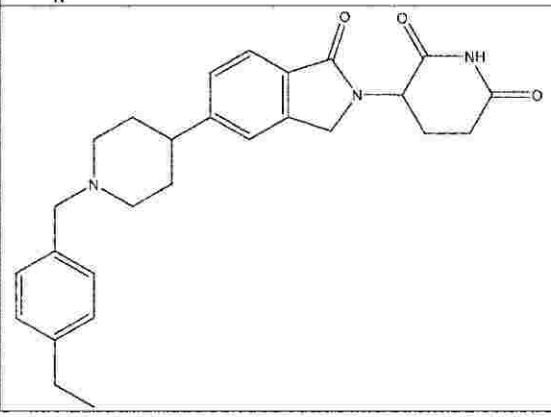
【０５１９】

【表２３】

化合物番号	構造	化合物名
I-60		3-(1-オキソ-5-(1-(ピリジン-4-イルメチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-61		3-(1-オキソ-5-(1-(ピリミジン-5-イルメチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-62		3-(1-オキソ-5-(1-(1-フェニルエチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-63		3-(5-(1-(4-(フルオロメチル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

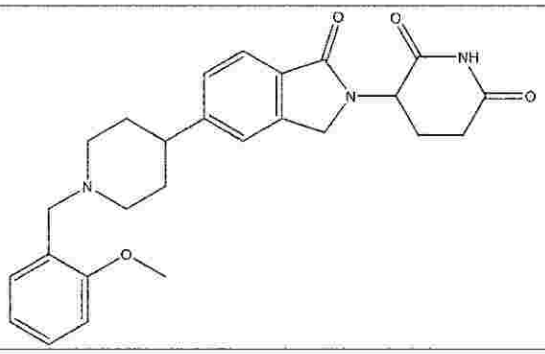
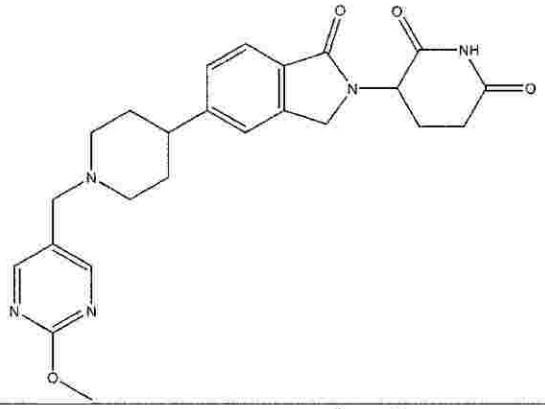
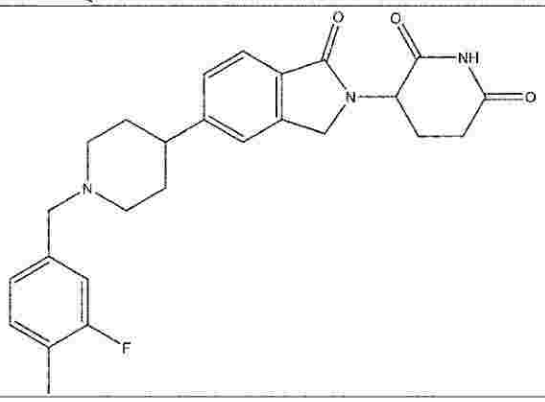
【０５２０】

【表２４】

化合物番号	構造	化合物名
I-64		3-(5-(1-(3,4-ジフルオロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-65		2-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)ピリミジン-5-カルボニトリル
I-66		3-(5-(1-(4-エチルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

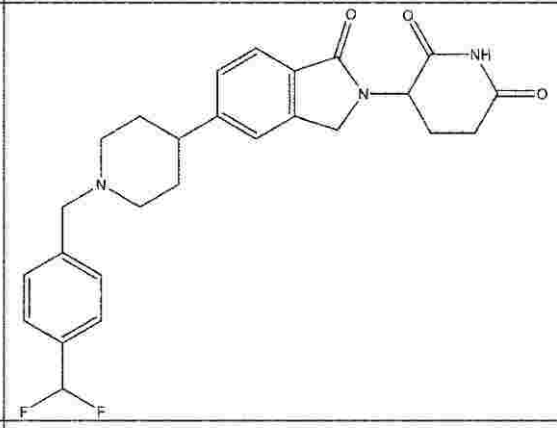
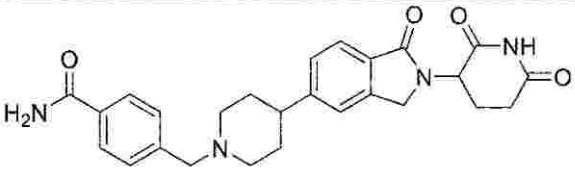
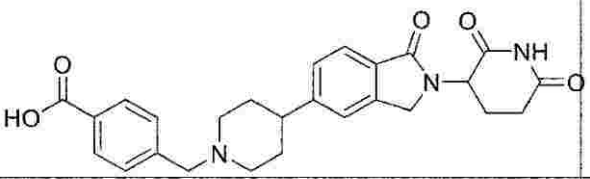
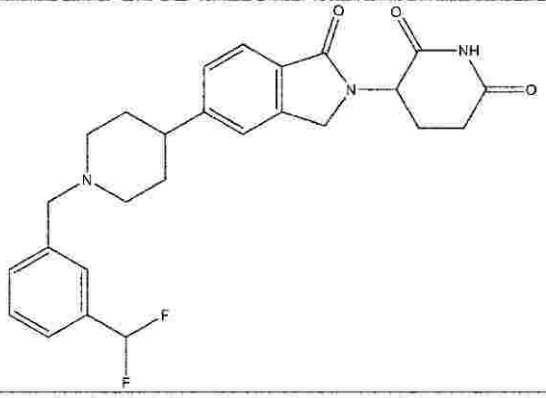
【０５２１】

【表２５】

化合物番号	構造	化合物名
I-67		3-(5-(1-(2-メトキシベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-68		3-(5-(1-((2-メトキシピリミジン-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-69		3-(5-(1-(3-フルオロ-4-メチルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

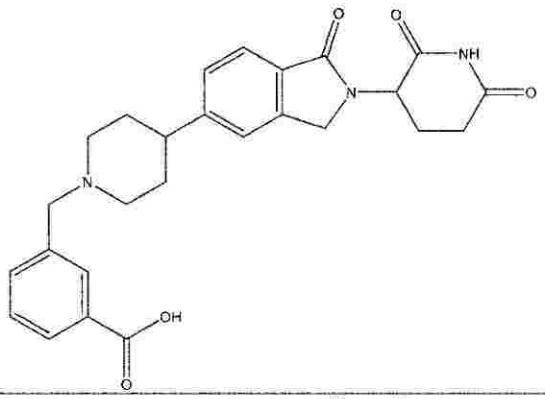
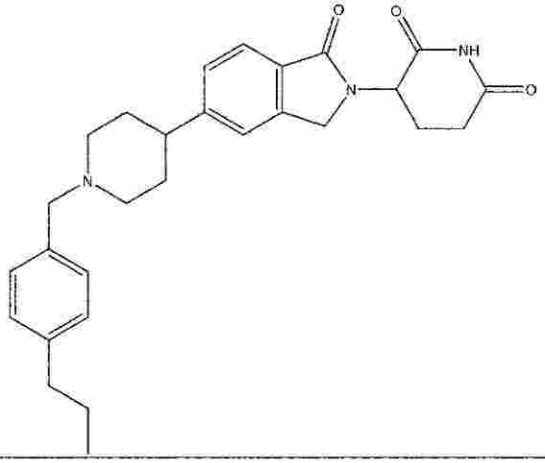
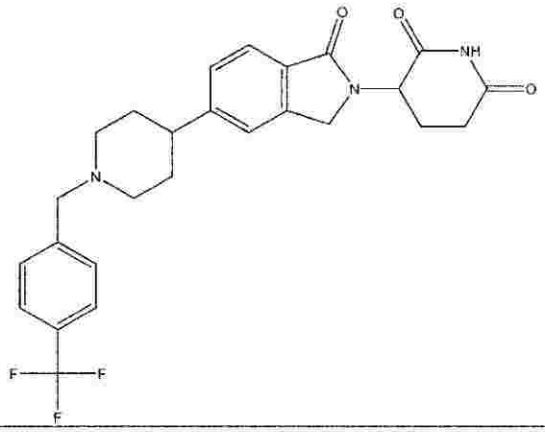
【０５２２】

【表２６】

化合物番号	構造	化合物名
I-70		3-(5-(1-(4-(ジフルオロメチル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-71		4-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)ベンズアミド
I-72		4-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)安息香酸
I-73		3-(5-(1-(3-(ジフルオロメチル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

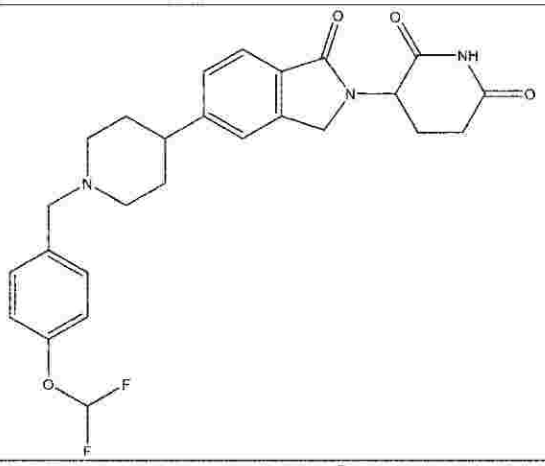
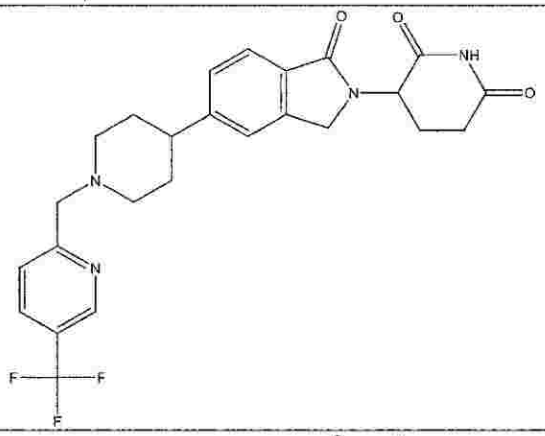
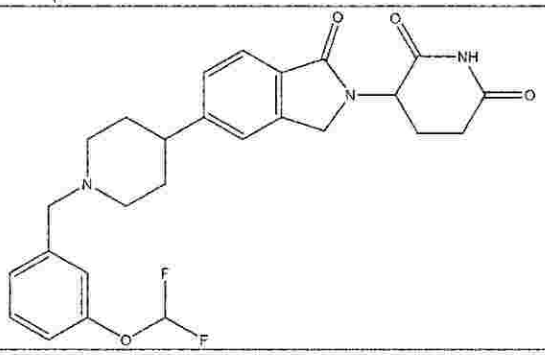
【０５２３】

【表２７】

化合物番号	構造	化合物名
I-74		3-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)安息香酸
I-75		3-(1-オキソ-5-(1-(4-プロピルベンジル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-76		3-(1-オキソ-5-(1-(4-(トリフルオロメチル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

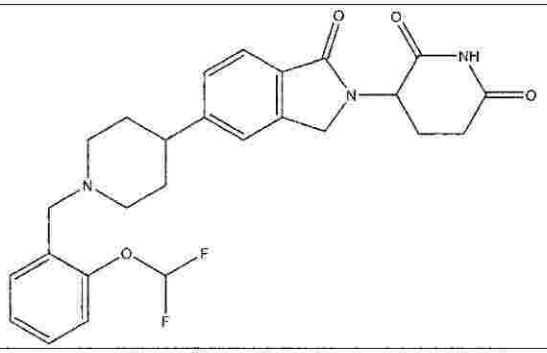
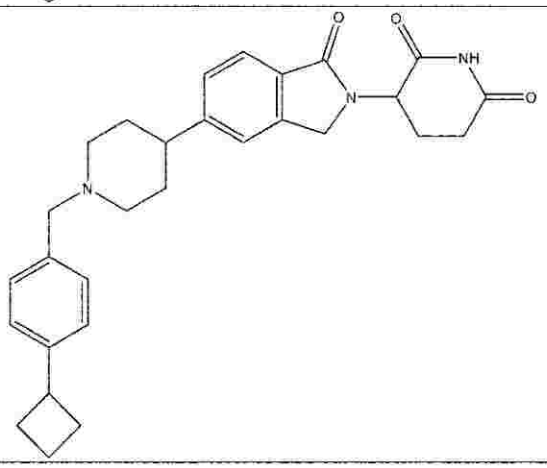
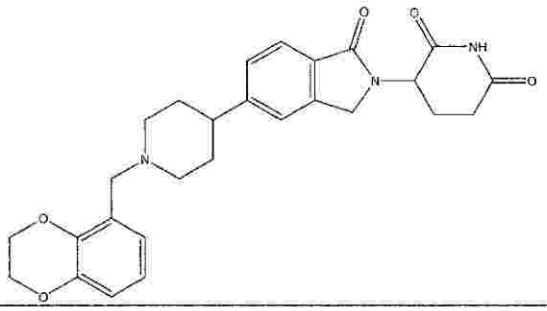
【０５２４】

【表２８】

化合物番号	構造	化合物名
I-77		3-(5-(1-(4-(ジフルオロメトキシ)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-78		3-(1-オキソ-5-(1-((5-(トリフルオロメチル)ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-79		3-(5-(1-(3-(ジフルオロメトキシ)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

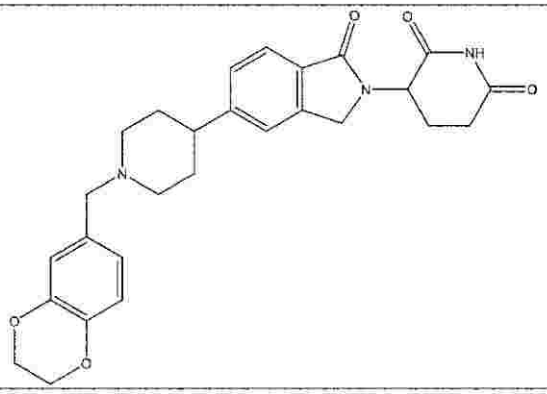
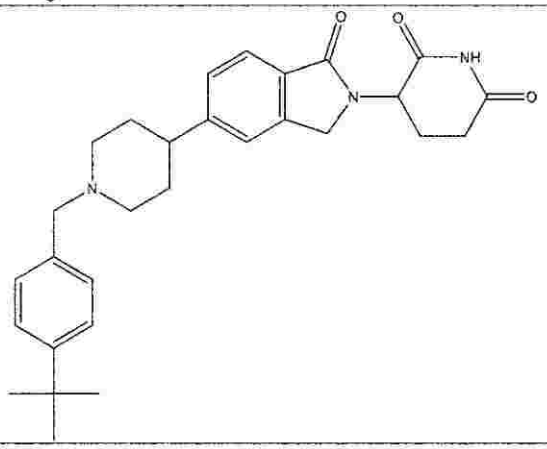
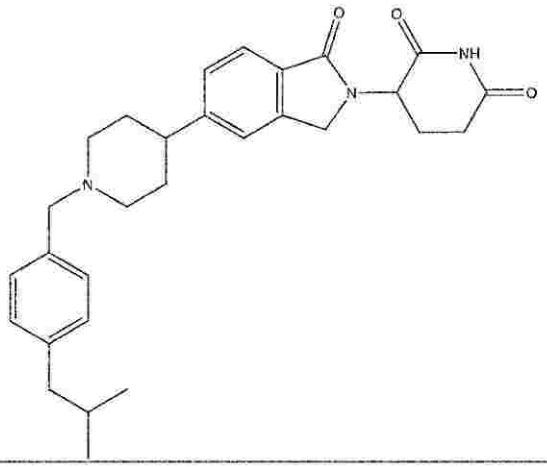
【０５２５】

【表２９】

化合物番号	構造	化合物名
I-80		3-(5-(1-(2-(ジフルオロメトキシ)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-81		3-(5-(1-(4-シクロブチルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-82		3-(5-(1-((2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

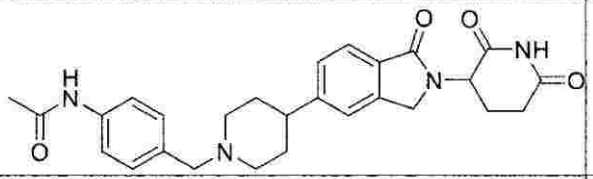
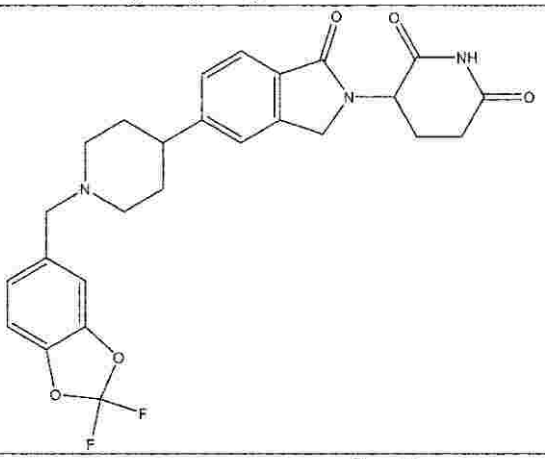
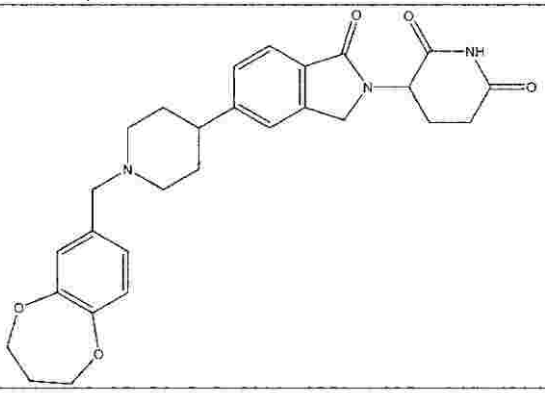
【０５２６】

【表３０】

化合物番号	構造	化合物名
I-83		3-(5-(1-((2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシン-6-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-84		3-(5-(1-(4-(tert-ブチル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-85		3-(5-(1-(4-イソブチルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

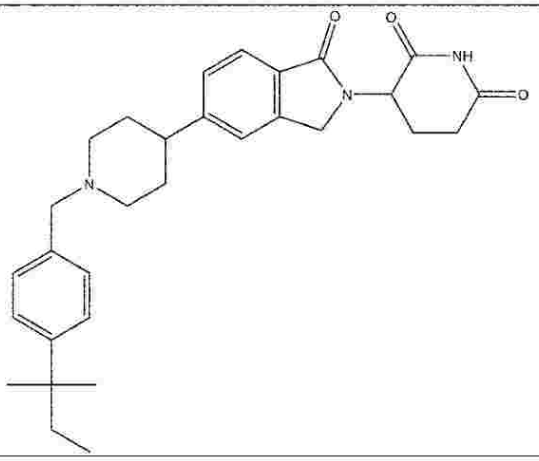
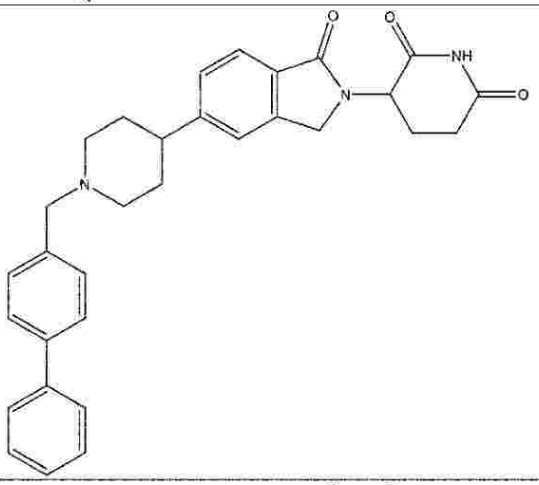
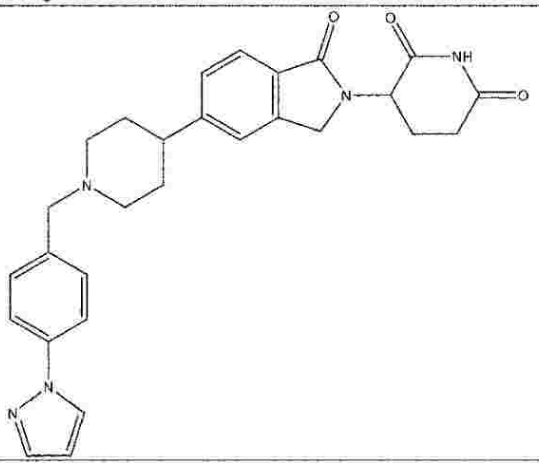
【０５２７】

【表３１】

化合物番号	構造	化合物名
I-86		N-(4-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)フェニル)アセトアミド
I-87		3-(5-(1-((2,2-ジフルオロベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-88		3-(5-(1-((3,4-ジヒドロ-2H-ベンゾ[b][1,4]ジオキセピン-7-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

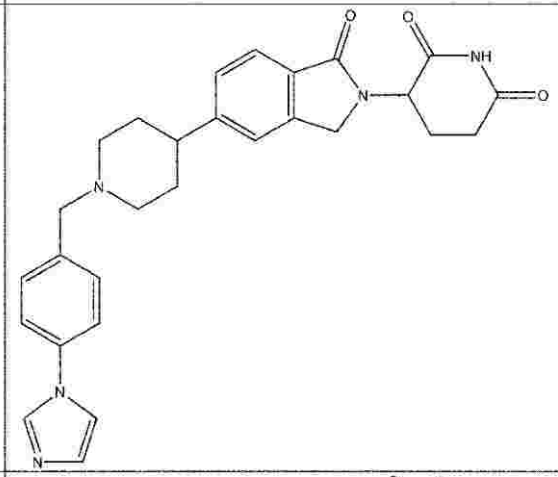
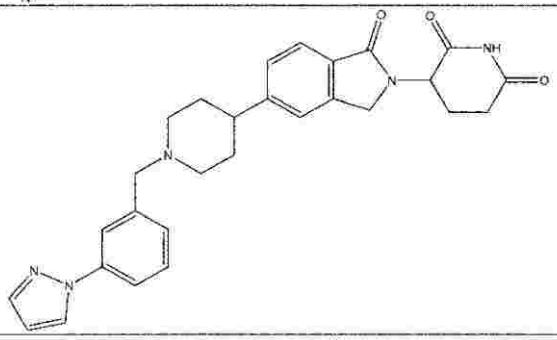
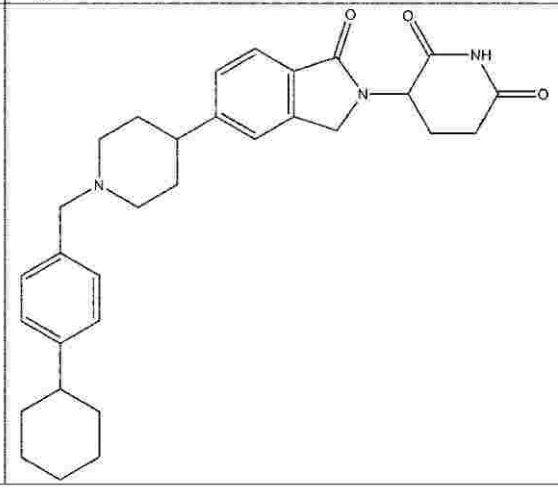
【０５２８】

【表３２】

化合物番号	構造	化合物名
I-89		3-(1-オキソ-5-(1-(4-(tert-ペンチル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-90		3-(5-(1-([1,1'-ビフェニル]-4-イルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-91		3-(5-(1-(4-(1H-ピラゾール-1-イル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

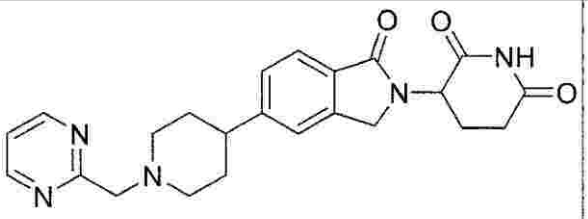
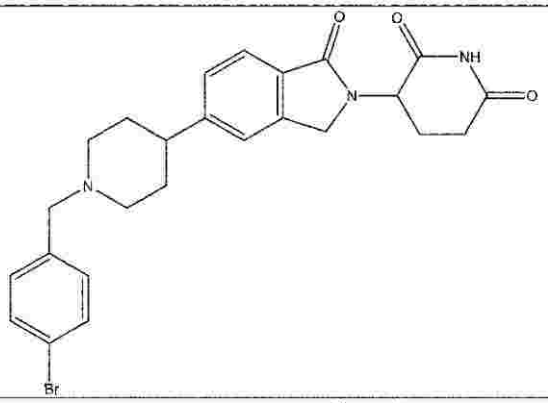
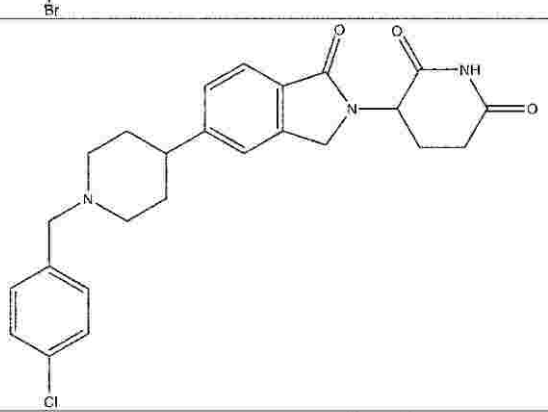
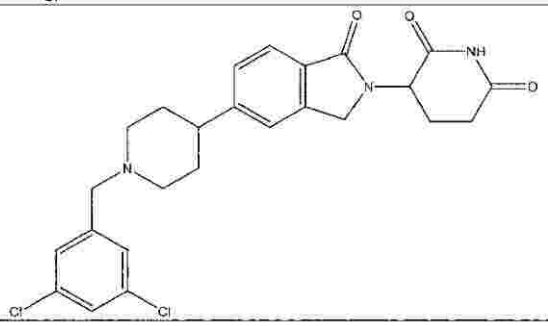
【０５２９】

【表３３】

化合物番号	構造	化合物名
I-92		3-(5-(1-(4-(1H-イミダゾール-1-イル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-93		3-(5-(1-(3-(1H-ピラゾール-1-イル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-94		3-(5-(1-(4-シクロヘキシルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

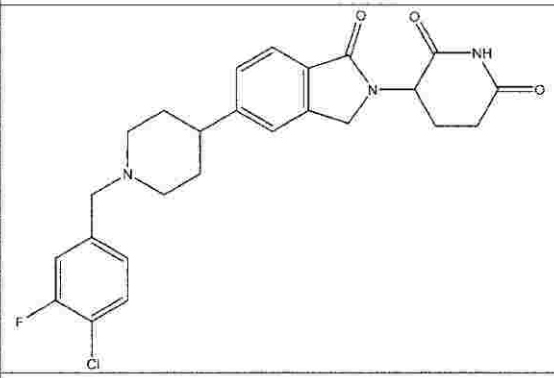
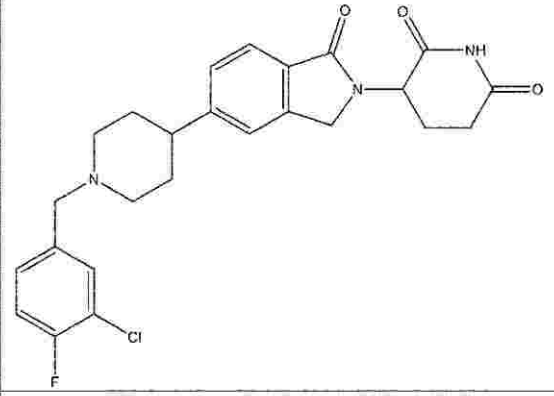
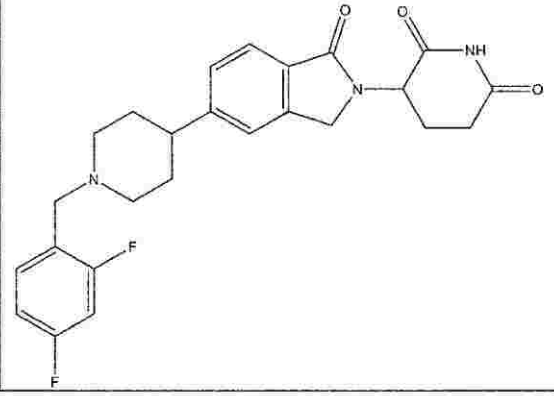
【０５３０】

【表３４】

化合物番号	構造	化合物名
I-95		3-(1-オキソ-5-(1-(ピリミジン-2-イルメチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-96		3-(5-(1-(4-ブロモベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-97		3-(5-(1-(4-クロロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-98		3-(5-(1-(3,5-ジクロロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

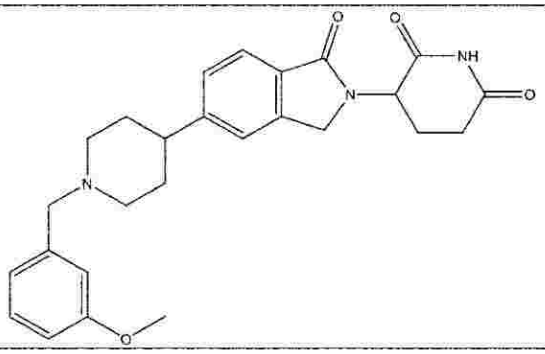
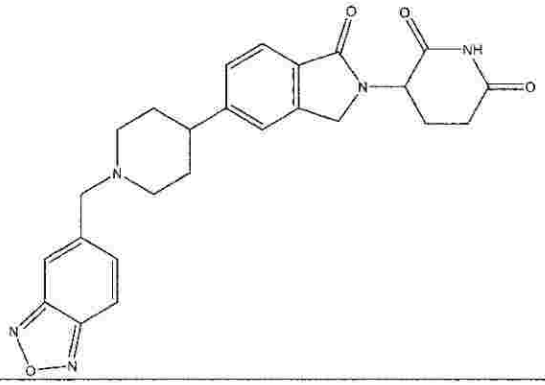
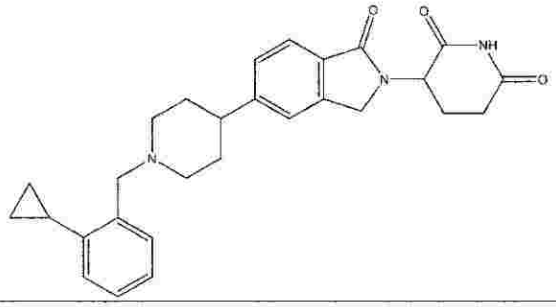
【０５３１】

【表３５】

化合物番号	構造	化合物名
I-99		3-(5-(1-(4-クロロ-3-フルオロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-100		3-(5-(1-(3-クロロ-4-フルオロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-101		3-(5-(1-(2,4-ジフルオロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

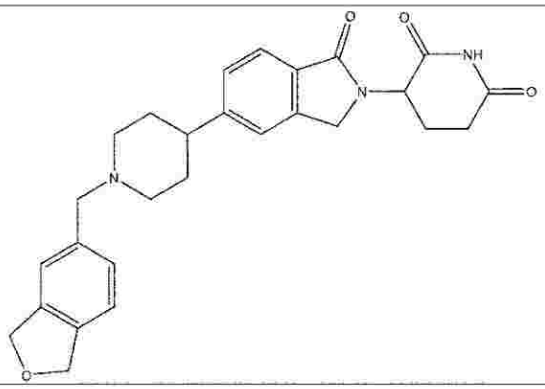
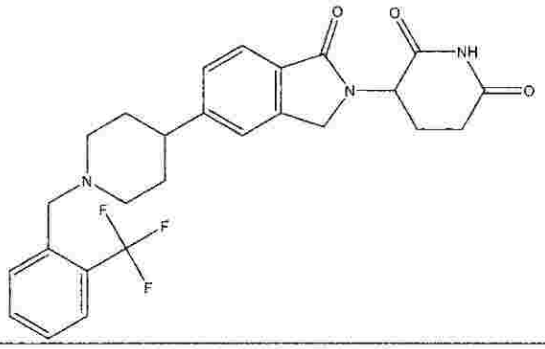
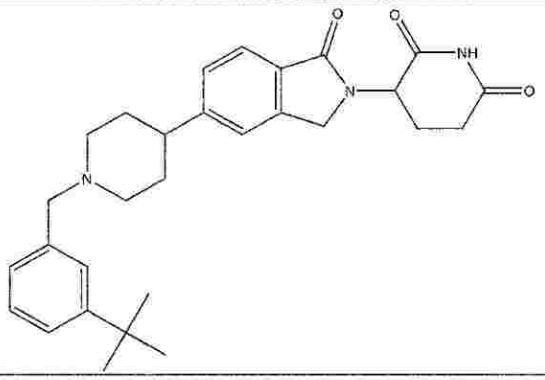
【０５３２】

【表３６】

化合物番号	構造	化合物名
I-102		3-(5-(1-(3-メトキシベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-103		3-(5-(1-(ベンゾ[c][1,2,5]オキサジアゾール-5-イルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-104		3-(5-(1-(2-シクロプロピルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

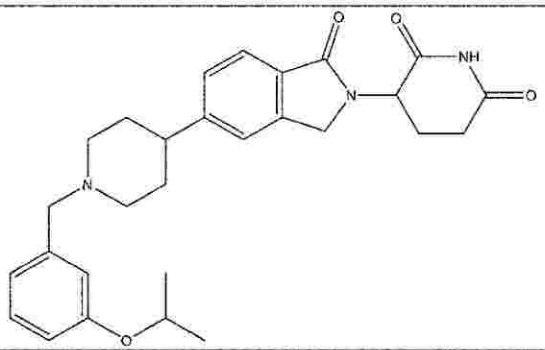
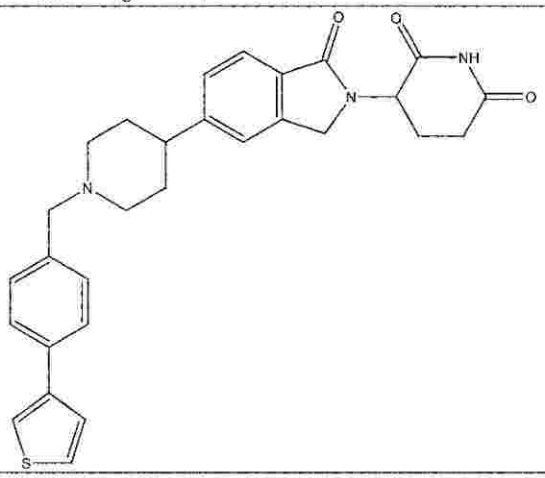
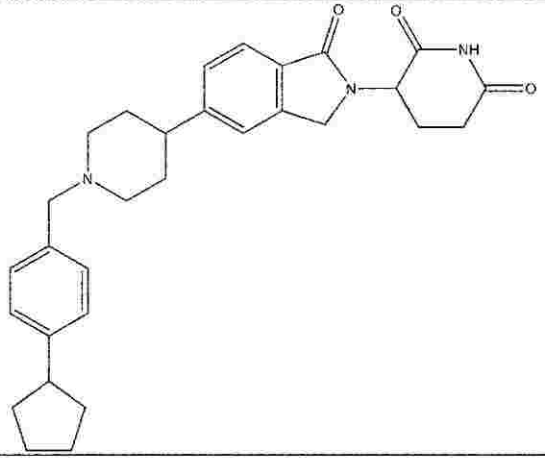
【０５３３】

【表３７】

化合物番号	構造	化合物名
I-105		3-(5-(1-((1,3-ジヒドロイソベンゾフラン-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-106		3-(1-オキソ-5-(1-(2-(トリフルオロメチル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-107		3-(5-(1-(3-(tert-ブチル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

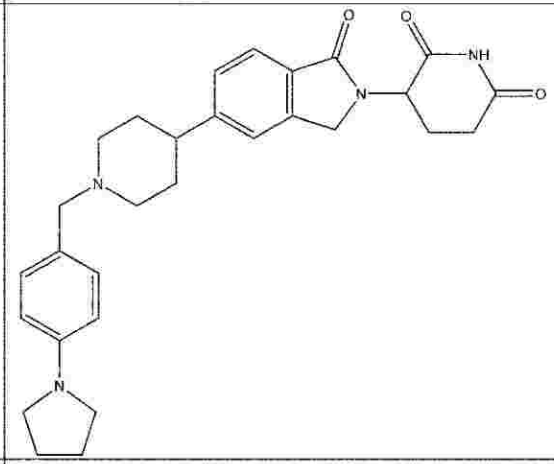
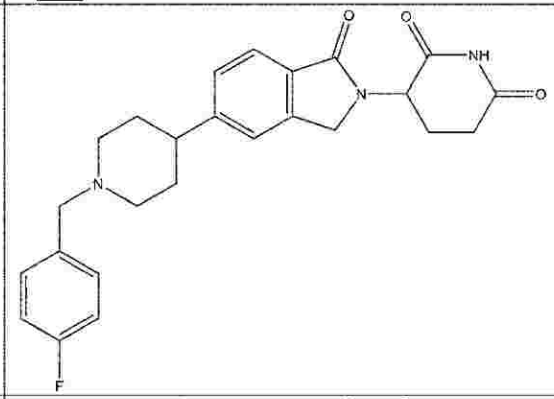
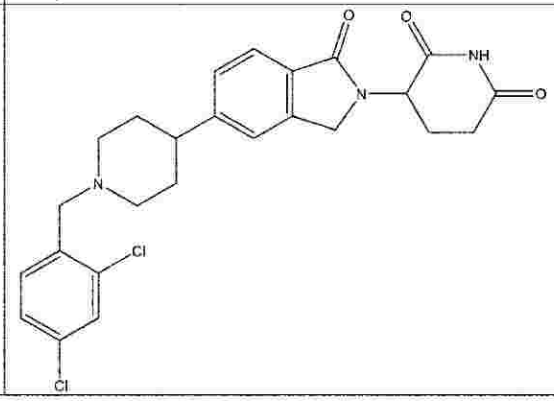
【０５３４】

【表３８】

化合物番号	構造	化合物名
I-108		3-(5-(1-(3-イソプロポキシベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-109		3-(1-オキソ-5-(1-(4-(チオフェン-3-イル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-110		3-(5-(1-(4-シクロペンチルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

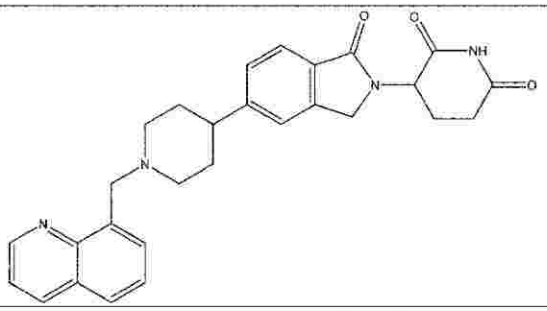
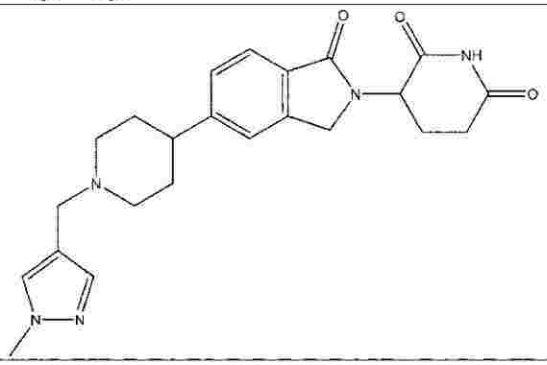
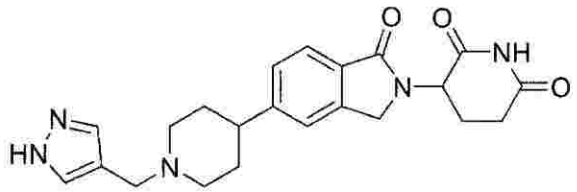
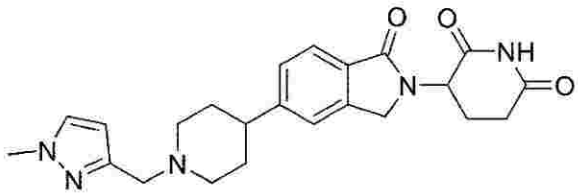
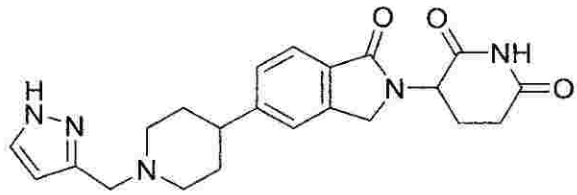
【０５３５】

【表３９】

化合物番号	構造	化合物名
I-111		3-(1-オキソ-5-(1-(4-(ピロリジン-1-イル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-112		3-(5-(1-(4-フルオロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-113		3-(5-(1-(2,4-ジクロロベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

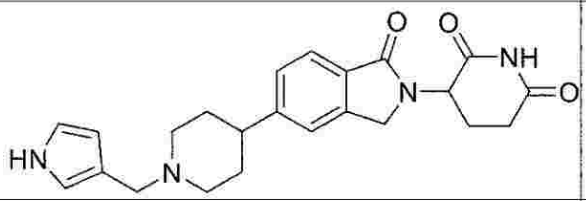
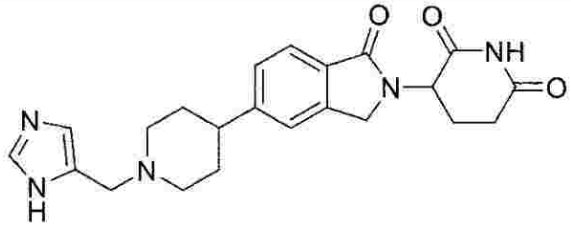
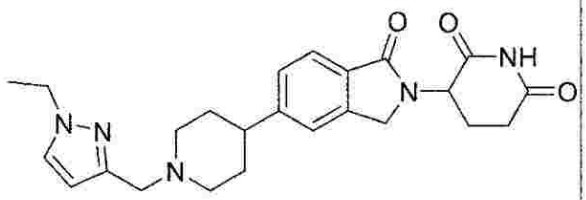
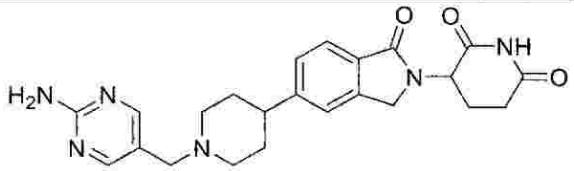
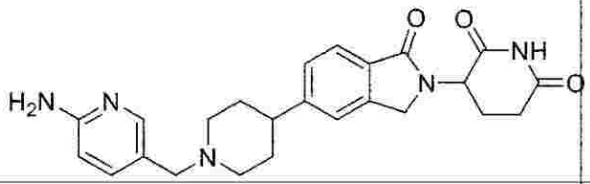
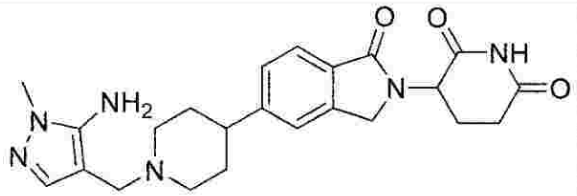
【０５３６】

【表４０】

化合物番号	構造	化合物名
I-114		3-(1-オキソ-5-(1-(キノリン-8-イルメチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-115		3-(5-(1-((1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-116		3-(5-(1-((1H-ピラゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-117		3-(5-(1-((1-メチル-1H-ピラゾール-3-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-118		3-(5-(1-((1H-ピラゾール-3-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

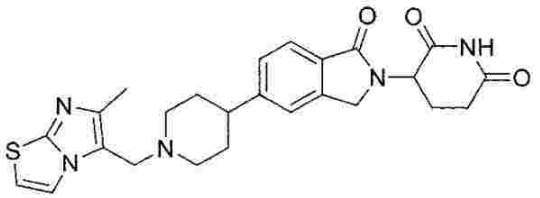
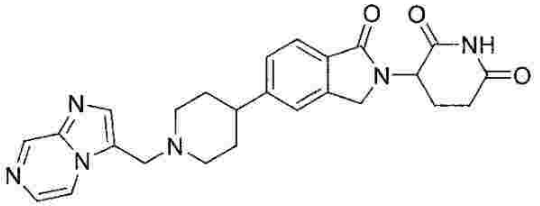
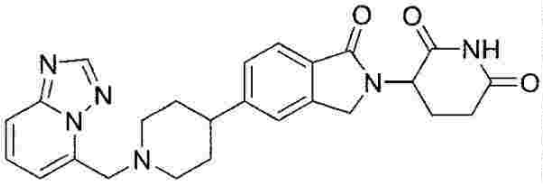
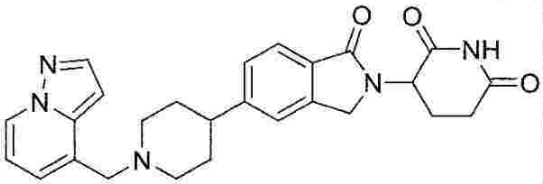
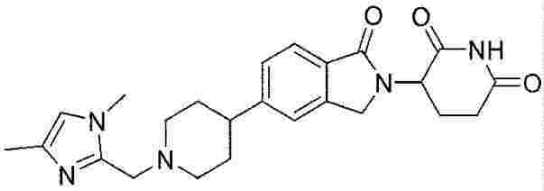
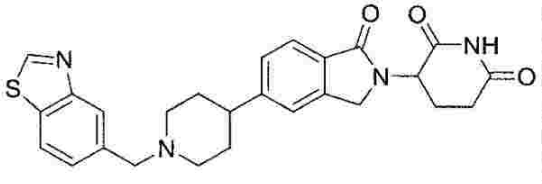
【０５３７】

【表４１】

化合物番号	構造	化合物名
I-119		3-(5-(1-((1H-ピロール-3-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-120		3-(5-(1-((1H-イミダゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-121		3-(5-(1-((1-エチル-1H-ピラゾール-3-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-122		3-(5-(1-((2-アミノピリミジン-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-123		3-(5-(1-((6-アミノピリジン-3-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-124		3-(5-(1-((5-アミノ-1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

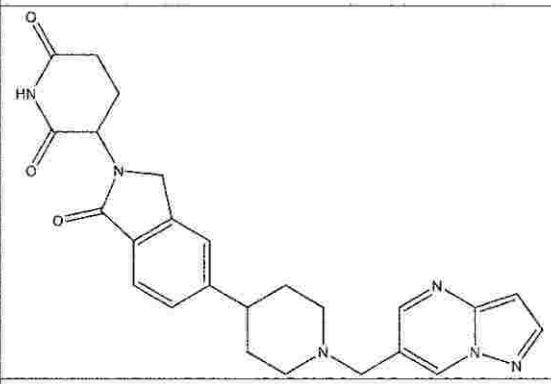
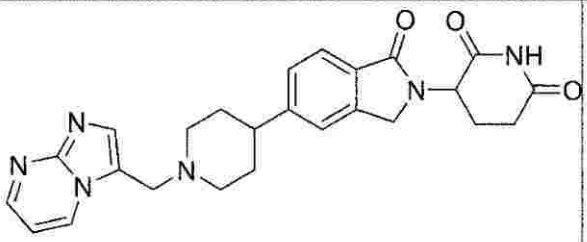
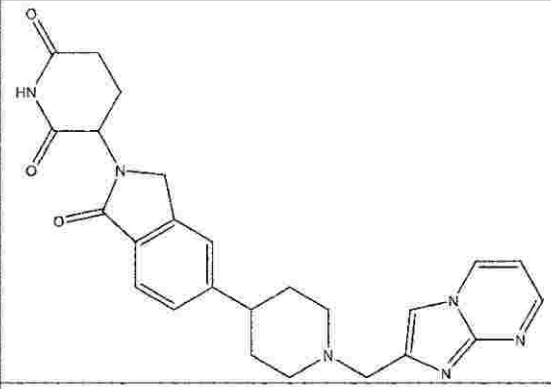
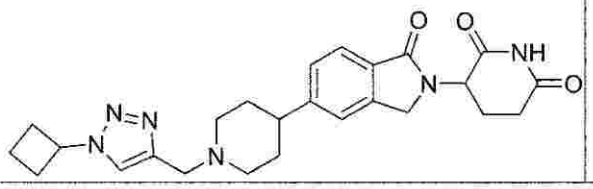
【０５３８】

【表４２】

化合物番号	構造	化合物名
I-125		3-(5-(1-((6-メチルイミダゾ[2,1-b]チアゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-126		3-(5-(1-(イミダゾ[1,2-a]ピラジン-3-イルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-127		3-(5-(1-([1,2,4]トリアゾロ[1,5-a]ピリジン-5-イルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-128		3-(1-オキソ-5-(1-(ピラゾロ[1,5-a]ピリジン-4-イルメチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-129		3-(5-(1-((1,4-ジメチル-1H-イミダゾール-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-130		3-(5-(1-(ベンゾ[d]チアゾール-5-イルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

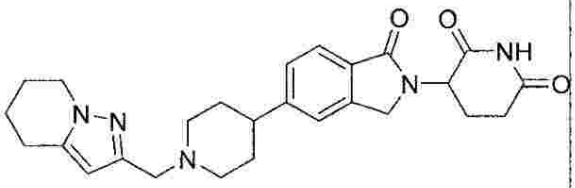
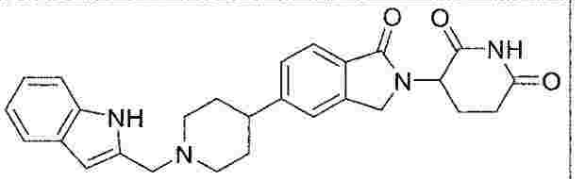
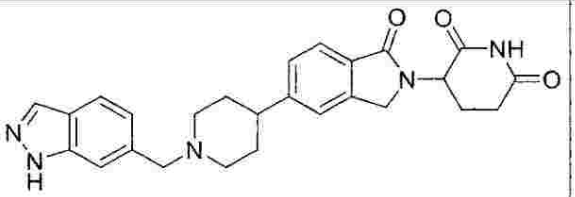
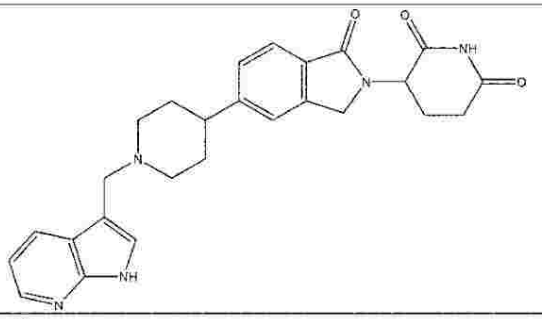
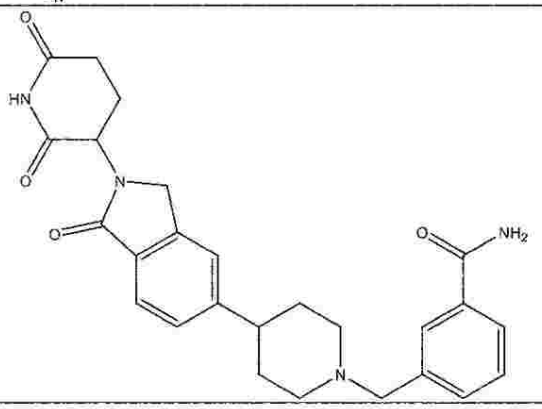
【０５３９】

【表４３】

化合物番号	構造	化合物名
I-131		3-(1-オキソ-5-(1-(ピラゾロ[1,5-a]ピリミジン-6-イルメチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-132		3-(5-(1-(イミダゾ[1,2-a]ピリミジン-3-イルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-133		3-(5-(1-(イミダゾ[1,2-a]ピリミジン-2-イルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-134		3-(5-(1-((1-シクロブチル-1H-1,2,3-チアゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

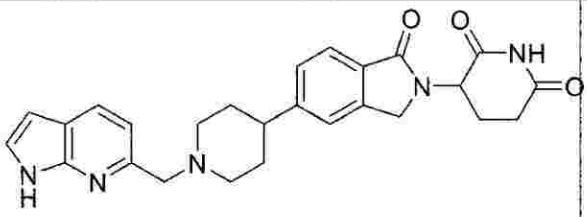
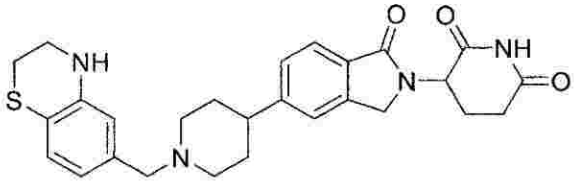
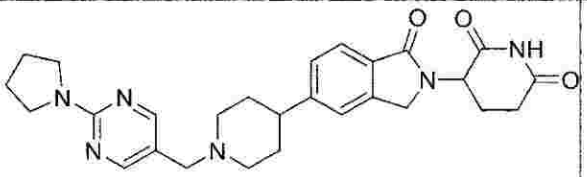
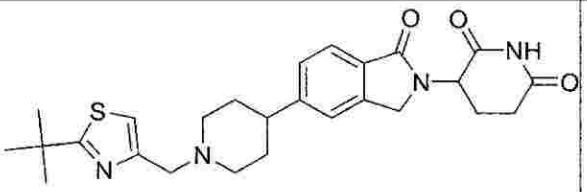
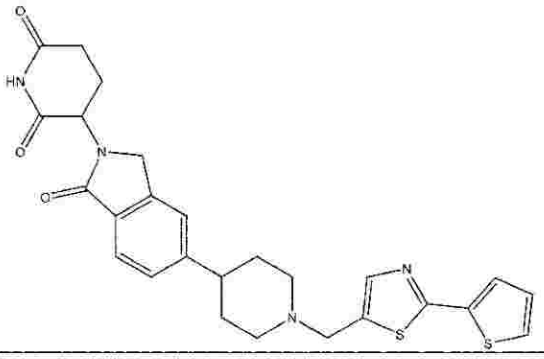
【０５４０】

【表４４】

化合物番号	構造	化合物名
I-135		3-(1-オキソ-5-(1-((4,5,6,7-テトラヒドロピラゾロ[1,5-a]ピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-136		3-(5-(1-((1H-インドール-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-137		3-(5-(1-((1H-インダゾール-6-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-138		3-(5-(1-((1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-139		3-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)ベンズアミド

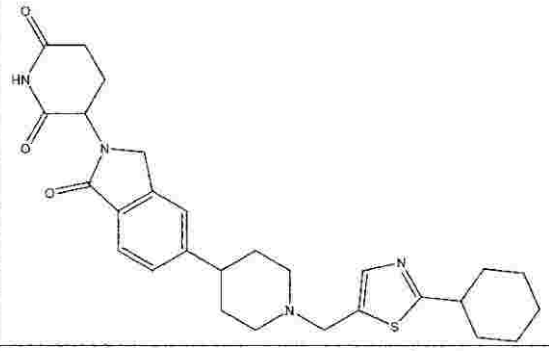
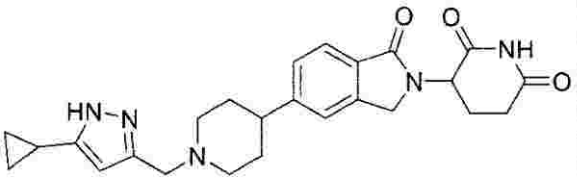
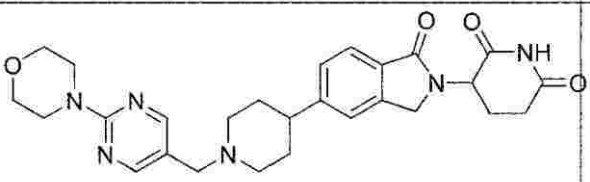
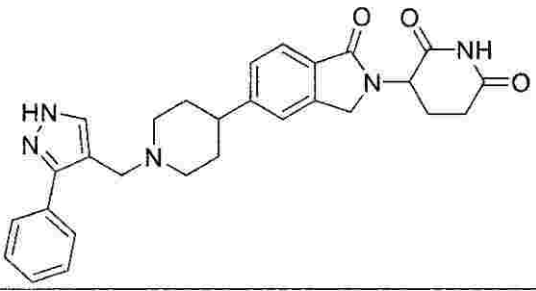
【０５４１】

【表４５】

化合物番号	構造	化合物名
I-140		3-(5-(1-((1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-6-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-141		3-(5-(1-((3,4-ジヒドロ-2H-ベンゾ[b][1,4]チアジン-6-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-142		3-(1-オキソ-5-(1-((2-(ピロリジン-1-イル)ピリミジン-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-143		3-(5-(1-((2-(tert-ブチル)チアゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-144		3-(1-オキソ-5-(1-((2-(チオフェン-2-イル)チアゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

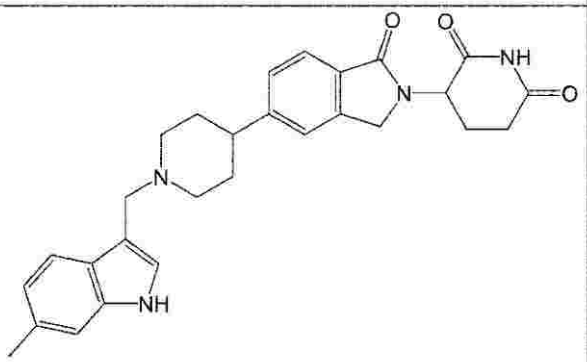
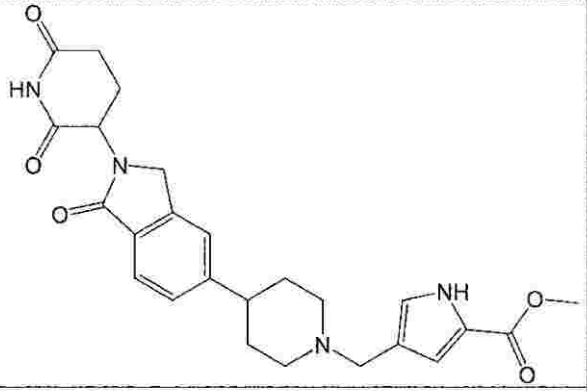
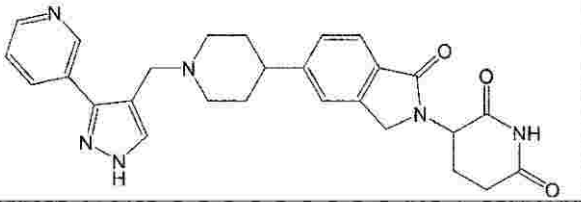
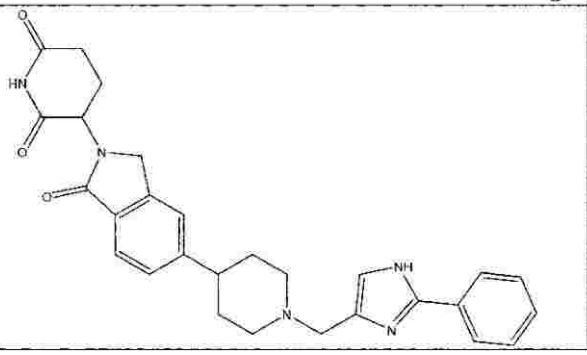
【０５４２】

【表４６】

化合物番号	構造	化合物名
I-145		3-(5-(1-((2-シクロヘキシルチアゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-146		3-(5-(1-((5-シクロプロピル-1H-ピラゾール-3-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-147		3-(5-(1-((2-モルホリノピリミジン-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-148		3-(1-オキソ-5-(1-((3-フェニル-1H-ピラゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

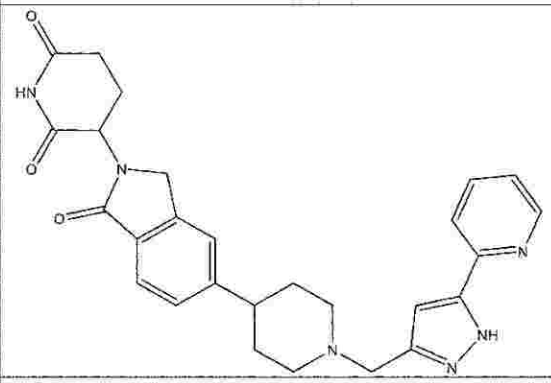
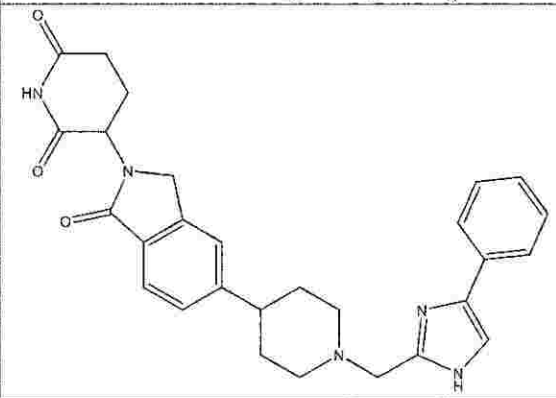
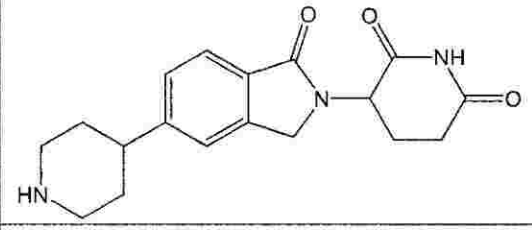
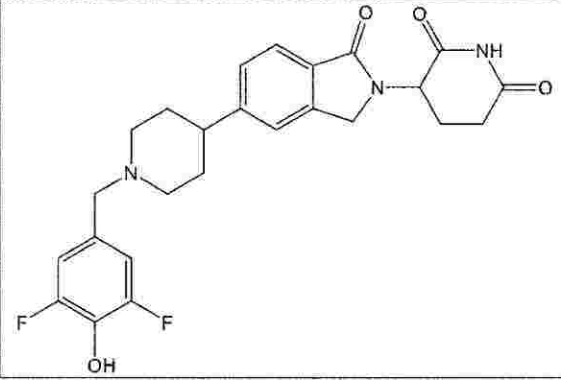
【０５４３】

【表４７】

化合物番号	構造	化合物名
I-149		3-(5-(1-((6-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-150		4-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)-1H-ピロール-2-カルボン酸メチル
I-151		3-(1-オキソ-5-(1-((3-(ピリジン-3-イル)-1H-ピラゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-152		3-(1-オキソ-5-(1-((2-フェニル-1H-イミダゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

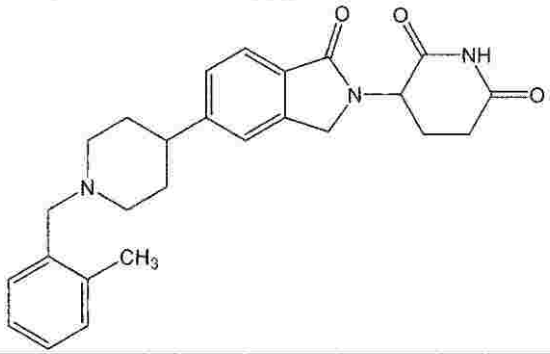
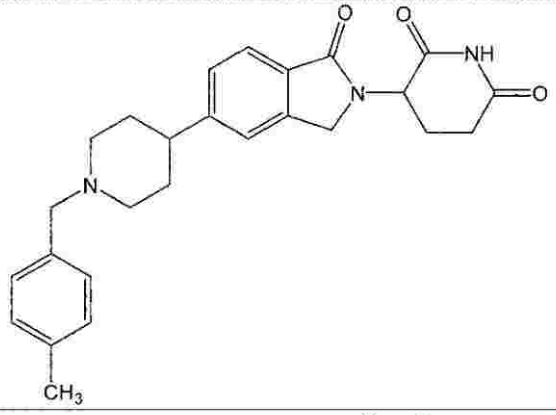
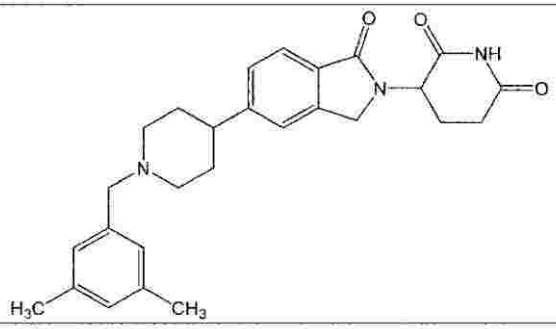
【０５４４】

【表４８】

化合物番号	構造	化合物名
I-153		3-(1-オキソ-5-(1-((5-(ピリジン-2-イル)-1H-ピラゾール-3-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-154		3-(1-オキソ-5-(1-((4-フェニル-1H-イミダゾール-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-155		3-(1-オキソ-5-(ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-156		3-(5-(1-(3,5-ジフルオロ-4-ヒドロキシベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

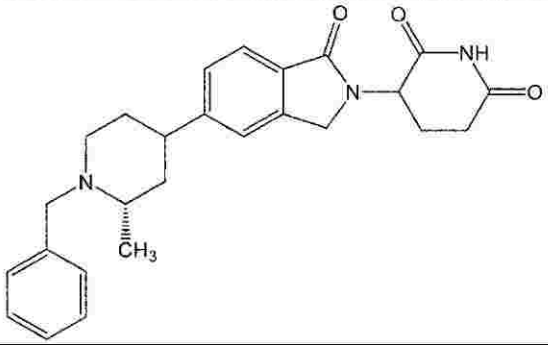
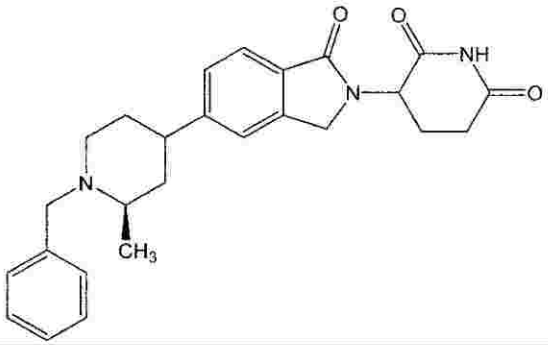
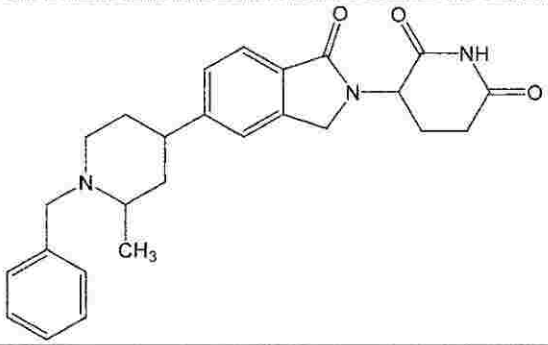
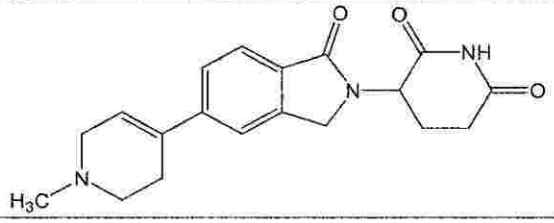
【０５４５】

【表４９】

化合物番号	構造	化合物名
I-157		3-(5-(1-(2-メチルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-158		3-(5-(1-(4-メチルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-159		3-(5-(1-(3,5-ジメチルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

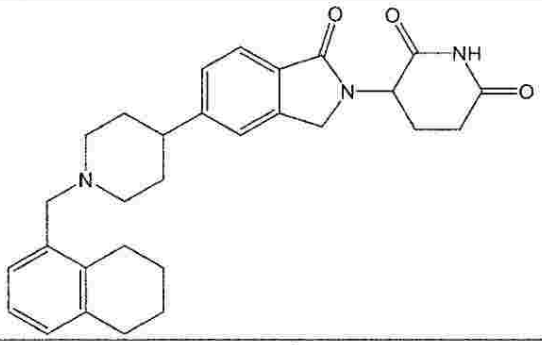
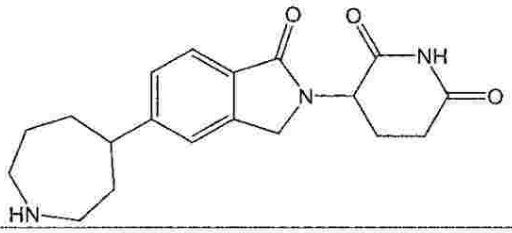
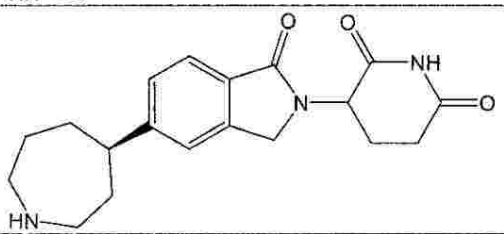
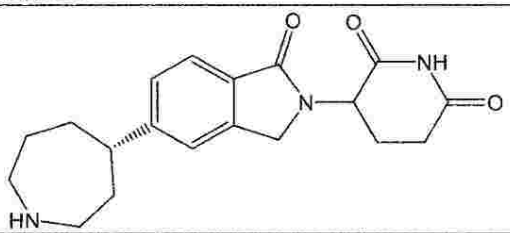
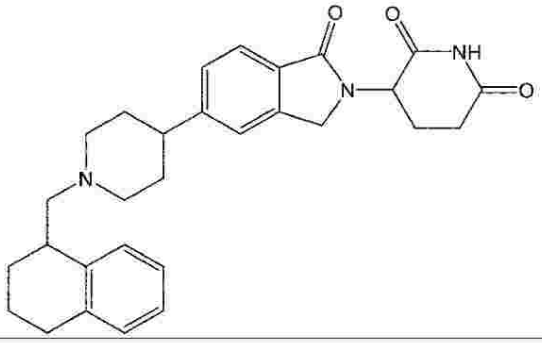
【０５４６】

【表５０】

化合物番号	構造	化合物名
I-160		3-(5-((2S)-1-ベンジル-2-メチルピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-161		3-(5-((2R)-1-ベンジル-2-メチルピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-162		3-(5-(1-ベンジル-2-メチルピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-163		3-(5-(1-メチル-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

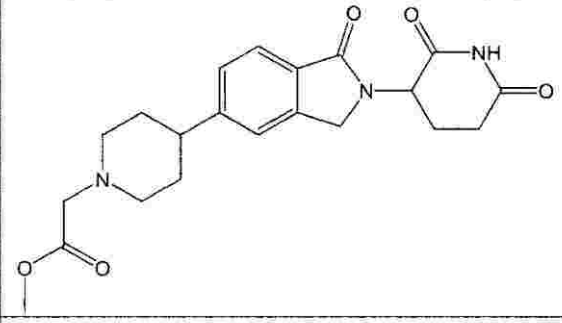
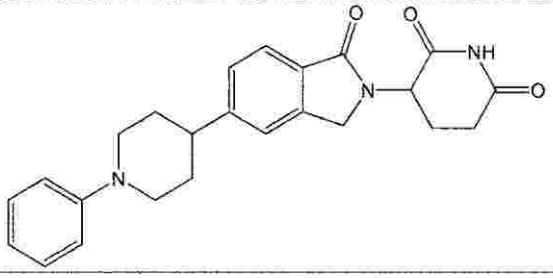
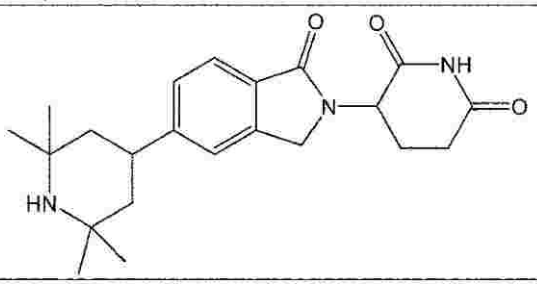
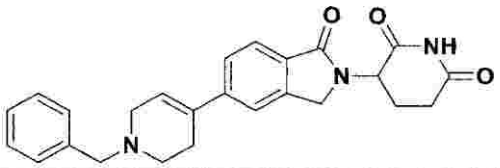
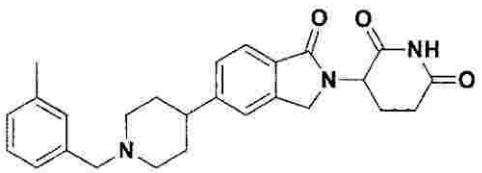
【０５４７】

【表５１】

化合物番号	構造	化合物名
I-164		3-(1-オキソ-5-(1-((5,6,7,8-テトラヒドロナフタレン-1-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-165		3-(5-(アゼパン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-166		3-(5-((R)-アゼパン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-167		3-(5-((S)-アゼパン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-168		3-(1-オキソ-5-(1-((1,2,3,4-テトラヒドロナフタレン-1-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

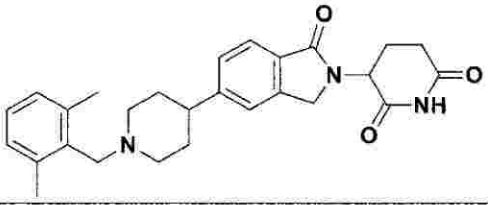
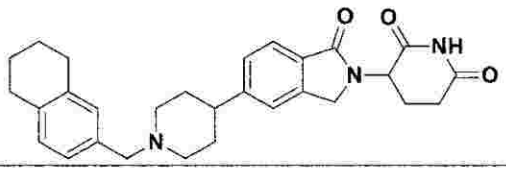
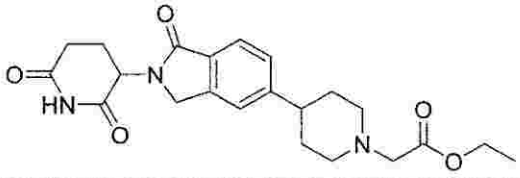
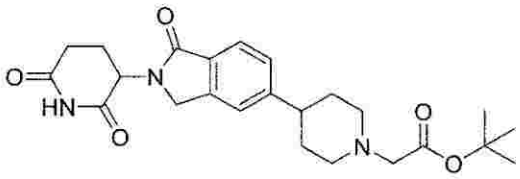
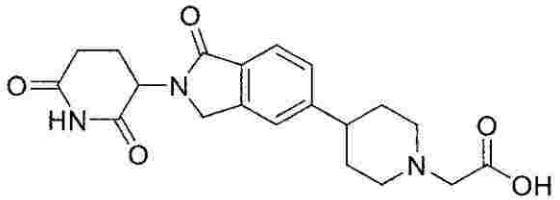
【０５４８】

【表５２】

化合物番号	構造	化合物名
I-169		2-(4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)酢酸メチル
I-170		3-(1-オキソ-5-(1-フェニルピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-171		3-(1-オキソ-5-(2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-172		3-(5-(1-ベンジル-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-173		3-(5-(1-(3-メチルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

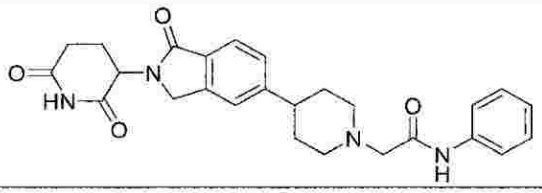
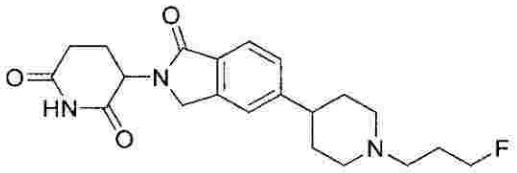
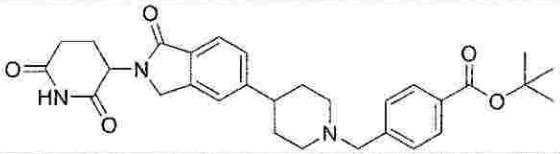
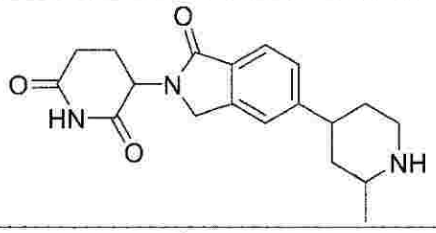
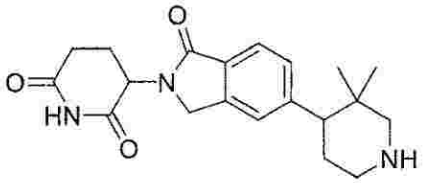
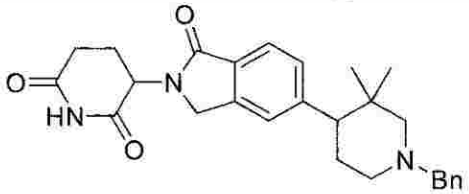
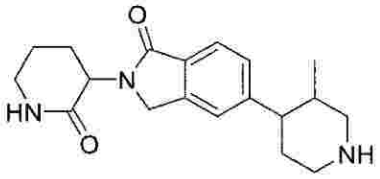
【０５４９】

【表５３】

化合物番号	構造	化合物名
I-174		3-(5-(1-(2,6-ジメチルベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-175		3-(1-オキソ-5-(1-((5,6,7,8-テトラヒドロナフタレン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-176		2-(4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)酢酸エチル
I-177		2-(4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)酢酸 tert-ブチル
I-178		2-(4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)酢酸
I-179		3-(1-オキソ-5-(1-(3,3,3-トリフルオロプロピル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

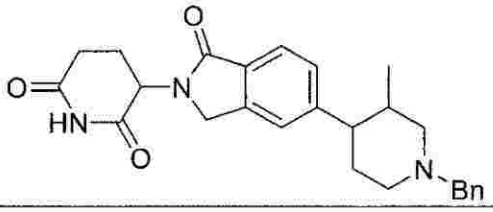
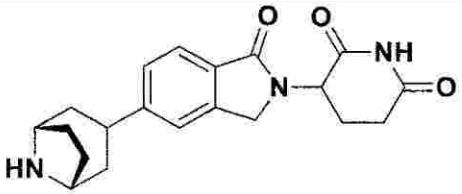
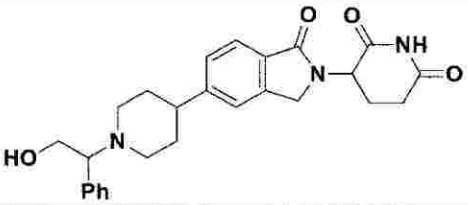
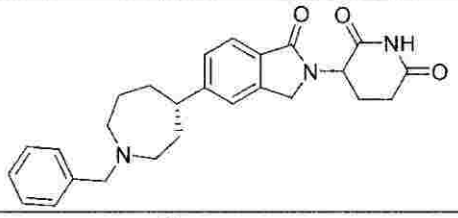
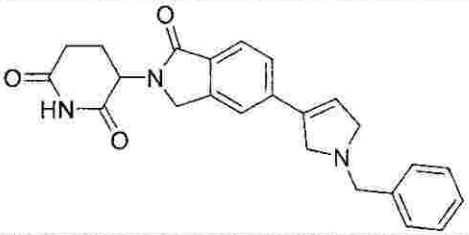
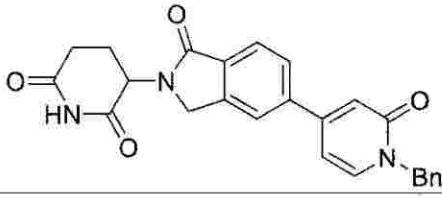
【０５５０】

【表５４】

化合物番号	構造	化合物名
I-180		2-(4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)-N-フェニルアセトアミド
I-181		3-(5-(1-(3-フルオロプロピル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-182		4-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)安息香酸 tert-ブチル
I-183		3-(5-(2-メチルピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-184		3-(5-(3,3-ジメチルピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-185		3-(5-(1-ベンジル-3,3-ジメチルピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-186		5-(3-メチルピペリジン-4-イル)-2-(2-オキソピペリジン-3-イル)イソインドリン-1-オン

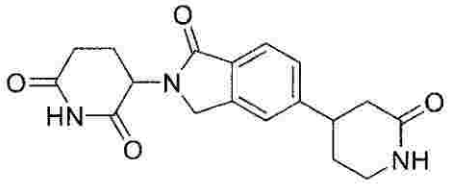
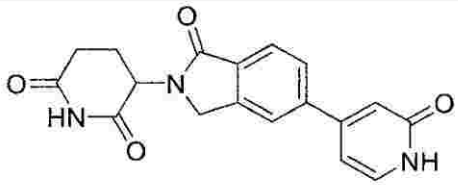
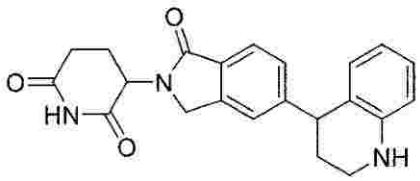
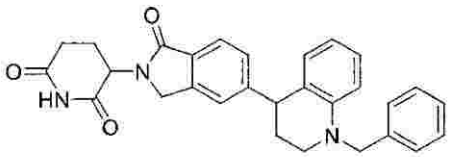
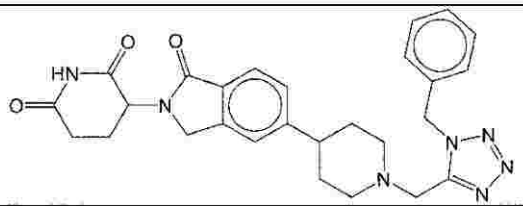
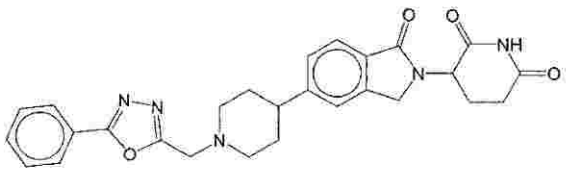
【０５５１】

【表５５】

化合物番号	構造	化合物名
I-187		3-(5-(1-ベンジル-3-メチルピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-188		3-(5-(8-アザビシクロ[3.2.1]オクタン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-189		3-(5-(1-(2-ヒドロキシ-1-フェニルエチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-190		3-(5-((S)-1-ベンジルアゼパン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-191		3-(5-(1-ベンジル-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-3-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-192		3-(5-(1-ベンジル-2-オキソ-1,2-ジヒドロピリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

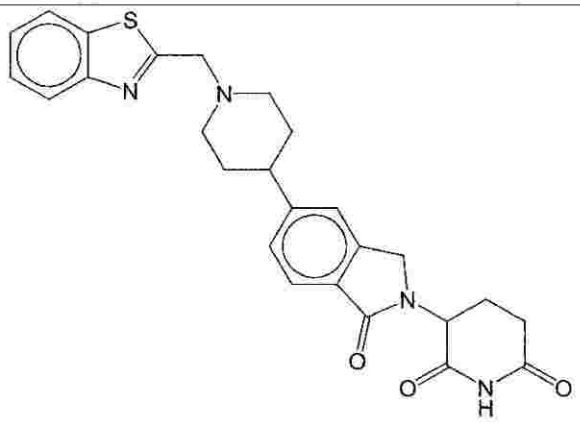
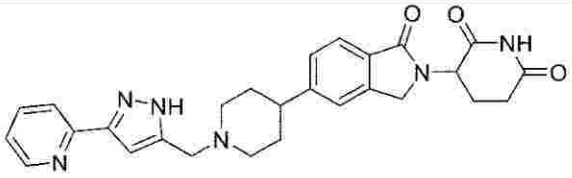
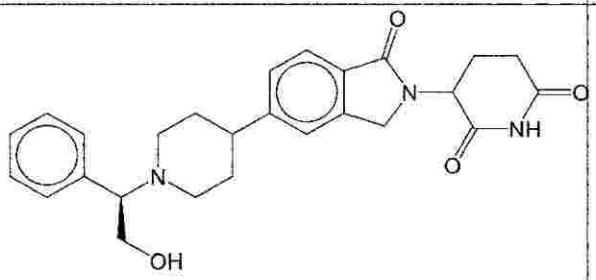
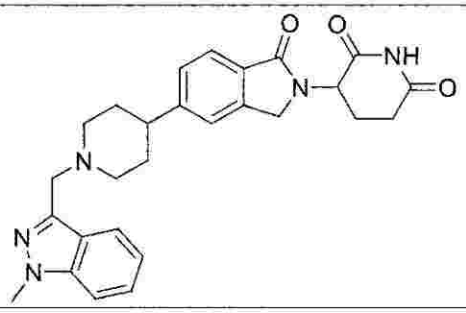
【０５５２】

【表５６】

化合物番号	構造	化合物名
I-193		3-(5-(1-ベンジル-2-オキソピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-194		3-(1-オキソ-5-(2-オキソピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-195		3-(1-オキソ-5-(2-オキソ-1,2-ジヒドロピリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-196		3-(1-オキソ-5-(1,2,3,4-テトラヒドロキノリン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-197		3-(5-(1-ベンジル-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-198		3-(5-(1-((1-ベンジル-1H-テトラゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-199		3-(1-オキソ-5-(1-((5-フェニル-1,3,4-オキサジアゾール-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

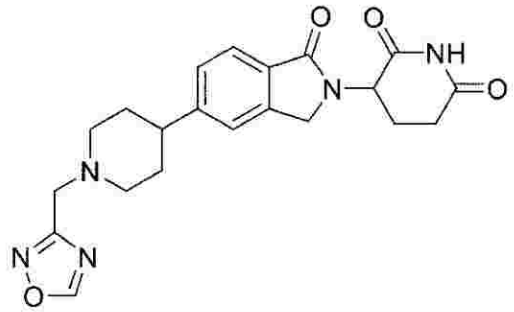
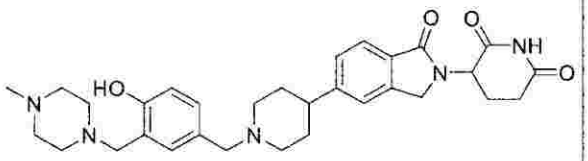
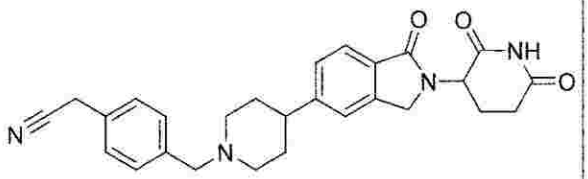
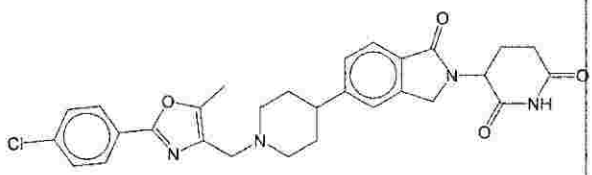
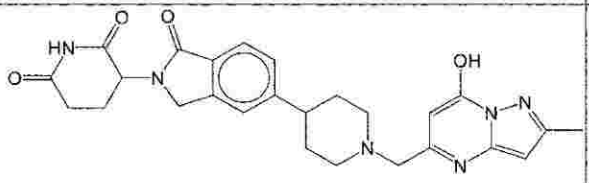
【０５５３】

【表５７】

化合物番号	構造	化合物名
I-200		3-(5-(1-(ベンゾ[d]チアゾール-2-イルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-201		3-(1-オキソ-5-(1-((3-(ピリジン-2-イル)-1H-ピラゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-202		3-(5-(1-((R)-2-ヒドロキシ-1-フェニルエチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-203		3-(5-(1-((1-メチル-1H-インダゾール-3-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

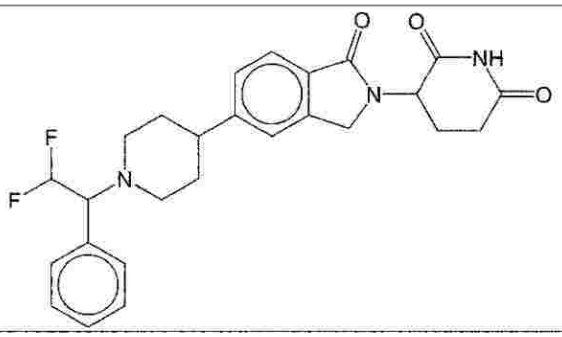
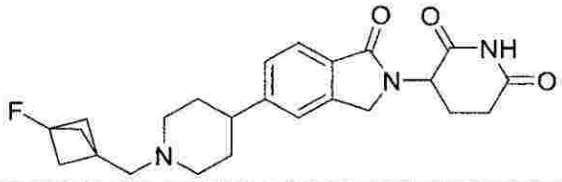
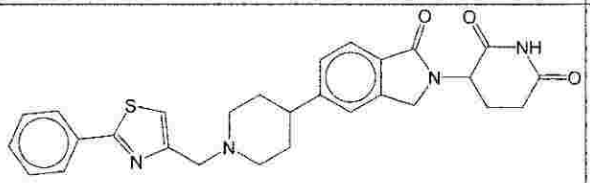
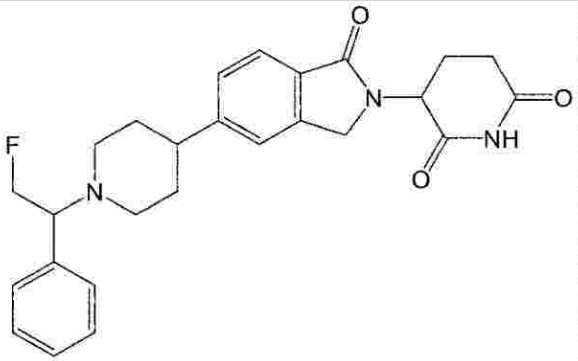
【０５５４】

【表５８】

化合物番号	構造	化合物名
I-204		3-(5-(1-((1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-205		3-(5-(1-(4-ヒドロキシ-3-((4-メチルピペラジン-1-イル)メチル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-206		2-(4-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)フェニル)アセトニトリル
I-207		3-(5-(1-((2-(4-クロロフェニル)-5-メチルオキサゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-208		3-(5-(1-((7-ヒドロキシ-2-メチルピラゾロ[1,5-a]ピリミジン-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

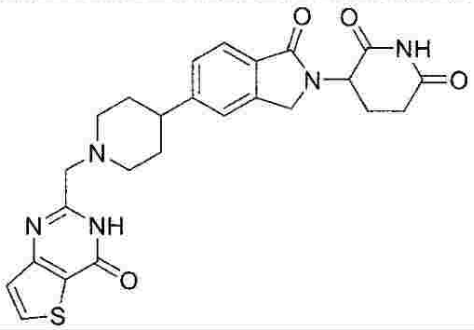
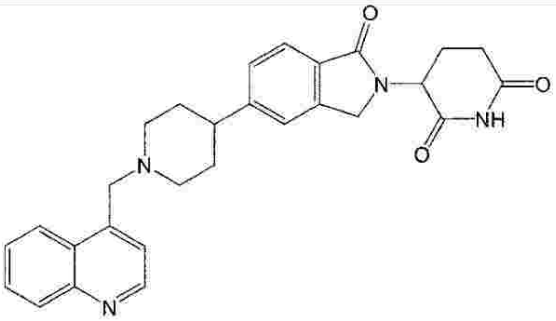
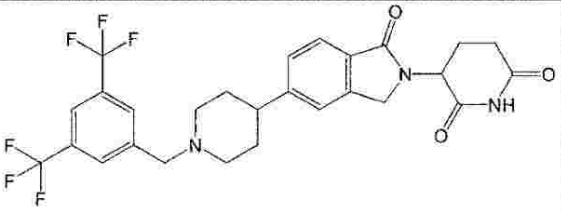
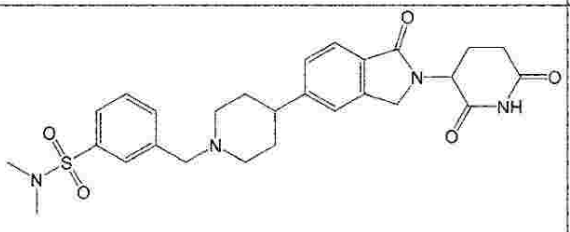
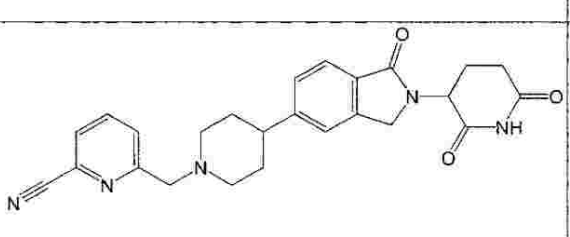
【０５５５】

【表５９】

化合物番号	構造	化合物名
I-209		3-(5-(1-(2,2-ジフルオロ-1-フェニルエチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-210		3-(5-(1-((3-フルオロビシクロ[1.1.1]ペンタン-1-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-211		3-(1-オキソ-5-(1-((2-フェニルチアゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-212		3-(5-(1-(2-フルオロ-1-フェニルエチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

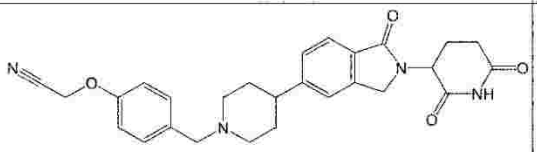
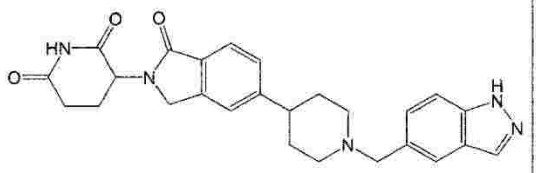
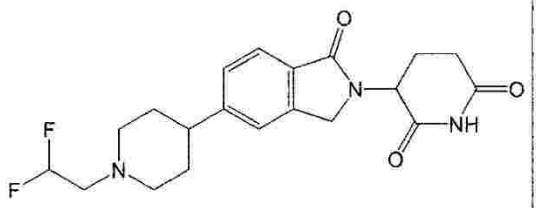
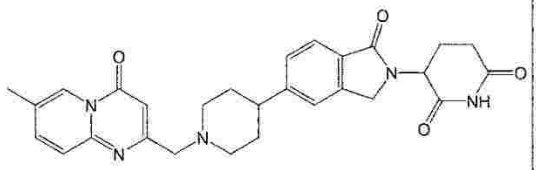
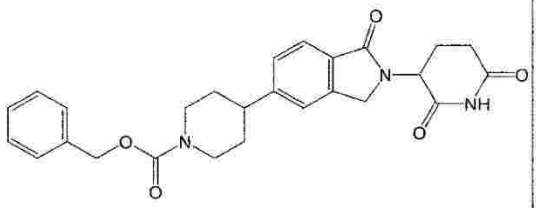
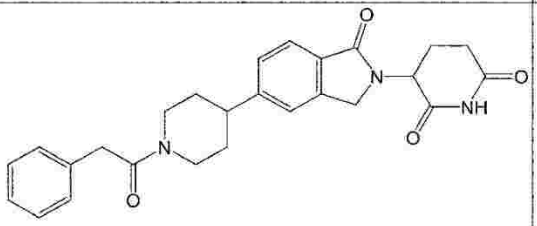
【０５５６】

【表６０】

化合物番号	構造	化合物名
I-213		3-(1-オキソ-5-(1-((4-オキソ-3,4-ジヒドロチエノ[3,2-d]ピリミジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-214		3-(1-オキソ-5-(1-(キノリン-4-イルメチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-215		3-(5-(1-(3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-216		3-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)-N,N-ジメチルベンゼンスルホンアミド
I-217		6-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)ピコリノニトリル

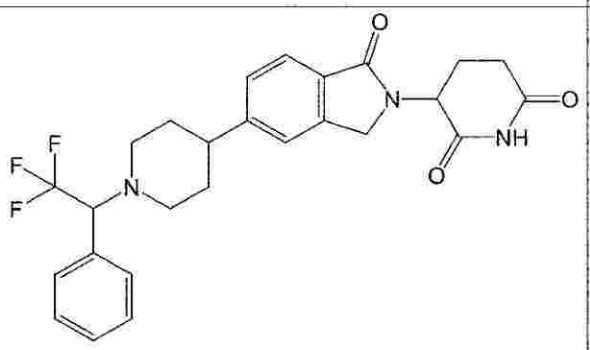
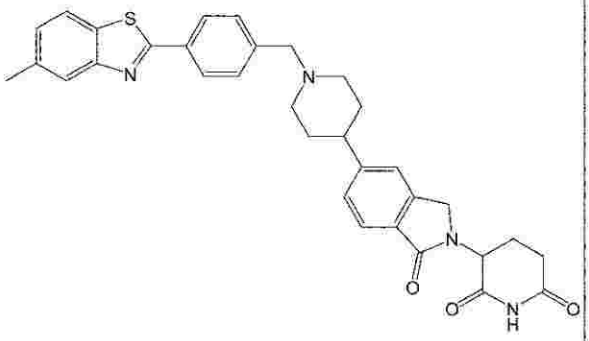
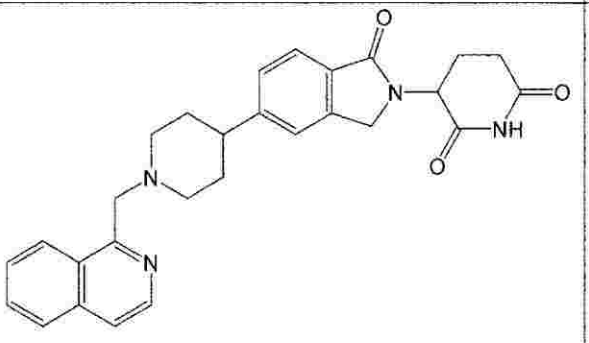
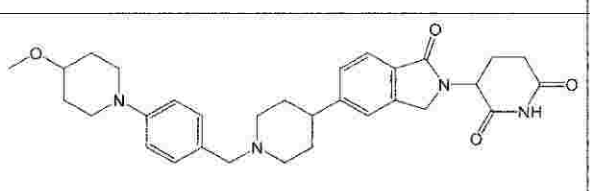
【０５５７】

【表６１】

化合物番号	構造	化合物名
I-218		2-(4-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)フェノキシ)アセトニトリル
I-219		3-(5-(1-((1H-インダゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-220		3-(5-(1-(2,2-ジフルオロエチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-221		3-(5-(1-((7-メチル-4-オキソ-4H-ピリド[1,2-a]ピリミジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-222		4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-カルボン酸ベンジル
I-223		3-(1-オキソ-5-(1-(2-フェニルアセチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

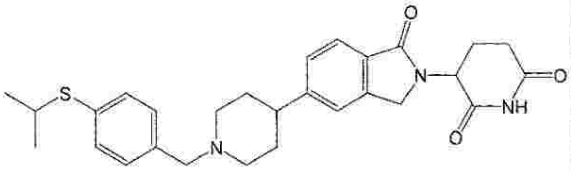
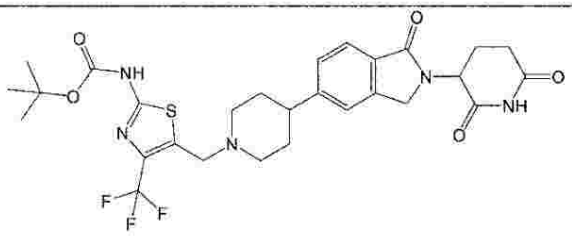
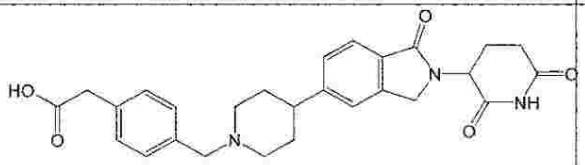
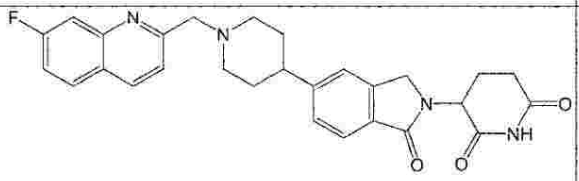
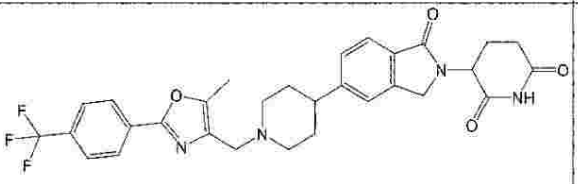
【０５５８】

【表６２】

化合物番号	構造	化合物名
I-224		3-(1-オキソ-5-(1-(2,2,2-トリフルオロ-1-フェニルエチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-225		3-(5-(1-(4-(5-メチルベンゾ[d]チアゾール-2-イル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-226		3-(5-(1-(イソキノリン-1-イルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-227		3-(5-(1-(4-(4-メトキシピペリジン-1-イル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

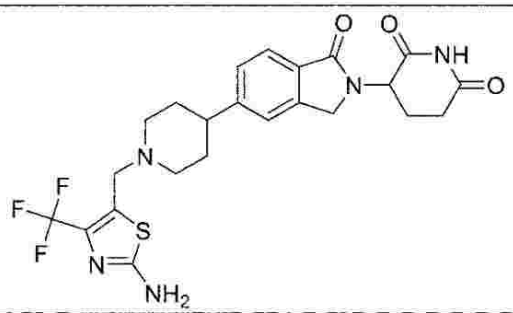
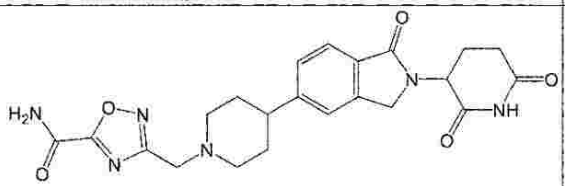
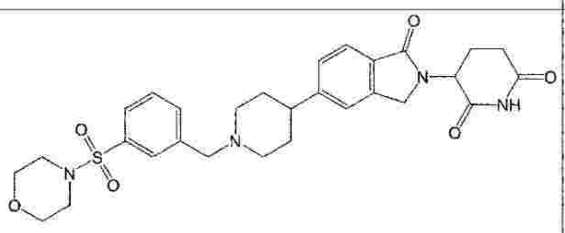
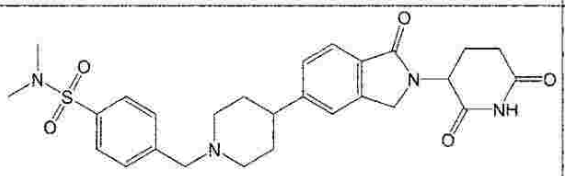
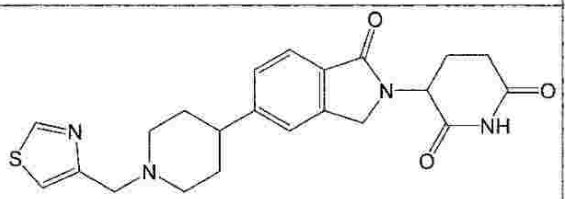
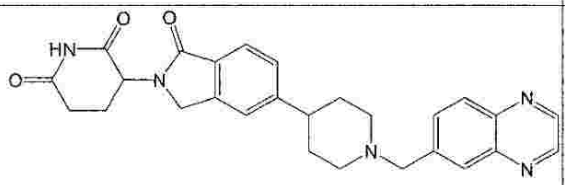
【０５５９】

【表６３】

化合物番号	構造	化合物名
I-228		3-(5-(1-(4-(イソプロピルチオ)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-229		(5-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)-4-(トリフルオロメチル)チアゾール-2-イル)カルバミン酸 tert-ブチル
I-230		3-(1-オキソ-5-(1-((S)-1-フェニルエチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-231		2-(4-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)フェニル)酢酸
I-232		3-(5-(1-((7-フルオロキノリン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-233		3-(5-(1-((5-メチル-2-(4-(トリフルオロメチル)フェニル)オキサゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

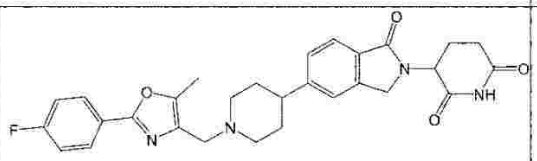
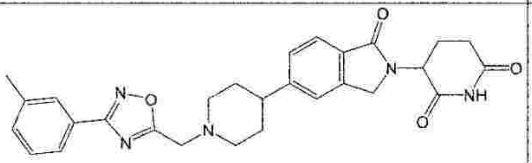
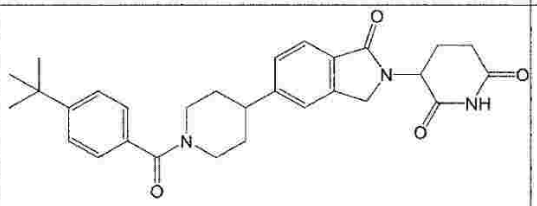
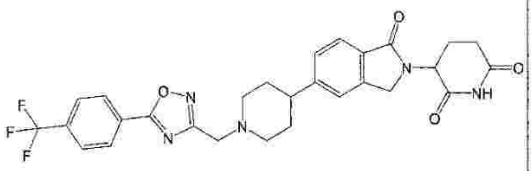
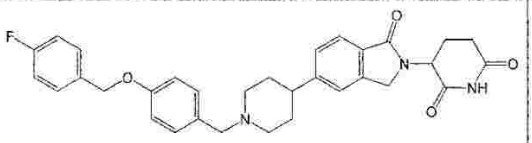
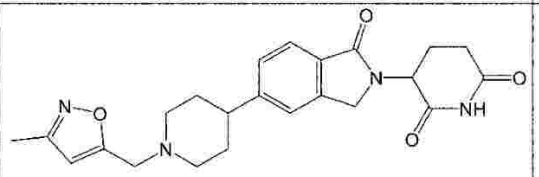
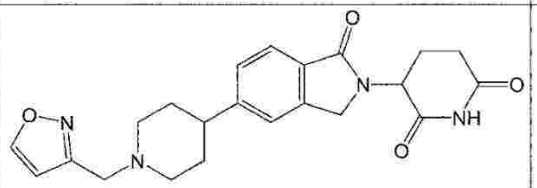
【０５６０】

【表６４】

化合物番号	構造	化合物名
I-234		3-(5-(1-((2-アミノ-4-(トリフルオロメチル)チアゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-235		3-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)-1,2,4-オキサジアゾール-5-カルボキサミド
I-236		3-(5-(1-(3-(モルホリノスルホニル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-237		4-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)-N,N-ジメチルベンゼンスルホンアミド
I-238		3-(1-オキソ-5-(1-(チアゾール-4-イルメチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-239		3-(1-オキソ-5-(1-(キノキサリン-6-イルメチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

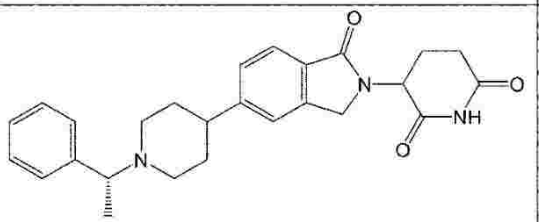
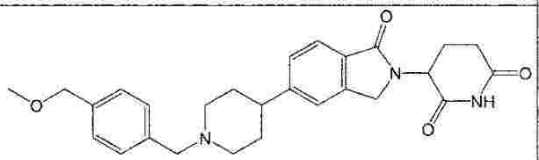
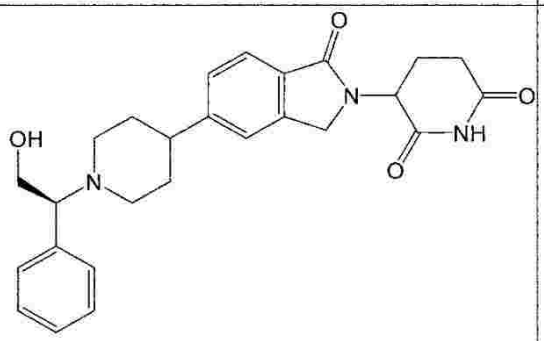
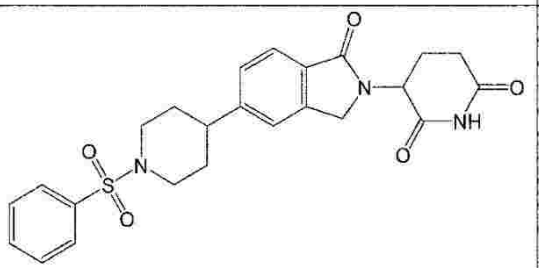
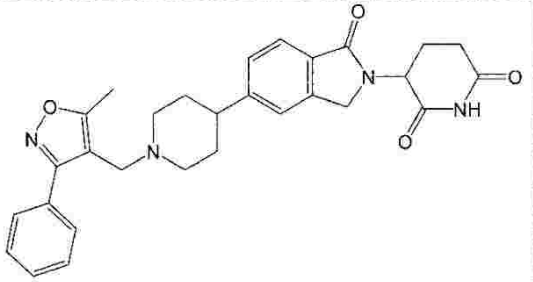
【０５６１】

【表６５】

化合物番号	構造	化合物名
I-240		3-(5-(1-((2-(4-フルオロフェニル)-5-メチルオキサゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-241		3-(1-オキソ-5-(1-((3-(m-トリル)-1,2,4-オキサジアゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-242		3-(5-(1-(4-(tert-ブチル)ベンゾイル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-243		3-(1-オキソ-5-(1-((5-(4-(トリフルオロメチル)フェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-244		3-(5-(1-(4-((4-フルオロベンジル)オキシ)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-245		3-(5-(1-((3-メチルイソオキサゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-246		3-(5-(1-(イソオキサゾール-3-イルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

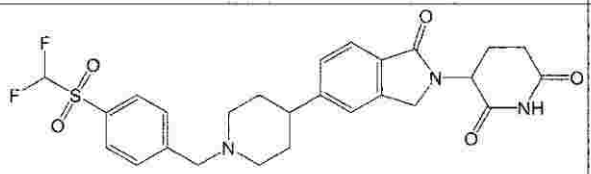
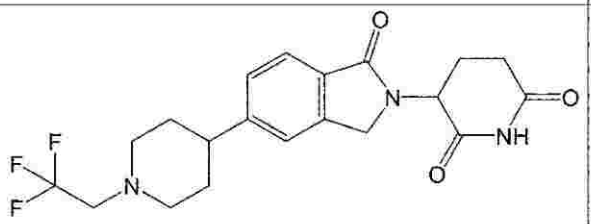
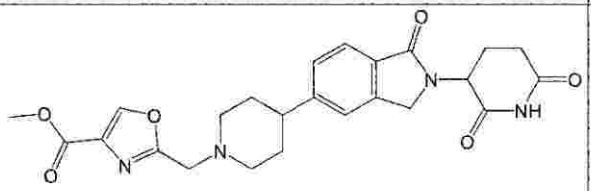
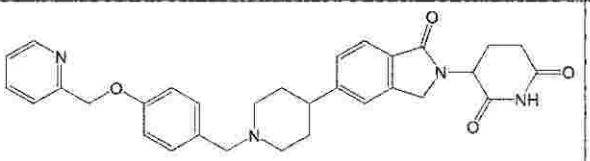
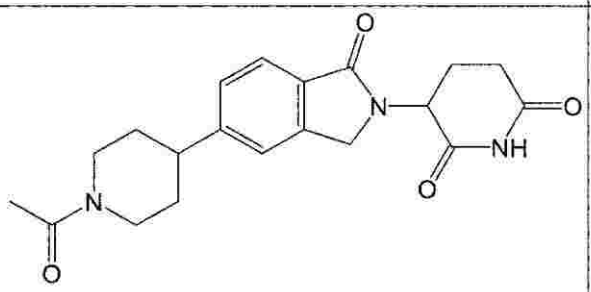
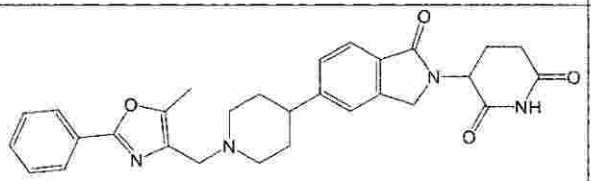
【０５６２】

【表６６】

化合物番号	構造	化合物名
I-247		3-(1-オキソ-5-(1-((R)-1-フェニルエチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-248		3-(5-(1-(4-(メトキシメチル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-249		3-(5-(1-((S)-2-ヒドロキシ-1-フェニルエチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-250		3-(1-オキソ-5-(1-(フェニルスルホニル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-251		3-(5-(1-((5-メチル-3-フェニルイソオキサゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

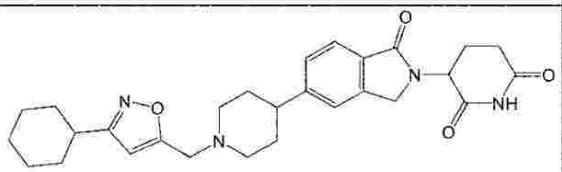
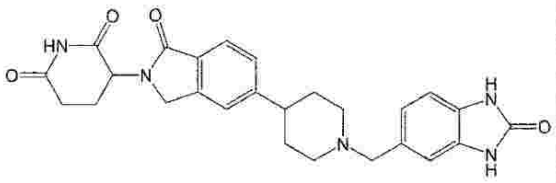
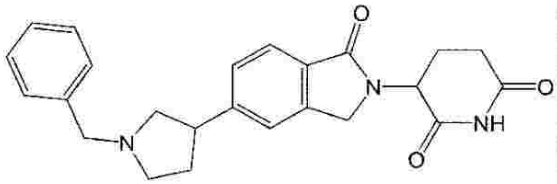
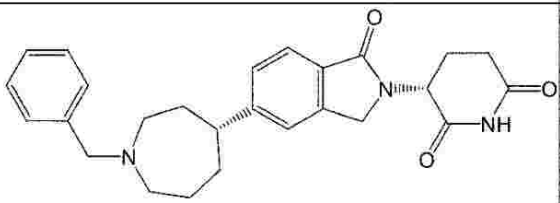
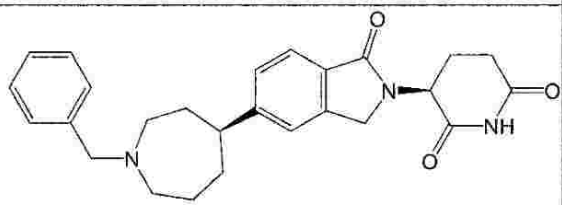
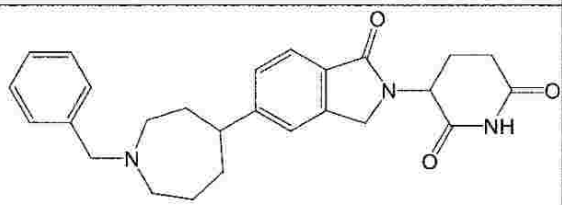
【０５６３】

【表６７】

化合物番号	構造	化合物名
I-252		3-(5-(1-(4-((ジフルオロメチル)スルホニル)ベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-253		3-(1-オキソ-5-(1-(2,2,2-トリフルオロエチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-254		2-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)オキサゾール-4-カルボン酸メチル
I-255		3-(1-オキソ-5-(1-(4-(ピリジン-2-イルメトキシ)ベンジル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-256		3-(5-(1-アセチルピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-257		3-(5-(1-((5-メチル-2-フェニルオキサゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

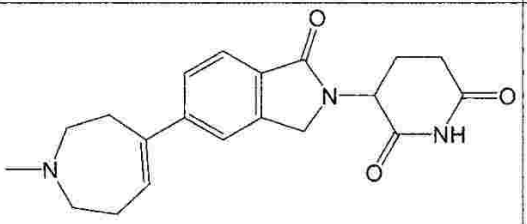
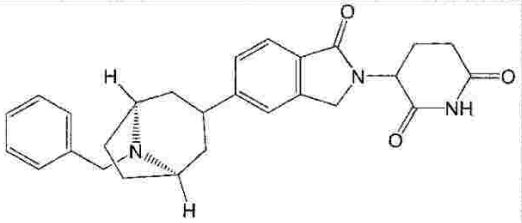
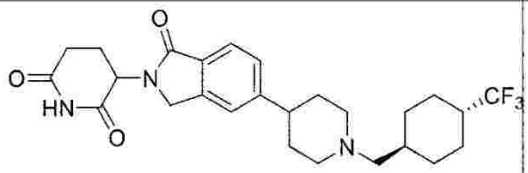
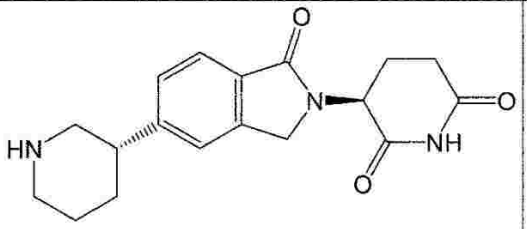
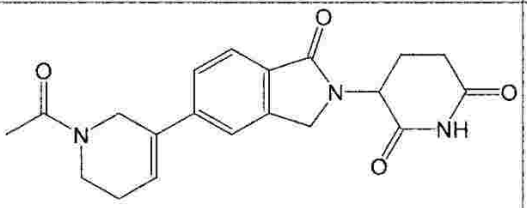
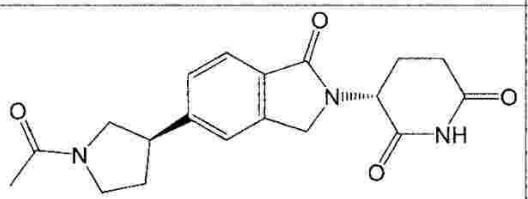
【０５６４】

【表６８】

化合物番号	構造	化合物名
I-258		3-(5-(1-((3-シクロヘキシルイソオキサゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-259		3-(1-オキソ-5-(1-((2-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-260		3-(5-(1-ベンジルピロリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-261		(R)-3-(5-((R)-1-ベンジルアゼパン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-262		(S)-3-(5-((S)-1-ベンジルアゼパン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-263		3-(5-(1-ベンジルアゼパン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

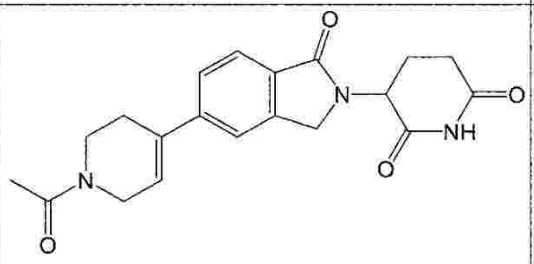
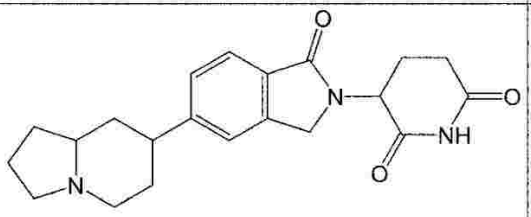
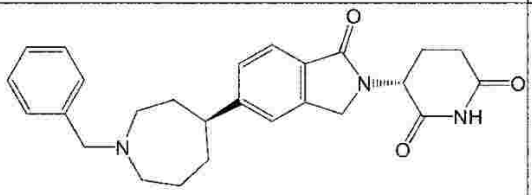
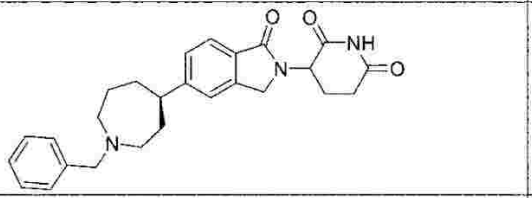
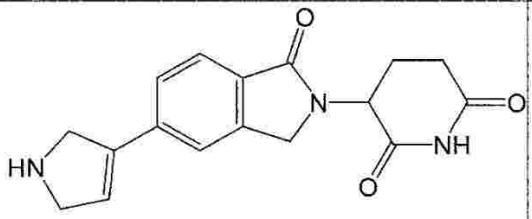
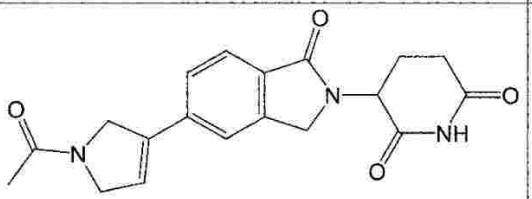
【０５６５】

【表６９】

化合物番号	構造	化合物名
I-264		3-(5-(1-メチル-2,3,6,7-テトラヒドロ-1H-アゼピン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-265		3-(5-(8-ベンジル-8-アザビシクロ[3.2.1]オクタン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-266		trans-3-(1-オキソ-5-(1-((4-(トリフルオロメチル)シクロヘキシル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-267		(S)-3-(1-オキソ-5-((S)-ピペリジン-3-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-268		3-(5-(1-アセチル-1,2,5,6-テトラヒドロピリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-269		(R)-3-(5-((R)-1-アセチルピロリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

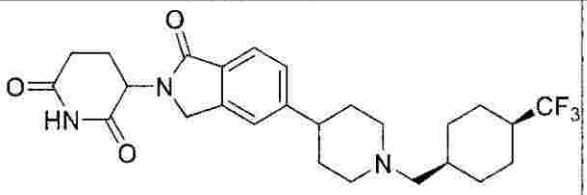
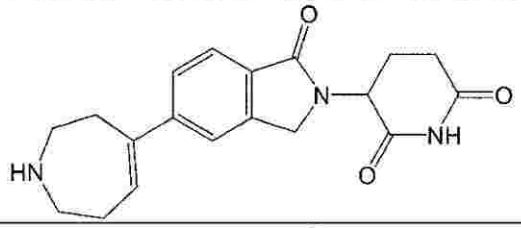
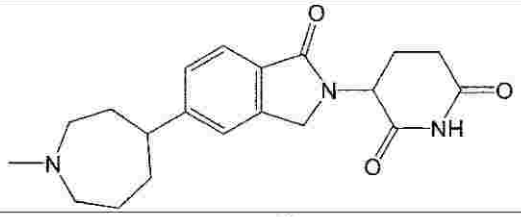
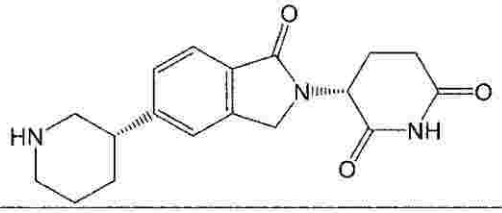
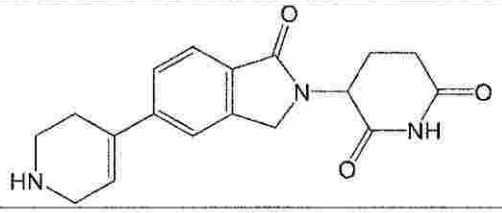
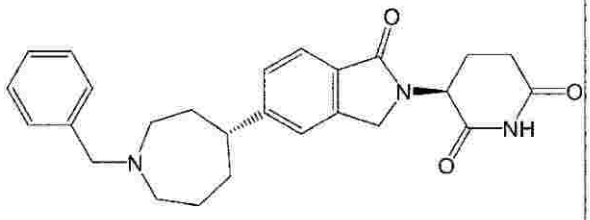
【０５６６】

【表７０】

化合物番号	構造	化合物名
I-270		3-(5-(1-アセチル-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-271		3-(5-(オクタヒドロインドリジン-7-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-272		(R)-3-(5-((S)-1-ベンジルアゼパン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-273		3-(5-((R)-1-ベンジルアゼパン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-274		3-(5-(2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-3-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-275		3-(5-(1-アセチル-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-3-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

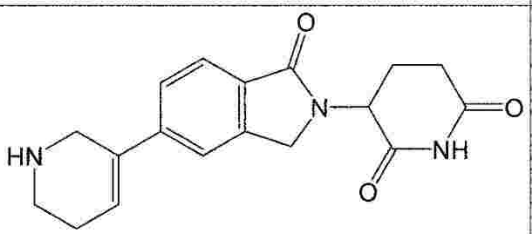
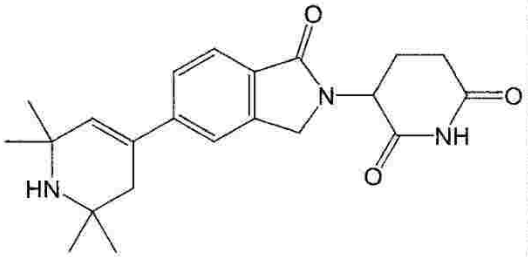
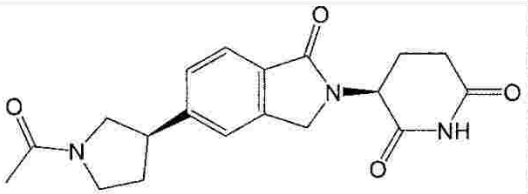
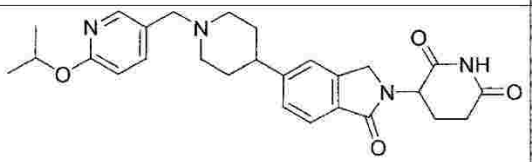
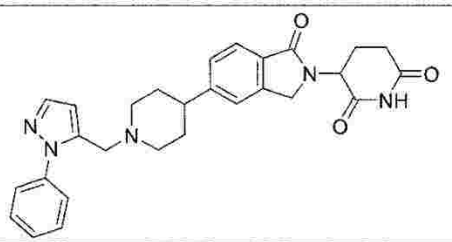
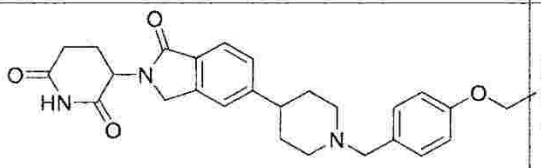
【０５６７】

【表７１】

化合物番号	構造	化合物名
I-276		cis-3-(1-オキソ-5-(1-((4-(トリフルオロメチル)シクロヘキシル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-277		3-(1-オキソ-5-(2,3,6,7-テトラヒドロ-1H-アゼピン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-278		3-(5-(1-メチルアゼパン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-279		(R)-3-(1-オキソ-5-((S)-ピペリジン-3-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-280		3-(1-オキソ-5-(1,2,3,6-テトラヒドロピリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-281		(S)-3-(5-((R)-1-ベンジルアゼパン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

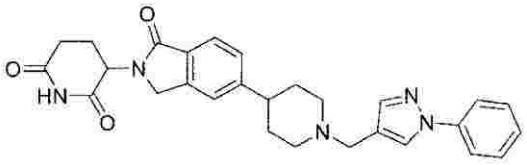
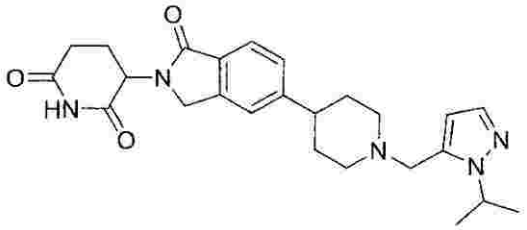
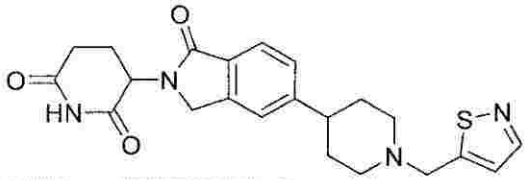
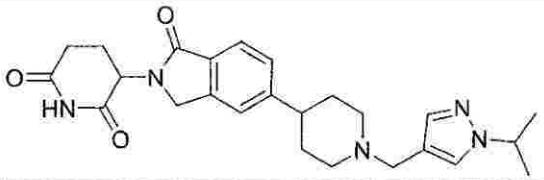
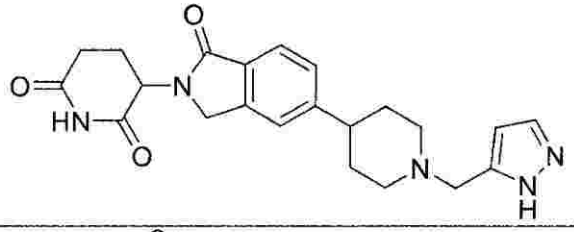
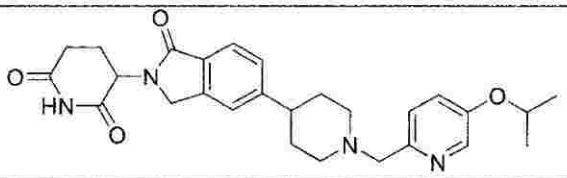
【０５６８】

【表７２】

化合物番号	構造	化合物名
I-282		3-(1-オキソ-5-(1,2,5,6-テトラヒドロピリジン-3-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-283		3-(1-オキソ-5-(2,2,6,6-テトラメチル-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-284		(S)-3-(5-((R)-1-アセチルピロリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-285		3-(5-(1-((6-イソプロポキシピリジン-3-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-286		3-(1-オキソ-5-(1-((1-フェニル-1H-ピラゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-287		3-(5-(1-(4-エトキシシベンジル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

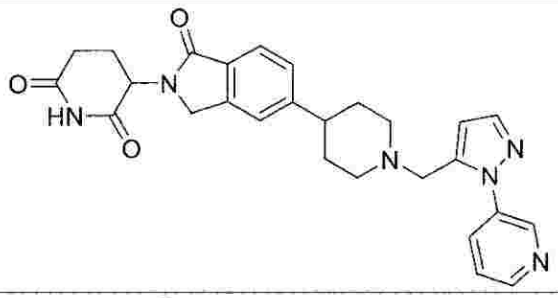
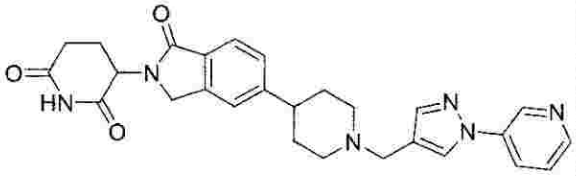
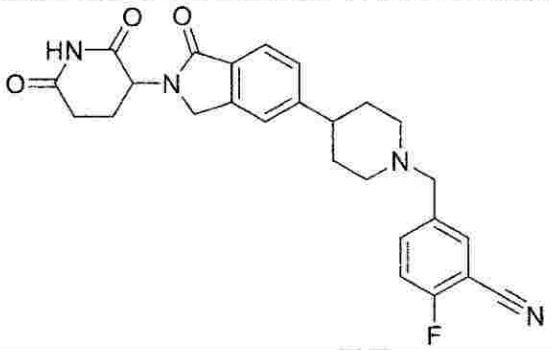
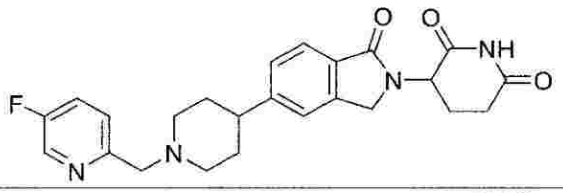
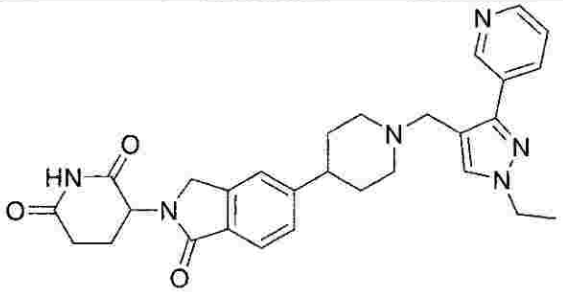
【０５６９】

【表７３】

化合物番号	構造	化合物名
I-288		3-(1-オキソ-5-(1-((1-フェニル-1H-ピラゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-289		3-(5-(1-((1-イソプロピル-1H-ピラゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-290		3-(5-(1-(イソチアゾール-5-イルメチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-291		3-(5-(1-((1-イソプロピル-1H-ピラゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-292		3-(5-(1-((1H-ピラゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-293		3-(5-(1-((5-イソプロポキシピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

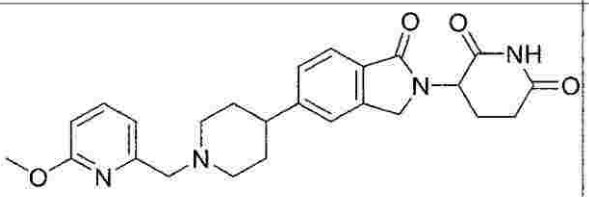
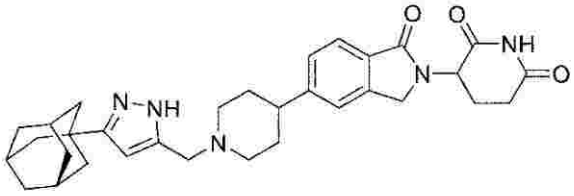
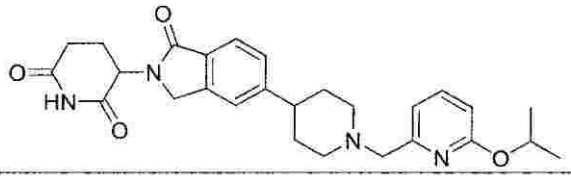
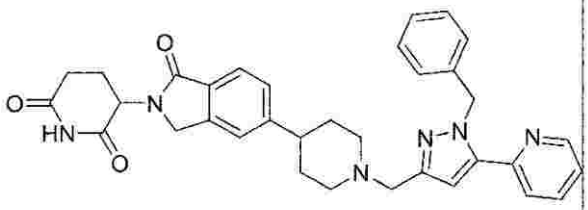
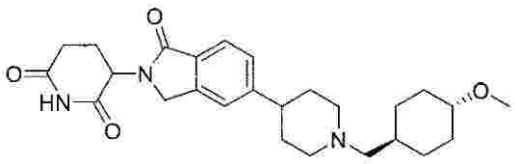
【０５７０】

【表７４】

化合物番号	構造	化合物名
I-294		3-(1-オキソ-5-(1-((1-(ピリジン-3-イル)-1H-ピラゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-295		3-(1-オキソ-5-(1-((1-(ピリジン-3-イル)-1H-ピラゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)イソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-296		5-((4-(2-(2,6-ジオキソピペリジン-3-イル)-1-オキソイソインドリン-5-イル)ピペリジン-1-イル)メチル)-2-フルオロベンゾニトリル
I-297		3-(5-(1-((5-フルオロピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-298		3-(5-(1-((1-エチル-3-(ピリジン-3-イル)-1H-ピラゾール-4-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

【０５７１】

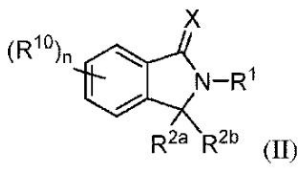
【表７５】

化合物番号	構造	化合物名
I-299		3-(5-(1-((6-メトキシピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-300		3-(5-(1-((3-((3S,5S)-アダマンタン-1-イル)-1H-ピラゾール-5-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-301		3-(5-(1-((6-イソプロポキシピリジン-2-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-302		3-(5-(1-((1-ベンジル-5-(ピリジン-2-イル)-1H-ピラゾール-3-イル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン
I-303		trans-3-(5-(1-((4-メトキシシクロヘキシル)メチル)ピペリジン-4-イル)-1-オキソイソインドリン-2-イル)ピペリジン-2,6-ジオン

【０５７２】

別の態様では、分解化合物は、式（ＩＩ）：

【化４０】



(II)

（式中、

Ｘは、Ｏ又はＳであり；

R^1は、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、１つ以上のR^4によって独立して且つ任意選択により置換され；

R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであるか；又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニ

ル基を形成し；
R^{10}の各々は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－C（O）R^A、－C（O）OR^B、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、－S（O）$_x$$R^E$、－S（O）$_x$N（$R^C$）（$R^D$）若しくは－N（$R^C$）S（O）$_x$$R^E$又はL－タグであり；各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{11}で置換され；
各R^4は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、C（O）R^A、－C（O）OR^B、OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、S（O）$_x$$R^E$、－S（O）$_x$N（$R^C$）（$R^D$）、－N（$R^C$）S（O）$_x$$R^E$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^7で置換され；
R^A、R^B、R^C、R^D及びR^Eの各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであり；
各R^{11}は、独立して、C_1～C_6アルキル、ハロ、オキソ、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）、－N（R^C）C（O）R^A、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^8で置換され；
各R^7は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）又は－N（R^C）C（O）R^Aであり；
各R^8は、独立して、C_1～C_6アルキル、ハロ、シアノ、－OR^B、－N（R^C）（R^D）、－C（O）N（R^C）（R^D）又は－N（R^C）C（O）R^Aであり；
各Lは、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、－C（O）R^{A1}、－C（O）OR^{B1}、－OR^{B1}、－N（R^{C1}）（R^{D1}）、－C（O）N（R^{C1}）（R^{D1}）、－N（R^{C1}）C（O）R^{A1}、－S（O）$_x$$R^{E1}$、－S（O）$_x$N（$R^{C1}$）（$R^{D1}$）又は－N（$R^{C1}$）S（O）$_x$$R^{E1}$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{12}で置換され；
各タグは、標的タンパク質に結合可能な標的化部分であり；
R^{A1}、R^{B1}、R^{C1}、R^{D1}及びR^{E1}の各々は、独立して、水素、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{12}で置換され；
各R^{12}は、独立して、C_1～C_6アルキル、ハロ、シアノ、カルボシクリル又はヘテロシクリルであり；
nは、０、１、２、３又は４であり；及び
xは、０、１又は２である）
の化合物又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、互変異性体若しくはプロドラッグである。

【０５７３】
いくつかの実施形態では、Xは、Oである。

【０５７４】
いくつかの実施形態では、R^1は、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、独立して且つ任意選択により１～１２個のR^4（例えば、１個のR^4、２個のR^4、３個のR^4、４個のR^4、５個のR^4、６個のR^4、７個のR^4、８個のR^4、９個のR^4、１０個のR^4、１１個のR^4又は１２個のR^4

）により置換される。いくつかの実施形態では、R^1は、C_1～C_6アルキル又はヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、R^1は、R^4によって置換されたC_1～C_6アルキル（例えば、メチル又はエチル）である。いくつかの実施形態では、R^1は、１～６個のR^4によって置換されたC_1～C_6アルキル（例えば、メチル又はエチル）である。いくつかの実施形態では、R^1は、ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、R^1は、６員ヘテロシクリル又は５員ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、R^1は、任意選択により１～６個のR^4（例えば、１個のR^4、２個のR^4、３個のR^4、４個のR^4、５個のR^4又は６個のR^4）により置換された６員ヘテロシクリル又は５員ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、R^1は、窒素含有ヘテロシクリルである。いくつかの実施形態では、R^1は、ピペリジニル（例えば、ピペリジン－２，６－ジオニル）である。

【０５７５】

いくつかの実施形態では、R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して水素である。いくつかの実施形態では、R^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合する炭素と合わせてカルボニル基を形成する。

【０５７６】

いくつかの実施形態では、各R^{10}は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）ＯR^B、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（$R^C$）（$R^D$）若しくは－Ｎ（$R^C$）Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$又はＬ－タグであり；各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１～１２個のR^{11}（例えば、１個のR^{11}、２個のR^{11}、３個のR^{11}、４個のR^{11}、５個のR^{11}、６個のR^{11}、７個のR^{11}、８個のR^{11}、９個のR^{11}、１０個のR^{11}、１１個のR^{11}又は１２個のR^{11}）で置換される。いくつかの実施形態では、R^{10}は、C_1～C_6ヘテロアルキル、－Ｎ（R^C）（R^D）又は－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^Aである。いくつかの実施形態では、R^{10}は、C_1～C_6ヘテロアルキル（例えば、CH_2NHC（Ｏ）CH_2）、－Ｎ（R^C）（R^D）（例えば、NH_2）又は－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A（例えば、ＮＨＣ（Ｏ）CH_3）である。

【０５７７】

いくつかの実施形態では、各R^4は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）ＯR^B、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（$R^C$）（$R^D$）又は－Ｎ（$R^C$）Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１～１２個のR^7（例えば、１個のR^7、２個のR^7、３個のR^7、４個のR^7、５個のR^7、６個のR^7、７個のR^7、８個のR^7、９個のR^7、１０個のR^7、１１個のR^7又は１２個のR^7）で置換される。

【０５７８】

いくつかの実施形態では、各R^{11}は、独立して、C_1～C_6アルキル、ハロ、オキソ、シアノ、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１～６個のR^8（例えば、１個のR^8、２個のR^8、３個のR^8、４個のR^8、５個のR^8又は６個のR^8）で置換される。

【０５７９】

いくつかの実施形態では、各Ｌは、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、－Ｃ（Ｏ）R^{A1}、－Ｃ（Ｏ）ＯR^{B1}、－ＯR^{B1}、－Ｎ（R^{C1}）（R^{D1}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^{C1}）（R^{D1}）、－Ｎ

（R^{C1}）C（O）R^{A1}、－S（O）$_x R^{E1}$、－S（O）$_x$N（R^{C1}）（R^{D1}）又は－N（R^{C1}）S（O）$_x R^{E1}$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１～１２個のR^{12}（例えば、１個のR^{12}、２個のR^{12}、３個のR^{12}、４個のR^{12}、５個のR^{12}、６個のR^{12}、７個のR^{12}、８個のR^{12}、９個のR^{12}、１０個のR^{12}、１１個のR^{12}又は１２個のR^{12}）で置換される。

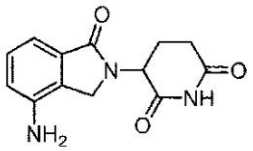
【０５８０】

いくつかの実施形態では、R^{A1}、R^{B1}、R^{C1}、R^{D1}及びR^{E1}の各々は、独立して、水素、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１～１２個のR^{12}（例えば、１個のR^{12}、２個のR^{12}、３個のR^{12}、４個のR^{12}、５個のR^{12}、６個のR^{12}、７個のR^{12}、８個のR^{12}、９個のR^{12}、１０個のR^{12}、１１個のR^{12}又は１２個のR^{12}）で置換される。

【０５８１】

ある実施形態では、Ｘは、Ｏである。ある実施形態では、R^1は、ヘテロシクリル（例えば、ピペリジン－２，６－ジオニル）である。ある実施形態では、R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して水素である。ある実施形態では、ｎは１である。ある実施形態では、R^{10}は、－N（R^C）（R^D）（例えば、－NH_2）である。ある実施形態では、分解化合物は、レナリドミド、例えば、３－（４－アミノ－１－オキソイソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオン又はその薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、分解化合物は、例えば、以下の式：

【化４１】

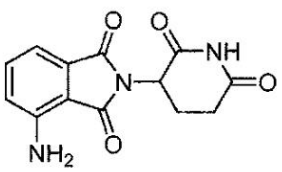


によるレナリドミドである。

【０５８２】

ある実施形態では、Ｘは、Ｏである。ある実施形態では、R^1は、ヘテロシクリル（例えば、ピペリジニル－２，６－ジオニル）である。いくつかの実施形態では、R^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合する炭素と合わせてカルボニル基を形成する。ある実施形態では、ｎは１である。ある実施形態では、R^{10}は、－N（R^C）（R^D）（例えば、－NH_2）である。ある実施形態では、分解化合物は、ポマリドミド、例えば、４－アミノ－２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）イソインドリン－１，３－ジオン又はその薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、分解化合物は、例えば、以下の式：

【化４２】



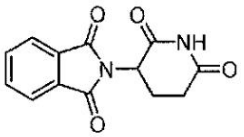
によるポマリドミドである。

【０５８３】

ある実施形態では、Ｘは、Ｏである。ある実施形態では、R^1は、ヘテロシクリル（例えば、ピペリジニル－２，６－ジオニル）である。ある実施形態では、R^{2a}及びR^{2b}は

、それらが結合する炭素と合わせてカルボニル基を形成する。ある実施形態では、ｎは０である。ある実施形態では、分解化合物は、サリドマイド、例えば、２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）イソインドリン－１，３－ジオン又はその薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、分解産物は、例えば、以下の式：

【化４３】

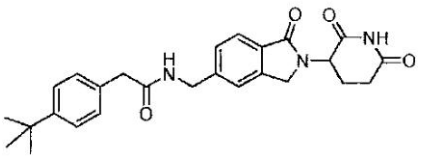


によるサリドマイドである。

【０５８４】

ある実施形態では、Ｘは、Ｏである。ある実施形態では、R^1は、ヘテロシクリル（例えば、ピペリジン－２，６－ジオニル）である。ある実施形態では、R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して水素である。ある実施形態では、ｎは１である。ある実施形態では、R^{10}は、C_1～C_6ヘテロアルキル（例えば、CH_2NHC（Ｏ）CH_2－フェニル－ｔ－ブチル）である。ある実施形態では、分解化合物は、２－（４－（ｔｅｒｔ－ブチル）フェニル）－Ｎ－（（２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－５－イル）メチル）アセトアミド又はその薬学的に許容される塩を含む。ある実施形態では、分解化合物は、以下の式：

【化４４】



において示されるとおりの構造を有する。

【０５８５】

いくつかの実施形態では、分解化合物（例えば、式（ＩＩ）の化合物）は、リンカー又は結合基に結合されない。いくつかの実施形態では、分解化合物（例えば、式（ＩＩ）の化合物）は、別の部分、例えば、リガンド、標的化剤又は二量体化できる部分を含まない。いくつかの実施形態では、R^{10}は、Ｌ－タグではない。

【０５８６】

いくつかの実施形態では、分解化合物（例えば、式（ＩＩ）の化合物）は、リンカー又は結合基に結合される（例えば、少なくとも１つのR^{10}は、Ｌ－タグである）。いくつかの実施形態では、分解化合物（例えば、式（ＩＩ）の化合物）は、別の部分、例えば、リガンド、標的化剤又は二量体化できる部分を含む。いくつかの実施形態では、R^{10}はＬ－タグであり、且つＬはアルキル又はヘテロアルキル（例えば、ＰＥＧ鎖）である。いくつかの実施形態では、Ｌは、国際公開第２０１７／０２４３１８号パンフレット（例えば、図２８～３１）において開示されるリンカーから選択されるリンカーである。

【０５８７】

いくつかの実施形態では、R^{10}はＬ－タグであり、且つタグは、標的タンパク質に結合できるか又は結合される標的化部分である。タグは、小分子化合物又はアミノ酸配列（例えば、ペプチド又はポリペプチド）を含み得る。いくつかの実施形態では、タグは、キナーゼ阻害剤、ＢＥＴブロモドメイン含有タンパク質阻害剤、細胞質ゾルシグナル伝達タンパク質ＦＫＢＰ１２リガンド、ＨＤＡＣ阻害剤、リジンメチルトランスフェラーゼ阻害剤、血管新生阻害剤、免疫抑制性化合物又はアリール炭化水素受容体（ＡＨＲ）阻害剤である。

【０５８８】
特定の実施形態では、タグはＳＥＲＭ（選択的エストロゲン受容体修飾薬）又はＳＥＲＤ（選択的エストロゲン受容体分解薬）である。ＳＥＲＭ及びＳＥＲＤの非限定的な例は、国際公開第２０１４／１９１７２６号パンフレット、国際公開第２０１３／０９０９２１号パンフレット、国際公開第２０１４／２０３１２９号パンフレット、国際公開第２０１４／２０５１３６号パンフレット、国際公開第２０１４／２０５１３８号パンフレット及び国際公開第２０１４／２０３１３２号パンフレット；米国特許出願公開第２０１３／０１７８４４５号明細書及び米国特許出願公開第２０１５／０００５２８６号明細書；並びに米国特許第９，０７８，８７１号明細書、米国特許第８，８５３，４２３号明細書及び米国特許第８，７０３，８１０号明細書において提供される。

【０５８９】
さらなるタグとしては、例えば、内因性タンパク質に結合する（標的タンパク質に結合する）任意の部分が挙げられる。例示的なタグとしては、多数の他のものの中で、Ｈｓｐ９０阻害剤、キナーゼ阻害剤、ＨＤＭ２及びＭＤＭ２阻害剤、ヒトＢＥＴブロモドメイン含有タンパク質を標的化する化合物、ＨＤＡＣ阻害剤、ヒトリジンメチルトランスフェラーゼ阻害剤、血管新生阻害剤、核ホルモン受容体化合物、免疫抑制性化合物及びアリール炭化水素受容体（ＡＨＲ）を標的化する化合物が挙げられる。このような小分子タグとしては、薬学的に許容される塩、エナンチオマー、溶媒和物及びこれらの組成物の多形並びに目的の標的タンパク質に結合し得る他の小分子も挙げられる。

【０５９０】
ある実施形態では、タグは、例えば、Ｈｅｗｉｔｔ，Ｗ．Ｍ．，ｅｔ．ａｌ．（２０１６）Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．５５：５７０３－５７０７において記載されるとおりのＵｂｃ９　ＳＵＭＯ　Ｅ２リガーゼ５Ｆ６Ｄ標的化リガンドである。

【０５９１】
ある実施形態では、タグは、例えば、Ｋｉｒｂｙ，Ｃ．Ａ．ｅｔ　ａｌ，（２０１２）Ａｃｔａ　Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒ．Ｓｅｃｔ．Ｆ　６８：１１５－１１８；及びＳｈｕｌｔｚ，Ｍ．Ｄ．，ｅｔ　ａｌ．（２０１３）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．５６：７０４９－７０５９において記載されるとおりのＴａｎｋ１標的化リガンドである。

【０５９２】
ある実施形態では、タグは、例えば、Ｇｕｄｒｕｎ　Ｌａｎｇｅ，ｅｔ　ａｌ．，（２００３）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．４６，５１８４－５１９５において記載されるとおりのｐｐ６０　Ｓｒｃ標的化リガンドのＳＨ２ドメインである。

【０５９３】
ある実施形態では、タグは、例えば、Ｈｕｔａ，Ｂ．Ｐ．，ｅｔ　ａｌ．，（２０１６）Ｃｈｅｍｍｅｄｃｈｅｍ　１１：２７７において記載されるとおりのＳｅｃ７ドメイン標的化リガンドである。

【０５９４】
ある実施形態では、タグは、例えば、Ｉ．Ｎｅｍｃｏｖｉｃｏｖａ　ａｎｄ　Ｄ．Ｍ．Ｚａｊｏｎｃ　Ａｃｔａ　Ｃｒｙｓｔ．（２０１４）．Ｄ７０，８５１－８６２において記載されるとおりのサポシン－Ｂ標的化リガンドである。

【０５９５】
ある実施形態では、タグは、例えば、Ｌｅｏｎ，Ｒ．，Ｍｕｒｒａｙ，ｅｔ　ａｌ．，（２００９）Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　４８：１０５９１－１０６００において記載されるとおりのタンパク質Ｓ１００－Ａ７　２ＯＷＳ標的化リガンドである。

【０５９６】
ある実施形態では、タグは、例えば、Ｓｃｈｅｖｉｔｚ，Ｒ．Ｗ．，ｅｔ　ａｌ．，（１９９５）Ｎａｔ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．２，４５８－４６５において記載されるとおりのホスホリパーゼＡ２標的化リガンドである。

【０５９７】
ある実施形態では、タグは、例えば、Ｋｒｏｊｅｒ，Ｔ．；ｅｔ　ａｌ．Ｃｈｅｍ．Ｓ

ｃｉ．２０１６，７，２３２２－２３３０において記載されるとおりのＰＨＩＰ標的化リガンドである。

【０５９８】

ある実施形態では、タグは、例えば、Ｍａｎｇｅｓｈ Ｊｏｓｈｉ，ｅｔ ａｌ．Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．（２００６）４５，３７９０－３７９５において記載されるとおりのＰＤＺ標的化リガンドである。

【０５９９】

ある実施形態では、タグは、例えば、Ｋａｒｌｂｅｒｇ，Ｔ．，ｅｔ ａｌ．，（２０１５）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２９０：７３３６－７３４４において記載されるとおりのＰＡＲＰ１５標的化リガンドである。

【０６００】

ある実施形態では、タグは、例えば、Ａｎｄｅｒｓｓｏｎ，Ｃ．Ｄ．，ｅｔ ａｌ．，（２０１２）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．５５：７７０６－７７１８．；Ｗａｈｌｂｅｒｇ，Ｅ．，ｅｔ ａｌ．（２０１２）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．３０：２８３－２８８．；Ａｎｄｅｒｓｓｏｎ，Ｃ．Ｄ．，ｅｔ ａｌ．（２０１２）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．５５：７７０６－７７１８において記載されるとおりのＰＡＲＰ１４標的化リガンドである。

【０６０１】

ある実施形態では、タグは、例えば、Ｈｅｌｇｅ Ｇａｄ，ｅｔ．ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ，（２０１４）５０８，２１５－２２１において記載されるとおりのＭＴＨ１標的化リガンドである。

【０６０２】

ある実施形態では、タグは、例えば、Ｌｕｚ，Ｊ．Ｇ．，ｅｔ ａｌ．，（２０１５）Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．５８：４７２７－４７３７において記載されるとおりのｍＰＧＥＳ－１標的化リガンドである。

【０６０３】

ある実施形態では、タグは、例えば、Ａ．Ｄ．，ｅｔ ａｌ（２００７）Ｓｃｉｅｎｃｅ３１７：５１０－５１２において記載されるとおりのＦＬＡＰ－５－リポキシゲナーゼ活性化タンパク質標的化リガンドである。

【０６０４】

ある実施形態では、タグは、例えば、Ｋｕｈｎ，Ｂ．；ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．（２０１６）５９，４０８７－４１０２において記載されるとおりのＦＡ結合タンパク質標的化リガンドである。

【０６０５】

ある実施形態では、タグは、例えば、Ｓｏｕｅｒｓ，Ａ．Ｊ．，ｅｔ ａｌ．（２０１３）Ｎａｔ Ｍｅｄ １９：２０２－２０８において記載されるとおりのＢＣＬ２標的化リガンドである。

【０６０６】

ある実施形態では、タグは、標的タンパク質に結合することができる任意の小分子又はタンパク質であり、ユビキチンリガーゼによって作用又は分解されたものが標的タンパク質である。いくつかの実施形態では、タグは、国際公開第２０１７／０２４３１８号パンフレット（例えば、表Ｔ、１１９～１２９頁）において開示されるｄＴＡＧ標的化リガンドである。

【０６０７】

R^{10}がＬ－タグであるとき、タグは、標的タンパク質に結合できるか又は結合される。例示的な標的タンパク質としては、ＦＫ５０６結合タンパク質－１２（ＦＫＢＰ１２）、ブロモドメイン含有タンパク質４（ＢＲＤ４）、ＣＲＥＢ結合タンパク質（ＣＲＥＢＢＰ）又は転写活性化因子ＢＲＧ１（ＳＭＡＲＣＡ４）が挙げられる。いくつかの実施形態では、標的タンパク質は、ホルモン受容体、例えば、エストロゲン受容体タンパク質、アンドロゲン受容体タンパク質、レチノイドｘ受容体（ＲＸＲ）タンパク質又は細菌ＤＨＦ

Ｒを含むジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）を含む。いくつかの実施形態では、標的タンパク質は、細菌デヒドロゲナーゼに由来するアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、標的タンパク質は、７，８－ジヒドロ－８－オキソグアニントリホスファターゼ、ＡＦＡＤ、アラキドン酸塩５－リポキシゲナーゼ活性化タンパク質、アポリポタンパク質、ＡＳＨ１Ｌ、ＡＴＡＤ２、バキュロウイルスＩＡＰリピート含有タンパク質２、ＢＡＺ１Ａ、ＢＡＺ１Ｂ、ＢＡＺ２Ａ、ＢＡＺ２Ｂ、Ｂｃｌ－２、Ｂｃｌ－ｘＬ、ＢＲＤ１、ＢＲＤ２、ＢＲＤ３、ＢＲＤ４、ＢＲＤ５、ＢＲＤ６、ＢＲＤ７、ＢＲＤ８、ＢＲＤ９、ＢＲＤ１０、ＢＲＤＴ、ＢＲＰＦ１、ＢＲＰＦ３、ＢＲＷＤ３、ＣＤ２０９、ＣＥＣＲ２、ＣＲＥＢＢＰ、Ｅ３リガーゼＸＩＡＰ、ＥＰ３００、ＦＡＬＺ、脂肪細胞に由来する脂肪酸結合タンパク質４（ＦＡＢＰ４）、ＧＣＮ５Ｌ２、ＧＴＰアーゼ、ｋ－ＲＡＳ、ＨＤＡＣ６、造血性プロスタグランジンＤシンターゼ、ＫＩＡＡ１２４０、乳酸グルタチオンリアーゼ、ＬＯＣ９３３４９、Ｍｃｌ－１、ＭＬＬ、ＰＡ２ＧＡ、ＰＢ１、ＰＣＡＦ、ペプチジル－プロリルｃｉｓ－ｔｒａｎｓイソメラーゼＮＩＭＡ相互作用１、ＰＨＩＰ、ポリ－ＡＤＰ－リボースポリメラーゼ１４、ポリ－ＡＤＰ－リボースポリメラーゼ１５、ＰＲＫＣＢＰ１、プロサポシン、プロスタグランジンＥシンターゼ、網膜桿体ロドプシン感受性ｃＧＭＰ　３’，’５－環状ホスホジエステラーゼサブユニットデルタ、Ｓ１００－Ａ７、ＳＭＡＲＣＡ２、ＳＭＡＲＣＡ４、ＳＰ１００、ＳＰ１１０、ＳＰ１４０、Ｓｒｃ、Ｓｕｍｏ－結合酵素ＵＢＣ９、スーパーオキシドジスムターゼ、ＴＡＦ１、ＴＡＦ１Ｌ、タンキラーゼ１、タンキラーゼ２、ＴＩＦ１ａ、ＴＲＩＭ２８、ＴＲＩＭ３３、ＴＲＩＭ６６、ＷＤＲ９、ＺＭＹＮＤ１１又はＭＬＬ４に由来するアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、標的タンパク質は、ＭＤＭ２に由来するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、標的タンパク質は、国際公開第２０１７／０２４３１８号パンフレット（例えば、１１２～１１４頁）において開示されるｄＴＡＧである。

【０６０８】

一実施形態では、標的タンパク質は、ＢＲＤ２、ＢＲＤ３、ＢＲＤ４又はＢＲＤＴに由来する。一実施形態では、標的タンパク質は、改変されたか又は変異体のＢＲＤ２、ＢＲＤ３、ＢＲＤ４又はＢＲＤＴタンパク質である。特定の実施形態では、ＢＲＤ２の１つ以上の変異は、アミノ酸位置９７でのトリプトファン（Ｗ）の変異、アミノ酸位置１０３でのバリン（Ｖ）の変異、アミノ酸位置１１０でのロイシン（Ｌ）の変異、アミノ酸位置３７０でのＷの変異、アミノ酸位置３７６でのＶの変異又はアミノ酸位置３８１でのＬの変異を含む。

【０６０９】

一実施形態では、標的タンパク質は、細胞質ゾルシグナル伝達タンパク質ＦＫＢＰ１２に由来する。特定の実施形態では、標的タンパク質は、改変されたか又は変異体の細胞質ゾルシグナル伝達タンパク質ＦＫＢＰ１２である。特定の実施形態では、改変されたか又は変異体の細胞質ゾルシグナル伝達タンパク質ＦＫＢＰ１２は、ＦＫＢＰ１２リガンドのための増大された結合ポケットを作り出す１つ以上の変異を含有する。特定の実施形態では、１つ以上の変異は、アミノ酸位置３６でのフェニルアラニン（Ｆ）のバリン（Ｖ）への変異（Ｆ３６Ｖ）（ＦＫＢＰ１２＊又はＦＫＢＰ＊として本明細書で互換的に呼ばれる）を含む。

【０６１０】

いくつかの実施形態では、分解化合物は、各々が全体として参照により本明細書によって組み込まれる、米国特許第７，９７３，０５７号明細書；米国特許第８，５４６，４３０号明細書；米国特許第８，７１６，３１５号明細書；国際公開第２０１７／０５９０６２号パンフレット；又は国際公開第２０１７／０２４３１８号パンフレットにおいて開示される化合物である。

【０６１１】

異種ポリペプチド

本明細書では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び目的の異種ポリペプチドを含む融合ポリペプチドが提供される。いくつ

かの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドは、リンカー（例えば、グリシン－セリンリンカー）によって隔てられている。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される融合ポリペプチドは３つの要素：ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるとおりのデグロンのアミノ酸配列の一部）、異種ポリペプチド及びＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドと異種ポリペプチドを隔てるリンカーを含む。他の実施形態では、本明細書に記載される融合ポリペプチドは、２つの要素：異種ポリペプチドに直接的に連結されたＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるとおりのデグロンのアミノ酸配列の一部）を含む。これらの要素は、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるとおりのデグロンのアミノ酸配列の一部）が、目的の異種ポリペプチドのＮ末端、目的の異種ポリペプチドのＣ末端又は目的の異種ポリペプチドの中間に位置するように配置され得る。一実施形態では、異種ポリペプチドは、細胞質ゾル及び／又は核タンパク質であり、且つＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、異種ポリペプチドに対してＮ末端に位置する。一実施形態では、異種ポリペプチドは、膜貫通タンパク質であり、且つＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、異種ポリペプチドに対してＣ末端に位置する。

【０６１２】

いくつかの実施形態では、融合ポリペプチドはさらに、分解ドメインを含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、異種プロテアーゼ切断部位によってＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドから隔てられている。

【０６１３】

本明細書で開示される融合ポリペプチドは、任意の目的の異種ポリペプチドを含み得る。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、膜貫通タンパク質（例えば、膜貫通受容体）であり得る。特定の実施形態では、目的の異種ポリペプチドは、例えば、イオンチャネル結合型受容体、酵素結合型受容体（例えば、受容体チロシンキナーゼ、チロシンキナーゼ関連受容体、受容体様チロシンホスファターゼ、受容体セリン／スレオニンキナーゼ；受容体グアニリルシクラーゼ及びヒスチジンキナーゼ関連受容体）又はＧタンパク質共役型受容体であり得る。いくつかの実施形態では、膜貫通タンパク質は、例えば、本明細書に記載されるとおりのキメラ抗原受容体である。

【０６１４】

別の実施形態では、異種ポリペプチドは、分泌タンパク質（例えば、小さい分泌タンパク質）である。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、例えば、抗体、ナノボディ又は細胞製造におけるタンパク質結合分子であり得る。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、治療用又は臨床用タンパク質（例えば、インスリン、成長ホルモン、エリスロポエチン又は治療用抗体）であり得る。特定の実施形態では、タンパク質は、製造のための細胞に対して毒性であり得る（例えば、細菌毒素及びプロテアーゼ）。

【０６１５】

表２は、本明細書で開示される融合ポリペプチドにおける使用のための例示的異種ポリペプチドのリストを含む。さらなる目的の異種ポリペプチドは、下の節において記載されるとおりのキメラ抗原Ｔ細胞受容体を含む。

【０６１６】

【表７６】

表 2.目的の異種ポリペプチド

細胞質内又は核	膜貫通	分泌
アポトーシス経路 (例えば、カスパーゼ 9)	CD62L	IL-12 p35
TALEN	CCR1	IL-12 p40
ZFN	CCR2	IL-12 p70
メガヌクレアーゼ	CCR5	IL-15 又は IL-15 複合体
Cas9	CCR7	IL-2
MITF	CCR10	IL-7
MYC	CXCR2	IL-18
STAT3	CXCR3	IL-9
STAT5	CXCR4	IL-21
NF-カッパ B	CXCR6	RANTES/CCL5
ベーターカテニン	CTLA4	CCL2
ノッチ	PD1	CCL1
GLI	BTLA	CCL22
c-JUN	VISTA	ヘパラナーゼ
Tet メチルシトシンジオキシゲナーゼ 2 (TET2)	CD137L	マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP)
FKBP	CD80	カテプシン
タウ	CD86	抗体 (例えば、抗腫瘍抗体、例えば、 ハーセプチン、又はチェックポイント阻害剤抗体、 例えば、抗 PD1 抗体)
酵素	TIGIT	ペプチド (例えば、抗腫瘍ペプチド、又はタンパク質 ホルモン)
足場タンパク質	キメラ抗原受容体 (例えば、CD19、 CD22、CD20、 BCMA、CD123、 CD33、EGFRvIII、 又はメソセリンに 結合する CAR)	IL-6 阻害ペプチド
	CD3	TGF ベータ阻害ペプチド
	CD8	
	CD19	
	CD22	
	CD20	
	BCMA	

【０６１７】

ＣＡＲ抗原結合ドメイン

一態様では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び／又は分解ドメインに連結された本開示のＣＡＲは、抗原結合ドメインとも呼ばれる標的特異的結合要素を含む。一実施形態では、抗原結合ドメインを含むＣＡＲの部分は、抗原、例えば、本明細書に記載される抗原、例えば、ＣＤ１９を標的化する、例えば、それに特異的に結合する抗原結合ドメインを含む。一実施形態では、抗原結合ドメインは、ヒトＣＤ１９を標的化する、例えば、それに特異的に結合する。

【０６１８】

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び／又は分解ドメインに連結された異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を含む。いくつかの実施形態では、ＣＡＲは、腫瘍抗原に結

合する抗原結合ドメイン（例えば、抗体若しくは抗体断片、ＴＣＲ又はＴＣＲ断片）、膜貫通ドメイン並びに細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、共刺激ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメイン）及び／又は一次シグナル伝達ドメインを含む。本開示に関連するＣＡＲ核酸コンストラクト、コードされたタンパク質、含有するベクター、宿主細胞、医薬組成物並びに投与及び治療の方法は、全体として参照により組み込まれる国際公開第２０１５１４２６７５号パンフレットにおいて詳細に開示される。

【０６１９】

いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）であり、ＣＡＲは、腫瘍支持抗原（例えば、本明細書に記載されるとおりの腫瘍支持抗原）に結合する抗原結合ドメイン（例えば、抗体若しくは抗体断片、ＴＣＲ若しくはＴＣＲ断片）、膜貫通ドメイン（例えば、本明細書に記載される膜貫通ドメイン）並びに細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメイン）（例えば、共刺激ドメイン（例えば、本明細書に記載される共刺激ドメイン）及び／又は一次シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載される一次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では、腫瘍支持抗原は、間質細胞又は骨髄系由来サプレッサー細胞（ＭＤＳＣ）上に存在する抗原である。他の態様では、本発明は、そのような核酸によってコードされるポリペプチド並びにそのような核酸及び／又はポリペプチドを含有する宿主細胞を特徴とする。

【０６２０】

いくつかの実施形態では、ＣＡＲ分子は、ＣＤ１３７（４－１ＢＢ）シグナル伝達ドメイン、ＣＤ２８シグナル伝達ドメイン、ＣＤ２７シグナル伝達ドメイン、ＩＣＯＳシグナル伝達ドメイン、ＣＤ３ゼータシグナルドメイン又はその任意の組合せから選択される少なくとも１つの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では、ＣＡＲ分子は、ＣＤ１３７（４－１ＢＢ）、ＣＤ２８、ＣＤ２７又はＩＣＯＳから選択される１つ以上の共刺激分子から選択される少なくとも１つの細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

【０６２１】

いくつかの実施形態では、複数の免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞制御性枯渇細胞の集団は、抗原結合ドメインとも呼ばれる標的特異的結合要素を含むＣＡＲをコードする核酸を含む。結合要素の選択は、標的細胞の表面を定義するリガンドの種類及び数に依存する。例えば、抗原結合ドメインは、細胞表面マーカーとして作用するリガンド又は特定の疾患状態と関連する標的細胞を認識するように選択され得る。したがって、本明細書に記載されるＣＡＲにおいて抗原結合ドメインのためのリガンドとして作用し得る細胞表面マーカーの例としては、ウイルス、細菌及び寄生虫感染症、自己免疫疾患並びに癌細胞と関連するものが挙げられる。

【０６２２】

ＣＡＲ分子、例えば、本明細書に記載されるＴＡ　ＣＡＲ又はＢＣＡ　ＣＡＲの一部であり得る様々な構成要素の非限定的な例の配列は、表３において列挙され、ここで、「ａａ」はアミノ酸を意味し、「ｎａ」は対応するペプチドをコードする核酸を意味する。

【０６２３】

【表７７】

表 3. CAR の各種構成要素の配列 (aa - アミノ酸配列、na - 核酸配列)。

配列番号	説明	配列
配列番号 144	EF-1 プロモーター (na)	CGTGAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCG CCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATT GAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGA AAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTG GGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTT CTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGC CGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATG GCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACG TGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAG AGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGC TTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGC GAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATA AGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGC TTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGAT CTGCACACTGGTATTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGA CGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCGGCGAGGCGG GGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGT CTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCG CCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTC GGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCC CTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGG AGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCC TTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTAC CGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTG GAGTACGTCGTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGA TGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTAGG CCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTT TTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTG GTTCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGA

【０６２４】

【表７８】

配列番号 64	リーダー (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARP
配列番号 145	リーダー (na)	ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTG CTGCTGCATGCCGCTAGACCC
配列番号 146	リーダー (na)	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTT CTGCTCCACGCCGCTCGGCCC
配列番号 147	CD 8 ヒンジ (aa)	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC D
配列番号 148	CD8 ヒンジ (na)	ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCA CCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGC CGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGG ACTTCGCCTGTGAT
配列番号 149	Ig4 ヒンジ (aa)	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSLGKM
配列番号 150	Ig4 ヒンジ (na)	GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCC CGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCA AGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAGGT GACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAG GTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAA CGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACC TACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAG GGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCA AGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCT AGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCT GCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCA CCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTAC AGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCA ACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAAC CACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGAT G

【表７９】

配列番号 151	IgD ヒンジ (aa)	RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGE EKKKEKEKEEQEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWL RDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHS NGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREP AAQAPVKLSLNLLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLE DQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATY TCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH
配列番号 152	IgD ヒンジ (na)	AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCCAGGCATCTAGTGTTCC TACTGCACAGCCCCAGGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCT ACTACTGCACCTGCCACTACGCGCAATACTGGCCGTGGCGG GGAGGAGAAGAAAAAGGAGAAAGAGAAAGAAGAACAGGA AGAGAGGGAGACCAAGACCCCTGAATGTCCATCCCATACC CAGCCGCTGGGCGTCTATCTCTTGACTCCCGCAGTACAGGA CTTGTGGCTTAGAGATAAGGCCACCTTTACATGTTTCGTCGT GGGCTCTGACCTGAAGGATGCCCATTTGACTTGGGAGGTTG CCGGAAAGGTACCCACAGGGGGGGTTGAGGAAGGGTTGCT GGAGCGCCATTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACTCAAGAC TCACCCTTCCGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTC ACATGTACTCTAAATCATCCTAGCCTGCCCCCACAGCGTCT GATGGCCCTTAGAGAGCCAGCCGCCCAGGCACCAGTTAAG CTTAGCCTGAATCTGCTCGCCAGTAGTGATCCCCCAGAGGC CGCCAGCTGGCTCTTATGCGAAGTGTCCGGCTTTAGCCCGC CCAACATCTTGCTCATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGTG AACACCAGCGGCTTCGCTCCAGCCCGGCCCCCACCCCAGCC GGGTTCTACCACATTCTGGGCCTGGAGTGTCTTAAGGGTCC CAGCACCACCTAGCCCCCAGCCAGCCACATACACCTGTGTT GTGTCCCATGAAGATAGCAGGACCCTGCTAAATGCTTCTAG GAGTCTGGAGGTTTCCTACGTGACTGACCATT
配列番号 153	GS ヒンジ/ リンカー (aa)	GGGGSGGGGS
配列番号 154	GS ヒンジ/ リンカー (na)	GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC
配列番号 155	CD8TM (aa)	IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
配列番号 156	CD8 TM (na)	ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCT TCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
配列番号 157	CD8 TM (na)	ATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTG CTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGT
配列番号 158	4-1BB 細胞内 ドメイン (aa)	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL

【０６２６】

【表８０】

配列番号 159	4-1BB 細胞内ドメイン (na)	AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAAC CATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATGG CTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGT GAACTG
配列番号 160	4-1BB 細胞内ドメイン (na)	AAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACC CTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCT GTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGA ACTG
配列番号 161	CD27 (aa)	QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEP ACSP
配列番号 162	CD27 (na)	AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGA ACATGACTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTAC CAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTC C
配列番号 163	CD3-ゼータ (aa)	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
配列番号 164	CD3-ゼータ (na)	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACA AGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGG ACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGC CGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACC CTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGAT GGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGC CGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAG GCCCTGCCCCCTCGC
配列番号 165	CD3-ゼータ (na)	CGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAA GCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTC GGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACG GGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCC CAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGG CAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAG AAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGC ACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGC CCTGCCGCCTCGG
配列番号 166	CD3-ゼータ (aa)	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
配列番号 167	CD3-ゼータ (na)	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACC AGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGG ACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGC CGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACC CTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGAT GGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGC CGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAG GCCCTGCCCCCTCGC

【０６２７】

【表８１】

配列番号 168	リンカー (aa)	GGGGS
配列番号 154	リンカー (aa)	GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC
配列番号 169	PD-1 細胞外ドメイン (aa)	Pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlv
配列番号 170	PD-1 細胞外ドメイン (na)	Ccggatggtttctggactctccggatcgcccgtggaatcccccaaccttctcaccggcactcttggttgtgactgagggcgataatgcgaccttcacgtgctcgttctccaacacctccgaatcattcgtgctgaactggtaccgcatgagcccgtcaaaccagaccgacaagctcgccgcgtttccggaagatcggtcgcaaccgggacaggattgtcggttccgcgtgactcaactgccgaatggcagagacttccacatgagcgtggtccgcgctaggcgaaacgactccgggacctacctgtgcggagccatctcgctggcgcctaaggcccaaatcaaagagagcttgagggccgaactgagagtgaccgagcgcagagctgaggtgccaactgcacatccatcccatcgcctcggcctgcggggcagtttcagaccctggtc
配列番号 171	シグナルを有する PD-1 CAR (aa)	Malpvtalllplalllhaarppgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlvtttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
配列番号 172	PD-1 CAR (na)	Atggccctccctgtcactgccctgcttctccccctcgcactcctgctccacgccgctagaccacccggatggtttctggactctccggatcgcccgtggaatcccccaaccttctcaccggcactcttggttgtgactgagggcgataatgcgaccttcacgtgctcgttctccaacacctccgaatcattcgtgctgaactggtaccgcatgagcccgtcaaaccagaccgacaagctcgccgcgtttccggaagatcggtcgcaaccgggacaggattgtcggttccgcgtgactcaactgccgaatggcagagacttccacatgagcgtggtccgcgctaggcgaaacgactccgggacctacctgtgcggagccatctcgctggcgcctaaggcccaaatcaaagagagcttgagggccgaactgagagtgaccgagcgcagagctgaggtgccaactgcacatccatcccatcgcctcggcctgcggggcagtttcagaccctggtcacgaccactccggcgccgcgcccaccgactccggccccaactatcgcgagccagcccctgtcgctgaggccggaagcatgccgccctgccgccggaggtgctgtgcatacccggggattggacttcgcatcgacatctacatttgggctcctctcgccggaacttgtggcgtgctccttctgtccctggtcatcaccctgtactgcaagcggggtcggaaaaagcttctgtacattttcaagcagcccttcatgaggcccgtgcaaaccacccaggaggaggacggttgctcctgccggttccccgaagaggaagaaggaggttgcgagctgcgcgtgaagttctcccggagcgccgacgcccccgcctataagcagggccagaaccagctgtacaacgaactgaacctgggacggcgggaagagtacgatgtgctggacaagcggcgcggccgggacccctgaaatgggcgggaagcctagaagaaagaaccctcaggaaggcctgtataacgagctgcagaaggacaagatggccgaggcctactccgaaattgggatgaagggagagcggcggaggggaaaggggcacgacggcctgtaccaaggactgtccaccgccaccaaggacacatacgatgccctgcacatgcaggccctcccccctcgc
配列番号 173	リンカー (aa)	(Gly-Gly-Gly-Ser)n, 式中 n = 1-10
配列番号 141	リンカー (aa)	(Gly4 Ser)4

【０６２８】

【表８２】

配列番号 142	リンカー (aa)	(Gly4 Ser)3
配列番号 143	リンカー (aa)	(Gly3Ser)
配列番号 174	ポリ A (na)	$[a]_{50\text{-}5000}$
配列番号 175	PD1 CAR (aa)	Pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpe drsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraev ptahpspsprpagqfqtlvtttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyi waplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkf srsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdk maeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
配列番号 176	ICOS 細胞内ドメイン (aa)	TKKKYSSSVHDPNGEYMFMRAVNTAKKSRLTDVTL
配列番号 177	ICOS 細胞内ドメイン (na)	ACAAAAAAGAAGTATTCATCCAGTGTGCACGACCCTAACG GTGAATACATGTTCATGAGAGCAGTGAACACAGCCAAAAA ATCCAGACTCACAGATGTGACCCTA
配列番号 178	ICOS TM ドメイン (aa)	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC DFWLPIGCAAFVVVCILGCILICWL
配列番号 179	ICOS TM ドメイン (na)	ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCA CCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGC CGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGG ACTTCGCCTGTGATTTCTGGTTACCCATAGGATGTGCAGCCT TTGTTGTAGTCTGCATTTTGGGATGCATACTTATTTGTTGGC TT
配列番号 180	CD28 細胞内ドメイン (aa)	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS
配列番号 162	CD28 細胞内ドメイン (na)	AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGA ACATGACTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTAC CAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTC C

【０６２９】

【表８３】

表 4. 消化タグ及び／又は FurON で改変された CAR

配列番号	説明	アミノ酸配列 (シグナルペプチドが含まれる)
配列番号 64	シグナルペプチド (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARP
配列番号 140	改変されたシグナルペプチド (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPRSSLA
配列番号 28	16GS リンカー (aa)	GGGGSGGGGTGGGGSG
配列番号 99	16KGS リンカー (aa)	KGGGSKGGGTKGGGSK
配列番号 29	CAR19 (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATL SCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFS GSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEI KGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS GVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRV TISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAM DYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
配列番号 92	FurON_CAR19 (コンストラクト 765) (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPRSSLALSLTADQMVSALLDA EPPILYSEYDPTRPFSEASMMGLLTNLADRELVHMINWAKR VPGFVDLALHDQVHLLECAWMEILMIGLVWRSMEHPGKLL FAPNLLLDRNQGKCVEGGVEIFDMLLATSSRFRMMNLQGEE FVCLKSIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKITDTLIH LMAKAGLTLQQQHQRLAQLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSMK CKNVVPLSDLLLEMLDAHRLGTGAEDPRPSRKRRSLGDVGE IVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQA PRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYF CQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQE SGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWI GVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADT AVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR

【０６３０】

【表８４】

配列番号 93	FurON_CAR19_16GS _HilD タグ_V5 (コンストラクト 766) (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPRSSLALSLTADQMVSALLDA EPPILYSEYDPTRPFSEASMMGLLTNLADRELVHMINWAKR VPGFVDLALHDQVHLLECAWMEILMIGLVWRSMEHPGKLL FAPNLLLDRNQGKCVEGGVEIFDMLLATSSRFRMMNLQGEE FVCLKSIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKITDTLIH LMAKAGLTLQQQHQRLAQLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSMK CKNVVPLSDLLLEMLDAHRLGTGAEDPRPSRKRRSLGDVGE IVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQA PRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYF CQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQE SGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWI GVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADT AVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPRGGGGSGGGGTGGGGSGMHKRSHTGERPFQCNQ CGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNTASAEARHIKAE MGGKPIPNPLLGLDST
配列番号 32	FurON_CAR19_16GS _HilD タグ (コンストラクト 767) (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPRSSLALSLTADQMVSALLDA EPPILYSEYDPTRPFSEASMMGLLTNLADRELVHMINWAKR VPGFVDLALHDQVHLLECAWMEILMIGLVWRSMEHPGKLL FAPNLLLDRNQGKCVEGGVEIFDMLLATSSRFRMMNLQGEE FVCLKSIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKITDTLIH LMAKAGLTLQQQHQRLAQLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSMK CKNVVPLSDLLLEMLDAHRLGTGAEDPRPSRKRRSLGDVGE IVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQA PRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYF CQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQE SGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWI GVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADT AVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPRGGGGSGGGGTGGGGSGMHKRSHTGERPFQCNQ CGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNTASAEARHIKAE MG

【０６３１】

【表８５】

配列番号 33	FurON_CAR19_16GS _HilD タグ_NoK (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPRSSLALSLTADQMVSALLDA EPPILYSEYDPTRPFSEASMMGLLTNLADRELVHMINWAKR VPGFVDLALHDQVHLLECAWMEILMIGLVWRSMEHPGKLL FAPNLLLDRNQGKCVEGGVEIFDMLLATSSRFRMMNLQGEE FVCLKSIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKITDTLIH LMAKAGLTLQQQHQRLAQLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSMK CKNVVPLSDLLLEMLDAHRLGTGAEDPRPSRKRRSLGDVGE IVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQA PRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYF CQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQE SGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWI GVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADT AVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPL AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPRGGGGSGGGGTGGGGSGMHRRSHTGERPFQCNQ CGASFTQRGNLLRHIRLHTGERPFRCHLCNTASAEARHIRAE MG
配列番号 94	CAR19_16GS_HilD タグ_V5 (コンストラクト 768) (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATL SCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFS GSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEI KGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS GVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRV TISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAM DYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRGGGGSGGGGT GGGGSGMHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHT GEKPFKCHLCNTASAEARHIKAEMGGKPIPNPLLGLDST

【０６３２】

【表８６】

配列番号 30	CAR19_16GS_HilD タグ (コンストラクト 769) (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATL SCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFS GSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEI KGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS GVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRV TISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAM DYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRGGGGSGGGGT GGGGSGMHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHT GEKPFKCHLCNTASAEARHIKAEMG
配列番号 31	CAR19_16GS_HilD タグ_NoK (コンストラクト 770) (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATL SCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFS GSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEI KGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS GVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRV TISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAM DYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRGGGGSGGGGT GGGGSGMHRRSHTGERPFQCNQCGASFTQRGNLLRHIRLHT GERPFRCHLCNTASAEARHIRAEMG
配列番号 95	CAR19_HilD タグ_V5 (コンストラクト 771) (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATL SCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFS GSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEI KGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS GVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRV TISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAM DYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRMHKRSHTGER PFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNTASAE ARHIKAEMGGKPIPNPLLGLDST

【０６３３】

【表８７】

配列番号96	CAR19_16KGS_HilDタグ_V5 (コンストラクト6761) (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATL SCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFS GSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEI KGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS GVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRV TISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAM DYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRKGGGSKGGGT KGGGSKMHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHT GEKPFKCHLCNTASAEARHIKAEMGGKPIPNPLLGLDST
配列番号97	HilDタグ_CAR19_modSigPep (コンストラクト773) (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPRSSLAHKRSHTGERPFQCNQ CGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNTASAEARHIKAE MGGTGAEDPRPSRKRRSLGDVGEIVMTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARF SGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKL EIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTV SGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSR VTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYA MDYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCK RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELR VKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERR RGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
配列番号98	HilDタグ_CAR19 (コンストラクト774) (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPHKRSHTGERPFQCNQCGASF TQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNTASAEARHIKAEMGGT GAEDPRPSRKRRSLGDVGEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCR ASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSG SGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKG GGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGV SLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRVTI SKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMD YWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGR KKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

【０６３４】

【表８８】

配列番号 112	CAR19-16GS-CARB タグ (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATL SCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFS GSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEI KGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS GVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRV TISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAM DYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRGGGGSGGGGT GGGGSGHKRSHTGERPFHCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHSG EKPFKCPFCSAGQVMSIIHVPPMED
配列番号 1450	BCMA CAR-16GS リンカー-HilD (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYA ASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGES DVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPY TFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRGGGGSGGGGTGGG GSGMHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEK PFKCHLCNTASAEARHIKAEMG
配列番号 837		MALEK

【０６３５】

一態様では、例示的なＣＡＲコンストラクトは、任意選択のリーダー配列（例えば、本明細書に記載されるリーダー配列）、細胞外抗原結合ドメイン（例えば、本明細書に記載される抗原結合ドメイン）、ヒンジ（例えば、本明細書に記載されるヒンジ領域）、膜貫通ドメイン（例えば、本明細書に記載される膜貫通ドメイン）及び細胞内刺激ドメイン（例えば、本明細書に記載される細胞内刺激ドメイン）を含む。一態様では、例示的なＣＡＲコンストラクトは、任意選択のリーダー配列（例えば、本明細書に記載されるリーダー配列）、細胞外抗原結合ドメイン（例えば、本明細書に記載される抗原結合ドメイン）、ヒンジ（例えば、本明細書に記載されるヒンジ領域）、膜貫通ドメイン（例えば、本明細書に記載される膜貫通ドメイン）、細胞内共刺激ドメイン（例えば、本明細書に記載される細胞内共刺激ドメイン）及び／又は細胞内一次シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載される一次シグナル伝達ドメイン）を含む。

【０６３６】

一態様では、本発明のＣＡＲ（例えば、ＣＤ１９　ＣＡＲ）は、ＣＤ１３７（４－１ＢＢ）シグナル伝達ドメイン、ＣＤ２８シグナル伝達ドメイン、ＣＤ２７シグナル伝達ドメイン、ＩＣＯＳシグナル伝達ドメイン、ＣＤ３ゼータシグナルドメイン及びその任意の組合せからなる群から選択される少なくとも１つの細胞内シグナル伝達ドメインを含む。一態様では、ＣＡＲは、ＣＤ１３７（４－１ＢＢ）、ＣＤ２８、ＣＤ２７又はＩＣＯＳから選択される１つ以上の共刺激分子に由来する少なくとも１つの細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

【０６３７】

ＣＡＲ抗原結合ドメイン

一態様では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結

合ポリペプチド及び／又は分解ドメインに連結された本開示のＣＡＲは、抗原結合ドメインとも呼ばれる標的特異的結合要素を含む。一実施形態では、抗原結合ドメインを含むＣＡＲの部分は、抗原、例えば、本明細書に記載される抗原、例えば、ＣＤ１９を標的化する、例えば、それに特異的に結合する抗原結合ドメインを含む。一実施形態では、抗原結合ドメインは、ヒトＣＤ１９を標的化する、例えば、それに特異的に結合する。

【０６３８】

いくつかの実施形態では、複数の免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞制御性枯渇細胞の集団は、抗原結合ドメインとも呼ばれる標的特異的結合要素を含むＣＡＲをコードする核酸を含む。結合要素の選択は、標的細胞の表面を定義するリガンドの種類及び数に依存する。例えば、抗原結合ドメインは、細胞表面マーカーとして作用するリガンド又は特定の疾患状態と関連する標的細胞を認識するように選択され得る。したがって、本明細書に記載されるＣＡＲにおいて抗原結合ドメインのためのリガンドとして作用し得る細胞表面マーカーの例としては、ウイルス、細菌及び寄生虫感染症、自己免疫疾患並びに癌細胞と関連するものが挙げられる。

【０６３９】

一態様では、抗原結合ドメインを含むＣＡＲの部分は、腫瘍抗原、例えば、本明細書に記載される腫瘍抗原を標的化する抗原結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、ＣＤ１９；ＣＤ１２３；ＣＤ２２；ＣＤ３０；ＣＤ１７１；ＣＳ－１；Ｃ型レクチン様分子－１、ＣＤ３３；上皮増殖因子受容体バリアントＩＩＩ（ＥＧＦＲｖＩＩＩ）；ガングリオシドＧ２（ＧＤ２）；ガングリオシドＧＤ３；ＴＮＦ受容体ファミリーメンバー；Ｂ細胞成熟抗原（ＢＣＭＡ）；Ｔｎ抗原（（Ｔｎ　Ａｇ）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アルファ－２；メソセリン；インターロイキン１１受容体アルファ（ＩＬ－１１Ｒａ）；前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）；プロテアーゼセリン２１；血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）；ルイス（Ｙ）抗原；ＣＤ２４；血小板由来増殖因子受容体ベータ（ＰＤＧＦＲ－ベータ）；ステージ特異的胎児抗原－４（ＳＳＥＡ－４）；ＣＤ２０；葉酸受容体アルファ；受容体チロシン－タンパク質キナーゼＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）；ムチン１、細胞表面関連（ＭＵＣ１）；上皮増殖因子受容体（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）；変異した伸張因子２（ＥＬＦ２Ｍ）；エフリンＢ２；線維芽細胞活性化タンパク質アルファ（ＦＡＰ）；インスリン様増殖因子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、マクロペイン）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癌遺伝子ホモログ１（Ａｂｌ）（ｂｃｒ－ａｂｌ）からなる癌遺伝子融合タンパク質；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；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）；葉酸受容体ベータ；腫瘍内皮細胞マーカー１（ＴＥＭ１／ＣＤ２４８）；腫瘍内皮細胞マーカー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）；染色体Ｘオープンリーティングフレーム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）；ｇｌｏｂｏＨグリコセラミド（ＧｌｏｂｏＨ）のヘキササッカリド部分；哺乳動物腺分化抗原（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）；アドレナリン受容体ベータ３（ＡＤＲＢ３）；パネキシン３（ＰＡＮＸ３）；Ｇタンパク質共役型受容体２０（ＧＰＲ２０）；リンパ球抗原６複合体、座位

Ｋ９（ＬＹ６Ｋ）；嗅覚受容体５１Ｅ２（ＯＲ５１Ｅ２）；ＴＣＲガンマ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）；染色体１２ｐに位置するＥＴＳ転座バリアント遺伝子６（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）；アンジ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変異体；プロステイン；生存；テロメラーゼ；前立腺癌腫瘍抗原－１、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原１；ラット肉腫（Ｒａｓ）変異体；ヒトテロメラーゼ逆転写酵素（ｈＴＥＲＴ）；肉腫転移ブレークポイント；アポトーシスの黒色腫抑制分子（ＭＬ－ＩＡＰ）；ＥＲＧ（膜貫通プロテアーゼ、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トリ骨髄細胞腫症ウイルス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）；チトクロムＰ４５０　１Ｂ１（ＣＹＰ１Ｂ１）；ＣＣＣＴＣ結合因子（ジンクフィンガータンパク質）様、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）；リンパ球特異的タンパク質チロシンキナーゼ（ＬＣＫ）；Ａキナーゼアンカータンパク質４（ＡＫＡＰ－４）；滑膜肉腫、Ｘブレークポイント２（ＳＳＸ２）；終末糖化産物のための受容体（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）；腸管カルボキシルエステラーゼ；変異熱ショックタンパク質７０－２（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断片（ＦＣＡＲ又はＣＤ８９）；白血病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）；及び免疫グロブリンラムダ様ポリペプチド１（ＩＧＬＬ１）から選択される。

【０６４０】

一実施形態では、抗原結合ドメインは、ＣＤ１９に結合する。別の実施形態では、抗原結合ドメインは、ＣＤ１２３に結合する。別の実施形態では、抗原結合ドメインは、ＢＣＭＡに結合する。別の実施形態では、抗原結合ドメインは、ＣＤ２０に結合する。

【０６４１】

抗原結合ドメインは、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体及びその機能性断片を含むが、これらに限定されない抗原に結合する任意のドメインであり得、単一ドメイン抗体、例えば、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）及びラクダ科由来ナノボディの可変ドメイン（ＶＨＨ）並びに当技術分野で抗原結合ドメインとして機能することが知られる代替の足場、例えば、組換えフィブロネクチンドメイン、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）又はその断片、例えば、単鎖ＴＣＲなどを含むが、これらに限定されない。いくつかの例において、抗原結合ドメインは、最終的にＣＡＲが使用されることになる同じ種に由来することが有利である。例えば、ヒトにおける使用に関して、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、抗体又は抗体断片の抗原結合ドメインに関してヒト又はヒト化残基を含むことが有利であり得る。

【０６４２】

抗原結合ドメインは、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体及びその機能性断片を含むが、これらに限定されない抗原に結合する任意

のドメインであり得、単一ドメイン抗体、例えば、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）及びラクダ科由来ナノボディの可変ドメイン（ＶＨＨ）並びに当技術分野で抗原結合ドメインとして機能することが知られる代替の足場、例えば、組換えフィブロネクチンドメインなどを含むが、これらに限定されない。いくつかの例において、抗原結合ドメインは、最終的にＣＡＲが使用されることになる同じ種に由来することが有利である。例えば、ヒトにおける使用に関して、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、抗体又は抗体断片の抗原結合ドメインに関してヒト又はヒト化残基を含むことが有利であり得る。したがって、一態様では、抗原結合ドメインは、ヒト抗体又は抗体断片を含む。

【０６４３】

一実施形態では、抗原結合ドメインは、本明細書に記載される抗体（例えば、参照により本明細書に記載される国際公開第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、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号パンフレットにおいて記載される抗体）に由来する１つ、２つ又は３つ（例えば、３つ全て）の重鎖ＣＤＲ、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３並びに／又は本明細書に記載される抗体（例えば、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、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号パンフレットにおいて記載される抗体）に由来する１つ、２つ又は３つ（例えば、３つ全て）の軽鎖ＣＤＲ、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３を含む。一実施形態では、抗原結合ドメインは、上に列挙された抗体の重鎖可変領域及び／又は可変軽鎖領域を含む。

【０６４４】

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、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号パンフレット号において記載される抗原結合ドメインである。

【０６４５】

ＣＡＲ発現細胞を使用して標的化され得る例示的な標的抗原としては、例えば、各々が全体として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、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号パンフレットにおいて記載されるとおりの、とりわけ、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＣＤ３３、メソセリン、ＢＣＭＡ及びＧＦＲアルファ－４が挙げられるが、これらに限定されない。

【０６４６】

多重特異性ＣＡＲ

いくつかの実施形態では、ＣＡＲ分子は、第１の抗原、例えば、Ｂ細胞エピトープに対する第１の結合特異性及び同じ抗原又は異なる抗原、例えば、Ｂ細胞エピトープに対する第２の結合特異性を有する、多重特異性、例えば、二重特異性ＣＡＲ分子である。いくつかの実施形態では、二重特異性ＣＡＲ分子は、ＣＤ１９に対する第１の結合特異性（例えば、二重特異性ＣＡＲ分子は、表５、６、７及び３０において開示される抗ＣＤ１９　ＣＡＲを含む）及びＣＤ２２に対する第２の結合特異性（例えば、二重特異性ＣＡＲ分子は、表１９及び２０において開示される抗ＣＤ２２　ＣＡＲを含む）を有する。いくつかの実施形態では、二重特異性ＣＡＲ分子は、ＣＤ１９に対する第１の結合特異性（例えば、二重特異性ＣＡＲ分子は、表５、６、７及び３０において開示される抗ＣＤ１９　ＣＡＲを含む）及びＣＤ２０に対する第２の結合特異性（例えば、二重特異性ＣＡＲ分子は、表３２において開示される抗ＣＤ２０　ＣＡＲを含む）を有する。

【０６４７】

一実施形態では、第１及び第２の結合特異性は、抗体分子、例えば、抗体結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）である。二重特異性ＣＡＲ分子の各抗体分子（例えば、ｓｃＦｖ）内では、ＶＨは、ＶＬの上流又は下流であり得る。

【０６４８】

いくつかの実施形態では、全体の二重特異性ＣＡＲ分子が、ＮからＣ末端方向で配置$VH_1-VL_1-VL_2-VH_2$を有するように、上流の抗体又は抗体断片（例えば、ｓｃＦｖ）は、そのＶＬ（VL_1）の上流でそのＶＨ（VH_1）が配置され、下流の抗体又は抗体断片（例えば、ｓｃＦｖ）は、そのＶＨ（VH_2）の上流でそのＶＬ（VL_2）が配置される。

【０６４９】

いくつかの実施形態では、全体の二重特異性ＣＡＲ分子が、ＮからＣ末端方向で配置$VL_1-VH_1-VH_2-VL_2$を有するように、上流の抗体又は抗体断片（例えば、ｓｃＦｖ）は、そのＶＨ（VH_1）の上流でそのＶＬ（VL_1）が配置され、下流の抗体又は抗体断片（例えば、ｓｃＦｖ）は、そのＶＬ（VL_2）の上流でそのＶＨ（VH_2）が配置される。

【０６５０】

いくつかの実施形態では、全体の二重特異性ＣＡＲ分子が、ＮからＣ末端方向で配置$VL_1-VH_1-VL_2-VH_2$を有するように、上流の抗体又は抗体断片（例えば、ｓｃＦｖ）は、そのＶＨ（VH_1）の上流でそのＶＬ（VL_1）が配置され、下流の抗体又は抗体断片（例えば、ｓｃＦｖ）は、そのＶＨ（VH_2）の上流でそのＶＬ（VL_2）が配置される。

【０６５１】

さらにいくつかの実施形態では、全体の二重特異性ＣＡＲ分子が、ＮからＣ末端方向で配置$VH_1-VL_1-VH_2-VL_2$を有するように、上流の抗体又は抗体断片（例えば、ｓｃＦｖ）は、そのＶＬ（VL_1）の上流でそのＶＨ（VH_1）が配置され、下流の抗体又は抗体断片（例えば、ｓｃＦｖ）は、そのＶＬ（VL_2）の上流でそのＶＨ（VH_2）が配置される。

【０６５２】

前述の構成のいずれかにおいて、任意選択により、リンカーは、コンストラクトが$VH_1-VL_1-VL_2-VH_2$として配置される場合、２つの抗体又は抗体断片（例えば、ｓｃＦｖ）間、例えば、VL_1とVL_2の間に配置されるか；コンストラクトが$VL_1-VH_1-VH_2-VL_2$として配置される場合、VH_1とVH_2の間に配置されるか；コンストラクトが$VL_1-VH_1-VL_2-VH_2$として配置される場合、VH_1とVL_2の間に配置されるか；又はコンストラクトが$VH_1-VL_1-VH_2-VL_2$として配置される場合、VL_1とVH_2の間に配置される。一般に、２つのｓｃＦｖ間のリンカーは、２つのｓｃＦｖのドメイン間の不対合を回避するのに十分に長くあるべきである。リンカーは、本明細書に記載されるとおりのリンカーであり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、$(Gly_4-Ser)_n$リンカーであり、ここで、ｎは、１、２、３、４、５又は６で

ある。いくつかの実施形態では、リンカーは、（Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ）$_n$であり、ここで、ｎ＝１（配列番号１６８）であり、例えば、リンカーは、アミノ酸配列Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ（配列番号１６８）を有する。いくつかの実施形態では、リンカーは、（Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ）$_n$であり、ここで、ｎ＝３（配列番号１４２）である。いくつかの実施形態では、リンカーは、（Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ）$_n$であり、ここで、ｎ＝４（配列番号１４１）である。いくつかの実施形態では、リンカーは、アミノ酸配列：ＬＡＥＡＡＡＫ（配列番号８２２）を含む、例えば、それからなる。

【０６５３】

前述の構成のいずれかにおいて、任意選択により、リンカーは、第１のｓｃＦｖのＶＬとＶＨ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の間に配置される。複数のリンカーを有するコンストラクトにおいて、任意の２つ以上のリンカーは、同じであるか又は異なり得る。したがって、いくつかの実施形態では、二重特異性ＣＡＲは、本明細書に記載されるとおりの配置においてＶＬ、ＶＨ及び任意選択により１つ以上のリンカーを含む。

【０６５４】

いくつかの実施形態では、各抗体分子、例えば、各抗原結合ドメイン（例えば、各ｓｃＦｖ）は、ＶＨとＶＬ領域の間にリンカーを含む。いくつかの実施形態では、ＶＨとＶＬ領域の間のリンカーは、（Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ）$_n$リンカーであり、ここで、ｎは、１、２、３、４、５又は６である。いくつかの実施形態では、リンカーは、（Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ）$_n$であり、ここで、ｎ＝１（配列番号１６８）であり、例えば、リンカーは、アミノ酸配列Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ（配列番号１６８）を有する。いくつかの実施形態では、リンカーは、（Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ）$_n$であり、ここで、ｎ＝３（配列番号１４２）である。いくつかの実施形態では、リンカーは、（Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ）$_n$であり、ここで、ｎ＝４（配列番号１４１）である。いくつかの実施形態では、ＶＨ及びＶＬ領域は、リンカーを伴わずに連結される。

【０６５５】

さらなる例示的な多重特異性ＣＡＲ分子は、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１８／０６７９９２号パンフレットの２６～３９頁において開示される。

【０６５６】

ＣＤ１９　ＣＡＲ

他の実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、ＣＤ１９に特異的に結合することができ、例えば、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１４／１５３２７０号パンフレットの表３によるＣＡＲ分子又は抗原結合ドメイン（例えば、ヒト化抗原結合ドメイン）を含み得る。

【０６５７】

実施形態において、ＣＡＲ分子は、ＣＤ１９に特異的に結合する抗原結合ドメインを含む（ＣＤ１９　ＣＡＲ）。一実施形態では、抗原結合ドメインは、ヒトＣＤ１９を標的化する。一実施形態では、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎ．３４（１６－１７）：１１５７－１１６５（１９９７）において記載されるＦＭＣ６３　ｓｃＦｖ断片と同じ又は類似した結合特異性を有する。一実施形態では、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎ．３４（１６－１７）：１１５７－１１６５（１９９７）において記載されるｓｃＦｖ断片を含む。ＣＤ１９抗体分子は、例えば、全体として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記載される抗体分子（例えば、ヒト化抗ＣＤ１９抗体分子）であり得る。国際公開第２０１４／１５３２７０号パンフレットは、様々なＣＡＲコンストラクトの結合及び有効性をアッセイする方法も記載している。

【０６５８】

一態様では、親マウスｓｃＦｖ配列は、ＰＣＴ公開国際公開第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）において提供されるＣＡＲ１９コ

ンストラクトである。一実施形態では、抗ＣＤ１９結合ドメインは、国際公開第２０１２／０７９０００号パンフレットにおいて記載されるｓｃＦｖである。

【０６５９】

一実施形態では、ＣＡＲ分子は、ＰＣＴ公開国際公開第２０１２／０７９０００号パンフレットにおける配列番号１２として提供され、且つヒトＣＤ１９に特異的に結合するマウス起源のｓｃＦｖ断片を提供する本明細書の表５において提供される融合ポリペプチド配列を含む。マウスｓｃＦｖのヒト化は、臨床現場のために望ましい場合があり、マウス特異的残基は、ＣＡＲＴ１９治療、例えば、ＣＡＲ１９コンストラクトで形質導入されたＴ細胞による治療を受ける患者におけるヒト抗マウス抗原（ＨＡＭＡ）応答を誘導し得る。

【０６６０】

一実施形態では、ＣＤ１９　ＣＡＲは、ＰＣＴ公開国際公開第２０１２／０７９０００号パンフレットにおける配列番号１２として提供されるアミノ酸配列を含む。実施形態において、アミノ酸配列は、

【化４５】

(MALPVTALLLPLALLLHAARP)diqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvklliyhtsrlhsgvp
srfsgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntlpytfgggtkleitggggsggggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvsw
irqpprkglewlgviwgsettyynsalksrltiikdnsksqvflkmnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdywgqgtsvtvssttpaprpptpap
tiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkf
srsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatk
dtydalhmqalppr (配列番号181)

又はそれと実質的に相同な配列である。シグナルペプチドの任意選択による配列は、大文字及び括弧において示される。

【０６６１】

一実施形態では、アミノ酸配列は、

【化４６】

Diqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvklliyhtsrlhsgvpsrfsgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntl
pytfgggtkleitggggsggggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirqpprkglewlgviwgsettyynsalksrltii
kdnsksqvflkmnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdywgqgtsvtvssttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiy
iwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvld
krrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr (配列番号182)

又はそれと実質的に相同な配列である。

【０６６２】

一実施形態では、ＣＤ１９　ＣＡＲは、ＵＳＡＮ名称チサゲンレクロイセル－Ｔを有する。実施形態において、ＣＴＬ０１９は、ＥＦ－１アルファプロモーターの制御下でＣＴＬ０１９導入遺伝子を含有する自己不活性化、複製欠損レンチウイルス（ＬＶ）ベクターによる形質導入を介した安定的な挿入により媒介されるＴ細胞の遺伝子改変によって作製される。ＣＴＬ０１９は、導入遺伝子陽性Ｔ細胞のパーセントに基づいて対象に送達される導入遺伝子陽性及び陰性Ｔ細胞の混合物であり得る。

【０６６３】

他の実施形態では、ＣＤ１９　ＣＡＲは、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による抗原結合ドメイン（例えば、ヒト化抗原結合ドメイン）を含む。

【０６６４】

マウスＣＤ１９抗体のヒト化は、臨床現場のために望ましく、マウス特異的残基は、Ｃ

ＡＲＴ１９治療、すなわち、ＣＡＲ１９コンストラクトで形質導入されたＴ細胞による治療を受ける患者におけるヒト抗マウス抗原（ＨＡＭＡ）応答を誘導し得る。ヒト化ＣＤ１９　ＣＡＲ配列の生成、特徴付け及び有効性は、実施例１～５（ｐ１１５～１５９）を含む、全体として参照により本明細書に組み込まれる国際出願国際公開第２０１４／１５３２７０号パンフレットにおいて記載されている。

【０６６５】

いくつかの実施形態では、ＣＤ１９　ＣＡＲコンストラクトは、参照により本明細書に組み込まれるＰＣＴ公開国際公開第２０１２／０７９０００号パンフレットにおいて記載され、マウスＣＤ１９　ＣＡＲ及びｓｃＦｖコンストラクトのアミノ酸配列は、下の表５において示されるか、又は前述の配列のいずれかと実質的に同一な（例えば、本明細書に記載される配列のいずれかと少なくとも８５％、９０％、９５％以上同一な）配列である。

【０６６６】

【表８９】

表 5. CD19 CAR コンストラクト

配列番号	領域	配列
CTL019		
配列番号183	CTL019の完全なアミノ酸配列	MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQMTQTTSSLSASLGDRV TISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVP SRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGG GTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSL SVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY YNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKH YYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQ PLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGV LLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDA LHMQALPPR

【０６６７】

【表９０】

配列番号184	CTL019の完全なヌクレオチド配列	ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCC TTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCGGACATCCAGATGAC ACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACA GAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGT AAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAC TGTTAAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTC AGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAA CAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAA GATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTT CCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCAC AGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTCGGGTGGCG GCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGC CTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCGTCACATGCAC TGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTG GATTCGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGG GAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCA GCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACTC CAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAA CTGATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATT ACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCCAA GGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAACCACGACGCCAGC GCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGC AGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCG GCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCG CCTGTGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTT GTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACT GCAAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAA CAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGA AGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAG GAGGATGTGAACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGC AGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCT ATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGA TGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGG GGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCT GTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGG GCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACA GCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGC CCTGCCCCCTCGC

【０６６８】

【表９１】

配列番号185	CTL019 scFv ドメイン	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKP DGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQE DIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGGG SEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQ PPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFL KMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVT VSS
ヒト化CAR2		
配列番号197	CAR2 scFv ドメイン - aa (リンカーに下線が引かれる)	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKP GQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPED FAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGG SQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQ PPGKGLEWIGVIWGSETTYYQSSLKSRVTISKDNSKNQVS LKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLV TVSS
配列番号198	CAR2 scFv ドメイン - nt	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCT CTTCTGCTCCACGCCGCTCGGCCCGAAATTGTGATGACC CAGTCACCCGCCACTCTTAGCCTTTCACCCGGTGAGCGC GCAACCCTGTCTTGCAGAGCCTCCCAAGACATCTCAAA ATACCTTAATTGGTATCAACAGAAGCCCGGACAGGCTC CTCGCCTTCTGATCTACCACACCAGCCGGCTCCATTCTG GAATCCCTGCCAGGTTCAGCGGTAGCGGATCTGGGACC GACTACACCCTCACTATCAGCTCACTGCAGCCAGAGGA CTTCGCTGTCTATTTCTGTCAGCAAGGGAACACCCTGCC CTACACCTTTGGACAGGGCACCAAGCTCGAGATTAAAG GTGGAGGTGGCAGCGGAGGAGGTGGGTCCGGCGGTGG AGGAAGCCAGGTCCAACTCCAAGAAAGCGGACCGGGT CTTGTGAAGCCATCAGAAACTCTTTCACTGACTTGTACT GTGAGCGGAGTGTCTCTCCCCGATTACGGGGTGTCTTG GATCAGACAGCCACCGGGGAAGGGTCTGGAATGGATT GGAGTGATTTGGGGCTCTGAGACTACTTACTACCAATC ATCCCTCAAGTCACGCGTCACCATCTCAAAGGACAACT CTAAGAATCAGGTGTCACTGAAACTGTCATCTGTGACC GCAGCCGACACCGCCGTGTACTATTGCGCTAAGCATTA CTATTATGGCGGGAGCTACGCAATGGATTACTGGGGAC AGGGTACTCTGGTCACCGTGTCCAGCCACCACCATCAT CACCATCACCAT
配列番号199	CAR 2 - 完全な - aa	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPA RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQG TKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLS LTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYY QSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKH YYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQ PLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGV LLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSC RFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDA LHMQALPPR

【０６６９】

【表９２】

配列番号200	CAR 2 - 完全な - nt	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCT CTTCTGCTCCACGCCGCTCGGCCCGAAATTGTGATGACC CAGTCACCCGCCACTCTTAGCCTTTCACCCGGTGAGCGC GCAACCCTGTCTTGCAGAGCCTCCCAAGACATCTCAAA ATACCTTAATTGGTATCAACAGAAGCCCGGACAGGCTC CTCGCCTTCTGATCTACCACACCAGCCGGCTCCATTCTG GAATCCCTGCCAGGTTCAGCGGTAGCGGATCTGGGACC GACTACACCCTCACTATCAGCTCACTGCAGCCAGAGGA CTTCGCTGTCTATTTCTGTCAGCAAGGGAACACCCTGCC CTACACCTTTGGACAGGGCACCAAGCTCGAGATTAAAG GTGGAGGTGGCAGCGGAGGAGGTGGGTCCGGCGGTGG AGGAAGCCAGGTCCAACTCCAAGAAAGCGGACCGGGT CTTGTGAAGCCATCAGAAACTCTTTCACTGACTTGTACT GTGAGCGGAGTGTCTCTCCCCGATTACGGGGTGTCTTG GATCAGACAGCCACCGGGGAAGGGTCTGGAATGGATT GGAGTGATTTGGGGCTCTGAGACTACTTACTACCAATC ATCCCTCAAGTCACGCGTCACCATCTCAAAGGACAACT CTAAGAATCAGGTGTCACTGAAACTGTCATCTGTGACC GCAGCCGACACCGCCGTGTACTATTGCGCTAAGCATTA CTATTATGGCGGGAGCTACGCAATGGATTACTGGGGAC AGGGTACTCTGGTCACCGTGTCCAGCACCACTACCCCA GCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTC CCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCG CAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTC GCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACT TGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTAC TGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAA GCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGG AGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAA GGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGC AGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCT ACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGAC GTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGG GCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCT GTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCC TATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAG GCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCAC CGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGG CCCTGCCGCCTCGG
配列番号201	CAR2 - 可溶性 scFv - aa	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPA RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQG TKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLS LTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYY QSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKH YYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSSHHHHHHHH
マウスCART19		
221	HCDR1 (Kabat)	DYGVS

【０６７０】

【表９３】

222	HCDR2 (Kabat)	VIWGSETTYYNSALKS
223	HCDR3 (Kabat)	HYYYGGSYAMDY
224	LCDR1 (Kabat)	RASQDISKYLN
225	LCDR2 (Kabat)	HTSRLHS
226	LCDR3 (Kabat)	QQGNTLPYT
ヒト化CART19 a		
221	HCDR1 (Kabat)	DYGVS
227	HCDR2 (Kabat)	VIWGSETTYYSSSLKS
223	HCDR3 (Kabat)	HYYYGGSYAMDY
224	LCDR1 (Kabat)	RASQDISKYLN
225	LCDR2 (Kabat)	HTSRLHS
226	LCDR3 (Kabat)	QQGNTLPYT
ヒト化CART19 b		
221	HCDR1 (Kabat)	DYGVS
228	HCDR2 (Kabat)	VIWGSETTYYQSSLKS
223	HCDR3 (Kabat)	HYYYGGSYAMDY
224	LCDR1 (Kabat)	RASQDISKYLN
225	LCDR2 (Kabat)	HTSRLHS
226	LCDR3 (Kabat)	QQGNTLPYT
ヒト化CART19 c		
221	HCDR1 (Kabat)	DYGVS
229	HCDR2 (Kabat)	VIWGSETTYYNSSLKS
223	HCDR3 (Kabat)	HYYYGGSYAMDY
224	LCDR1 (Kabat)	RASQDISKYLN
225	LCDR2 (Kabat)	HTSRLHS
226	LCDR3 (Kabat)	QQGNTLPYT

【０６７１】

【表９４】

表 30. 追加の CD19 CAR コンストラクト

配列番号	説明
mCAR1	
配列番号186	mCAR1 scFv
配列番号187	mCAR1の完全なアミノ酸配列
mCAR2	
配列番号188	mCAR2 scFv
配列番号189	mCAR2のアミノ酸配列
配列番号190	mCAR2の完全なアミノ酸配列
mCAR3	
配列番号191	mCAR3 scFv
配列番号192	mCAR3の完全なアミノ酸配列
SSJ25-C1	
配列番号193	SSJ25-C1 VH配列
配列番号194	SSJ25-C1 VL
ヒト化CAR1	
配列番号195	CAR1 scFvドメイン
配列番号196	CAR 1 - 完全な - aa
ヒト化CAR3	
配列番号202	CAR3 scFvドメイン
配列番号203	CAR 3 - 完全な - aa
ヒト化CAR4	
配列番号204	CAR4 scFvドメイン
配列番号205	CAR 4 - 完全な - aa
ヒト化CAR5	
配列番号206	CAR5 scFvドメイン
配列番号207	CAR 5 - 完全な - aa
ヒト化CAR6	
配列番号208	CAR6 scFvドメイン
配列番号209	CAR6 -完全な- aa
ヒト化CAR7	
配列番号210	CAR7 scFvドメイン
配列番号211	CAR 7 完全な- aa
ヒト化CAR8	
配列番号212	CAR8 scFvドメイン
配列番号213	CAR 8 -完全な- aa
ヒト化CAR9	
配列番号214	CAR9 scFvドメイン
配列番号215	CAR 9 -完全な- aa
ヒト化CAR10	
配列番号216	CAR10 scFvドメイン
配列番号215	CAR 10 完全な - aa
ヒト化CAR11	
配列番号217	CAR11 scFvドメイン

【０６７２】

【表９５】

配列番号218	CAR 11 完全な - aa
ヒト化CAR12	
配列番号219	CAR12 scFvドメイン
配列番号220	CAR 12 - 完全な - aa

【０６７３】
ヒト化抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖドメインを含有するＣＤ１９　ＣＡＲコンストラクトは、参照により本明細書に組み込まれるＰＣＴ公開国際公開第２０１４／１５３２７０号パンフレットにおいて記載される。
【０６７４】
抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖドメインのマウス及びヒト化ＣＤＲ配列の配列は、重鎖可変ドメインに関しては表６、軽鎖可変ドメインに関しては表７において示される。いくつかの実施形態では、マウス又はヒト化ＣＤ１９結合ドメインのＨＣＤＲ１は、ＧＶＳＬＰＤＹＧＶＳ（配列番号２３０）である。
【０６７５】
【表９６】

表 6. CD19 抗体の重鎖可変ドメイン CDR (Kabat)配列番号

候補	HCDR1	HCDR2	HCDR3
マウス_CART19	配列番号 221	配列番号 222	配列番号 223
ヒト化_CART19 a	配列番号 221	配列番号 227	配列番号 223
ヒト化_CART19 b	配列番号 221	配列番号 228	配列番号 223
ヒト化_CART19 c	配列番号 221	配列番号 229	配列番号 223

【０６７６】
【表９７】

表 7. CD19 抗体の軽鎖可変ドメイン CDR (Kabat)配列番号

候補	LCDR1	LCDR2	LCDR3
マウス_CART19	配列番号 224	配列番号 225	配列番号 226
ヒト化_CART19 a	配列番号 224	配列番号 225	配列番号 226
ヒト化_CART19 b	配列番号 224	配列番号 225	配列番号 226
ヒト化_CART19 c	配列番号 224	配列番号 225	配列番号 226

【０６７７】
当技術分野において任意の既知のＣＤ１９　ＣＡＲ、例えば、任意の既知の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；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において記載されるＣＤ１９　ＣＡＲ。
【０６７８】
例示的なＣＤ１９　ＣＡＲとしては、例えば、本明細書に記載される１つ以上の表における本明細書に記載されるＣＤ１９　ＣＡＲ又は各々が全体として参照により本明細書に組み込まれる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）：２９６５－７

３、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、ＮＣＴ０２５２９８１３、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において記載される抗ＣＤ１９　ＣＡＲが挙げられる。

【０６７９】

ＣＤ１２３　ＣＡＲ

他の実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、ＣＤ１２３に特異的に結合することができ、例えば、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１４／１３０６３５号パンフレットの表１～２によるＣＡＲ分子（例えば、ＣＡＲ１～ＣＡＲ８のいずれか）又は抗原結合ドメインを含み得る。国際公開第２０１４／１３０６３５号パンフレットにおいて指定されるとおりのアミノ酸配列並びにＣＤ１２３　ＣＡＲ分子及び抗原結合ドメイン（例えば、Ｋａｂａｔ又はＣｈｏｔｈｉａに従う１つ、２つ、３つのＶＨ　ＣＤＲ；及び１つ、２つ、３つのＶＬ　ＣＤＲを含む）をコードするヌクレオチド配列は、表８～１４において提供される。表８～１４において提供される前述の配列と同一且つ実質的に同一なアミノ及びヌクレオチド配列は、本明細書に明確に組み込まれる。

【０６８０】

表８～１４において提供されるＣＤ１２３結合ドメインに関するＣＤＲは、Ｋａｂａｔ及びＣｈｏｔｈｉａ番号付けスキームの組合せに従う。

【０６８１】

【表９８】

表 8. 重鎖可変ドメイン CDR

候補	HCDR1	配列番号	HCDR2	配列番号	HCDR3	配列番号
CAR123-2	GYTFTGYYMH	231	WINPNSGGTNYAQKFQG	234	DMNILATVPFDI	236
CAR123-3	GYlFTGYYlH	232	WINPNSGGTNYAQKFQG	234	DMNILATVPFDI	236
CAR123-4	GYTFTGYYMH	231	WINPNSGGTNYAQKFQG	234	DMNILATVPFDI	236
CAR123-1	GYTFTDYYMH	233	WINPNSGDTNYAQKFQG	235	DMNILATVPFDI	236

【０６８２】
【表９９】

表 9. 軽鎖可変ドメイン CDR

候補	LCDR1	配列番号	LCDR2	配列番号	LCDR3	配列番号
CAR123-2	RASQSISSYLN	237	AAFSLQS	239	QQGDSVPLT	241
CAR123-3	RASQSISSYLN	237	AASSLQS	240	QQGDSVPLT	241
CAR123-4	RASQSISSYLN	237	AASSLQS	240	QQGDSVPLT	241
CAR123-1	RASQSISTYLN	238	AASSLQS	240	QQGDSVPLT	241

【０６８３】
【表１００】

表 10. 重鎖可変ドメイン CDR

	HCDR1	配列番号	HCDR2	配列番号	HCDR3	配列番号
hzCAR123	GYTFTSYWMN	242	RIDPYDSETHYNQKFKD	243	GNWDDY	244

【０６８４】
【表１０１】

表 11. 軽鎖可変ドメイン CDR

	LCDR1	配列番号	LCDR2	配列番号	LCDR3	配列番号
hzCAR123	RASKSISKDLA	245	SGSTLQS	246	QQHNKYPYT	247

【０６８５】

【表１０２】

表 12: 例示的な CD123 CAR 配列

名称	配列番号
CAR123-2 NT	配列番号 248
CAR123-2 AA	配列番号 249
CAR123-2 scFv	配列番号 250
CAR123-2 VH	配列番号 251
CAR123-2 VL	配列番号 252
CAR123-3 NT	配列番号 253
CAR123-3 AA	配列番号 254
CAR123-3 scFv	配列番号 255
CAR123-3 VH	配列番号 256
CAR123-3 VL	配列番号 257
CAR123-4 NT	配列番号 258
CAR123-4 AA	配列番号 259
CAR123-4 scFv	配列番号 260
CAR123-4 VH	配列番号 261
CAR123-4 VL	配列番号 262
CAR123-1 NT	配列番号 263
CAR123-1 AA	配列番号 264
CAR123-1 scFv	配列番号 265
CAR123-1 VH	配列番号 266
CAR123-1 VL	配列番号 267

【０６８６】

【表１０３】

表13: ヒト化CD123 CAR配列

名称	配列番号
hzCAR123-1 NT	268
hzCAR123-1 AA	269
hzCAR123-1 scFv	270
hzCAR123-1 VH	271
hzCAR123-1 VL	272
hzCAR123-2 NT	273
hzCAR123-2 AA	274
hzCAR123-2 scFv	275
hzCAR123-2 VH	271
hzCAR123-2 VL	276
hzCAR123-3 NT	277
hzCAR123-3 AA	278
hzCAR123-3 scFv	279
hzCAR123-3 VH	271
hzCAR123-3 VL	280
hzCAR123-4 NT	281
hzCAR123-4 AA	282
hzCAR123-4 scFv	283
hzCAR123-4 VH	271
hzCAR123-4 VL	284
hzCAR123-5 NT	285
hzCAR123-5 AA	286
hzCAR123-5 scFv	287
hzCAR123-5 VH	271
hzCAR123-5 VL	272
hzCAR123-6 NT	288
hzCAR123-6 AA	289
hzCAR123-6 scFv	290
hzCAR123-6 VH	271
hzCAR123-6 VL	276
hzCAR123-7 NT	291
hzCAR123-7 AA	292
hzCAR123-7 scFv	293
hzCAR123-7 VH	271
hzCAR123-7 VL	280
hzCAR123-8 NT	294
hzCAR123-8 AA	295
hzCAR123-8 scFv	296
hzCAR123-8 VH	271
hzCAR123-8 VL	284
hzCAR123-9 NT	297
hzCAR123-9 AA	298
hzCAR123-9 scFv	299
hzCAR123-9 VH	300
hzCAR123-10 VL	272
hzCAR123-10 NT	301

【０６８７】

【表１０４】

hzCAR123-10 AA	302
hzCAR123-10 scFv	303
hzCAR123-10 VH	300
hzCAR123-10 VL	276
hzCAR123-11 NT	304
hzCAR123-11 AA	305
hzCAR123-11 scFv	306
hzCAR123-11 VH	300
hzCAR123-11 VL	280
hzCAR123-12 NT	307
hzCAR123-12 AA	308
hzCAR123-12 scFv	309
hzCAR123-12 VH	300
hzCAR123-12 VL	284
hzCAR123-13 NT	310
hzCAR123-13 AA	311
hzCAR123-13 scFv	312
hzCAR123-13 VH	300
hzCAR123-13 VL	272
hzCAR123-14 NT	313
hzCAR123-14 AA	314
hzCAR123-14 scFv	315
hzCAR123-14 VH	300
hzCAR123-14 VL	276
hzCAR123-15 NT	316
hzCAR123-15 AA	317
hzCAR123-15 scFv	318
hzCAR123-15 VH	300
hzCAR123-15 VL	280
hzCAR123-16 NT	319
hzCAR123-16 AA	320
hzCAR123-16 scFv	321
hzCAR123-16 VH	300
hzCAR123-16 VL	284
hzCAR123-17 NT	322
hzCAR123-17 AA	323
hzCAR123-17 scFv	324
hzCAR123-17 VH	325
hzCAR123-17 VL	272
hzCAR123-18 NT	326
hzCAR123-18 AA	327
hzCAR123-18 scFv	328
hzCAR123-18 VH	325
hzCAR123-18 VL	276
hzCAR123-19 NT	329
hzCAR123-19 AA	330
hzCAR123-19 scFv	331
hzCAR123-19 VH	325
hzCAR123-19 VL	280

【０６８８】

【表１０５】

hzCAR123-20 NT	332
hzCAR123-20 AA	333
hzCAR123-20 scFv	334
hzCAR123-20 VH	325
hzCAR123-20 VL	284
hzCAR123-21 NT	335
hzCAR123-21 AA	336
hzCAR123-21 scFv	337
hzCAR123-21 VH	325
hzCAR123-21 VL	272
hzCAR123-22 NT	338
hzCAR123-22 AA	339
hzCAR123-22 scFv	340
hzCAR123-22 VH	325
hzCAR123-22 VL	276
hzCAR123-23 NT	341
hzCAR123-23 AA	342
hzCAR123-23 scFv	343
hzCAR123-23 VH	325
hzCAR123-23 VL	280
hzCAR123-24 NT	344
hzCAR123-24 AA	345
hzCAR123-24 scFv	346
hzCAR123-24 VH	325
hzCAR123-24 VL	284
hzCAR123-25 NT	347
hzCAR123-25 AA	348
hzCAR123-25 scFv	349
hzCAR123-25 VH	350
hzCAR123-25 VL	272
hzCAR123-26 NT	351
hzCAR123-26 AA	352
hzCAR123-26 scFv	353
hzCAR123-26 VH	350
hzCAR123-26 VL	276
hzCAR123-27 NT	354
hzCAR123-27 AA	355
hzCAR123-27 scFv	356
hzCAR123-27 VH	350
hzCAR123-27 VL	280
hzCAR123-28 NT	357
hzCAR123-28 AA	358
hzCAR123-28 scFv	359
hzCAR123-28 VH	350
hzCAR123-28 VL	284
hzCAR123-29 NT	360
hzCAR123-29 AA	361
hzCAR123-29 scFv	362
hzCAR123-29 VH	350

【０６８９】

【表１０６】

hzCAR123-29 VL	272
hzCAR123-30 NT	363
hzCAR123-30 AA	364
hzCAR123-30 scFv	365
hzCAR123-30 VH	350
hzCAR123-30 VL	276
hzCAR123-31 NT	366
hzCAR123-31 AA	367
hzCAR123-31 scFv	368
hzCAR123-31 VH	350
hzCAR123-31 VL	280
hzCAR123-32 NT	369
hzCAR123-32 AA	370
hzCAR123-32 scFv	371
hzCAR123-32 VH	350
hzCAR123-32 VL	284

【０６９０】

実施形態において、本明細書に記載されるＣＡＲ分子は、ＣＤ１２３に特異的に結合するｓｃＦｖを含み、且つリーダー配列、例えば、アミノ酸配列配列番号６４を含有しない。下の表１４は、リーダー配列配列番号６４を含有しないＣＤ１２３　ｓｃＦｖ配列に関するアミノ酸及びヌクレオチド配列を提供する。

【０６９１】

【表１０７】

表14. CD123 CAR scFv配列

名称	配列番号
CAR123-2 scFv – NT	372
CAR123-2 scFv – AA	373
CAR123-2 ORF-free NT	374
CAR123-3 scFv - NT	375
CAR123-3 scFv – AA	376
CAR123-4 scFv – NT	377
CAR123-4 scFv – AA	378
CAR123-1 scFv – AA	379
hzCAR123-1 scFv	380
hzCAR123-2 scFv	381
hzCAR123-3 scFv	382
hzCAR123-4 scFv	383
hzCAR123-5 scFv	384
hzCAR123-6 scFv	385
hzCAR123-7 scFv	386
hzCAR123-8 scFv	387
hzCAR123-9 scFv	388
hzCAR123-10 scFv	389
hzCAR123-11 scFv	390
hzCAR123-12 scFv	391
hzCAR123-13 scFv	392
hzCAR123-14 scFv	393
hzCAR123-15 scFv	394
hzCAR123-16 scFv	395
hzCAR123-17 scFv	396
hzCAR123-18 scFv	397
hzCAR123-19 scFv	398
hzCAR123-20 scFv	399
hzCAR123-21 scFv	400
hzCAR123-22 scFv	401
hzCAR123-23 scFv	402
hzCAR123-24 scFv	403
hzCAR123-25 scFv	404
hzCAR123-26 scFv	405
hzCAR123-27 scFv	406
hzCAR123-28 scFv	407
hzCAR123-29 scFv	408
hzCAR123-30 scFv	409
hzCAR123-31 scFv	410
hzCAR123-32 scFv	411

【０６９２】

他の実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、ＣＤ１２３に特異的に結合することができ、例えば、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によるＣＡＲ分子（例えば、ＣＡＲ１２３－１又はＣＡＲ１２３－４及びｈｚＣＡＲ１２３－１～ｈｚＣＡＲ１２３－３２のいずれか）又は抗原結合ドメインを含み得る。国際公開第２０１６／０２８８９６号パンフレットにおいて指定されるとおりのアミノ酸配列並びにＣＤ１２３　ＣＡＲ分子及び抗原結合ドメイン（例えば、Ｋａｂａｔ又はＣｈｏｔｈｉａに従う１つ、２つ、３つのＶＨ　ＣＤＲ；及び１つ、２つ、３つのＶＬ　ＣＤＲを含む）をコードするヌクレオチド配列は、全体として参照により本明細書に組み込まれる。

【０６９３】
ＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ
　他の実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、ＥＧＦＲｖＩＩＩに特異的に結合することができ、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号パンフレットの表２又は配列番号１１によるＣＡＲ分子又は抗原結合ドメインを含み得る。例示的なアミノ酸配列並びにＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ分子及び抗原結合ドメイン（例えば、Ｋａｂａｔ又はＣｈｏｔｈｉａに従う１つ、２つ、３つのＶＨ　ＣＤＲ；及び１つ、２つ、３つのＶＬ　ＣＤＲを含む）をコードするヌクレオチド配列は、国際公開第２０１４／１３０６５７号パンフレットにおいて提供される。例示的な抗ＥＧＦＲｖＩＩＩ　ＣＡＲ配列は、表３３において開示される配列のＣＤＲ、可変領域、ｓｃＦｖ又は全長ＣＡＲ配列（又はそれと少なくとも約８５％、９０％、９５％、９９％以上同一であり、且つ／又は１つ、２つ、３つ以上の置換、挿入、欠失又は改変を有する配列）を含み得る。
【０６９４】

【表１０８】

表 33. EGFRvIII CAR 配列.

名称	配列番号
CAR 1	
CAR1 scFvドメイン	配列番号 1451
CAR1 scFvドメイン nt	配列番号 1452
CAR1 可溶性 scFv - nt	配列番号 1453
CAR1 可溶性 scFv - aa	配列番号 1454
CAR 1 -完全な- nt レンチウイルス	配列番号 1455
CAR 1 -完全な- aa	配列番号 1456
CAR 2	
CAR2 scFvドメイン	配列番号 1457
CAR2 scFvドメイン - nt	配列番号 1458
CAR2 -可溶性 scFv - nt	配列番号 1459
CAR2 -可溶性 scFv- aa	配列番号 1460
CAR 2 -完全な- nt	配列番号 1461
CAR 2 -完全な- aa	配列番号 1462
CAR 3	
CAR3 scFvドメイン	配列番号 1463
CAR3 scFvドメイン nt	配列番号 1464
CAR 3 -可溶性 scFv - nt	配列番号 1465
CAR 3 -可溶性 scFv - aa	配列番号 1466
CAR 3 -完全な- nt	配列番号 1467
CAR 3 -完全な- aa	配列番号 1468
CAR 4	
CAR4 scFvドメイン	配列番号 1469
CAR4 scFvドメイン nt	配列番号 1470
CAR4 -可溶性 scFv - nt	配列番号 1471
CAR4 -可溶性 scFv -aa	配列番号 1472
CAR 4 -完全な- nt	配列番号 1473
CAR 4 -完全な- aa	配列番号 1474
CAR 5	
CAR5 scFvドメイン	配列番号 1475
CAR5 scFvドメイン nt	配列番号 1476
CAR5 -可溶性 scFv - nt	配列番号 1477
CAR5 -可溶性 scFv -aa	配列番号 1478
CAR 5 -完全な- nt	配列番号 1479
CAR 5 -完全な- aa	配列番号 1480
CAR 6	
CAR6 scFvドメイン	配列番号 1481
CAR6 scFvドメイン nt	配列番号 1482
CAR6 -可溶性 scFv - nt	配列番号 1483
CAR6 -可溶性 scFv- aa	配列番号 1484
CAR6 -完全な- nt	配列番号 1485
CAR6 -完全な- aa	配列番号 1486

【０６９５】

【表１０９】

CAR 7	
CAR7 scFvドメイン	配列番号 1487
CAR7 scFvドメイン nt	配列番号 1488
CAR7 -可溶性 scFv - nt	配列番号 1489
CAR7 -可溶性 scFv- aa	配列番号 1490
CAR 7 完全な- nt	配列番号 1491
CAR 7 完全な - aa	配列番号 1492
CAR 8	
CAR8 scFvドメイン	配列番号 1493
CAR8 scFvドメイン nt	配列番号 1494
CAR8 -可溶性 scFv - nt	配列番号 1495
CAR8 -可溶性 scFv- aa	配列番号 1496
CAR 8 -完全な- nt	配列番号 1497
CAR 8 -完全な- aa	配列番号 1498
CAR 9	マウス抗-EGFRvIII クローン 3C10
CAR9 scFvドメイン	配列番号 1499
CAR9 scFvドメイン nt	配列番号 1500
CAR9 -可溶性 scFv - nt	配列番号 1501
CAR9 -可溶性 scFv- aa	配列番号 1502
CAR 9 -完全な- nt	配列番号 1503
CAR 9 -完全な- aa	配列番号 1504
CAR10	抗-EGFRvIII クローン 139
CAR10 scFvドメイン	配列番号 1505
CAR9 scFvドメイン nt	配列番号 1506
CAR10 -可溶性 scFv - nt	配列番号 1507
CAR10 -可溶性 scFv- aa	配列番号 1508
CAR 10 完全な- nt	配列番号 1509
CAR 10 完全な- aa	配列番号 1510

【０６９６】

ＣＤ３３　ＣＡＲ

他の実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、ＣＤ３３に特異的に結合することができ、例えば、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ＣＡＲ分子（例えば、ＣＡＲ３３－１～ＣＡＲ－３３－９のいずれか）又は抗原結合ドメインを含み得る。例示的なアミノ酸配列並びにＣＤ３３　ＣＡＲ分子及び抗原結合ドメイン（例えば、Ｋａｂａｔ又はＣｈｏｔｈｉａに従う１つ、２つ、３つのＶＨ　ＣＤＲ；及び１つ、２つ、３つのＶＬ　ＣＤＲを含む）をコードするヌクレオチド配列は、国際公開第２０１６／０１４５７６号パンフレットにおいて提供される。

【０６９７】

メソセリンＣＡＲ

いくつかの実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、メソセリンに特異的に結合することができ、例えば、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１５／０９０２３０号パンフレットの表２～３によるＣＡＲ分子又は抗原結合ドメインを含み得る。例示的なアミノ酸配列並びにメソセリンＣＡＲ分子及び抗原結合ドメイン（例えば、Ｋａｂａｔ又はＣｈｏｔｈｉａに従う１つ、２つ、３つのＶＨ　ＣＤＲ；及び１つ、２つ、３つのＶＬ　ＣＤＲを含む）をコードするヌクレオチド配列は、国際公開第２０１５／０９０２３０号パンフレットにおいて提供される。例示的な抗メソセリンＣＡＲ配列は、表３４において開示される配列のＣＤＲ、可変領域、ｓｃＦｖ又は全長ＣＡＲ配列（又はそれと少なくとも約８５％、９０％、９５％、９９％以上同一であり、且つ／又は１つ、２つ、３つ以上の置

換、挿入、欠失又は改変を有する配列）を含み得る。

【０６９８】

【表１１０】

表34. メソセリンCAR配列。メソセリンに結合するヒトscFv及びCARのアミノ酸配列(太い下線はリーダー配列である)。scFvの場合、残りのアミノ酸は重鎖可変領域及び軽鎖可変領域であり、それぞれ下線の引かれたHC CDR(HC CDR1、HC CDR2、HC CDR3)及びLC CDR(LC CDR1、LC CDR2、LCCDR3)を有する。CARの場合、残りのさらなるアミノ酸は、CARの残りのアミノ酸である。

配列番号	説明	アミノ酸配列
配列番号1511	M1 (ScFvドメイン)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSEDTAVYYCARGRYYGMDVWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASQSVSSNFAWYQQRPGQAPRLLIYDASNRATGIPPRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAAYYCHQRSNWLYTFGQGTKVDIK
配列番号1512	M1 (完全) >ZA53-27BC (M1 ZA53-27BC R001-A11 126161)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSEDTAVYYCARGRYYGMDVWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASQSVSSNFAWYQQRPGQAPRLLIYDASNRATGIPPRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAAYYCHQRSNWLYTFGQGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
配列番号1513	M2 (ScFvドメイン)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDLRRTVVTPRAYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQDISNSLNWYQQKAGKAPKLLIYDASTLETGVPSRFSGSGSGTDFSFTISSLQPEDIATYYCQQHDNLPLTFGQGTKVEIK
配列番号1514	M2 (完全) >FA56-26RC (M2 FA56-26RC R001-A10 126162)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDLRRTVVTPRAYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQDISNSLNWYQQKAGKAPKLLIYDASTLETGVPSRFSGSGSGTDFSFTISSLQPEDIATYYCQQHDNLPLTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
配列番号1515	M3 (ScFvドメイン)	QVQLVQSGAEVKKPGAPVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGEWDGSYYYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQTPSSLSASVGDRVTITCRASQSINTYLNWYQHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSFSPLTFGGGTKLEIK
配列番号1516	M3 >VA58-21LC (M3 VA58-21LC	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGAPVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGEWDGSYYYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQTPSSLSASVGDRVTITCRASQSINTYLNWYQHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSFSPLTFGGGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE

【０６９９】

【表１１１】

	R001 A1 126163)	EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
配列番号 1517	M4 (ScFv ドメイン)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQVPGKGLVWVSRINTDGSTTTY ADSVEGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRDDDTAVYYCVGGHWAVWGQGTTVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISDRLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFAVYYCQQYGHLPMYTFGQGTKVE IK
配列番号 1518	M4 >DP37-07IC (M4 DP37-07IC R001-C6 126164)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQ VPGKGLVWVSRINTDGSTTTYADSVEGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRDDDTAVYYCVGG HWAVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRA SQSISDRLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFAV YYCQQYGHLPMYTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
配列番号 1519	M5 (ScFv ドメイン)	QVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCASGWDFDYWGQGTLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRYYLSWYQQKPGKAPK LLIYTASILQNGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQTYTTPDFGPGTKVEI K
配列番号 1520	M5 >XP31-20LC (M5 XP31-20LC R001-B4 126165)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVEKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQ APGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCASG WDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSIRYYLSWYQQKPGKAPKLLIYTASILQNGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCLQTYTTPDFGPGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR
配列番号 1521	M6 (ScFv ドメイン)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARYRLIAVAGDYYYYGMDVWGQGT MVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGVGRWLA WYQQKPGTAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINNLQPEDFATYYCQQANSF PLTFGGGTRLEIK
配列番号 1522	M6 >FE10-061D (M6 46FE10-061D R001-A4 126166)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQ APGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARY RLIAVAGDYYYYGMDVWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSA SVGDRVTITCRASQGVGRWLAWYQQKPGTAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TINNLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLST ATKDTYDALHMQALPPR
配列番号 1523	M7 (ScFv ドメイン)	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWKVSSSSPAFDYWGQGTLVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYTKYLGWYQQ KPGQAPRLLIYDASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINRLEPEDFAVYYCQHYGGSPLIT FGQGTRLEIK

【０７００】

【表１１２】

配列番号 1524	M7 >VE12-01CD (M7 VE12-01CD R001-A5 126167)	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQ APGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARW KVSSSSPAFDYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGER AILSCRASQSVYTKYLGWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINR LEPEDFAVYYCQHYGGSPLITFGQGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR
配列番号 1525	M8 (ScFv ドメイン)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYPFTGYSLHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDHYGGNSLFYWGQGTLVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSISASVGDTVSITCRASQDSGTWLAWYQQKPG KAPNLLMYDASTLEDGVPSRFSGSASGTEFTLTVNRLQPEDSATYYCQQYNSYPLTFGGG TKVDIK
配列番号 1526	M8 >LE13-05XD (M8 LE13-05XD R001-E5 126168)	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYPFTGYSLHWVRQ APGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARD HYGGNSLFYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSISASVGDTVS ITCRASQDSGTWLAWYQQKPGKAPNLLMYDASTLEDGVPSRFSGSASGTEFTLTVNRLQP EDSATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
配列番号 1527	M9 (ScFv ドメイン)	QVQLVQSGAEVKKPGASVEVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTGY AQKFQGRVTMTRDTSTSTVHMELSSLRSEDTAVYYCARGGYSSSSDAFDIWGQGTMVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPPSLSASVGDRVTITCRASQDISSALAWYQQK PGTPPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFSSYPLTFG GGTRLEIK
配列番号 1528	M9 >BE15-00SD (M9 BE15-00SD R001-A3 126169)	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**QVQLVQSGAEVKKPGASVEVSCKASGYTFTSYYMHWVRQ APGQGLEWMGIINPSGGSTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVHMELSSLRSEDTAVYYCARG GYSSSSDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPPSLSASVGDR VTITCRASQDISSALAWYQQKPGTPPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQFSSYPLTFGGGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTT QEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR
配列番号 1529	M10 (ScFv ドメイン)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNY AQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARVAGGIYYYYGMDVWGQGTTITV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPDSLAVSLGERATISCKSSHSVLYNRNNKNY LAWYQQKPGQPPKLLFYWASTRKSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQTQ TFPLTFGQGTRLEIN
配列番号 1530	M10 >RE16-05MD (M10 RE16-05MD R001-D10 126170)	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQ APGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARV AGGIYYYYGMDVWGQGTTITVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPDSLAVSLGE RATISCKSSHSVLYNRNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLFYWASTRKSGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYFCQQTQTFPLTFGQGTRLEINTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPF MRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYD VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR

【０７０１】

【表１１３】

配列番号 1531	M11 (ScFv ドメイン)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNY AQNFQGRVTMTRDTSISTAYMELRRLRSDDTAVYYCASGWDFDYWGQGTLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRYYLSWYQQKPGKAPK LLIYTASILQNGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQTYTTPDFGPGTKVEI K
配列番号 1532	M11 >NE10-19WD (M11 NE10-19WD R001-G2 126171)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQ APGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQNFQGRVTMTRDTSISTAYMELRRLRSDDTAVYYCASG WDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSIRYYLSWYQQKPGKAPKLLIYTASILQNGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCLQTYTTPDFGPGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR GLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR
配列番号 1533	M12 (ScFv ドメイン)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTNY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARTTTSYAFDIWGQGTMVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISTWLAWYQQKPGK APNLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYNTYSPYTFGQG TKLEIK
配列番号 1534	M12 >DE12-14RD (M12 DE12-14RD R001-G9 126172)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQ APGQGLEWMGRINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCART TTSYAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTI TCRASQSISTWLAWYQQKPGKAPNLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPD DFATYYCQQYNTYSPYTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
配列番号 1535	M13 (ScFv ドメイン)	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCEASGFIFSDYYMGWIRQAPGKGLEWVSYIGRSGSSMYY ADSVKGRFTFSRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAASPVVAATEDFQHWGQGTLVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPATLSLSPGERATLSCRASQSVTSNYLAWYQQ KPGQAPRLLLFGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINRLEPEDFAMYYCQQYGSAPVTF GQGTKLEIK
配列番号 1536	M13 >TE13-19ID (M13 TE13-19ID R002-C3 126173)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCEASGFIFSDYYMGWIRQ APGKGLEWVSYIGRSGSSMYYADSVKGRFTFSRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAS PVVAATEDFQHWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPATLSLSPGER ATLSCRASQSVTSNYLAWYQQKPGQAPRLLLFGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINR LEPEDFAMYYCQQYGSAPVTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT TQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
配列番号 1537	M14 (ScFv ドメイン)	QVQLVQSGAEVRAPGASVKISCKASGFTFRGYYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSRAY AQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSDDTAMYYCARTASCGGDCYYLDYWCQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPPTLSASVGDRVTITCRASENVNIWLAWYQQ KPGKAPKLLIYKSSSLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYQSYPLTF GGGTKVDIK
配列番号 1538	M14 >BS83-95ID (M14	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVRAPGASVKISCKASGFTFRGYYIHWVRQ APGQGLEWMGIINPSGGSRAYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSDDTAMYYCART ASCGGDCYYLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPPTLSASVGD RVTITCRASENVNIWLAWYQQKPGKAPKLLIYKSSSLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISS LQPDDFATYYCQQYQSYPLTFGGGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA

【０７０２】

【表１１４】

	BS83-95ID R001-E8 126174)	AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT TQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
配列番号 1539	M15 (ScFv ドメイン)	QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGSSSWSWGYFDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDALRSYYASWYQQKPGQAP MLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSDSGDTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGYPVFGTGTK VTVL
配列番号 1540	M15 >HS86-94XD (M15 HS86-94XD NT 127553)	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**QVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKD GSSSWSWGYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRTTC QGDALRSYYASWYQQKPGQAPMLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSDSGDTASLTITGAQAEDE ADYYCNSRDSSGYPVFGTGTKVTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEED GCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR
配列番号 1541	M16 (ScFv ドメイン)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSTGY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDSSSWYGGGSAFDIWGQGTMVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQEPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQA PVLVIFGRSRRPSGIPDRFSGSSSGNTASLIITGAQAEDEADYYCNSRDNTANHYVFGTG TKLTVL
配列番号 1542	M16 >XS87-99RD (M16 XS87-99RD NT 127554)	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSTGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKD SSSWYGGGSAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQEPAVSVALGQTVRIT CQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIFGRSRRPSGIPDRFSGSSSGNTASLIITGAQAED EADYYCNSRDNTANHYVFGTGTKLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
配列番号 1543	M17 (ScFv ドメイン)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSTGY ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDSSSWYGGGSAFDIWGQGTMVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQA PVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRGSSGNHYVFGTG TKVTVL
配列番号 1544	M17 >NS89-94MD (M17 NS89-94MD NT 127555)	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSTGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKD SSSWYGGGSAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRIT CQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED EADYYCNSRGSSGNHYVFGTGTKVTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE EDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
配列番号 1545	M18 (ScFv ドメイン)	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSTSY ADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRTGWVGSYYYYMDVWGKGTTVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQ QKPGQPPRLLIYDVSTRATGIPARFSGGGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPW TFGQGTKVEIK

【０７０３】

【表１１５】

配列番号 1546	M18 >DS90-09HD (M18 DS90 09HD R003-A05 127556)	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQ APGKGLVWVSRINSDGSSTSYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRT GWVGSYYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGE RATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQPPRLLIYDVSTRATGIPARFSGGGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYCQQRSNWPPWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR
配列番号 1547	M19 (ScFv ドメイン)	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGYSRYYYYGMDVWGQGTTVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYTKYLGWYQQ KPGQAPRLLIYDASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINRLEPEDFAVYYCQHYGGSPLIT FGQGTKVDIK
配列番号 1548	M19 >TS92-04BD (M19 TS92-04BD R003-C06 127557)	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQ APGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKG YSRYYYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSLSPGER ATLSCRASQSVYTKYLGWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINR LEPEDFAVYYCQHYGGSPLITFGQGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR
配列番号 1549	M20 (ScFv ドメイン)	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKREAAACHDWYFDLWGRGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIRVTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSIPLTF GQGTKVEIK
配列番号 1550	M20(完全) >JS93-08WD (M20 JS93-08WD R003-E07 127558)	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKR EAAAGHDWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIRVTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSIPLTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT TQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
配列番号 1551	M21 (ScFv ドメイン)	QVQLVQSWAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSNLRSEDTAVYYCARSPRVTTGYFDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKP GKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYSSYPLTFGG GTRLEIK
配列番号 1552	M21(完全なCAR)	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**QVQLVQSWAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQ APGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSNLRSEDTAVYYCARS PRVTTGYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRV TITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQ PDDFATYYCQQYSSYPLTFGGGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT TQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR

【０７０４】

【表１１６】

配列番号 1553	M22 (ScFv ドメイン)	QVQLVQSGAEVRRPGASVKISCRASGDTSIRHYIHWLRQAPGQGPEWMGVINPTTGPATG SPAYAQMLQGRVTMTRDTSTRTVYMELRSLRFEDTAVYYCARSVVGRSAPYYFDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISDYSA WYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISYLQSEDFATYYCQQYYSY PLTFGGGTKVDIK
配列番号 1554	M22 (完全な CAR)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVRRPGASVKISCRASGDTSTRHYIHWLRQ APGQGPEWMGVINPTTGPATGSPAYAQMLQGRVTMTRDTSTRTVYMELRSLRFEDTAVYY CARSVVGRSAPYYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQGISDYSAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISYLQSEDFATYYCQQYYSYPLTFGGGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA CRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT TQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
配列番号 1555	M23 (ScFv ドメイン)	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGYTTY AQKFQGRLTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARIRSCGGDCYYFDNWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASENVNIWLAWYQQ KPGKAPKLLIYKSSSLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYQSYPLTF GGGTKVDIK
配列番号 1556	M23 (完全な CAR)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQ APGQGLEWMGIINPSGGYTTYAQKFQGRLTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARI RSCGGDCYYFDNWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGD RVTITCRASENVNIWLAWYQQKPGKAPKLLIYKSSSLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISS LQPDDFATYYCQQYQSYPLTFGGGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT TQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
配列番号 1557	M24 (ScFv ドメイン)	QITLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTAGVHVGWIRQPPGKALEWLALISWADDKR YRPSLRSRLDITRVTSKDQVVLSMTNMQPEDTATYYCALQGFDGYEANWGPGTLVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASAGDRVTITCRASRGISSALAWYQQKPG KPPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTIDSLEPEDFATYYCQQSYSTPWTFGQG TKVDIK
配列番号 1558	M24 (完全な CAR)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQITLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTAGVHVGWI RQPPGKALEWLALISWADDKRYRPSLRSRLDITRVTSKDQVVLSMTNMQPEDTATYYCAL QGFDGYEANWGPGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSLSASAGDRVT ITCRASRGISSALAWYQQKPGKPPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTIDSLEP EDFATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT TQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
配列番号 1559	Ss1 (scFv ドメイン)	QVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKSLEWIGLITPYNGASS YNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLSLTSEDSAVYFCARGGYDGRGFDYWGQGTTVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSDIELTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSP KRWIYDTSKLASGVPGRFSGSGSGNSYSLTISSVEAEDDATYYCQQWSGYPLTFGAGTK LEI
配列番号 1560	Ss1 (完全な CAR)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYTMNWVK QSHGKSLEWIGLITPYNGASSYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLSLTSEDSAVYFCA RGGYDGRGFDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIELTQSPAIMSASPGEKVTMT CSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPGRFSGSGSGNSYSLTISSVEAED
		DATYYCQQWSGYPLTFGAGTKLEITTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPA

【０７０５】

ＢＣＭＡ　ＣＡＲ

他の実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、ＢＣＭＡに特異的に結合することができ、例えば、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１６／０１４５６５号パンフレットの表１又は１６、配列番号２７１又は配列番号２７３によるＣＡＲ分子又は抗原結合ドメインを含み得る。国際公開第２０１６／０１４５６５号パンフレットにおいて指定されるとおりのアミノ酸配列並びにＢＣＭＡ　ＣＡＲ分子及び抗原結合ドメイン（例えば、Ｋａｂａｔ又はＣｈｏｔｈｉａに従う１つ、２つ、３つのＶＨ　ＣＤＲ；及び１つ、２つ、３つのＶＬ　ＣＤＲを含む）をコードするヌクレオチド配列は、本明細書の表１５～１８

において提供される。

【０７０６】

【表１１７】

表15. Kabat番号付けスキームによる重鎖可変ドメインCDR(Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)

候補	HCDR1	配列番号	HCDR2	配列番号	HCDR3	配列番号
139109	NHGMS	412	GIVYSGSTYYAASVKG	431	HGGESDV	453
139103	NYAMS	413	GISRSGENTYYADSVKG	432	SPAHYYGGMDV	454
139105	DYAMH	414	GISWNSGSIGYADSVKG	433	HSFLAY	455
139111	NHGMS	412	GIVYSGSTYYAASVKG	431	HGGESDV	453
139100	NFGIN	415	WINPKNNNTNYAQKFQG	434	GPYYYQSYMDV	456
139101	SDAMT	416	VISGSGGTTYYADSVKG	435	LDSSGYYYARGPRY	457
139102	NYGIT	417	WISAYNGNTNYAQKFQG	436	GPYYYYMDV	458
139104	NHGMS	412	GIVYSGSTYYAASVKG	431	HGGESDV	453
139106	NHGMS	412	GIVYSGSTYYAASVKG	431	HGGESDV	453
139107	NHGMS	412	GIVYSGSTYYAASVKG	431	HGGESDV	453
139108	DYYMS	418	YISSSGSTIYYADSVKG	437	ESGDGMDV	459
139110	DYYMS	418	YISSSGNTIYYADSVKG	438	STMVREDY	460
139112	NHGMS	412	GIVYSGSTYYAASVKG	431	HGGESDV	453

【０７０７】

【表１１８】

139113	NHGMS	412	GIVYSGSTYYAASVKG	431	HGGESDV	453
139114	NHGMS	412	GIVYSGSTYYAASVKG	431	HGGESDV	453
149362	SSYYYWG	419	SIYYSGSAYYNPSLKS	439	HWQEWPDAFDI	461
149363	TSGMCVS	420	RIDWDEDKFYSTSLKT	440	SGAGGTSATAFDI	462
149364	SYSMN	421	SISSSSSYIYYADSVKG	441	TIAAVYAFDI	463
149365	DYYMS	418	YISSSGSTIYYADSVKG	437	DLRGAFDI	464
149366	SHYIH	422	MINPSGGVTAYSQTLQG	442	EGSGSGWYFDF	465
149367	SGGYYWS	423	YIYYSGSTYYNPSLKS	443	AGIAARLRGAFDI	466
149368	SYAIS	424	GIIPIFGTANYAQKFQG	444	RGGYQLLRWDVGLLRSAFDI	467
149369	SNSAAWN	425	RTYYRSKWYSFYAISLKS	445	SSPEGLFLYWFDP	468
BCMA_EBB-C1978-A4	SYAMS	426	AISGSGGSTYYADSVKG	446	VEGSGSLDY	469
BCMA_EBB-C1978-G1	RYPMS	427	GISDSGVSTYYADSAKG	447	RAGSEASDI	470
BCMA_EBB-C1979-C1	SYAMS	426	AISGSGGSTYYADSVKG	446	ATYKRELRYYYGMDV	471
BCMA_EBB-C1978-C7	SYAMS	426	AISGSGGSTYYADSVKG	446	ATYKRELRYYYGMDV	471
BCMA_EBB-C1978-D10	DYAMH	414	GISWNSGSIGYADSVKG	433	VGKAVPDV	472
BCMA_EBB-C1979-C12	DYAMH	414	SINWKGNSLAYGDSVKG	448	HQGVAYYNYAMDV	473
BCMA_EBB-C1980-G4	SYAMS	426	AISGSGGSTYYADSVKG	446	VVRDGMDV	474
BCMA_EBB-C1980-D2	SYAMS	426	AISGSGGSTYYADSVKG	446	IPQTGTFDY	475
BCMA_EBB-C1978-A10	SYAMS	426	AISGSGGSTYYADSVKG	446	ANYKRELRYYYGMDV	476
BCMA_EBB-C1978-D4	SYAMS	426	AISGSGGSTYYADSVKG	446	ALVGATGAFDI	477

【０７０８】

【表１１９】

BCMA_EBB-C1980-A2	SYAMS	426	AISGSGGSTYYADSVKG	446	WFGEGFDP	478
BCMA_EBB-C1981-C3	SYAMS	426	AISGSGGSTYYADSVKG	446	VGYDSSGYYRDYYGMDV	479
BCMA_EBB-C1978-G4	SYAMS	426	AISGSGGSTYYADSVKG	446	MGWSSGYLGAFDI	480
A7D12.2	NFGMN	428	WINTYTGESYFADDFKG	449	GEIYYGYDGGFAY	481
C11D5.3	DYSIN	429	WINTETREPAYAYDFRG	450	DYSYAMDY	482
C12A3.2	HYSMN	430	RINTESGVPIYADDFKG	451	DYLYSLDF	483
C13F12.1	HYSMN	430	RINTETGEPLYADDFKG	452	DYLYSCDY	484

【０７０９】
【表１２０】

表16. Kabat番号付けスキームによる軽鎖可変ドメインCDR (Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)

候補	LCDR1	配列番号	LCDR2	配列番号	LCDR3	配列番号
139109	RASQSISSYLN	237	AASSLQS	240	QQSYSTPYT	545
139103	RASQSISSSFLA	485	GASRRAT	516	QQYHSSPSWT	546
139105	RSSQSLLHSNGYNYLD	486	LGSNRAS	517	MQALQTPYT	547
139111	KSSQSLLRNDGKTPLY	487	EVSNRFS	518	MQNIQFPS	548
139100	RSSQSLLHSNGYNYLN	488	LGSKRAS	519	MQALQTPYT	547
139101	RASQSISSYLN	237	GASTLAS	520	QQSYKRAS	549
139102	RSSQSLLYSNGYNYVD	489	LGSNRAS	517	MQGRQFPYS	550
139104	RASQSVSSNLA	490	GASTRAS	521	QQYGSSLT	551
139106	RASQSVSSKLA	491	GASIRAT	522	QQYGSSSWT	552
139107	RASQSVGSTNLA	492	DASNRAT	523	QQYGSSPPWT	553
139108	RASQSISSYLN	237	AASSLQS	240	QQSYTLA	554
139110	KSSESLVHNSGKTYLN	493	EVSNRDS	524	MQGTHWPGT	555
139112	QASEDINKFLN	494	DASTLQT	525	QQYESLPLT	556

【０７１０】

【表１２１】

139113	RASQSVGSNLA	495	GASTRAT	526	QQYNDWLPVT	557
139114	RASQSIGSSSLA	496	GASSRAS	527	QQYAGSPPFT	558
149362	KASQDIDDAMN	497	SATSPVP	528	LQHDNFPLT	559
149363	RASQDIYNNLA	498	AANKSQS	529	QHYYRFPYS	560
149364	RSSQSLLHSNGYNYLD	486	LGSNRAS	517	MQALQTPYT	547
149365	GGNNIGTKSVH	499	DDSVRPS	530	QVWDSDSEHVV	561
149366	SGDGLSKKYVS	500	RDKERPS	531	QAWDDTTVV	562
149367	RASQGIRNWLA	501	AASNLQS	532	QKYNSAPFT	563
149368	GGNNIGSKSVH	502	GKNNRPS	533	SSRDSSGDHLRV	564
149369	QGDSLGNYYAT	503	GTNNRPS	534	NSRDSSGHHLL	565
BCMA_EBB-C1978-A4	RASQSVSSAYLA	504	GASTRAT	526	QHYGSSFNGSSLFT	566
BCMA_EBB-C1978-G1	RASQSVSNSLA	505	DASSRAT	535	QQFGTSSGLT	567
BCMA_EBB-C1979-C1	RASQSVSSSFLA	506	GASSRAT	536	QQYHSSPSWT	546
BCMA_EBB-C1978-C7	RASQSVSTTFLA	507	GSSNRAT	537	QQYHSSPSWT	546
BCMA_EBB-C1978-D10	RASQSISSYLN	237	AASSLQS	240	QQSYSTPYS	568
BCMA_EBB-C1979-C12	RATQSIGSSFLA	508	GASQRAT	538	QHYESSPSWT	569
BCMA_EBB-C1980-G4	RASQSVSSSYLA	509	GASSRAT	536	QQYGSPPRFT	570
BCMA_EBB-C1980-D2	RASQSVSSSYLA	509	GASSRAT	536	QHYGSSPSWT	571
BCMA_EBB-C1978-A10	RASQRVASNYLA	510	GASSRAT	536	QHYDSSPSWT	572
BCMA_EBB-C1978-D4	RASQSLSSNFLA	511	GASNWAT	539	QYYGTSPMYT	573
BCMA_EBB-C1980-A2	RSSQSLLHSNGYNYLD	486	LGSNRAS	517	MQALQTPLT	574
BCMA_EBB-C1981-C3	RASQSVSSSYLA	509	GTSSRAT	540	QHYGNSPPKFT	575
BCMA_EBB-C1978-G4	RASQSVASSFLA	512	GASGRAT	541	QHYGGSPRLT	576
A7D12.2	RASQDVNTAVS	513	SASYRYT	542	QQHYSTPWT	577
C11D5.3	RASESVSVIGAHLIH	514	LASNLET	543	LQSRIFPRT	578

【０７１１】
【表１２２】

C12A3.2	RASESVTILGSHLIY	515	LASNVQT	544	LQSRTIPRT	579
C13F12.1	RASESVTILGSHLIY	515	LASNVQT	544	LQSRTIPRT	579

【０７１２】

【表１２３】

表17. 例示的な抗-BCMA scFvドメイン及びBCMA CAR分子のアミノ酸及び核酸配列。各scFvのアミノ酸配列可変重鎖及び可変軽鎖配列も提供される。

名称/説明	配列番号	配列
139109		
139109- aa ScFvドメイン	580	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSG IVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGG ESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
139109- nt ScFvドメイン	581	GAAGTGCAATTGGTGGAATCAGGGGGAGGACTTGTGCAGCCTGGAGGATC GCTGAGACTGTCATGTGCCGTGTCCGGCTTTGCCCTGTCCAACCACGGGA TGTCCTGGGTCCGCCGCGCGCCTGGAAAGGGCCTCGAATGGGTGTCGGGT ATTGTGTACAGCGGTAGCACCTACTATGCCGCATCCGTGAAGGGGAGATT CACCATCAGCCCGGACAACTCCAGGAACACTCTGTACCTCCAAATGAATT CGCTGAGGCCAGACGACACTGCCATCTACTACTGCTCCGCCCATGGCGGA GACTCCGACGTCTCGCGACAGGGGACCACCCTCACCGTGTCTAGCGCGTC CGGCGGAGGCGGCAGCGGGGGTCGGGCATCAGGGGGCGGCGGATCGGACA TCCAGCTCACCCAGTCCCCGAGCTCGCTGTCCGCCTCCCTGGGAGATCGG GTCACCATCACGTGCCGCGCCAGCCAGTCGATTTCCTCCTACCTGAACTC GTACCAACAGAAGCCCCGCAAAACCCCCGAACCTTCTCATCTACGCCGCCT CGAGCCTGCAGTCAGGAGTGCCCTCACGGTTCTCCGGCTCCGGTTCCGGT ACTGATTTCACCCTGACCATTTCCTCCCTGCAACCGGACGACTTCGCTAC TTACTACTGCCAGCAGTCGTACTCCACCCCCTACACTTTCGGACAAGGCA CCAAGGTCGAAATCAAG
139109- aa VH	582	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSG IVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGG ESDVWGQGTTVTVSS
139109- aa VL	583	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQ GTKVEIK
139109- aa 完全なCAR	584	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFAL SNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLY LQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGG GGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYT FGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT TQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE RRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

【０７１３】

【表１２４】

139109- nt 完全なCAR	585	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCA CGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAATCAGGGGGAGGACTTGTGC AGCCTGGAGGATCGCTGAGACTGTCATGTGCCGTGTCCGGCTTTGCCCTG TCCAACCACGGGATGTCCTGGGTCCGCCGCGCCGCCTGGAAAGGGCCTCGA ATCGGTGTCGGGTATTGTGTACACCGGTAGCACCTACTATCCCGCATCCG TGAAGGGGAGATTCACCATCAGCCGGGACAACTCCAGGAACACTCTGTAC CTCCAAATGAATTCGCTGAGGCCAGAGGACACTGCCATCTACTACTGCTC CGCGCATGGCGGAGAGTCCGACGTCTGGGGACAGGGGACCACCGTGACCG TGTCTAGCGCGTCCGGCGGAGGCGGCAGCGGGGGTCGGGCATCAGGGGGC GGCGGATCGGACATCCAGCTCACCCAGTCCCCGAGCTCGCTGTCCGCCTC CGTGGGAGATCGGGTCACCATCACGTGCCGCGCCAGCCAGTCGATTTCCT CCTACCTGAACTGGTACCAACAGAAGCCCGGAAAAGCCCCGAAGCTTCTC ATCTACGCCGCCTCGAGCCTGCAGTCAGGAGTGCCCTCACGGTTCTCCGG CTCCGGTTCCGGTACTGATTTCACCCTGACCATTTCCTCCCTGCAACCGG AGCACTTCGCTACTTACTACTCCCAGCAGTCGTACTCCACCCCCTACACT TTCGGACAAGGCACCAACGTCGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAG GCCACCCACCCCCGCCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTCCGTC CGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTT GACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGG GGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGA AGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACT ACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGG CGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCT ACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGA GAGGAGTACGACGTGCTCGACAACCGGACAGGACCGCACCCAGAAATGGG CGCGAAGCCCGCGCAGAAAGAATCCCCAACAGGCCTCTACAACGAGCTCC AAAAGCATAAGATGGCACAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAACGGGAA CGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGC CACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG

【０７１４】
【表１２５】

表 31. 例示的な抗-BCMA scFvドメイン及び BCMA CAR 分子のアミノ酸及び核酸配列。
各 scFv のアミノ酸配列可変重鎖及び可変軽鎖配列も提供される。

名称/説明	配列番号
139103	
139103- aa ScFvドメイン	586
139103- nt ScFvドメイン	587
139103- aa VH	588
139103- aa VL	589
139103- aa 完全な CAR	590
139103- nt 完全な CAR	591
139105	
139105- aa ScFvドメイン	592
139105- nt ScFvドメイン	593
139105- aa VH	594
139105- aa VL	595
139105- aa 完全な CAR	596
139105- nt 完全な CAR	597

【０７１５】

【表１２６】

139111	
139111- aa ScFvドメイン	598
139111- nt ScFvドメイン	599
139111- aa VH	600
139111- aa VL	601
139111- aa 完全なCAR	602
139111- nt 完全なCAR	603
139100	
139100- aa ScFvドメイン	604
139100- nt ScFvドメイン	605
139100- aa VH	606
139100- aa VL	607
139100- aa 完全なCAR	608
139100- nt 完全なCAR	609
139101	
139101- aa ScFvドメイン	610
139101- nt ScFvドメイン	611
139101- aa VH	612
139101- aa VL	613
139101- aa 完全なCAR	614
139101- nt 完全なCAR	615
139102	
139102- aa ScFvドメイン	616
139102- nt ScFvドメイン	617
139102- aa VH	618
139102- aa VL	619
139102- aa 完全なCAR	620
139102- nt 完全なCAR	621
139104	
139104- aa ScFvドメイン	622
139104- nt ScFvドメイン	623
139104- aa VH	624
139104- aa VL	625
139104- aa 完全なCAR	626
139104- nt 完全なCAR	627
139106	
139106- aa ScFvドメイン	628
139106- nt ScFvドメイン	629
139106- aa VH	630
139106- aa VL	631
139106- aa 完全なCAR	632
139106- nt 完全なCAR	633
139107	
139107- aa ScFvドメイン	634
139107- nt ScFvドメイン	635
139107- aa VH	636
139107- aa VL	637
139107- aa 完全なCAR	638
139107- nt 完全なCAR	639

【０７１６】

【表１２７】

139108	
139108- aa ScFvドメイン	640
139108- nt ScFvドメイン	641
139108- aa VH	642
139108- aa VL	643
139108- aa 完全なCAR	644
139108- nt 完全なCAR	645
139110	
139110- aa ScFvドメイン	646
139110- nt ScFvドメイン	647
139110- aa VH	648
139110- aa VL	649
139110- aa 完全なCAR	650
139110- nt 完全なCAR	651
139112	
139112- aa ScFvドメイン	652
139112- nt ScFvドメイン	653
139112- aa VH	654
139112- aa VL	655
139112- aa 完全なCAR	656
139112- nt 完全なCAR	657
139113	
139113- aa ScFvドメイン	658
139113- nt ScFvドメイン	659
139113- aa VH	630
139113- aa VL	660
139113- aa 完全なCAR	661
139113- nt 完全なCAR	662
139114	
139114- aa ScFvドメイン	663
139114- nt ScFvドメイン	664
139114- aa VH	582
139114- aa VL	665
139114- aa 完全なCAR	666
139114- nt 完全なCAR	667
149362	
149362-aa ScFvドメイン	668
149362-nt ScFvドメイン	669
149362-aa VH	670
149362-aa VL	671
149362-aa 完全なCAR	672
149362-nt 完全なCAR	673
149363	
149363-aa ScFvドメイン	674
149363-nt ScFvドメイン	675
149363-aa VH	676
149363-aa VL	677
149363-aa 完全なCAR	678

【０７１７】

【表１２８】

149363-nt 完全な CAR	679
149364	
149364-aa ScFvドメイン	680
149364-nt ScFvドメイン	681
149364-aa VH	682
149364-aa VL	683
149364-aa 完全な CAR	684
149364-nt 完全な CAR	685
149365	
149365-aa ScFvドメイン	686
149365-nt ScFvドメイン	687
149365-aa VH	688
149365-aa VL	689
149365-aa 完全な CAR	690
149365-nt 完全な CAR	691
149366	
149366-aa ScFvドメイン	692
149366-nt ScFvドメイン	693
149366-aa VH	694
149366-aa VL	695
149366-aa 完全な CAR	696
149366-nt 完全な CAR	697
149367	
149367-aa ScFvドメイン	698
149367-nt ScFvドメイン	699
149367-aa VH	700
149367-aa VL	701
149367-aa 完全な CAR	702
149367-nt 完全な CAR	703
149368	
149368-aa ScFvドメイン	704
149368-nt ScFvドメイン	705
149368-aa VH	706
149368-aa VL	707
149368-aa 完全な CAR	708
149368-nt 完全な CAR	709
149369	
149369-aa ScFvドメイン	710
149369-nt ScFvドメイン	711
149369-aa VH	712
149369-aa VL	713
149369-aa 完全な CAR	714
149369-nt 完全な CAR	715
BCMA_EBB-C1978-A4	
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa ScFvドメイン	716
BCMA_EBB-C1978-A4 - nt ScFvドメイン	717
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa VH	718
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa VL	719
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa 完全な CART	720

【０７１８】

【表１２９】

BCMA_EBB-C1978-A4 - nt 完全な CART	721
BCMA_EBB-C1978-G1	
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa ScFvドメイン	722
BCMA_EBB-C1978-G1 - nt ScFvドメイン	723
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa VH	724
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa VL	725
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa 完全な CART	726
BCMA_EBB-C1978-G1 - nt 完全な CART	727
BCMA_EBB-C1979-C1	
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa ScFvドメイン	728
BCMA_EBB-C1979-C1 - nt ScFvドメイン	729
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa VH	730
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa VL	731
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa 完全な CART	732
BCMA_EBB-C1979-C1 - nt 完全な CART	733
BCMA_EBB-C1978-C7	
BCMA_EBB-C1978-C7 - aa ScFvドメイン	734
BCMA_EBB-C1978-C7 - nt ScFvドメイン	735
BCMA_EBB-C1978-C7 - aa VH	736
BCMA_EBB-C1978-C7 - aa VL	737
BCMA_EBB-C1978-C7 - aa 完全な CART	738
BCMA_EBB-C1978-C7 - nt 完全な CART	739
BCMA_EBB-C1978-D10	
BCMA_EBB-C1978-D10 - aa ScFvドメイン	740
BCMA_EBB-C1978-D10- nt ScFvドメイン	741
BCMA_EBB-C1978-D10 - aa VH	742
BCMA_EBB-C1978-D10- aa VL	743
BCMA_EBB-C1978-D10 - aa 完全な CART	744
BCMA_EBB-C1978-D10 - nt 完全な CART	745
BCMA_EBB-C1979-C12	
BCMA_EBB-C1979-C12- aa ScFvドメイン	746
BCMA_EBB-C1979-C12 - nt ScFvドメイン	747
BCMA_EBB-C1979-C12 - aa VH	748
BCMA_EBB-C1979-C12 - aa VL	749
BCMA_EBB-C1979-C12 - aa 完全な CART	750
BCMA_EBB-C1979-C12 - nt 完全な CART	751
BCMA_EBB-C1980-G4	
BCMA_EBB- C1980-G4- aa ScFvドメイン	752
BCMA_EBB- C1980-G4- nt ScFvドメイン	753
BCMA_EBB- C1980-G4- aa VH	754
BCMA_EBB- C1980-G4- aa VL	755
BCMA_EBB- C1980-G4- aa 完全な CART	756
BCMA_EBB- C1980-G4- nt 完全な CART	757
BCMA_EBB-C1980-D2	
BCMA_EBB- C1980-D2- aa ScFvドメイン	758
BCMA_EBB- C1980-D2- nt ScFvドメイン	759
BCMA_EBB- C1980-D2- aa VH	760
BCMA_EBB- C1980-D2- aa VL	761
BCMA_EBB- C1980-D2- aa 完全な CART	762

【０７１９】

【表１３０】

BCMA_EBB- C1980-D2- nt 完全な CART	763
BCMA_EBB-C1978-A10	
BCMA_EBB- C1978-A10- aa ScFvドメイン	764
BCMA_EBB- C1978-A10- nt ScFvドメイン	765
BCMA_EBB- C1978-A10- aa VH	766
BCMA_EBB- C1978-A10- aa VL	767
BCMA_EBB- C1978-A10- aa 完全な CART	768
BCMA_EBB- C1978-A10- nt 完全な CART	769
BCMA_EBB-C1978-D4	
BCMA_EBB- C1978-D4- aa ScFvドメイン	770
BCMA_EBB- C1978-D4- nt ScFvドメイン	771
BCMA_EBB- C1978-D4- aa VH	772
BCMA_EBB- C1978-D4- aa VL	773
BCMA_EBB- C1978-D4- aa 完全な CART	774
BCMA_EBB- C1978-D4- nt 完全な CART	775
BCMA_EBB-C1980-A2	
BCMA_EBB- C1980-A2- aa ScFvドメイン	776
BCMA_EBB- C1980-A2- nt ScFvドメイン	777
BCMA_EBB- C1980-A2- aa VH	778
BCMA_EBB- C1980-A2- aa VL	779
BCMA_EBB- C1980-A2- aa 完全な CART	780
BCMA_EBB- C1980-A2- nt 完全な CART	781
BCMA_EBB-C1981-C3	
BCMA_EBB- C1981-C3- aa ScFvドメイン	782
BCMA_EBB- C1981-C3- nt ScFvドメイン	783
BCMA_EBB- C1981-C3- aa VH	784
BCMA_EBB- C1981-C3- aa VL	785
BCMA_EBB- C1981-C3- aa 完全な CART	786
BCMA_EBB- C1981-C3- nt 完全な CART	787
BCMA_EBB-C1978-G4	
BCMA_EBB- C1978-G4- aa ScFvドメイン	788
BCMA_EBB- C1978-G4- nt ScFvドメイン	789
BCMA_EBB- C1978-G4- aa VH	790
BCMA_EBB- C1978-G4- aa VL	791
BCMA_EBB- C1978-G4- aa 完全な CART	792
BCMA_EBB- C1978-G4- nt 完全な CART	793

【０７２０】

【表１３１】

表 18. 例示的な BCMA 結合ドメインのアミノ酸配列

配列番号	説明
ER26	
配列番号794	J6M0 VH
配列番号795	J6M0 VL
配列番号796	ER26の抗-BCMA重鎖
配列番号 797	ER26の抗-BCMA軽鎖
BQ76	
配列番号 798	17A5 VH
配列番号 799	17A5 VL
配列番号 800	BQ76の抗-BCMA重鎖
配列番号 801	BQ76の抗-BCMA軽鎖
BU76	
配列番号 802	C11D5 VH
配列番号 803	C11D5 VL
配列番号 804	BU76の抗-BCMA重鎖
配列番号 805	BU76の抗-BCMA軽鎖
EE11	
配列番号 806	83A10 VH
配列番号 807	83A10 VL
配列番号 808	EE11の抗-BCMA scFv-Fc
EM90	
配列番号 809	説明 EM90の軽鎖
配列番号 810	EM90の抗-BCMA重鎖

【０７２１】

抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲコンストラクトにおいて使用され得るさらなる例示的なＢＣＭＡ標的化配列は、全体として参照により本明細書に組み込まれる国際公開第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２０１６／０９０３２０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、米国特許出願公開第２０１５／０２３２５５７号明細書において開示される。

【０７２２】

実施形態において、さらなる例示的なＢＣＭＡ　ＣＡＲコンストラクトは、ＰＣＴ公開国際公開第２０１２／０１６３８０５号パンフレット（その内容が全体として参照により本明細書によって組み込まれる）からのＶＨ及びＶＬ配列を使用して作製される。例示的なＢＣＭＡ　ＣＡＲコンストラクト及びそれらの対応するＤＮＡ配列は、表１７において示される。

【０７２３】

ＣＤ２２　ＣＡＲ

他の実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、ＣＤ２２に特異的に結合することができ、例えば、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１６／１６４７３１号パンフレットによるＣＡＲ分子又は抗原結合ドメイン（例えば、ヒト化抗原結合ドメイン）を含み得る。

【０７２４】

実施形態において、ＣＡＲ分子は、ＣＤ２２（ＣＤ２２　ＣＡＲ）に特異的に結合する抗原結合ドメインを含む。一実施形態では、抗原結合ドメインは、ヒトＣＤ２２を標的化する。一実施形態では、抗原結合ドメインは、本明細書に記載されるとおりの単鎖Ｆｖ配列を含む。

【０７２５】

ヒトＣＤ２２　ＣＡＲの配列は、下に提供される。いくつかの実施形態では、ヒトＣＤ２２　ＣＡＲは、ＣＡＲ２２－２６である。

ヒトＣＤ２２　ＣＡＲ　ｓｃＦｖ配列（ＶＨ－（Ｇ４Ｓ）３－ＶＬ）

【化４７】

EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGR
VSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGG
GSQSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSK
SGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVL (配列番号811)

ヒトＣＤ２２　ＣＡＲ重鎖可変領域

【化４８】

EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDYA
SSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVS
S (配列番号812)

ヒトＣＤ２２　ＣＡＲ軽鎖可変領域

【化４９】

QSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRF
SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVL (配列番号813)

【０７２６】

【表１３２】

表 19. CD22 CAR (CAR22-65)の重鎖可変ドメイン CDR

候補	HCDR1	配列番号	HCDR2	配列番号	HCDR3	配列番号
CAR22-65 組合せ	GDSMLS NSDTWN	814	RTYHRSTWYDDYA SSVRG	816	VRLQDGNSW SDAFDV	817
CAR22-65 Kabat	SNSDTW N	815	RTYHRSTWYDDYA SSVRG	816	VRLQDGNSW SDAFDV	817

【０７２７】
【表１３３】

表 20. CD22 CAR (CAR22-65)の軽鎖可変ドメイン CDR。表中の LC CDR 配列は、Kabat 又は組み合わされ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	818	DVSNRPS	819	SSYTSSSTLYV	820

【０７２８】
いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、表１９において列挙されるいずれかの重鎖結合ドメインアミノ酸配列の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さらに、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３を含む。実施形態において、抗原結合ドメインは、表２０において列挙されるＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３アミノ酸配列を含む。
【０７２９】
いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、表２０において列挙されるいずれかの軽鎖結合ドメインアミノ酸配列のＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３の１つ、２つ又は全て並びに表１９において列挙されるいずれかの重鎖結合ドメインアミノ酸配列のＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３の１つ、２つ又は全てを含む。
【０７３０】
いくつかの実施形態では、ＣＤＲは、Ｋａｂａｔ番号付けスキーム、Ｃｈｏｔｈｉａ番号付けスキーム又はその組合せに従って定義される。
【０７３１】
さらなる抗ＣＤ２０　ｓｃＦｖ配列が、下に提供される。
ヒトＣＤ２２　ＣＡＲ　ｓｃＦｖ配列（ＶＨ－（Ｇ４Ｓ）－ＶＬ）
【化５０】

EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDYA
SSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVS
SGGGGSQSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPS
GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVL (配列番号1447)

ヒトＣＤ２２　ＣＡＲ　ｓｃＦｖ配列（ＶＬ－（Ｇ４Ｓ）３－ＶＨ）

【化５１】

QSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRF
SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQ
LQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSV
RGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSS
(配列番号1448)

ヒトＣＤ２２　ＣＡＲ　ｓｃＦｖ配列（ＶＬ－（Ｇ４Ｓ）－ＶＨ）

【化５２】

QSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRF
SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQLTVLGGGGSEVQLQQSGPGLVK
PSQTLSLTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDYASSVRGRVSINVDT
SKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNSWSDAFDVWGQGTMVTVSS (配列番号1449)

【０７３２】

ＶＬ及びＶＨドメインがｓｃＦｖにおいて現れる順序は変動する場合があり（すなわち、ＶＬ－ＶＨ又はＶＨ－ＶＬ方向）、各サブユニットが配列ＧＧＧＧＳ（配列番号１６８）（例えば、（Ｇ４Ｓ）$_3$（配列番号１４２）又は（Ｇ４Ｓ）$_4$（配列番号１４１））を含む「Ｇ４Ｓ」（配列番号１６８）サブユニットの１つ、２つ、３つ又は４つのコピーのいずれかは、可変ドメインに連結して、ｓｃＦｖドメインの全体を生成できる。代わりに、ＣＡＲコンストラクトは、例えば、配列ＧＳＴＳＧＳＧＫＰＧＳＧＥＧＳＴＫＧ（配列番号８２１）を含むリンカーを含み得る。代わりに、ＣＡＲコンストラクトは、例えば、配列ＬＡＥＡＡＡＫ（配列番号８２２）を含むリンカーを含み得る。ある実施形態において、ＣＡＲコンストラクトは、ＶＬとＶＨドメインの間にリンカーを含まない。

【０７３３】

これらのクローンは全て、ＣＤ３ゼータ鎖に由来する共刺激ドメインの単一のドメインにおけるＱ／Ｋ残基の変化を含有した。

【０７３４】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣＡＲ分子は、二重特異性ＣＡＲ分子である。一実施形態では、二重特異性ＣＡＲ分子は、ＣＤ１９に対する第１の結合特異性、例えば、ＣＤ１９に対するＶＬ１－ＶＨ１結合特異性及びＣＤ２２に対する第２の結合特異性、例えば、ＣＤ２２に対するＶＬ２－ＶＨ２又はＶＨ２－ＶＬ１結合特異性を含む。一実施形態では、第１及び第２の結合特異性は、連続的なポリペプチド鎖、例えば、単鎖中にある。いくつかの実施形態では、第１及び第２の結合特異性は、任意選択により、本明細書に記載されるリンカーを含む。いくつかの実施形態では、二重特異性ＣＡＲ分子は、表５及び表３０において開示されるアミノ酸配列を含むＣＤ１９結合ドメインを含む。

【０７３５】

一実施形態では、二重特異性ＣＡＲ分子は、ＣＤ２２に対する第１の結合特異性、例えば、ＣＤ２２に対するＶＬ２－ＶＨ２又はＶＨ２－ＶＬ１結合特異性及びＣＤ１９に対する第２の結合特異性、例えば、ＣＤ１９に対するＶＬ１－ＶＨ１結合特異性を含む。一実施形態では、第１及び第２の結合特異性は、連続的なポリペプチド鎖、例えば、単鎖中にある。いくつかの実施形態では、第１及び第２の結合特異性は、任意選択により、本明細書に記載されるリンカーを含む。

【０７３６】

いくつかの実施形態では、リンカーは、（Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ）$_n$リンカーであり、ここで、ｎは、１、２、３、４、５又は６である。いくつかの実施形態では、リンカーは、（Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ）$_n$であり、ここで、ｎ＝１（配列番号１６８）であり、例えば、リン

カーは、アミノ酸配列Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ（配列番号１６８）を有する。いくつかの実施形態では、リンカーは、（Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ）$_n$であり、ここで、ｎ＝３（配列番号１４２）である。いくつかの実施形態では、リンカーは、（Ｇｌｙ$_4$－Ｓｅｒ）$_n$であり、ここで、ｎ＝４（配列番号１４１）である。いくつかの実施形態では、リンカーは、アミノ酸配列：ＬＡＥＡＡＡＫ（配列番号８２２）を含む、例えば、それからなる。

【０７３７】

ＣＤ２０　ＣＡＲ

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣＡＲ発現細胞は、ＣＤ２０　ＣＡＲ発現細胞（例えば、ヒトＣＤ２０に結合するＣＡＲを発現する細胞）である。いくつかの実施形態では、ＣＤ２０　ＣＡＲ発現細胞は、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ＰＣＴ／米国特許出願公開第２０１７／０５５６２７号明細書に従う抗原結合ドメインを含む。例示的なＣＤ２０結合配列又はＣＤ２０　ＣＡＲ配列は、例えば、参照により本明細書に組み込まれるＰＣＴ／米国特許出願公開第２０１７／０５５６２７号明細書の表１～５において開示される。いくつかの実施形態では、ＣＤ２０結合配列又はＣＤ２０　ＣＡＲは、参照により本明細書に組み込まれるＰＣＴ／米国特許出願公開第２０１７／０５５６２７号明細書又は国際公開第２０１６／１６４７３１号パンフレットにおいて開示されるＣＤ２０　ＣＡＲのＣＤＲ、可変領域、ｓｃＦｖ又は全長配列を含む。例示的な抗ＣＤ２０配列は、表３２において開示される配列のＣＤＲ、可変領域、ｓｃＦｖ又は全長ＣＡＲ配列（又はそれと少なくとも約８５％、９０％、９５％、９９％以上同一であり、且つ／又は１つ、２つ、３つ以上の置換、挿入、欠失又は改変を有する配列）を含み得る。

【０７３８】

【表１３４】

表 32. CD20 CAR 配列。

配列番号	Ab 領域
CD20-C3H2	
配列番号 838 (Kabat)	HCDR1
配列番号 839 (Kabat)	HCDR2
配列番号 840 (Kabat)	HCDR3
配列番号 841 (Chothia)	HCDR1
配列番号 842 (Chothia)	HCDR2
配列番号 843 (Chothia)	HCDR3
配列番号 844 (IMGT)	HCDR1
配列番号 845 (IMGT)	HCDR2
配列番号 846 (IMGT)	HCDR3
配列番号 847 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 848 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2
配列番号 849 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 850	VH
配列番号 851	DNA VH
配列番号 852 (Kabat)	LCDR1
配列番号 853 (Kabat)	LCDR2
配列番号 854 (Kabat)	LCDR3
配列番号 855 (Chothia)	LCDR1
配列番号 856 (Chothia)	LCDR2
配列番号 857 (Chothia)	LCDR3
配列番号 858 (IMGT)	LCDR1
配列番号 859 (IMGT)	LCDR2
配列番号 860 (IMGT)	LCDR3
配列番号 861 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 862 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 863 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 864	VL
配列番号 865	DNA VL
配列番号 866	リンカー
配列番号 867	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 868	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 869	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 870	完全な CAR 核酸配列
CD20-C5H1	
配列番号 871 (Kabat)	HCDR1
配列番号 872 (Kabat)	HCDR2
配列番号 873 (Kabat)	HCDR3
配列番号 874 (Chothia)	HCDR1
配列番号 875 (Chothia)	HCDR2
配列番号 876 (Chothia)	HCDR3
配列番号 877 (IMGT)	HCDR1
配列番号 878 (IMGT)	HCDR2
配列番号 879 (IMGT)	HCDR3
配列番号 880 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 881 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2

【０７３９】

【表１３５】

配列番号 882 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 883	VH
配列番号 884	DNA VH
配列番号 885 (Kabat)	LCDR1
配列番号 886 (Kabat)	LCDR2
配列番号 887 (Kabat)	LCDR3
配列番号 888 (Chothia)	LCDR1
配列番号 889 (Chothia)	LCDR2
配列番号 890 (Chothia)	LCDR3
配列番号 891 (IMGT)	LCDR1
配列番号 892 (IMGT)	LCDR2
配列番号 893 (IMGT)	LCDR3
配列番号 894 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 895 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 896 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 897	VL
配列番号 898	DNA VL
配列番号 899	リンカー
配列番号 900	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 901	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 902	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 903	完全な CAR 核酸配列
CD20-C2H1	
配列番号 904 (Kabat)	HCDR1
配列番号 905 (Kabat)	HCDR2
配列番号 906 (Kabat)	HCDR3
配列番号 907 (Chothia)	HCDR1
配列番号 908 (Chothia)	HCDR2
配列番号 909 (Chothia)	HCDR3
配列番号 910 (IMGT)	HCDR1
配列番号 911 (IMGT)	HCDR2
配列番号 912 (IMGT)	HCDR3
配列番号 913 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 914 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2
配列番号 915 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 916	VH
配列番号 917	DNA VH
配列番号 918 (Kabat)	LCDR1
配列番号 919 (Kabat)	LCDR2
配列番号 920 (Kabat)	LCDR3
配列番号 921 (Chothia)	LCDR1
配列番号 922 (Chothia)	LCDR2
配列番号 923 (Chothia)	LCDR3
配列番号 924 (IMGT)	LCDR1
配列番号 925 (IMGT)	LCDR2
配列番号 926 (IMGT)	LCDR3
配列番号 927 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 928 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 929 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3

【０７４０】

【表１３６】

配列番号 930	VL
配列番号 931	DNA VL
配列番号 932	リンカー
配列番号 933	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 934	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 935	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 936	完全な CAR 核酸配列
CD20-C2H2	
配列番号 937 (Kabat)	HCDR1
配列番号 938 (Kabat)	HCDR2
配列番号 939 (Kabat)	HCDR3
配列番号 940 (Chothia)	HCDR1
配列番号 941 (Chothia)	HCDR2
配列番号 942 (Chothia)	HCDR3
配列番号 943 (IMGT)	HCDR1
配列番号 944 (IMGT)	HCDR2
配列番号 945 (IMGT)	HCDR3
配列番号 946 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 947 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2
配列番号 948 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 949	VH
配列番号 950	DNA VH
配列番号 951 (Kabat)	LCDR1
配列番号 952 (Kabat)	LCDR2
配列番号 953 (Kabat)	LCDR3
配列番号 954 (Chothia)	LCDR1
配列番号 955 (Chothia)	LCDR2
配列番号 956 (Chothia)	LCDR3
配列番号 957 (IMGT)	LCDR1
配列番号 958 (IMGT)	LCDR2
配列番号 959 (IMGT)	LCDR3
配列番号 960 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 961 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 962 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 963	VL
配列番号 964	DNA VL
配列番号 965	リンカー
配列番号 966	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 967	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 968	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 969	完全な CAR 核酸配列
CD20-C2H3	
配列番号 970 (Kabat)	HCDR1
配列番号 971 (Kabat)	HCDR2
配列番号 972 (Kabat)	HCDR3
配列番号 973 (Chothia)	HCDR1
配列番号 974 (Chothia)	HCDR2
配列番号 975 (Chothia)	HCDR3
配列番号 976 (IMGT)	HCDR1

【０７４１】

【表１３７】

配列番号 977 (IMGT)	HCDR2
配列番号 978 (IMGT)	HCDR3
配列番号 979 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 980 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2
配列番号 981 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 982	VH
配列番号 983	DNA VH
配列番号 984 (Kabat)	LCDR1
配列番号 985 (Kabat)	LCDR2
配列番号 986 (Kabat)	LCDR3
配列番号 987 (Chothia)	LCDR1
配列番号 988 (Chothia)	LCDR2
配列番号 989 (Chothia)	LCDR3
配列番号 990 (IMGT)	LCDR1
配列番号 991 (IMGT)	LCDR2
配列番号 992 (IMGT)	LCDR3
配列番号 993 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 994 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 995 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 996	VL
配列番号 997	DNA VL
配列番号 998	リンカー
配列番号 999	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1000	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1001	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 1002	完全な CAR 核酸配列
CD20-C2H4	
配列番号 1003 (Kabat)	HCDR1
配列番号 1004 (Kabat)	HCDR2
配列番号 1005 (Kabat)	HCDR3
配列番号 1006 (Chothia)	HCDR1
配列番号 1007 (Chothia)	HCDR2
配列番号 1008 (Chothia)	HCDR3
配列番号 1009 (IMGT)	HCDR1
配列番号 1010 (IMGT)	HCDR2
配列番号 1011 (IMGT)	HCDR3
配列番号 1012 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 1013 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2
配列番号 1014 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 1015	VH
配列番号 1016	DNA VH
配列番号 1017 (Kabat)	LCDR1
配列番号 1018 (Kabat)	LCDR2
配列番号 1019 (Kabat)	LCDR3
配列番号 1020 (Chothia)	LCDR1
配列番号 1021 (Chothia)	LCDR2
配列番号 1022 (Chothia)	LCDR3
配列番号 1023 (IMGT)	LCDR1
配列番号 1024 (IMGT)	LCDR2

【０７４２】

【表１３８】

配列番号 1025 (IMGT)	LCDR3
配列番号 1026 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 1027 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 1028 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 1029	VL
配列番号 1030	DNA VL
配列番号 1031	リンカー
配列番号 1032	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1033	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1034	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 1035	完全な CAR 核酸配列
CD20-C3H1	
配列番号 1036 (Kabat)	HCDR1
配列番号 1037 (Kabat)	HCDR2
配列番号 1038 (Kabat)	HCDR3
配列番号 1039 (Chothia)	HCDR1
配列番号 1040 (Chothia)	HCDR2
配列番号 1041 (Chothia)	HCDR3
配列番号 1042 (IMGT)	HCDR1
配列番号 1043 (IMGT)	HCDR2
配列番号 1044 (IMGT)	HCDR3
配列番号 1045 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 1046 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2
配列番号 1047 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 1048	VH
配列番号 1049	DNA VH
配列番号 1050 (Kabat)	LCDR1
配列番号 1051 (Kabat)	LCDR2
配列番号 1052 (Kabat)	LCDR3
配列番号 1053 (Chothia)	LCDR1
配列番号 1054 (Chothia)	LCDR2
配列番号 1055 (Chothia)	LCDR3
配列番号 1056 (IMGT)	LCDR1
配列番号 1057 (IMGT)	LCDR2
配列番号 1058 (IMGT)	LCDR3
配列番号 1059 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 1060 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 1061 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 1062	VL
配列番号 1063	DNA VL
配列番号 1064	リンカー
配列番号 1065	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1066	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1067	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 1068	完全な CAR 核酸配列
CD20-C3H3	
配列番号 1069 (Kabat)	HCDR1
配列番号 1070 (Kabat)	HCDR2
配列番号 1071 (Kabat)	HCDR3

【０７４３】

【表１３９】

配列番号 1072 (Chothia)	HCDR1
配列番号 1073 (Chothia)	HCDR2
配列番号 1074 (Chothia)	HCDR3
配列番号 1075 (IMGT)	HCDR1
配列番号 1076 (IMGT)	HCDR2
配列番号 1077 (IMGT)	HCDR3
配列番号 1078	VH
配列番号 1079	DNA VH
配列番号 1080 (Kabat)	LCDR1
配列番号 1081 (Kabat)	LCDR2
配列番号 1082 (Kabat)	LCDR3
配列番号 1083 (Chothia)	LCDR1
配列番号 1084 (Chothia)	LCDR2
配列番号 1085 (Chothia)	LCDR3
配列番号 1086 (IMGT)	LCDR1
配列番号 1087 (IMGT)	LCDR2
配列番号 1088 (IMGT)	LCDR3
配列番号 1089 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 1090 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 1091 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 1092	VL
配列番号 1093	DNA VL
配列番号 1094	リンカー
配列番号 1095	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1096	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1097	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 1098	完全な CAR 核酸配列
CD20-C3H4	
配列番号 1099 (Kabat)	HCDR1
配列番号 1100 (Kabat)	HCDR2
配列番号 1101 (Kabat)	HCDR3
配列番号 1102 (Chothia)	HCDR1
配列番号 1103 (Chothia)	HCDR2
配列番号 1104 (Chothia)	HCDR3
配列番号 1105 (IMGT)	HCDR1
配列番号 1106 (IMGT)	HCDR2
配列番号 1107 (IMGT)	HCDR3
配列番号 1108 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 1109 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2
配列番号 1110 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 1111	VH
配列番号 1112	DNA VH
配列番号 1113 (Kabat)	LCDR1
配列番号 1114 (Kabat)	LCDR2
配列番号 1115 (Kabat)	LCDR3
配列番号 1116 (Chothia)	LCDR1
配列番号 1117 (Chothia)	LCDR2
配列番号 1118 (Chothia)	LCDR3
配列番号 1119 (IMGT)	LCDR1

【０７４４】

【表１４０】

配列番号 1120 (IMGT)	LCDR2
配列番号 1121 (IMGT)	LCDR3
配列番号 1122 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 1123 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 1124 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 1125	VL
配列番号 1126	DNA VL
配列番号 1127	リンカー
配列番号 1128	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1129	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1130	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 1131	完全な CAR 核酸配列
CD20-C5H2	
配列番号 1132 (Kabat)	HCDR1
配列番号 1133 (Kabat)	HCDR2
配列番号 1134 (Kabat)	HCDR3
配列番号 1135 (Chothia)	HCDR1
配列番号 1136 (Chothia)	HCDR2
配列番号 1137 (Chothia)	HCDR3
配列番号 1138 (IMGT)	HCDR1
配列番号 1139 (IMGT)	HCDR2
配列番号 1140 (IMGT)	HCDR3
配列番号 1141 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 1142 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2
配列番号 1143 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 1144	VH
配列番号 1145	DNA VH
配列番号 1146 (Kabat)	LCDR1
配列番号 1147 (Kabat)	LCDR2
配列番号 1148 (Kabat)	LCDR3
配列番号 1149 (Chothia)	LCDR1
配列番号 1150 (Chothia)	LCDR2
配列番号 1151 (Chothia)	LCDR3
配列番号 1152 (IMGT)	LCDR1
配列番号 1153 (IMGT)	LCDR2
配列番号 1154 (IMGT)	LCDR3
配列番号 1155 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 1156 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 1157 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 1158	VL
配列番号 1159	DNA VL
配列番号 1160	リンカー
配列番号 1161	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1162	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1163	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 1164	完全な CAR 核酸配列
CD20-C5H3	
配列番号 1165 (Kabat)	HCDR1
配列番号 1166 (Kabat)	HCDR2

【０７４５】

【表１４１】

配列番号 1167 (Kabat)	HCDR3
配列番号 1168 (Chothia)	HCDR1
配列番号 1169 (Chothia)	HCDR2
配列番号 1170 (Chothia)	HCDR3
配列番号 1171 (IMGT)	HCDR1
配列番号 1172 (IMGT)	HCDR2
配列番号 1173 (IMGT)	HCDR3
配列番号 1174 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 1175 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2
配列番号 1176 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 1177	VH
配列番号 1178	DNA VH
配列番号 1179 (Kabat)	LCDR1
配列番号 1180 (Kabat)	LCDR2
配列番号 1181 (Kabat)	LCDR3
配列番号 1182 (Chothia)	LCDR1
配列番号 1183 (Chothia)	LCDR2
配列番号 1184 (Chothia)	LCDR3
配列番号 1185 (IMGT)	LCDR1
配列番号 1186 (IMGT)	LCDR2
配列番号 1187 (IMGT)	LCDR3
配列番号 1188 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 1189 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 1190 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 1191	VL
配列番号 1192	DNA VL
配列番号 1193	リンカー
配列番号 1194	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1195	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1196	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 1197	完全な CAR 核酸配列
CD20-C5H4	
配列番号 1198 (Kabat)	HCDR1
配列番号 1199 (Kabat)	HCDR2
配列番号 1200 (Kabat)	HCDR3
配列番号 1201 (Chothia)	HCDR1
配列番号 1202 (Chothia)	HCDR2
配列番号 1203 (Chothia)	HCDR3
配列番号 1204 (IMGT)	HCDR1
配列番号 1205 (IMGT)	HCDR2
配列番号 1206 (IMGT)	HCDR3
配列番号 1207 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 1208 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2
配列番号 1209 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 1210	VH
配列番号 1211	DNA VH
配列番号 1212 (Kabat)	LCDR1
配列番号 1213 (Kabat)	LCDR2
配列番号 1214 (Kabat)	LCDR3

【０７４６】

【表１４２】

配列番号 1215 (Chothia)	LCDR1
配列番号 1216 (Chothia)	LCDR2
配列番号 1217 (Chothia)	LCDR3
配列番号 1218 (IMGT)	LCDR1
配列番号 1219 (IMGT)	LCDR2
配列番号 1220 (IMGT)	LCDR3
配列番号 1221 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 1222 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 1223 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 1224	VL
配列番号 1225	DNA VL
配列番号 1226	リンカー
配列番号 1227	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1228	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1229	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 1230	完全な CAR 核酸配列
CD20-C8H1	
配列番号 1231 (Kabat)	HCDR1
配列番号 1232 (Kabat)	HCDR2
配列番号 1233 (Kabat)	HCDR3
配列番号 1234 (Chothia)	HCDR1
配列番号 1235 (Chothia)	HCDR2
配列番号 1236 (Chothia)	HCDR3
配列番号 1237 (IMGT)	HCDR1
配列番号 1238 (IMGT)	HCDR2
配列番号 1239 (IMGT)	HCDR3
配列番号 1240 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 1241 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2
配列番号 1242 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 1243	VH
配列番号 1244	DNA VH
配列番号 1245 (Kabat)	LCDR1
配列番号 1246 (Kabat)	LCDR2
配列番号 1247 (Kabat)	LCDR3
配列番号 1248 (Chothia)	LCDR1
配列番号 1249 (Chothia)	LCDR2
配列番号 1250 (Chothia)	LCDR3
配列番号 1251 (IMGT)	LCDR1
配列番号 1252 (IMGT)	LCDR2
配列番号 1253 (IMGT)	LCDR3
配列番号 1254 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 1255 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 1256 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 1257	VL
配列番号 1258	DNA VL
配列番号 1259	リンカー
配列番号 1260	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1261	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1262	完全な CAR アミノ酸配列

【０７４７】

【表１４３】

配列番号 1263	完全な CAR 核酸配列
CD20-C8H2	
配列番号 1264 (Kabat)	HCDR1
配列番号 1265 (Kabat)	HCDR2
配列番号 1266 (Kabat)	HCDR3
配列番号 1267 (Chothia)	HCDR1
配列番号 1268 (Chothia)	HCDR2
配列番号 1269 (Chothia)	HCDR3
配列番号 1270 (IMGT)	HCDR1
配列番号 1271 (IMGT)	HCDR2
配列番号 1272 (IMGT)	HCDR3
配列番号 1273 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 1274 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2
配列番号 1275 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 1276	VH
配列番号 1277	DNA VH
配列番号 1278 (Kabat)	LCDR1
配列番号 1279 (Kabat)	LCDR2
配列番号 1280 (Kabat)	LCDR3
配列番号 1281 (Chothia)	LCDR1
配列番号 1282 (Chothia)	LCDR2
配列番号 1283 (Chothia)	LCDR3
配列番号 1284 (IMGT)	LCDR1
配列番号 1285 (IMGT)	LCDR2
配列番号 1286 (IMGT)	LCDR3
配列番号 1287 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 1288 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 1289 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 1290	VL
配列番号 1291	DNA VL
配列番号 1292	リンカー
配列番号 1293	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1294	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1295	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 1296	完全な CAR 核酸配列
CD20-C8H3	
配列番号 1297 (Kabat)	HCDR1
配列番号 1298 (Kabat)	HCDR2
配列番号 1299 (Kabat)	HCDR3
配列番号 1300 (Chothia)	HCDR1
配列番号 1301 (Chothia)	HCDR2
配列番号 1302 (Chothia)	HCDR3
配列番号 1303 (IMGT)	HCDR1
配列番号 1304 (IMGT)	HCDR2
配列番号 1305 (IMGT)	HCDR3
配列番号 1306 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 1307 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2
配列番号 1308 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 1309	VH

【０７４８】

【表１４４】

配列番号 1310	DNA VH
配列番号 1311 (Kabat)	LCDR1
配列番号 1312 (Kabat)	LCDR2
配列番号 1313 (Kabat)	LCDR3
配列番号 1314 (Chothia)	LCDR1
配列番号 1315 (Chothia)	LCDR2
配列番号 1316 (Chothia)	LCDR3
配列番号 1317 (IMGT)	LCDR1
配列番号 1318 (IMGT)	LCDR2
配列番号 1319 (IMGT)	LCDR3
配列番号 1320 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 1321 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 1322 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 1323	VL
配列番号 1324	DNA VL
配列番号 1325	リンカー
配列番号 1326	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1327	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1328	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 1329	完全な CAR 核酸配列
CD20-C8H4	
配列番号 1330 (Kabat)	HCDR1
配列番号 1331 (Kabat)	HCDR2
配列番号 1332 (Kabat)	HCDR3
配列番号 1333 (Chothia)	HCDR1
配列番号 1334 (Chothia)	HCDR2
配列番号 1335 (Chothia)	HCDR3
配列番号 1336 (IMGT)	HCDR1
配列番号 1337 (IMGT)	HCDR2
配列番号 1338 (IMGT)	HCDR3
配列番号 1339 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR1
配列番号 1340 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR2
配列番号 1341 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	HCDR3
配列番号 1342	VH
配列番号 1343	DNA VH
配列番号 1344 (Kabat)	LCDR1
配列番号 1345 (Kabat)	LCDR2
配列番号 1346 (Kabat)	LCDR3
配列番号 1347 (Chothia)	LCDR1
配列番号 1348 (Chothia)	LCDR2
配列番号 1349 (Chothia)	LCDR3
配列番号 1350 (IMGT)	LCDR1
配列番号 1351 (IMGT)	LCDR2
配列番号 1352 (IMGT)	LCDR3
配列番号 1353 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR1
配列番号 1354 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR2
配列番号 1355 (Chothia 及び Kabat の組合せ)	LCDR3
配列番号 1356	VL
配列番号 1357	DNA VL

【０７４９】

【表１４５】

配列番号 1358	リンカー
配列番号 1359	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1360	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1361	完全な CAR アミノ酸配列
配列番号 1362	完全な CAR 核酸配列
CD20-C2	
配列番号 1363	VH
配列番号 1364	DNA VH
配列番号 1365	VL
配列番号 1366	DNA VL
CD20-C3	
配列番号 1367	VH
配列番号 1368	DNA VH
配列番号 1369	VL
配列番号 1370	DNA VL
CD20-C5	
配列番号 1371	VH
配列番号 1372	DNA VH
配列番号 1373	VL
配列番号 1374	DNA VL
CD20-C6	
配列番号 1375	VH
配列番号 1376	DNA VH
配列番号 1377	VL
配列番号 1378	DNA VL
CD20-C7	
配列番号 1379	VH
配列番号 1380	DNA VH
配列番号 1381	VL
配列番号 1382	DNA VL
CD20-C8	
配列番号 1383	VH
配列番号 1384	DNA VH
配列番号 1385	VL
配列番号 1386	DNA VL
CD20-3m	
配列番号 1387	VH
配列番号 1388	DNA VH
配列番号 1389	VL
配列番号 1390	DNA VL
配列番号 1391	リンカー
配列番号 1392	scFv (VH-リンカー-VL)
CD20-3J	
配列番号 1393	VH
配列番号 1394	DNA VH
配列番号 1395	VL
配列番号 1396	DNA VL
配列番号 1397	リンカー
配列番号 1398	scFv (VH-リンカー-VL)

【０７５０】

【表１４６】

CD20-3H5k1	
配列番号 1399	VH
配列番号 1400	DNA VH
配列番号 1401	VL
配列番号 1402	DNA VL
配列番号 1403	リンカー
配列番号 1404	scFv (VH-リンカー-VL)
CD20-3H5k3	
配列番号 1405	VH
配列番号 1406	DNA VH
配列番号 1407	VL
配列番号 1408	DNA VL
配列番号 1409	リンカー
配列番号 1410	scFv (VH-リンカー-VL)
CD20-Ofa	
配列番号 1411 (Kabat)	HCDR1
配列番号 1412 (Kabat)	HCDR2
配列番号 1413 (Kabat)	HCDR3
配列番号 1414 (Chothia)	HCDR1
配列番号 1415 (Chothia)	HCDR2
配列番号 1416 (Chothia)	HCDR3
配列番号 1417 (IMGT)	HCDR1
配列番号 1418 (IMGT)	HCDR2
配列番号 1419 (IMGT)	HCDR3
配列番号 1420	VH
配列番号 1421	DNA VH
配列番号 1422 (Kabat)	LCDR1
配列番号 1423 (Kabat)	LCDR2
配列番号 1424 (Kabat)	LCDR3
配列番号 1425 (Chothia)	LCDR1
配列番号 1426 (Chothia)	LCDR2
配列番号 1427 (Chothia)	LCDR3
配列番号 1428 (IMGT)	LCDR1
配列番号 1429 (IMGT)	LCDR2
配列番号 1430 (IMGT)	LCDR3
配列番号 1431	VL
配列番号 1432	DNA VL
配列番号 1433	リンカー
配列番号 1434	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1435	DNA scFv (VH-リンカー-VL)
CD20-3	
配列番号 1436	VH
配列番号 1437	VL
配列番号 1438	リンカー
配列番号 1439	scFv (VH-リンカー-VL)
CD20-8aBBz	
配列番号 1440	VH
配列番号 1441	DNA VH
配列番号 1442	VL

【０７５１】

【表１４７】

配列番号 1443	DNA VL
配列番号 1444	リンカー
配列番号 1445	scFv (VH-リンカー-VL)
配列番号 1446	DNA scFv (VH-リンカー-VL)

【０７５２】

ＣＬＬ－１　ＣＡＲ
　他の実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、ＣＬＬ－１に特異的に結合することができ、例えば、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ＣＡＲ分子又は抗原結合ドメインを含み得る。例示的なアミノ酸配列並びにＣＬＬ－１　ＣＡＲ分子及び抗原結合ドメイン（例えば、Ｋａｂａｔ又はＣｈｏｔｈｉａに従う１つ、２つ、３つのＶＨ　ＣＤＲ；及び１つ、２つ、３つのＶＬ　ＣＤＲを含む）をコードするヌクレオチド配列は、国際公開第２０１６／０１４５３５号パンフレットにおいて提供される。
【０７５３】
ＧＦＲアルファ－４
　他の実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、ＧＦＲアルファ－４に特異的に結合することができ、例えば、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１６／０２５８８０号パンフレットの表２によるＣＡＲ分子又は抗原結合ドメインを含み得る。例示的なアミノ酸配列並びにＧＦＲアルファ－４　ＣＡＲ分子及び抗原結合ドメイン（例えば、Ｋａｂａｔ又はＣｈｏｔｈｉａに従う１つ、２つ、３つのＶＨ　ＣＤＲ；及び１つ、２つ、３つのＶＬ　ＣＤＲを含む）をコードするヌクレオチド配列は、国際公開第２０１６／０２５８８０号パンフレットにおいて提供される。
【０７５４】
　一実施形態では、本明細書に記載されるＣＡＲ分子のいずれかの抗原結合ドメイン（例えば、ＣＤ１９、ＣＤ１２３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＣＤ３３、メソセリン、ＢＣＭＡ及びＧＦＲアルファ－４のいずれか）は、上に列挙された抗体に由来する１つ、２つ又は３つ（例えば、３つ全て）の重鎖ＣＤＲ、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３並びに／又は上に列挙された抗原結合ドメインに由来する１つ、２つ又は３つ（例えば、３つ全て）の軽鎖ＣＤＲ、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３を含む。一実施形態では、抗原結合ドメインは、上に列挙又は記載される抗体の重鎖可変領域及び／又は可変軽鎖領域を含む。
【０７５５】
　一態様では、抗腫瘍抗原結合ドメインは、断片、例えば、単鎖可変断片（ｓｃＦｖ）である。一態様では、本明細書に記載されるとおりの抗癌関連抗原結合ドメインは、Ｆｖ、Ｆａｂ、（Ｆａｂ’）２、又二機能性（例えば、二重特異性）ハイブリッド抗体である（例えば、Ｌａｎｚａｖｅｃｃｈｉａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１７，１０５（１９８７））。一態様では、本発明の抗体及びその断片は、野生型又は増強された親和性を有する本明細書に記載されるとおりの癌関連抗原タンパク質と結合する。
【０７５６】
　いくつかの場合において、ｓｃＦｖは、当技術分野において知られる方法に従って作製され得る（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を参照のこと）。ｓｃＦｖ分子は、フレキシブルポリペプチドリンカーを使用してＶＨ及びＶＬ領域を合わせて連結することによって作製され得る。ｓｃＦｖ分子は、最適化された長さ及び／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。リンカーの長さは、ｓｃＦｖの可変領域がどのように折り畳まれ、相互作用するかに大きく影響を及ぼし得る。実際に、短いポリペプチドリンカーが利用される場合（例えば、５～１０個のアミノ酸）、鎖内のフォールディングが妨げられる。鎖内のフォールディングは、２つの可変領域を合わせて、機能性エピトープ結合部位を形成するのにも必要となる。リンカーの配向及びサイズの例に関しては、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、同第２００５／０１７５６０６号明細書、同第２００７／００１４７９４号明細書並びにＰＣＴ公開国際公開第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。
【０７５７】
別の態様では、抗原結合ドメインは、Ｔ細胞受容体（「ＴＣＲ」）又はその断片、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知られている。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によって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、フレキシブルペプチド）によって連結されたＴ細胞クローンに由来するＶα及びＶβを含有するｓｃＴＣＲが設計され得る。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非常に有用であるが、そのような抗原の断片（ペプチド）は、ＭＨＣによって癌細胞の表面上に提示される。
【０７５８】
さらなる例示的な抗原結合ドメイン及びＣＡＲ
一実施形態では、ＧＤ２に対する抗原結合ドメインは、例えば、Ｍｕｊｏｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．４７（４）：１０９８－１１０４（１９８７）；Ｃｈｅｕｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ４５（６）：２６４２－２６４９（１９８５）、Ｃｈｅｕｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ ５（９）：１４３０－１４４０（１９８７）、Ｃｈｅｕｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ １６（９）：３０５３－３０６０（１９９８）、Ｈａｎｄｇｒｅｔｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ ３５（３）：１９９－２０４（１９９２）において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。いくつかの実施形態では、ＧＤ２に対する抗原結合ドメインは、ｍＡｂ １４．１８、１４Ｇ２ａ、ｃｈ１４．１８、ｈｕ１４．１８、３Ｆ８、ｈｕ３Ｆ８、３Ｇ６、８Ｂ６、６０Ｃ３、１０Ｂ８、ＭＥ３６．１及び８Ｈ９から選択される抗体の抗原結合部分であり、例えば、国際公開第２０１２０３３８８５号パンフレット、国際公開第２０１３０４０３７１号パンフレット、国際公開第２０１３１９２２９４号パンフレット、国際公開第２０１３０６１２７３号パンフレット、国際公開第２０１３１２３０６１号パンフレット、国際公開第２０１３０７４９１６号パンフレット及び国際公開第２０１３８５５５２号パンフレットを参照されたい。いくつかの実施形態では、ＧＤ２に対する抗原結合ドメインは、米国特許出願公開第２０１００１５０９１０号明細書又はＰＣＴ公開番号国際公開第２０１１１６０１１９号パンフレットにおいて記載される抗体の抗原結合部分である。
【０７５９】
一実施形態では、Ｔｎ抗原、ｓＴｎ抗原、Ｔｎ－Ｏ－グリコペプチド抗原又はｓＴｎ－Ｏ－グリコペプチド抗原に対する抗原結合ドメインは、例えば、米国特許出願公開第２０１４／０１７８３６５号明細書、米国特許第８，４４０，７９８号明細書、欧州特許出願公開第２０８３８６８Ａ２号明細書、Ｂｒｏｏｋｓ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ １０７（２２）：１００５６－１００６１（２０１０）及びＳｔｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，ＯｎｃｏＩｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １（６）：８６３－８７３（２０１２）において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。
【０７６０】
一実施形態では、ＰＳＭＡに対する抗原結合ドメインは、例えば、Ｐａｒｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｘｐｒ Ｐｕｒｉｆ ８９（２）：１３６－１４５（２０１３）、米国特許出願公開第２０１１０２６８６５６号明細書（Ｊ５９１ ＳｃＦｖ）；Ｆｒｉｇｅｒｉｏ ｅｔ ａｌ，Ｅｕｒｏｐｅａｎ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ ４９（９）：２２２３－２２３２（２０１３）（ｓｃＦｖＤ２Ｂ）；国際公開第２００６１２５４８１号パンフレット（ｍＡｂｓ ３／Ａ１２、３／Ｅ７及び３／Ｆ１１）において記載される抗体及び単鎖抗体断片（ｓｃＦｖ Ａ５及びＤ７）の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。
【０７６１】

一実施形態では、ＣＤ９７に対する抗原結合ドメインは、例えば、米国特許第６，８４６，９１１号明細書；ｄｅ　Ｇｒｏｏｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　１８３（６）：４１２７－４１３４（２００９）において記載される抗体；又はＲ＆Ｄからの抗体：ＭＡＢ３７３４の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７６２】

一実施形態では、ＴＡＧ７２に対する抗原結合ドメインは、例えば、Ｈｏｍｂａｃｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ　１１３（４）：１１６３－１１７０（１９９７）において記載される抗体；及びＡｂｃａｍ　ａｂ６９１の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７６３】

一実施形態では、ＣＤ４４ｖ６に対する抗原結合ドメインは、例えば、Ｃａｓｕｃｃｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ　１２２（２０）：３４６１－３４７２（２０１３）において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７６４】

一実施形態では、ＣＥＡに対する抗原結合ドメインは、例えば、Ｃｈｍｉｅｌｅｗｓｋｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇａｓｔｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ　１４３（４）：１０９５－１１０７（２０１２）において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７６５】

一実施形態では、ＥＰＣＡＭに対する抗原結合ドメインは、ＭＴ１１０、ＥｐＣＡＭ－ＣＤ３二重特異性Ａｂ（例えば、ｃｌｉｎｉｃａｌｔｒｉａｌｓ．ｇｏｖ／ｃｔ２／ｓｈｏｗ／ＮＣＴ００６３５５９６を参照のこと）；エドレコロマブ；３６２２Ｗ９４；ＩＮＧ－１；及びアデカツムマブ（ＭＴ２０１）から選択される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７６６】

一実施形態では、ＫＩＴに対する抗原結合ドメインは、例えば、米国特許第７９１５３９１号明細書、米国特許出願公開第２０１２０２８８５０６号明細書及びいくつかの市販のカタログの抗体において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７６７】

一実施形態では、ＩＬ－１３Ｒａ２に対する抗原結合ドメインは、例えば、国際公開第２００８／１４６９１１号パンフレット、国際公開第２００４０８７７５８号パンフレット、いくつかの市販のカタログの抗体及び国際公開第２００４０８７７５８号パンフレットにおいて記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７６８】

一実施形態では、ＣＤ１７１に対する抗原結合ドメインは、例えば、Ｈｏｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ　３７（２）：９３－１０４（２０１４）において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７６９】

一実施形態では、ＰＳＣＡに対する抗原結合ドメインは、例えば、Ｍｏｒｇｅｎｒｏｔｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｓｔａｔｅ　６７（１０）：１１２１－１１３１（２００７）（ｓｃＦｖ　７Ｆ５）；Ｎｅｊａｔｏｌｌａｈｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　ｏｆ　Ｏｎｃｏｌｏｇｙ　２０１３（２０１３），記事ＩＤ　８３９８３１（ｓｃＦｖ　Ｃ５－ＩＩ）；及び米国特許出願公開第２００９０３１１１８１号明細書において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７７０】

一実施形態では、ＭＡＤ－ＣＴ－２に対する抗原結合ドメインは、例えば、ＰＭＩＤ：２４５０９５２；米国特許第７６３５７５３号明細書において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７７１】

一実施形態では、葉酸受容体アルファに対する抗原結合ドメインは、ＩＭＧＮ８５３の抗体又は米国特許出願公開第２０１２０００９１８１号明細書；米国特許第４８５１３３

２号明細書、ＬＫ２６：米国特許第５９５２４８４号明細書において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７７２】

一実施形態では、ＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）に対する抗原結合ドメインは、例えば、抗体トラスツズマブ又はペルツズマブの抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７７３】

一実施形態では、ＭＵＣ１に対する抗原結合ドメインは、抗体ＳＡＲ５６６６５８の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７７４】

一実施形態では、ＥＧＦＲに対する抗原結合ドメインは、抗体セツキシマブ、パニツムマブ、ザルツムマブ、ニモツズマブ又はマツズマブの抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７７５】

一実施形態では、ＮＣＡＭに対する抗原結合ドメインは、例えば、抗体クローン２－２Ｂ：ＭＡＢ５３２４（ＥＭＤ　Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７７６】

一実施形態では、ＣＡＩＸに対する抗原結合ドメインは、例えば、抗体クローン３０３１２３（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７７７】

一実施形態では、Ｆｏｓ関連抗原１に対する抗原結合ドメインは、抗体１２Ｆ９（Ｎｏｖｕｓ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ）の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７７８】

一実施形態では、ＳＳＥＡ－４に対する抗原結合ドメインは、抗体ＭＣ８１３（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ）又は他の市販の抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７７９】

一実施形態では、ＰＤＧＦＲ－ベータに対する抗原結合ドメインは、抗体Ａｂｃａｍａｂ３２５７０の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７８０】

一実施形態では、ＡＬＫに対する抗原結合ドメインは、例えば、Ｍｉｎｏ－Ｋｅｎｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｌｉｎ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　１６（５）：１５６１－１５７１（２０１０）において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７８１】

一実施形態では、プリシアル酸（ｐｌｙｓｉａｌｉｃ　ａｃｉｄ）に対する抗原結合ドメインは、例えば、Ｎａｇａｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ　２８８（４７）：３３７８４－３３７９６（２０１３）において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７８２】

一実施形態では、ＰＬＡＣ１に対する抗原結合ドメインは、例えば、Ｇｈｏｄｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ　Ａｐｐｌ　Ｂｉｏｃｈｅｍ　２０１３　ｄｏｉ：１０．１００２／ｂａｂ．１１７７において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７８３】

一実施形態では、ＧｌｏｂｏＨに対する抗原結合ドメインは、抗体ＶＫ９；又は例えばＫｕｄｒｙａｓｈｏｖ　Ｖ　ｅｔ　ａｌ，Ｇｌｙｃｏｃｏｎｊ　Ｊ．１５（３）：２４３－９（１９９８），Ｌｏｕ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ　１１１（７）：２４８２－２４８７（２０１４）；ＭＢｒ１：Ｂｒｅｍｅｒ　Ｅ－Ｇ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ　２５９：１４７７３－１４７７７（１９８４）において記載される抗体の抗原結合部分である。

【０７８４】

一実施形態では、ＮＹ－ＢＲ－１に対する抗原結合ドメインは、例えば、Ｊａｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ａｐｐｌ Ｉｍｍｕｎｏｈｉｓｔｏｃｈｅｍ Ｍｏｌ Ｍｏｒｐｈｏｌ １５（１）：７７－８３（２００７）において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７８５】

一実施形態では、精子タンパク質１７に対する抗原結合ドメインは、例えば、Ｓｏｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｔａｒｇｅｔ Ｏｎｃｏｌ ２０１３ Ａｕｇ １４（ＰＭＩＤ：２３９４３３１３）；Ｓｏｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｄ Ｏｎｃｏｌ ２９（４）：２９２３－２９３１（２０１２）において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７８６】

一実施形態では、ＴＲＰ－２に対する抗原結合ドメインは、例えば、Ｗａｎｇ ｅｔ ａｌ，Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ．１８４（６）：２２０７－１６（１９９６）において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７８７】

一実施形態では、ＣＹＰ１Ｂ１に対する抗原結合ドメインは、例えば、Ｍａｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ，Ｂｌｏｏｄ １０２（９）：３２８７－３２９４（２００３）において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７８８】

一実施形態では、ＲＡＧＥ－１に対する抗原結合ドメインは、抗体ＭＡＢ５３２８（ＥＭＤ Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７８９】

一実施形態では、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素に対する抗原結合ドメインは、例えば、抗体ｃａｔ ｎｏ：ＬＳ－Ｂ９５－１００（Ｌｉｆｅｓｐａｎ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７９０】

一実施形態では、腸管カルボキシルエステラーゼに対する抗原結合ドメインは、抗体４Ｆ１２：ｃａｔ ｎｏ：ＬＳ－Ｂ６１９０－５０（Ｌｉｆｅｓｐａｎ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７９１】

一実施形態では、ｍｕｔ ｈｓｐ７０－２に対する抗原結合ドメインは、抗体Ｌｉｆｅｓｐａｎ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ：モノクローナル：ｃａｔ ｎｏ：ＬＳ－Ｃ１３３２６１－１００（Ｌｉｆｅｓｐａｎ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７９２】

一実施形態では、ＭＡＤ－ＣＴ－２に対する抗原結合ドメインは、例えば、ＰＭＩＤ：２４５０９５２；米国特許第７６３５７５３号明細書において記載される抗体の抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。

【０７９３】

一実施形態では、抗原結合ドメインは、上に列挙された抗体に由来する１つ、２つ又は３つ（例えば、３つ全て）の重鎖ＣＤＲ、ＨＣ ＣＤＲ１、ＨＣ ＣＤＲ２及びＨＣ ＣＤＲ３並びに／又は上に列挙された抗体に由来する１つ、２つ又は３つ（例えば、３つ全て）の軽鎖ＣＤＲ、ＬＣ ＣＤＲ１、ＬＣ ＣＤＲ２及びＬＣ ＣＤＲ３を含む。一実施形態では、抗原結合ドメインは、上に列挙された抗体の重鎖可変領域及び／又は可変軽鎖領域を含む。

【０７９４】

いくつかの実施形態では、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、骨髄腫瘍上に発現される抗原（表面抗原又はＭＨＣによって提示される）である腫瘍抗原を標的化し、そのようなＣＡＲを含む細胞は、骨髄腫瘍抗原を認識する。

【０７９５】

ある実施形態では、骨髄腫瘍抗原は、骨髄腫瘍細胞の表面上に優先的に又は特異的に発

現される抗原である。
【０７９６】
一実施形態では、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、骨髄腫瘍集団が標的化されるように選択され得る。代わりに、２種類以上の骨髄腫瘍の標的化が望まれる場合、標的化される骨髄腫瘍の２種類以上、例えば、全てによって発現される骨髄腫瘍抗原を標的化する抗原結合ドメインが選択され得る。
【０７９７】
ＣＡＲは、次の追加の腫瘍抗原：ＣＤ１２３、ＣＤ３４、Ｆｌｔ３、ＣＤ３３及びＣＬＬ－１を標的化し得る。実施形態において、腫瘍抗原は、ＣＤ１２３、ＣＤ３３及びＣＬＬ－１から選択される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原はＣＤ１２３である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原はＣＤ３３である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原はＣＤ３４である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原はＦｌｔ３である。実施形態において、腫瘍抗原はＣＬＬ－１である。実施形態において、抗原結合ドメインは、ヒト抗原を標的化する。
【０７９８】
一態様では、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、ＣＤ１２３、例えば、ヒトＣＤ１２３に結合する。任意の既知のＣＤ１２３結合ドメインが、本発明において使用され得る。一実施形態では、ＣＤ１２３に対する抗原結合ドメインは、例えば、参照により本明細書に組み込まれるＰＣＴ公開国際公開第２０１４／１３０６３５号パンフレットにおいて記載される抗体、抗原結合断片又はＣＡＲの抗原結合部分、例えば、ＣＤＲ又はＶＨ及びＶＬである。一実施形態では、ＣＤ１２３に対する抗原結合ドメインは、例えば、参照により本明細書に組み込まれるＰＣＴ公開国際公開第２０１６／０２８８９６号パンフレットにおいて記載される抗体、抗原結合断片又はＣＡＲの抗原結合部分、例えば、ＣＤＲ又はＶＨ及びＶＬである。一実施形態では、ＣＤ１２３に対する抗原結合ドメインは、例えば、参照により本明細書に組み込まれるＰＣＴ公開国際公開第１９９７／０２４３７３号パンフレット、国際公開第２００８／１２７７３５号パンフレット（例えば、２６２９２、３２７０１、３７７１６又は３２７０３のＣＤ１２３結合ドメイン）、国際公開第２０１４／１３８８０５号パンフレット（例えば、ＣＳＬ３６２のＣＤ１２３結合ドメイン）、国際公開第２０１４／１３８８１９号パンフレット、国際公開第２０１３／１７３８２０号パンフレット、国際公開第２０１４／１４４６２２号パンフレット、国際公開第２００１／６６１３９号パンフレット、国際公開第２０１０／１２６０６６号パンフレット（例えば、Ｏｌｄ４、Ｏｌｄ５、Ｏｌｄ１７、Ｏｌｄ１９、Ｎｅｗ１０２又はＯｌｄ６のいずれかのＣＤ１２３結合ドメイン）、国際公開第２０１４／１４４６２２号パンフレット、国際公開第２０１６／０２８８９６号パンフレット又は米国特許出願公開第２００９／０２５２７４２号明細書において記載される抗体、抗原結合断片又はＣＡＲの抗原結合部分、例えば、ＣＤＲである。実施形態において、抗原結合ドメインは、マウス抗ヒトＣＤ１２３結合ドメインであるか又はそれに由来する。実施形態において、抗原結合ドメインは、ヒト化抗体又は抗体断片、例えば、ｓｃＦｖドメインである。ある実施形態では、抗原結合ドメインは、ヒトＣＤ１２３に結合するヒト抗体又は抗体断片である。実施形態において、抗原結合ドメインは、軽鎖可変領域（ＶＬ）及び重鎖可変領域（ＶＨ）を含むｓｃＦｖドメインである。ＶＬ及びＶＨは、本明細書で記載される、例えば、配列ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号１４２）を含むリンカーによって結合され得、任意の方向、例えば、ＶＬ－リンカー－ＶＨ又はＶＨ－リンカー－ＶＬであり得る。
【０７９９】
いくつかの実施形態では、ＣＡＲの抗原結合ドメインは、Ｂ細胞抗原を標的化する。ある実施形態では、Ｂ細胞抗原は、Ｂ細胞の表面上に優先的に又は特異的に発現される抗原である。抗原は、次の種類のＢ細胞：前駆Ｂ細胞（例えば、プレＢ細胞又はプロＢ細胞）、早期プロＢ細胞、後期プロＢ細胞、大型プレＢ細胞、小型プレＢ細胞、未成熟Ｂ細胞、例えば、ナイーブＢ細胞、成熟Ｂ細胞、プラズマＢ細胞、形質芽細胞、メモリーＢ細胞、Ｂ－１細胞、Ｂ－２細胞、辺縁帯Ｂ細胞、濾胞Ｂ細胞、胚中心Ｂ細胞又は制御性Ｂ細胞（

Ｂｒｅｇ）のいずれか１つの表面上で発現され得る。
【０８００】
本開示は、次の抗原：ＣＤ１９；ＣＤ１２３；ＣＤ２２；ＣＤ３０；ＣＤ１７１；ＣＳ－１；Ｃ型レクチン様分子－１、ＣＤ３３；上皮増殖因子受容体バリアントＩＩＩ（ＥＧＦＲｖＩＩＩ）；ガングリオシドＧ２（ＧＤ２）；ガングリオシドＧＤ３；ＴＮＦ受容体ファミリーメンバー；Ｂ細胞成熟抗原；Ｔｎ抗原（（Ｔｎ　Ａｇ）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アルファ－２；メソセリン；インターロイキン１１受容体アルファ（ＩＬ－１１Ｒａ）；前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）；プロテアーゼセリン２１；血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）；ルイス（Ｙ）抗原；ＣＤ２４；血小板由来増殖因子受容体ベータ（ＰＤＧＦＲ－ベータ）；ステージ特異的胎児抗原－４（ＳＳＥＡ－４）；ＣＤ２０；葉酸受容体アルファ；受容体チロシン－タンパク質キナーゼＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）；ムチン１、細胞表面関連（ＭＵＣ１）；上皮増殖因子受容体（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）；変異した伸張因子２（ＥＬＦ２Ｍ）；エフリンＢ２；線維芽細胞活性化タンパク質アルファ（ＦＡＰ）；インスリン様増殖因子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、マクロペイン）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癌遺伝子ホモログ１（Ａｂｌ）（ｂｃｒ－ａｂｌ）からなる癌遺伝子融合タンパク質；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）；葉酸受容体ベータ；腫瘍内皮細胞マーカー１（ＴＥＭ１／ＣＤ２４８）；腫瘍内皮細胞マーカー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）；染色体Ｘオープンリーティングフレーム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）；ｇｌｏｂｏＨグリコセラミド（ＧｌｏｂｏＨ）のヘキササッカリド部分；哺乳動物腺分化抗原（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）；アドレナリン受容体ベータ３（ＡＤＲＢ３）；パネキシン３（ＰＡＮＸ３）；Ｇタンパク質共役型受容体２０（ＧＰＲ２０）；リンパ球抗原６複合体、座位Ｋ９（ＬＹ６Ｋ）；嗅覚受容体５１Ｅ２（ＯＲ５１Ｅ２）；ＴＣＲガンマ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）；染色体１２ｐに位置するＥＴＳ転座バリアント遺伝子６（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）；アンジ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変異体；プロステイン；生存；テロメラーゼ；前立腺癌腫瘍抗原－１、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原１；ラット肉腫（Ｒａｓ）変異体；ヒトテロメラーゼ逆転写酵素（ｈＴＥＲＴ）；肉腫転移ブレークポイント；アポトーシスの黒色腫抑制分子（ＭＬ－ＩＡＰ）；ＥＲＧ（膜貫通プロテアーゼ、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トリ骨髄細胞腫症ウイルス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）；チトクロムＰ４５０　１Ｂ１（ＣＹＰ１Ｂ１）；ＣＣＣＴＣ結合因子（ジンクフィンガータンパク質）様、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）；リンパ球特異的タンパク質チロシンキナーゼ（ＬＣＫ）；Ａキナーゼアンカータンパク質４（ＡＫＡＰ－４）；滑膜肉腫、Ｘブレークポイント２（ＳＳＸ２）；終末糖化産物のための受容体（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）；腸管カルボキシルエステラーゼ；変異熱ショックタンパク質７０－２（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断片（ＦＣＡＲ又はＣＤ８９）；白血病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）；免疫グロブリンラムダ様ポリペプチド１（ＩＧＬＬ１）；ＴＮＦ受容体ファミリーメンバー；Ｆｍｓ様チロシンキナーゼ３（ＦＬ　Ｔ３）；ＣＤ１０、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２１、ＣＤ２２、ＣＤ２３、ＣＤ２４、ＣＤ２５、ＣＤ３７、ＣＤ３８、ＣＤ５３、ＣＤ７２、ＣＤ７３、ＣＤ７４、ＣＤ７５、ＣＤ７７、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ８０、ＣＤ８１、ＣＤ８２、ＣＤ８３、ＣＤ８４、ＣＤ８５、ＲＯＲ１、ＢＣＭＡ、ＣＤ８６及びＣＤ１７９ｂを標的化し得るＣＡＲを提供する。本明細書に記載されるＣＡＲによって標的化され得る他のＢ細胞抗原としては、ＣＤ１ａ、ＣＤ１ｂ、ＣＤ１ｃ、ＣＤ１ｄ、ＣＤ２、ＣＤ５、ＣＤ６、ＣＤ９、ＣＤ１１ａ、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ１１ｃ、ＣＤ１７、ＣＤ１８、ＣＤ２６、ＣＤ２７、ＣＤ２９、ＣＤ３０、ＣＤ３１、ＣＤ３２ａ、ＣＤ３２ｂ、ＣＤ３５、ＣＤ３８、ＣＤ３９、ＣＤ４０、ＣＤ４４、ＣＤ４５、ＣＤ４５ＲＡ、ＣＤ４５ＲＢ、ＣＤ４５ＲＣ、ＣＤ４５ＲＯ、ＣＤ４６、ＣＤ４７、ＣＤ４８、ＣＤ４９ｂ、ＣＤ４９ｃ、ＣＤ４９ｄ、ＣＤ５０、ＣＤ５２、ＣＤ５４、ＣＤ５５、ＣＤ５８、ＣＤ６０ａ、ＣＤ６２Ｌ、ＣＤ６３、ＣＤ６３、ＣＤ６８、ＣＤ６９、ＣＤ７０、ＣＤ８５Ｅ、ＣＤ８５Ｉ、ＣＤ８５Ｊ、ＣＤ９２、ＣＤ９５、ＣＤ９７、ＣＤ９８、ＣＤ９９、ＣＤ１００、ＣＤ１０２、ＣＤ１０８、ＣＤ１１９、ＣＤ１２０ａ、ＣＤ１２０ｂ、ＣＤ１２１ｂ、ＣＤ１２２、ＣＤ１２４、ＣＤ１２５、ＣＤ１２６、ＣＤ１３０、ＣＤ１３２、ＣＤ１３７、ＣＤ１３８、ＣＤ１３９、ＣＤ１４７、ＣＤ１４８、ＣＤ１５０、ＣＤ１５２、ＣＤ１６２、ＣＤ１６４、ＣＤ１６６、ＣＤ１６７ａ、ＣＤ１７０、ＣＤ１７５、ＣＤ１７５ｓ、ＣＤ１８０、ＣＤ１８４、ＣＤ１８５、ＣＤ１９２、ＣＤ１９６、ＣＤ１９７、ＣＤ２００、ＣＤ２０５、ＣＤ２１０ａ、ＣＤｗ２１０ｂ、ＣＤ２１２、ＣＤ２１３ａ１、ＣＤ２１３ａ２、ＣＤ２１５、ＣＤ２１７、ＣＤ２１８ａ、ＣＤ２１８ｂ、ＣＤ２２０、ＣＤ２２１、ＣＤ２２４、ＣＤ２２５、ＣＤ２２６、ＣＤ２２７、ＣＤ２２９、ＣＤ２３０、ＣＤ２３２、ＣＤ２５２、ＣＤ２５３、ＣＤ２５７、ＣＤ２５８、ＣＤ２６１、ＣＤ２６２、ＣＤ２６３、ＣＤ２６４、ＣＤ２６７、ＣＤ２６８、ＣＤ２６９、ＣＤ２７０、ＣＤ２７２、ＣＤ２７４、ＣＤ２７５、ＣＤ２７７、ＣＤ２７９、ＣＤ２８３、ＣＤ２８９、ＣＤ２９０、ＣＤ２９５、ＣＤ２９８、ＣＤ３００ａ、ＣＤ３００ｃ、ＣＤ３０５、ＣＤ３０６、ＣＤ３０７ａ、ＣＤ３０７ｂ、ＣＤ３０７ｃ、ＣＤ３０７ｄ、ＣＤ３０７ｅ、ＣＤ３１４、ＣＤ３１５、ＣＤ３１６、ＣＤ３１７、ＣＤ３１９、ＣＤ３２１、ＣＤ３２７、ＣＤ３２８、ＣＤ３２９、ＣＤ３３８、ＣＤ３５１、ＣＤ３５２、ＣＤ３５３、ＣＤ３５４、ＣＤ３５５、ＣＤ３５７、ＣＤ３５８、ＣＤ３６０、ＣＤ３６１、ＣＤ３６２及びＣＤ３６３が挙げられる。

【０８０１】

別の実施形態では、ＣＡＲによって標的化される抗原は、ＣＤ１９、ＢＣＭＡ、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＦｃＲｎ５、ＦｃＲｎ２、ＣＳ－１及びＣＤ１３８から選択される。ある

実施形態では、ＣＡＲによって標的化される抗原は、ＣＤ１９である。ある実施形態では、ＣＡＲによって標的化される抗原は、ＣＤ２０である。ある実施形態では、ＣＡＲによって標的化される抗原は、ＣＤ２２である。ある実施形態では、ＣＡＲによって標的化される抗原は、ＢＣＭＡである。ある実施形態では、ＣＡＲによって標的化される抗原は、ＦｃＲｎ５である。ある実施形態では、ＣＡＲによって標的化される抗原は、ＦｃＲｎ２である。ある実施形態では、ＣＡＲによって標的化される抗原は、ＣＳ－１である。ある実施形態では、ＣＡＲによって標的化される抗原は、ＣＤ１３８である。

【０８０２】

一実施形態では、ＣＡＲ、例えば、本発明の細胞（例えば、ＣＡＲも発現する細胞）によって発現されるＣＡＲの抗原結合ドメインは、好ましいＢ細胞集団が標的化されるように選択され得る。例えば、Ｂ制御性細胞の標的化が望まれる実施形態において、制御性Ｂ細胞上で発現され、且つ他のＢ細胞集団、例えば、プラズマＢ細胞及びメモリーＢ細胞で発現されない抗原を標的化する抗原結合ドメインが選択される。制御性Ｂ細胞上で発現される細胞表面マーカーとしては、ＣＤ１９、ＣＤ２４、ＣＤ２５、ＣＤ３８若しくはＣＤ８６又はＨｅ　ｅｔ　ａｌ．，２０１４，Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，Ａｒｔｉｃｌｅ　ＩＤ　２１５４７１において記載されるマーカーが挙げられる。２種類以上のＢ細胞の標的化が望まれる場合、標的化されるＢ細胞の全てによって発現される抗原を標的化する抗原結合ドメインが選択され得る。

【０８０３】

ＣＡＲ膜貫通ドメイン

膜貫通ドメインに関して、様々な実施形態において、ＣＡＲは、ＣＡＲの細胞外ドメインに結合される膜貫通ドメインを含むように設計され得る。膜貫通ドメインは、膜貫通領域に隣接する１つ以上の追加のアミノ酸、例えば、膜貫通が由来するタンパク質の細胞外領域に関連する１個以上のアミノ酸（例えば、細胞外領域の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５個のアミノ酸まで）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に関連する１個以上の追加のアミノ酸（例えば、細胞内領域の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５個のアミノ酸まで）を含み得る。一態様では、膜貫通ドメインは、ＣＡＲの他のドメインの１つと会合するものである。いくつかの場合において、膜貫通ドメインは、そのようなドメインが同じ又は異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインに結合することを回避するために、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ために、アミノ酸置換によって選択又は改変され得る。一態様では、膜貫通ドメインは、ＣＡＲ発現細胞の細胞表面上で別の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ＣＡＲＴにおいて存在する天然の結合パートナーの結合ドメインとの相互作用を最小化するために、改変又は置換され得る。

【０８０４】

膜貫通ドメインは、天然又は組換えの供給源のいずれかに由来し得る。供給源が天然である場合、ドメインは、任意の膜結合型又は膜貫通型タンパク質に由来し得る。一態様では、膜貫通ドメインは、ＣＡＲが標的に結合している場合には常に細胞内ドメインにシグナルを伝達することができる。本発明における特定の用途の膜貫通ドメインは、例えば、Ｔ細胞受容体のアルファ、ベータ又はゼータ鎖、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では、膜貫通ドメインは、例えば、ＫＩＲ２ＤＳ２、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、ＩＬ２Ｒベータ、ＩＬ２Ｒガンマ、ＩＬ７Ｒα、ＩＴＧＡ１、ＶＬＡ１、ＣＤ４９ａ、ＩＴＧＡ４、ＩＡ４、ＣＤ４９Ｄ、ＩＴＧＡ６、ＶＬＡ－６、ＣＤ４９ｆ、ＩＴＧＡＤ、ＣＤ１１ｄ、ＩＴＧＡＥ、ＣＤ１０３、ＩＴＧＡ

Ｌ、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、ＮＫＧ２Ｃの少なくとも膜貫通領域を含み得る。

【０８０５】

いくつかの場合において、膜貫通ドメインは、ヒンジ、例えば、ヒトタンパク質由来のヒンジを介してＣＡＲの細胞外領域、例えば、ＣＡＲの抗原結合ドメインに結合され得る。例えば、一実施形態では、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ＣＤ８ａヒンジであり得る。一実施形態において、ヒンジ又はスペーサーは、配列番号１４７のアミノ酸配列を含む（例えば、それからなる）。一態様では、膜貫通ドメインは、配列番号１５５の膜貫通ドメインを含む（例えば、それからなる）。

【０８０６】

一態様では、ヒンジ又はスペーサーは、ＩｇＧ４ヒンジを含む。例えば、一実施形態では、ヒンジ又はスペーサーは、アミノ酸配列

【化５３】

ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV
DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKM (配列番号149)

のヒンジを含む。いくつかの実施形態では、ヒンジ又はスペーサーは、

【化５４】

GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAG
CGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAGGTGA
CCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGAC
GGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTACC
GGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTG
TAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGC
CAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACC
AGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
AGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCA
GCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTT
AGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTC
CCTGGGCAAGATG (配列番号150)

のヌクレオチド配列によってコードされるヒンジを含む。

【０８０７】

一態様では、ヒンジ又はスペーサーは、ＩｇＤヒンジを含む。例えば、一実施形態では、ヒンジ又はスペーサーは、アミノ酸配列

【化５５】

RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEEQEERETKTPECP
SHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSN
GSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPVKLSLNLLASSDPPEAAS
WLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTC
VVSHEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH (配列番号151)

のヒンジを含む。いくつかの実施形態では、ヒンジ又はスペーサーは、

【化５６】

AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCCAGGCATCTAGTGTTCCTACTGCACAGCCCCAGGCAG
AAGGCAGCCTAGCCAAAGCTACTACTGCACCTGCCACTACGCGCAATACTGGCCGTGGCGG
GGAGGAGAAGAAAAAGGAGAAAGAGAAAGAAGAACAGGAAGAGAGGGAGACCAAGACCC
CTGAATGTCCATCCCATACCCAGCCGCTGGGCGTCTATCTCTTGACTCCCGCAGTACAGGAC
TTGTGGCTTAGAGATAAGGCCACCTTTACATGTTTCGTCGTGGGCTCTGACCTGAAGGATGC
CCATTTGACTTGGGAGGTTGCCGGAAAGGTACCCACAGGGGGGGTTGAGGAAGGGTTGCTG
GAGCGCCATTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACTCAAGACTCACCCTTCCGAGATCCCTGTG
GAACGCCGGGACCTCTGTCACATGTACTCTAAATCATCCTAGCCTGCCCCCACAGCGTCTGA
TGGCCCTTAGAGAGCCAGCCGCCCAGGCACCAGTTAAGCTTAGCCTGAATCTGCTCGCCAGT
AGTGATCCCCCAGAGGCCGCCAGCTGGCTCTTATGCGAAGTGTCCGGCTTTAGCCCGCCCAA
CATCTTGCTCATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGTGAACACCAGCGGCTTCGCTCCAGCCC
GGCCCCCACCCCAGCCGGGTTCTACCACATTCTGGGCCTGGAGTGTCTTAAGGGTCCCAGCA
CCACCTAGCCCCCAGCCAGCCACATACACCTGTGTTGTGTCCCATGAAGATAGCAGGACCCT
GCTAAATGCTTCTAGGAGTCTGGAGGTTTCCTACGTGACTGACCATT (配列番号152)

のヌクレオチド配列によってコードされるヒンジを含む。

【０８０８】

一態様では、膜貫通ドメインは、組換え体であり得、その場合、それはロイシン及びバリンなどの疎水性残基を主に含むことになる。一態様では、フェニルアラニン、トリプトファン及びバリンの三つ組が、組換え膜貫通ドメインの各末端で見出され得る。

【０８０９】

任意選択により、２～１０個のアミノ酸長の短い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内領域の間の結合を形成し得る。グリシン－セリンの対は、特に好適なリンカーを提供する。例えば、一態様では、リンカーは、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号１５３）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ＧＧＴＧＧＣＧＧＡＧＧＴＴＣＴＧＧＡＧＧＴＧＧＡＧＧＴＴＣＣ（配列番号１５４）のヌクレオチド配列によってコードされる。

【０８１０】

一態様では、ヒンジ又はスペーサーは、ＫＩＲ２ＤＳ２ヒンジを含む。

【０８１１】

細胞質内ドメイン

ＣＡＲの細胞質内ドメイン又は領域は、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は、一般に、ＣＡＲが導入された免疫細胞の正常なエフェクター機能の少なくとも１つの活性化に関与する。

【０８１２】

本明細書に記載されるＣＡＲにおける使用のための細胞内シグナル伝達ドメインの例は

、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）及び抗原受容体結合後に協調してシグナル伝達を開始するために作用する共受容体の細胞質内配列並びにこれらの配列の任意の誘導体又はバリアント並びに同じ機能上の能力を有する任意の組換え配列を含む。

【０８１３】

ＴＣＲを介して生成されたシグナルのみではＴ細胞の完全な活性化には不十分であり、二次シグナル及び／又は共刺激シグナルも必要であることが知られている。したがって、Ｔ細胞活性化は、２つの異なるクラスの細胞質内シグナル伝達配列：ＴＣＲを介して抗原依存的な一次活性化を開始するもの（一次細胞内シグナル伝達ドメイン）及び抗原非依存的な様式で作用して二次シグナル又は共刺激シグナルをもたらすもの（二次細胞質内ドメイン、例えば、共刺激ドメイン）によって媒介されると言われ得る。

【０８１４】

一次シグナル伝達ドメインは、刺激性の様式又は抑制性の様式いずれかにおいてＴＣＲ複合体の一次の活性化を制御する。刺激性の様式において作用する一次細胞内シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン系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有し得る。

【０８１５】

本発明において特に有用である一次細胞質内シグナル伝達ドメインを含有するＩＴＡＭの例としては、ＴＣＲゼータ、ＦｃＲガンマ、ＦｃＲベータ、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ５、ＣＤ２２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ２７８（「ＩＣＯＳ」としても知られる）、ＦｃεＲＩ、ＤＡＰ１０、ＤＡＰ１２及びＣＤ６６ｄのものが挙げられる。一実施形態では、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、例えば、本明細書に記載されるＣＤ３－ゼータ配列の一次シグナル伝達ドメインを含む。

【０８１６】

一実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、改変ＩＴＡＭドメイン、例えば、天然ＩＴＡＭドメインと比較して活性が変化した（例えば、増大したか又は低減した）変異ＩＴＡＭドメインを含む。一実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、改変ＩＴＡＭ含有一次細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、最適化及び／又はトランケートされたＩＴＡＭ含有一次細胞内シグナル伝達ドメインを含む。ある実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、１つ、２つ、３つ、４つ以上のＩＴＡＭモチーフを含む。

【０８１７】

共刺激シグナル伝達ドメイン

ＣＡＲの細胞内シグナル伝達ドメインは、それ自体にＣＤ３－ゼータシグナル伝達ドメインを含み得るか又は本発明のＣＡＲとの関係において有用な任意の他の所望の細胞内シグナル伝達ドメインと組み合わされ得る。例えば、ＣＡＲの細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ゼータ鎖部分及び共刺激シグナル伝達ドメインを含み得る。共刺激シグナル伝達ドメインは、共刺激分子の細胞内ドメインを含むＣＡＲの部分を指す。一実施形態では、細胞内ドメインは、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。一態様では、細胞内ドメインは、ＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメイン及びＩＣＯＳのシグナル伝達ドメインを含むように設計される。

【０８１８】

共刺激分子は、抗原受容体以外の細胞表面分子又は抗原に対するリンパ球の効率的な応答に必要なそのリガンドであり得る。このような分子の例としては、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及びＣＤ８３と特異的に結合するリガンドなどが挙げられる。例えば、ＣＤ２７共刺激は、インビトロでのヒトＣＡＲＴ細胞の増殖、エフェクター機能及び生存を増強し、且つインビボでのヒトＴ細胞の持続及び抗腫瘍活性を増大させることが実証されている（Ｓｏｎｇ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｌｏｏｄ．２０１２；１１９（３）：６９６－７０６）。このような共刺激分子のさらなる例としては、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＧＩＴＲ、ＢＡＦＦＲ

、ＨＶＥＭ（ＬＩＧＨＴＲ）、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０（ＫＬＲＦ１）、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４４、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、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、ＮＫＧ２Ｄ、ＮＫＧ２Ｃ及びＰＡＧ／Ｃｂｐが挙げられる。

【０８１９】

ＣＡＲの細胞質内部分内の細胞内シグナル伝達配列は、ランダム又は指定された順序で互いに連結され得る。任意選択により、例えば、２～１０個のアミノ酸（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９又は１０個のアミノ酸）長の短いオリゴ又はポリペプチドリンカーが、細胞内シグナル伝達配列間の結合を形成し得る。一実施形態では、グリシン－セリンの対は、好適なリンカーとして使用され得る。一実施形態では、単一のアミノ酸、例えばアラニン、グリシンは、好適なリンカーとして使用され得る。

【０８２０】

一態様では、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つ又はそれ以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含むように設計される。ある実施形態では、２つ以上、例えば、２、３、４、５つ又はそれ以上の共刺激シグナル伝達ドメインは、リンカー分子、例えば、本明細書に記載されるリンカー分子によって隔てられている。一実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、２つの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では、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では、リンカーは、アラニン残基である。

【０８２１】

一態様では、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。一態様では、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。一態様では、４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインは、配列番号１５８のシグナル伝達ドメインである。一態様では、ＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインは、配列番号１６３のシグナル伝達ドメインである。

【０８２２】

一態様では、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。一態様では、ＣＤ２７のシグナル伝達ドメインは、ＱＲＲＫＹＲＳＮＫＧＥＳＰＶＥＰＡＥＰＣＲＹＳＣＰＲＥＥＥＧＳＴＩＰＩＱＥＤＹＲＫＰＥＰＡＣＳＰ（配列番号１６１）のアミノ酸配列を含む。一態様では、ＣＤ２７のシグナル伝達ドメインは、

【化５７】

AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCCCG
GGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC
(配列番号162)

の核酸配列によってコードされる。

【０８２３】

一態様では、本明細書に記載されるＣＡＲ発現細胞はさらに、第２のＣＡＲ、例えば、

同じ標的又は異なる標的（例えば、本明細書に記載される癌関連抗原以外の標的又は本明細書に記載される様々な癌関連抗原、例えば、ＣＤ１９、ＣＤ３３、ＣＬＬ－１、ＣＤ３４、ＦＬＴ３又は葉酸受容体ベータ）に対する異なる抗原結合ドメインを含む第２のＣＡＲを含み得る。一実施形態では、第２のＣＡＲは、その癌関連抗原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。一実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、第１の抗原を標的化し、且つ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化し、且つ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。理論に束縛されるものではないが、共刺激シグナル伝達ドメイン、例えば、４－１ＢＢ、ＣＤ２８、ＩＣＯＳ、ＣＤ２７又はＯＸ－４０の第１のＣＡＲ上への配置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での配置は、両方の標的が発現される細胞に対するＣＡＲ活性を制限し得る。一実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、本明細書に記載される標的抗原と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並びに異なる標的抗原（例えば、第１の標的抗原と同じ癌細胞型で発現される抗原）を標的化し、且つ抗原結合ドメイン、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。別の実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、本明細書に記載される標的抗原と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並びに第１の標的抗原以外の抗原（例えば、第１の標的抗原と同じ癌細胞型で発現される抗原）を標的化し、且つ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。

【０８２４】

別の態様では、本開示は、ＣＡＲ発現細胞、例えばＣＡＲＴ細胞の集団を特徴とする。いくつかの実施形態では、ＣＡＲ発現細胞の集団は、異なるＣＡＲを発現する細胞の混合物を含む。例えば、一実施形態では、ＣＡＲＴ細胞の集団は、本明細書に記載される癌関連抗原に対する抗原結合ドメインを有するＣＡＲを発現する第１の細胞及び異なる抗原結合ドメイン、例えば、本明細書に記載される異なる癌関連抗原に対する抗原結合ドメイン、例えば、第１の細胞によって発現されるＣＡＲの抗原結合ドメインによって結合される癌関連抗原と異なる本明細書に記載される癌関連抗原に対する抗原結合ドメインを有するＣＡＲを発現する第２の細胞を含み得る。別の例として、ＣＡＲ発現細胞の集団は、本明細書に記載される癌関連抗原に対する抗原結合ドメインを含むＣＡＲを発現する第１の細胞及び本明細書に記載される癌関連抗原以外の標的に対する抗原結合ドメインを含むＣＡＲを発現する第２の細胞を含み得る。一実施形態では、ＣＡＲ発現細胞の集団は、例えば、一次細胞内シグナル伝達ドメインを含むＣＡＲを発現する第１の細胞及び二次シグナル伝達ドメインを含むＣＡＲを発現する第２の細胞を含む。

【０８２５】

別の態様では、本開示は、細胞の集団であって、集団中の少なくとも１つの細胞が、本明細書に記載される癌関連抗原に対する抗原結合ドメインを有するＣＡＲを発現し、且つ第２の細胞が、別の薬剤、例えば、ＣＡＲ発現細胞の活性を増強する薬剤を発現する細胞の集団を特徴とする。例えば、一実施形態では、薬剤は、阻害分子を阻害する薬剤であり得る。阻害分子、例えば、ＰＤ－１は、いくつかの実施形態において、免疫エフェクター応答を開始するＣＡＲ発現細胞の能力を低減する。阻害分子の例としては、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ（ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及び／又はＣＥＡＣＡＭ－５）、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７－Ｈ３（ＣＤ２７６）、Ｂ７－Ｈ４（ＶＴＣＮ１）、ＨＶＥＭ（ＴＮＦＲＳＦ１４又はＣＤ２７０）、ＫＩＲ、Ａ２ａＲ、ＭＨＣクラスＩ、ＭＨＣクラスＩＩ、ＧＡＬ９、アデノシン並びにＴＧＦ（例えば、ＴＧＦベータ）が挙げられる。一実施形態では、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、本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメインを伴う第１のポリペプチド、例えば、阻害分子を含む。一実施形態では、薬剤は

、例えば、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ（ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及び／又はＣＥＡＣＡＭ－５）、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４並びにＴＧＦベータ又はこれらのいずれかの断片などの阻害分子の第１のポリペプチド並びに本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、共刺激ドメイン（例えば、本明細書に記載されるとおりの４１ＢＢ、ＣＤ２７、ＯＸ４０又はＣＤ２８）及び／又は一次シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載される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。一実施形態では、薬剤は、ＰＤ－１又はその断片の第１のポリペプチド及び本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載されるＣＤ２８シグナル伝達ドメイン及び／又は本明細書に記載される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。

【０８２６】

目的の制御性ポリペプチド

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び／又は分解ドメインに連結された目的の異種ポリペプチドは、制御性タンパク質である。本明細書では、生成物、例えば、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドを高収率で産生できる細胞又は細胞株を同定、選択又は作製するための遺伝子制御回路、細胞及び方法において有用な制御性ポリペプチド及び制御性ポリペプチドをコードする配列が提供される。一般に、制御性ポリペプチドは、生成物、例えば、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドの発現を制御する。いくつかの実施形態では、制御性ポリペプチドは、遺伝子編集ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、制御性ポリペプチドをコードする配列は、１つ以上の条件に依存して制御性ポリペプチドをコードする配列の転写を活性化する制御エレメントの転写制御下にある。いくつかの実施形態では、制御性ポリペプチドは、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコードする配列に作動可能に連結された制御エレメント、例えば、プロモーターエレメントに結合する。いくつかの実施形態では、制御エレメントに対する制御性ポリペプチドの結合は、作動可能に連結された組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコードする配列の転写を阻害する。いくつかの実施形態では、制御性ポリペプチドは、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドの転写物の非翻訳領域をコードする配列に結合する。いくつかの実施形態では、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドの転写物の非翻訳領域に対する制御性ポリペプチドの結合は、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコードする配列の翻訳を阻害する。いくつかの実施形態では、制御性ポリペプチドは、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコードする配列のコード配列に結合する。いくつかの実施形態では、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドのコード配列に対する制御性ポリペプチドの結合は、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコードする配列の転写、翻訳又は転写と翻訳を阻害する。

【０８２７】

本開示は、特定の制御性ポリペプチドに特異的ではないことが企図される。例示的な制御性ポリペプチドとしては、Ｃａｓ９分子、ＴＡＬＥ分子及びジンクフィンガー分子が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、制御性ポリペプチドは、当技術分野において知られるＣａｓ関連タンパク質である。いくつかの実施形態では、制御性ポリペプチドは、Ｉ、ＩＩ又はＩＩＩ型ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓシステムに由来するタンパク質である（例えば、Ｋ．Ｓ．Ｍａｋａｒｏｖａ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．９，４６７（２０１１）；Ｋ．Ｓ．Ｍａｋａｒｏｖａ，Ｎ．Ｖ．Ｇｒｉｓｈｉｎ，Ｓ．Ａ．Ｓｈａｂａｌｉｎａ，Ｙ．Ｉ．Ｗｏｌｆ，Ｅ．Ｖ．Ｋｏｏｎｉｎ，Ｂｉｏｌ．Ｄｉｒｅｃｔ １，７（２００６）；又はＫ．Ｓ．Ｍａｋａｒｏｖａ，Ｌ．Ａｒａｖｉｎｄ，Ｙ．Ｉ．Ｗｏｌｆ，Ｅ．Ｖ．Ｋｏｏｎｉｎ，Ｂｉｏｌ．Ｄｉｒｅｃｔ ６，３８（２０１１）において記載されるとおり）。

【０８２８】

いくつかの実施形態では、制御性ポリペプチドは、Ｃａｓ９分子である。Ｃａｓ９分子

である制御性ポリペプチドは、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドの発現を阻害するための１つ以上（例えば、１、２、３、４つ以上）の好適なｇＲＮＡを必要とする。

【０８２９】

いくつかの実施形態では、制御性ポリペプチドは、ＴＡＬＥ分子である。

【０８３０】

いくつかの実施形態では、制御性ポリペプチドは、ジンクフィンガー分子である。

【０８３１】

いくつかの実施形態では、制御性ポリペプチドは、第１の制御エレメント、例えば、第１のプロモーターエレメントの内因性制御因子である。ある実施形態では、制御性ポリペプチドをコードする内因性遺伝子は、不活性であり、例えば、ノックアウト又は変異されて、機能喪失をもたらしている。

【０８３２】

ＣＲＩＳＰＲ／ＣＡＳシステムのＣａｓ９分子及び他の構成要素

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び／又は分解ドメインに連結された目的の異種ポリペプチドは、ＣＲＩＳＰＲ／ＣＡＳシステム（例えば、リボ核タンパク質（ＲＮＰ）分子）のＣａｓ９分子、Ｃａｓ１２分子、Ｃａｓ１３分子又は別の構成要素である。ＣＲＩＳＰＲ／ＣＡＳシステムを使用する遺伝子治療のために、１つの重要な考慮事項は、Ｃａｓ分子（例えば、Ｃａｓ９分子）のオフターゲット活性によって引き起こされる副作用を制限することである。デグロン、例えば、本明細書に記載されるＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、例えば、本明細書に記載されるＨｉｌＤタグ又はＣＡＲＢタグをＣＲＩＳＰＲ／ＣＡＳシステムの構成要素（例えば、Ｃａｓ９分子又はＲＮＰ分子）に融合させることは、ＣＲＩＳＰＲ／ＣＡＳシステムの活性が本明細書に記載される分解化合物によって制御され得る場合、例えば、副作用の場合において、遺伝子治療を起こすのに役立つ。

【０８３３】

本開示の遺伝子制御回路、細胞及び方法において使用されることになるＣａｓ９分子は、様々な種に由来するポリペプチドを含み得る。加えて、１つの種におけるＣａｓ９分子に由来する１つ以上のドメインが、例えば、融合タンパク質において、別の種におけるＣａｓ９分子に由来する１つ以上のドメインと組み合わされ得る。さらなるＣａｓ９ポリペプチドを含む種としては、アシドボラクス・アベナエ（Ａｃｉｄｏｖｏｒａｘ ａｖｅｎａｅ）、アクチノバチルス・プルロニューモニアエ（Ａｃｔｉｎｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｐｌｅｕｒｏｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ）、アクチノバチルス・サクシノゲネス（Ａｃｔｉｎｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｓｕｃｃｉｎｏｇｅｎｅｓ）、アクチノバチルス・スイス（Ａｃｔｉｎｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｓｕｉｓ）、アクチノマイセス ｓｐ．（Ａｃｔｉｎｏｍｙｃｅｓ ｓｐ．）、サイクリフィルス・デニトリフィカンス（ｃｙｃｌｉｐｈｉｌｕｓ ｄｅｎｉｔｒｉｆｉｃａｎｓ）、アミノモナス・パウシボランス（Ａｍｉｎｏｍｏｎａｓ ｐａｕｃｉｖｏｒａｎｓ）、バチルス・セレウス（Ｂａｃｉｌｌｕｓ ｃｅｒｅｕｓ）、バチルス・スミシイ（Ｂａｃｉｌｌｕｓ ｓｍｉｔｈｉｉ）、バチルス・チューリンギエンシス（Ｂａｃｉｌｌｕｓ ｔｈｕｒｉｎｇｉｅｎｓｉｓ）、バクテロイデス ｓｐ．（Ｂａｃｔｅｒｏｉｄｅｓ ｓｐ．）、ブラストピレルラ・マリナ（Ｂｌａｓｔｏｐｉｒｅｌｌｕｌａ ｍａｒｉｎａ）、ブラディリゾビウム ｓｐ．（Ｂｒａｄｙｒｈｉｚｏｂｉｕｍ ｓｐ．）、ブレビバチルス・ラテロスポラス（Ｂｒｅｖｉｂａｃｉｌｌｕｓ ｌａｔｅｒｏｓｐｏｒｕｓ）、カンピロバクター・コリ（Ｃａｍｐｙｌｏｂａｃｔｅｒ ｃｏｌｉ）、カンピロバクター・ジェジュニ（Ｃａｍｐｙｌｏｂａｃｔｅｒ ｊｅｊｕｎｉ）、カンピロバクター・ラリ（Ｃａｍｐｙｌｏｂａｃｔｅｒ ｌａｒｉ）、カンジダツス・プニセイスピリルム（Ｃａｎｄｉｄａｔｕｓ Ｐｕｎｉｃｅｉｓｐｉｒｉｌｌｕｍ）、クロストリジウム・セルロリティカム（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｃｅｌｌｕｌｏｌｙｔｉｃｕｍ）、クロストリジウム・パーフリンジェンス（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｐｅｒｆｒｉｎｇｅｎｓ）、コリネバクテリウム・アクコレンス（Ｃｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ ａｃｃｏｌ

ｅｎｓ）、コリネバクテリウム・ジフテリア（Ｃｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｄｉｐｈｔｈｅｒｉａ）、コリネバクテリウム・マトルコティイ（Ｃｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｍａｔｒｕｃｈｏｔｉｉ）、ディノロセオバクター・シバエ（Ｄｉｎｏｒｏｓｅｏｂａｃｔｅｒ ｓｈｉｂａｅ）、ユウバクテリウム・ドリクム（Ｅｕｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｄｏｌｉｃｈｕｍ）、ガンマプロテオバクテリア（ｇａｍｍａ ｐｒｏｔｅｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ）、グルコンアセトバクター・ジアゾトロフィクス（Ｇｌｕｃｏｎａｃｅｔｏｂａｃｔｅｒ ｄｉａｚｏｔｒｏｐｈｉｃｕｓ）、ヘモフィラス・パラインフルエンザエ（Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｐａｒａｉｎｆｌｕｅｎｚａｅ）、ヘモフィルス・スプトルム（Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｓｐｕｔｏｒｕｍ）、ヘリコバクター・カナデンシス（Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ ｃａｎａｄｅｎｓｉｓ）、ヘリコバクター・シナエディ（Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ ｃｉｎａｅｄｉ）、ヘリコバクター・ムステラエ（Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ ｍｕｓｔｅｌａｅ）、イリオバクター・ポリトロパス（Ｉｌｙｏｂａｃｔｅｒ ｐｏｌｙｔｒｏｐｕｓ）、キンゲラ・キンガエ（Ｋｉｎｇｅｌｌａ ｋｉｎｇａｅ）、ラクトバチルス・クリスパータス（Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｃｒｉｓｐａｔｕｓ）、リステリア・イバノビイ（Ｌｉｓｔｅｒｉａ ｉｖａｎｏｖｉｉ）、リステリア・モノサイトゲネス（Ｌｉｓｔｅｒｉａ ｍｏｎｏｃｙｔｏｇｅｎｅｓ）、リステリアセアエ・バクテリウム（Ｌｉｓｔｅｒｉａｃｅａｅ ｂａｃｔｅｒｉｕｍ）、メチロシスティス ｓｐ．（Ｍｅｔｈｙｌｏｃｙｓｔｉｓ ｓｐ．）、メチロシナス・トリコスポリウム（Ｍｅｔｈｙｌｏｓｉｎｕｓ ｔｒｉｃｈｏｓｐｏｒｉｕｍ）、モビルンカス・ムリエリス（Ｍｏｂｉｌｕｎｃｕｓ ｍｕｌｉｅｒｉｓ）、ナイセリア・バシリフォルミス（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｂａｃｉｌｌｉｆｏｒｍｉｓ）、ナイセリア・シネレア（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｃｉｎｅｒｅａ）、ナイセリア・フラベッセンス（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｆｌａｖｅｓｃｅｎｓ）、ナイセリア・ラクタミカ（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｌａｃｔａｍｉｃａ）、ナイセリア・メニンジティディス（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｍｅｎｉｎｇｉｔｉｄｉｓ）、ナイセリア ｓｐ．（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｓｐ．）、ナイセリア・ワズワーシイ（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｗａｄｓｗｏｒｔｈｉｉ）、ニトロソモナス ｓｐ．（Ｎｉｔｒｏｓｏｍｏｎａｓ ｓｐ．）、パルビバクラム・ラバメンティボランス（Ｐａｒｖｉｂａｃｕｌｕｍ ｌａｖａｍｅｎｔｉｖｏｒａｎｓ）、パスツレラ・ムルトシダ（Ｐａｓｔｅｕｒｅｌｌａ ｍｕｌｔｏｃｉｄａ）、ファスコラルクトバクテリウム・スクシナテュテンス（Ｐｈａｓｃｏｌａｒｃｔｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｓｕｃｃｉｎａｔｕｔｅｎｓ）、ラルストニア・シジジイ（Ｒａｌｓｔｏｎｉａ ｓｙｚｙｇｉｉ）、ロドシュードモナス・パルストリス（Ｒｈｏｄｏｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ｐａｌｕｓｔｒｉｓ）、ロドブラム ｓｐ．（Ｒｈｏｄｏｖｕｌｕｍ ｓｐ．）、シモンシエラ・ムエレリ（Ｓｉｍｏｎｓｉｅｌｌａ ｍｕｅｌｌｅｒｉ）、スフィンゴモナス ｓｐ．（Ｓｐｈｉｎｇｏｍｏｎａｓ ｓｐ．）、スポロラクトバチルス・ビネアエ（Ｓｐｏｒｏｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｖｉｎｅａｅ）、スタフィロコッカス・ルグドゥネンシス（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｌｕｇｄｕｎｅｎｓｉｓ）、ストレプトコッカス ｓｐ．（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．）、サブドリグラヌルム ｓｐ．（Ｓｕｂｄｏｌｉｇｒａｎｕｌｕｍ ｓｐ．）、ティストレラ・モビリス（Ｔｉｓｔｒｅｌｌａ ｍｏｂｉｌｉｓ）、トレポネーマ ｓｐ．（Ｔｒｅｐｏｎｅｍａ ｓｐ．）又はフェルミネフォロバクター・エイセニアエ（Ｖｅｒｍｉｎｅｐｈｒｏｂａｃｔｅｒ ｅｉｓｅｎｉａｅ）が挙げられる。

【０８３４】

Ｃａｓ１２分子（例えば、Ｃａｓ１２ａ、Ｃａｓ１２ｂ及びＣａｓ１２ｃ）は、例えば、全体として参照により本明細書に組み込まれるＣｈｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ．２０１８ Ａｐｒ ２７；３６０（６３８７）：４３６－４３９及びＳｈｍａｋｏｖ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．２０１７ Ｍａｒ；１５（３）：１６９－１８２において開示されている。ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ１２ａ（Ｃｐｆ１）タンパク質は、ＤＮＡに結合し、標的化された二重鎖ＤＮＡ切断を生成する、ＲＮＡにガイドされる酵素である。ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９のように、Ｃａｓ１２もゲノム編集における有用なツールである。遺伝子編集に有用なさらなるＣａｓ分子としては、例えば、全体として

参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２０１７２１９０２７号パンフレット及びＳｈｍａｋｏｖ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．２０１７ Ｍａｒ；１５（３）：１６９－１８２において開示されるとおりのＣａｓ１３、例えば、Ｃａｓ１３ａ、Ｃａｓ１３ｂ及びＣａｓ１３ｃが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、目的の異種ポリペプチドは、Ｃａｓ１２である。いくつかの実施形態では、目的の異種ポリペプチドは、Ｃａｓ１３である。

【０８３５】

Ｃａｓ９構造及び活性

結晶構造が、天然に存在するＣａｓ９ポリペプチド（Ｊｉｎｅｋ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，３４３（６１７６）：１２４７９９７，２０１４）及びガイドＲＮＡ（例えば、ｃｒＲＮＡとｔｒａｃｒＲＮＡの合成融合物）を伴うＳ．ピオゲネス（Ｓ．ｐｙｏｇｅｎｅｓ）のＣａｓ９（Ｎｉｓｈｉｍａｓｕ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ，１５６：９３５－９４９，２０１４；及びＡｎｄｅｒｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，２０１４，ｄｏｉ：１０．１０３８／ｎａｔｕｒｅ１３５７９）のために利用可能である。

【０８３６】

ある実施形態では、Ｃａｓ９分子又はＣａｓ９ポリペプチドは、次のドメイン：ＲｕｖＣ様ドメイン及びＨＮＨ様ドメインの１つ以上を含む。ある実施形態では、Ｃａｓ９分子又はＣａｓ９ポリペプチドは、ｄＣａｓ９分子又はｄＣａｓ９ポリペプチドであり、ｄＣａｓ９分子又はｄＣａｓ９ポリペプチドは、ＲｕｖＣ様ドメイン、例えば、ヌクレアーゼ活性を欠くＲｕｖＣ様ドメイン及び／又はＨＮＨ様ドメイン、例えば、ヌクレアーゼ活性を欠くＨＮＨ様ドメインを含む。

【０８３７】

ある実施形態では、Ｃａｓ９分子又はＣａｓ９ポリペプチドは、２つ以上のＲｕｖＣ様ドメイン（例えば、１、２、３つ以上のＲｕｖＣ様ドメイン）を含み得る。ある実施形態では、ＲｕｖＣ様ドメインは、ＲｕｖＣドメインがＤＮＡを切断しないか又はＤＮＡ切断活性の低減を有するように、その活性を変える１つ以上の変異を含む。ある実施形態では、ＲｕｖＣ様ドメインは、少なくとも５、６、７、８個のアミノ酸長であるが、２０、１９、１８、１７、１６又は１５個以下のアミノ酸長である。ある実施形態では、Ｃａｓ９分子又はＣａｓ９ポリペプチドは、約１０～２０個のアミノ酸、例えば、約１５個のアミノ酸長のＮ末端ＲｕｖＣ様ドメインを含む。

【０８３８】

ある実施形態では、Ｃａｓ９分子又はＣａｓ９ポリペプチドは、２つ以上のＨＮＨドメイン（例えば、１、２、３つ以上のＨＮＨ様ドメイン）を含み得る。ある実施形態では、ＨＮＨ様ドメインは、ＨＮＨ様ドメインがＤＮＡを切断しないか又はＤＮＡ切断活性の低減を有するように、その活性を変える１つ以上の変異を含む。ある実施形態では、ＨＮＨ様ドメインは、少なくとも１５、２０、２５個のアミノ酸長であるが、４０、３５又は３０個以下のアミノ酸長、例えば、２０～３５個のアミノ酸長、例えば、２５～３０個のアミノ酸長である。

【０８３９】

実施形態において、Ｃａｓ９分子又はＣａｓ９ポリペプチドは、ｇＲＮＡ分子と相互作用し、ｇＲＮＡ分子と連携してコア標的ドメインに局在化する能力を有するが、標的核酸を切断できないか、又は効率的な速度で切断できない。切断活性を有しないか、又は実質的に有しないＣａｓ９分子は、本明細書においてｄＣａｓ９分子又はｄＣａｓ９ポリペプチドと呼ばれる。例えば、ｄＣａｓ９分子又はｄＣａｓ９ポリペプチドは、切断活性を欠く場合があるか、又は当技術分野で知られるアッセイ又は本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、参照Ｃａｓ９分子又はＣａｓ９ポリペプチドの切断活性の実質的に少ない、例えば、２０％未満、１０％未満、５％未満、１％未満又は０．１％未満の切断活性を有し得る。

【０８４０】

標的化及びＰＡＭ

Ｃａｓ９分子又はＣａｓ９ポリペプチドは、ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）分子と相互作用し、ｇＲＮＡ分子と連携して標的ドメイン及びＰＡＭ配列を含む部位に局在化できるポリペプチドである。

【０８４１】

ある実施形態では、標的核酸と相互作用するＣａｓ９分子又はＣａｓ９ポリペプチドの能力は、ＰＡＭ配列依存的である。ＰＡＭ配列は、標的核酸中の配列である。異なる細菌種に由来するＣａｓ９分子は、異なる配列モチーフ（例えば、ＰＡＭ配列）を認識できる。Ｃａｓ９分子を操作して、Ｃａｓ９分子のＰＡＭ特異性を変えることができる。例示的な天然に存在するＣａｓ９分子は、Ｃｈｙｌｉｎｓｋｉ ｅｔ ａｌ．，ＲＮＡ Ｂｉｏｌｏｇｙ ２０１３ １０：５，７２７－７３７において記載される。

【０８４２】

Ｃａｓ９構造の改変

いくつかの実施形態では、例えば、Ｃａｓ９分子又はＣａｓ９ポリペプチドの１つ以上のＲｕｖＣ様ドメイン、例えば、Ｎ末端ＲｕｖＣ様ドメイン；ＨＮＨ様ドメイン；ＲｕｖＣ様ドメイン及びＨＮＨ様ドメインの外部の領域において、１つ以上の変異が存在し得る。いくつかの実施形態では、変異は、ＲｕｖＣ様ドメイン、例えば、Ｎ末端ＲｕｖＣ様ドメインにおいて存在する。いくつかの実施形態では、変異は、ＨＮＨ様ドメインにおいて存在する。いくつかの実施形態では、変異は、ＲｕｖＣ様ドメイン、例えば、Ｎ末端ＲｕｖＣ様ドメイン及びＨＮＨ様ドメインの両方に存在する。

【０８４３】

ある実施形態では、Ｃａｓ９分子又はＣａｓ９ポリペプチド、例えば、ｄＣａｓ９分子又はｄＣａｓ９ポリペプチドは、本明細書に記載される任意のＣａｓ９分子配列又は天然に存在するＣａｓ９分子配列、例えば、本明細書に列挙されるか又はＣｈｙｌｉｎｓｋｉ ｅｔ ａｌ．，ＲＮＡ Ｂｉｏｌｏｇｙ ２０１３ １０：５，７２７－７３７；Ｈｏｕ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ Ｅａｒｌｙ Ｅｄｉｔｉｏｎ ２０１３，１－６において記載される種に由来するＣａｓ９分子に対して６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％の相同性を有するか；
それと比較したとき、２、５、１０、１５、２０、３０又は４０％以下のアミノ酸残基が異なるか；
少なくとも１、２、５、１０又は２０個のアミノ酸であるが、１００、８０、７０、６０、５０、４０又は３０個以下のアミノ酸が異なるか；又は
それと同一であるアミノ酸配列を含む。ある実施形態では、Ｃａｓ９分子又はＣａｓ９ポリペプチドは、次の活性：ヘリカーゼ活性；又はｇＲＮＡ分子とともに標的核酸に局在化する能力の１つ以上を含む。ある実施形態では、Ｃａｓ９分子又はＣａｓ９ポリペプチドは、ニッカーゼ活性又は二重鎖切断活性（例えば、エンドヌクレアーゼ及び／又はエキソヌクレアーゼ活性）を含まない。

【０８４４】

Ｓ．ピオゲネス（Ｓ．ｐｙｏｇｅｎｅｓ）配列に関してＲｕｖＣドメイン又はＨＮＨドメインにおいてなされ得る例示的な変異としては、Ｄ１０Ａ、Ｅ７６２Ａ、Ｈ８４０Ａ、Ｎ８５４Ａ、Ｎ８６３Ａ及び／又はＤ９８６Ａが挙げられる。

【０８４５】

例示的なＣａｓ９ポリペプチド及びＣａｓ９ドメイン配列は、国際公開第２０１５／１５７０７０号パンフレットの表５０～５４において見出され得る。

【０８４６】

ｄＣａｓ９ポリペプチド

ある実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び／又は分解ドメインに連結された目的の異種ポリペプチドは、ｄＣａｓ９分子、例えば、参照Ｃａｓ９分子と比較してＲｕｖＣドメイン及び／又はＨＮＨドメインにおいて１つ以上の相違を含むｄＣａｓ９ポリペプチドであり、ｄＣａｓ９分子又はｄＣａｓ９ポリペプチドは、核酸を切断しないか、又は野生型よりも著しく低い効

率で切断し、例えば、本明細書に記載されるとおりの切断アッセイにおいて野生型と比較した場合、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、参照Ｃａｓ９分子の５０、２５、１０又は１％未満で切断する。

【０８４７】

Ｃａｓ９タンパク質の両方のＤＮＡ切断ドメインにおける重要な残基を変異させることにより（例えば、Ｄ１０Ａ及びＨ８４０Ａ変異）、触媒的に不活性なＣａｓ９（不活性型Ｃａｓ９としても知られるｄＣａｓ９）分子の生成をもたらす。酵素的に不活性なＣａｓ９、例えば、ｄＣａｓ９はｇＲＮＡと複合体を形成し、ｇＲＮＡの標的化ドメインによって指定されるＤＮＡ配列に局在化するが；それは、標的ＤＮＡを切断しない。酵素的に不活性な（例えば、ｄＣａｓ９）Ｃａｓ９分子は、コード配列の初期領域に動員されるときに転写を遮断することができる。さらなる抑制は、酵素的に不活性なＣａｓ９、例えば、ｄＣａｓ９に転写抑制ドメイン（例えばＫＲＡＢ、ＳＩＤ又はＥＲＤ）を融合させ、それを標的配列、例えば、開始コドンの配列３’の１０００ｂｐ以内又は制御エレメント、例えば、プロモーターエレメント、例えば、遺伝子の開始コドンの５’の５００ｂｐ以内に動員することによって達成され得る。プロモーターのＤＮアーゼＩ高感受性部位（ＤＨＳ）を（例えば、ＤＨＳに相補的なｇＲＮＡを作製することによって）標的化することは、遺伝子抑制、例えば、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコードする配列の阻害のための追加の戦略であり得るが、それは、これらの領域が、酵素的に不活性なＣａｓ９、例えば、ｄＣａｓ９により近づきやすく、且つ内因性転写因子のための部位を保持する可能性が高いためである。理論に束縛されるものではないが、内因性転写因子又はＲＮＡポリメラーゼの結合部位を遮断することは、遺伝子発現、例えば、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコードする配列の発現の下方制御を助けることになることが本明細書では検討される。ある実施形態では、１つ以上の酵素的に不活性なＣａｓ９、例えば、ｄＣａｓ９分子は、１つ以上の内因性転写因子の結合を遮断するために使用され得る。別の実施形態では、酵素的に不活性なＣａｓ９、例えば、ｄＣａｓ９分子は、エフェクタードメイン、例えば、抑制ドメイン、活性化ドメイン、メチル化酵素などに融合され得る。酵素的に不活性なＣａｓ９、例えば、ｄＣａｓ９のエフェクタードメインへの融合は、ｇＲＮＡによって指定される任意のＤＮＡ部位へのエフェクターの動員を可能にする。クロマチン状態を変えることにより、標的遺伝子の発現の低減をもたらすことができる。１つ以上のクロマチン修飾タンパク質に融合された１つ以上の酵素的に不活性なＣａｓ９、例えば、ｄＣａｓ９分子は、クロマチン状態を変えるために使用され得る。

【０８４８】

ある実施形態では、ｇＲＮＡ分子は、制御エレメント（例えば、プロモーターエレメント）、例えば、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコードする配列に作動可能に連結された制御エレメントに標的化され得る。ある実施形態では、ｇＲＮＡ分子は、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコードする配列に標的化され得る。

【０８４９】

ＴＡＬＥ分子

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び／又は分解ドメインに連結された目的の異種ポリペプチドは、転写活性化因子様エフェクター（ＴＡＬＥ）分子又はＴＡＬＥポリペプチドである。分子又はＴＡＬＥポリペプチドは、その用語が本明細書で使用される場合、ＴＡＬＥ　ＤＢＤによって指定される核酸位置に向かうか又は局在化できる複数のＴＡＬＥ　ＤＮＡ結合反復ドメイン（ＴＡＬＥ　ＤＢＤ）を含む分子又はポリペプチドを指す。ＴＡＬＥ分子及びＴＡＬＥポリペプチドは、それらの用語が本明細書で使用される場合、天然に存在するＴＡＬＥ分子及び参照配列、例えば、当技術分野で知られる最も類似した天然に存在するＴＡＬＥ分子と、例えば、少なくとも１つのアミノ酸残基によって異なる、操作されたか、改変されたか又は修飾されたＴＡＬＥ分子又はＴＡＬＥポリペプチドを指す。

【０８５０】

ＴＡＬＥ　ＤＢＤは、その用語が本明細書で使用される場合、そのモチーフの１２位及

び１３位で２つの超可変残基（すなわち、反復可変二残基、ＲＶＤ）を含む３３～３５個のアミノ酸モチーフを指す。ＴＡＬＥ　ＤＮＡ結合ドメイン（ＤＢＤ）のＲＶＤは、ＴＡＬＥ　ＤＢＤが結合親和性を有するＤＮＡ塩基対又は塩基対（複数）を指定する。ＴＡＬＥ　ＤＢＤが、ＴＡＬＥ分子又はＴＡＬＥポリペプチド内の配列中に組み合わされるとき、ＴＡＬＥ　ＤＢＤ（及びそれらのＲＶＤ）の順序は、ＴＡＬＥ分子又はＴＡＬＥポリペプチドが結合親和性を有するＤＮＡ配列を決定する。天然に存在するＴＡＬＥポリペプチド及びＴＡＬＥ　ＤＢＤは、ザントモナス属（Ｘａｎｔｈｏｍｏｎａｓ）細菌によって生成される。

【０８５１】

反復可変二残基（ＲＶＤ）は、その用語が本明細書で使用される場合、ＴＡＬＥ　ＤＢＤの１２位及び１３位の２つの超可変アミノ酸残基を指す。ＲＶＤは、ＴＡＬＥ　ＤＢＤのＤＮＡ塩基対の親和性を決定する。ＲＶＤとそれらの対応する塩基対親和性の全ての可能な組合せが、当技術分野で知られている。例えば、全体として参照により本明細書に組み込まれるＣｏｎｇ　Ｌ．，ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔ　Ｃｏｍｍｕｎ．２０１２　Ｊｕｌ　２４；（３）：９６８；Ｊｕｉｌｌｅｒａｔ　Ａ．，ｅｔ　ａｌ．Ｓｃｉ　Ｒｅｐ．２０１５　Ｊａｎ　３０；５（）：８１５０；Ｍｉｌｌｅｒ　Ｊ．Ｃ．ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　１２，４６５－４７１（２０１５）；Ｓｔｒｅｕｂｅｌ　Ｊ．，ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ　３０，５９３－５９５（２０１２）；及びＹａｎｇ　Ｊ．ｅｔ　ａｌ．Ｃｅｌｌ　Ｒｅｓ　２４，６２８－６３１（２０１４）を参照されたい。全ての可能なＲＶＤは、本明細書で記載される抑制因子ポリペプチド、例えば、ＴＡＬＥ分子との使用について検討される。

【０８５２】

ＴＡＬＥ　ＤＢＤ配列は、その用語が本明細書で使用される場合、ＴＡＬＥ　ＤＢＤ、例えば、ＴＡＬＥ分子又はＴＡＬＥポリペプチド内の各ＴＡＬＥ　ＤＢＤのＲＶＤの同一性及び順序を指す。ＴＡＬＥ　ＤＢＤ配列は、ＴＡＬＥ分子又はＴＡＬＥポリペプチドの配列特異的結合親和性を決定する。

【０８５３】

いくつかの実施形態では、抑制因子ポリペプチドは、ＴＡＬＥ分子又はＴＡＬＥポリペプチドである。ザントモナス属（Ｘａｎｔｈｏｍｏｎａｓ）の任意の種に由来するＴＡＬＥ　ＤＢＤ及びＴＡＬＥポリペプチドは、生成物、例えば、本明細書に記載される組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドを高収率で産生できる細胞又は細胞株を同定、選択又は作製するための遺伝子制御回路、細胞及び方法において使用され得る。いくつかの実施形態では、抑制因子ポリペプチドは、天然に存在するＴＡＬＥ分子又はＴＡＬＥポリペプチドである。いくつかの実施形態では、抑制因子ポリペプチドは、操作されたＴＡＬＥ分子又はＴＡＬＥポリペプチド、すなわち、天然に存在するＴＡＬＥ分子若しくはＴＡＬＥポリペプチド又は当技術分野において知られる別の操作されたＴＡＬＥ分子若しくはＴＡＬＥポリペプチドと１つ以上のアミノ酸が異なるＴＡＬＥ分子又はＴＡＬＥポリペプチドである。

【０８５４】

いくつかの実施形態では、操作されたＴＡＬＥ分子又はＴＡＬＥポリペプチドは、本明細書に記載される任意のＴＡＬＥ分子配列又は天然に存在するＴＡＬＥ分子配列、例えば、本明細書で列挙されるか又は本明細書において参照される刊行物において記載される種に由来するＴＡＬＥ分子に対して６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％の相同性を有するか；
それと比較したとき、２、５、１０、１５、２０、３０又は４０％以下のアミノ酸残基が異なるか；
少なくとも１、２、５、１０又は２０個のアミノ酸であるが、１００、８０、７０、６０、５０、４０又は３０個以下のアミノ酸が異なるか；又は
それと同一であるアミノ酸配列を含む。

【０８５５】

いくつかの実施形態では、ＴＡＬＥ分子は、そのＴＡＬＥ分子のＴＡＬＥ　ＤＢＤ配列によって指定される標的ＤＮＡ配列に局在化する。いくつかの実施形態では、ＴＡＬＥ分子は、コード配列、例えば、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドのコード配列の初期領域に動員されるときに転写を遮断することができる。いくつかの実施形態では、ＴＡＬＥ分子は、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコードする配列に作動可能に連結された制御エレメント、例えば、プロモーターエレメントに動員されるときに転写を遮断することができる。いくつかの実施形態では、さらなる抑制は、転写抑制ドメイン（例えば、ＫＲＡＢ、ＳＩＤ又はＥＲＤ）をＴＡＬＥ分子に融合させて、ＴＡＬＥ　ＤＢＤ配列によって指定される任意のＤＮＡ部位に対するエフェクターの動員を可能にすることによって達成され得る。

【０８５６】

いくつかの実施形態では、ＴＡＬＥ分子は、２つ以上（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０又はそれ以上）のＴＡＬＥ　ＤＢＤを含む。

【０８５７】

いくつかの実施形態では、抑制因子ポリペプチド、例えば、ＴＡＬＥ分子のＴＡＬＥ　ＤＢＤ配列は、標的ＤＮＡ配列を指定する。いくつかの実施形態では、ＴＡＬＥ　ＤＢＤ配列によって指定される標的配列は、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコードする配列に作動可能に連結された制御エレメント、例えば、プロモーターエレメント内に含まれる。いくつかの実施形態では、ＴＡＬＥ　ＤＢＤ配列によって指定される標的配列は、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコードする配列とともに含まれる。

【０８５８】

生成物、例えば、本明細書に記載される組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドを高収率で産生できる細胞又は細胞株を同定、選択又は作製するための遺伝子制御回路、細胞及び方法との使用のための例示的な天然に存在するＴＡＬＥポリペプチド配列及び操作されたＴＡＬＥポリペプチド配列並びにＴＡＬＥポリペプチドの設計及び試験のための方法は、例えば、全体として参照により本明細書に組み込まれるＺｈａｎｇ　Ｆ，ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２０１１；２９：１４９－１５３；Ｇｅｉｓｓｌｅｒ　Ｒ，ｅｔ　ａｌ．ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ．２０１１；６：ｅ１９５０９；Ｇａｒｇ　Ａ，ｅｔ　ａｌ．Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２０１２；Ｂｕｌｔｍａｎｎ　Ｓ，ｅｔ　ａｌ．Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２０１２；４０：５３６８－５３７７；Ｃｅｒｍａｋ　Ｔ，ｅｔ　ａｌ．Ｅｆｆｉｃｉｅｎｔ　ｄｅｓｉｇｎ　ａｎｄ　ａｓｓｅｍｂｌｙ　ｏｆ　ｃｕｓｔｏｍ　ＴＡＬＥＮ　ａｎｄ　ｏｔｈｅｒ　ＴＡＬ　ｅｆｆｅｃｔｏｒ－ｂａｓｅｄ　ｃｏｎｓｔｒｕｃｔｓ　ｆｏｒ　ＤＮＡ　ｔａｒｇｅｔｉｎｇ．Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２０１１；３９：ｅ８２；Ｃｏｎｇ　Ｌ，ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔ　Ｃｏｍｍｕｎ．２０１２；３：９６８；及びＭｉｌｌｅｒ　ＪＣ，ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２０１１；２９：１４３－１４８において当技術分野で見出され得る。

【０８５９】

ジンクフィンガー分子

いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び／又は分解ドメインに連結された目的の異種ポリペプチドは、ジンクフィンガー分子である。ジンクフィンガー分子は、その用語が本明細書で使用される場合、複数のジンクフィンガードメイン（ＺＦＤ）を含む分子又はポリペプチドを指す。ジンクフィンガー分子は、ジンクフィンガー分子が構成するＺＦＤの同一性及び順序によって決定される特定のＤＮＡ配列に対する親和性を有する。

【０８６０】

ジンクフィンガードメイン（ＺＦＤ）は、その用語が本明細書で使用される場合、配列特異的な様式でＤＮＡを結合し、ＤＮＡを結合するために亜鉛イオンリガンドを必要とす

るポリペプチドのファミリーのいずれかを指す。ＺＦＤの多くのファミリーが研究され、特徴付けられてきた（例えば、Ｋｒｉｓｈｎａ，ＳＳ．，ｅｔ　ａｌ．Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．（２００３）３１（２）：５３２－５５０を参照のこと）。本開示は、当業者に知られる任意の型又は起源のＺＦＤを含み得るジンクフィンガー分子を企図する。任意の特定の型のＺＦＤに限定されることを意図することなく、本開示は、当技術分野で最も一般的であり、且つよく研究されているCys_2His_2　ＺＦＤを含むジンクフィンガー分子を企図する。Cys_2His_2　ＺＦＤは、逆平行ベータシート及びアルファヘリックスを形成する２つのベータストランドを含む。アルファヘリックスの位置－１、１、２、３、５及び６は、ＤＮＡ塩基対と相互作用することによってＤＮＡ配列特異的な結合を指定することが知られる。ある実施形態では、Cys_2His_2　ＺＦＤは、３つの塩基対標的配列に対して特異的な結合親和性を有し得る。ある実施形態では、Cys_2His_2　ＺＦＤは、コンテキスト特異的な様式で、すなわち、ジンクフィンガー分子内の隣接するＺＦＤの存在及び同一性に依存して、標的配列に隣接するさらなる塩基対と特異的に相互作用し得る。

【０８６１】

ジンクフィンガードメイン配列又はＺＦＤ配列は、本明細書で使用される場合、ジンクフィンガー分子又はジンクフィンガーポリペプチド内のＺＦＤの同一性及び順序を指す。ＺＦＤ配列は、ジンクフィンガー分子又はジンクフィンガーポリペプチドの配列特異的な結合親和性を決定する。

【０８６２】

いくつかの実施形態では、抑制因子ポリペプチドは、ジンクフィンガー分子又はジンクフィンガーポリペプチドである。任意の種（例えば、哺乳動物種、例えば、ヒト）に由来するＺＦＤ及びジンクフィンガーポリペプチドは、生成物、例えば、本明細書に記載される組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドを高収率で産生できる細胞又は細胞株を同定、選択又は作製するための遺伝子制御回路、細胞及び方法において使用され得る。いくつかの実施形態では、抑制因子ポリペプチドは、天然に存在するジンクフィンガー分子又はジンクフィンガーポリペプチドである。いくつかの実施形態では、抑制因子ポリペプチドは、操作されたジンクフィンガー分子又はジンクフィンガーポリペプチド、すなわち、天然に存在するジンクフィンガー分子若しくはジンクフィンガーポリペプチド又は当技術分野において知られる別の操作されたジンクフィンガー分子若しくはジンクフィンガーポリペプチドと１つ以上のアミノ酸が異なるジンクフィンガー分子又はジンクフィンガーポリペプチドである。

【０８６３】

いくつかの実施形態では、操作されたジンクフィンガー分子又はジンクフィンガーポリペプチドは、本明細書に記載される任意のジンクフィンガー分子配列又は天然に存在するジンクフィンガー分子配列、例えば、本明細書で列挙されるか又は本明細書において参照される刊行物において記載される種に由来するジンクフィンガー分子に対して６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％の相同性を有するか；
それと比較したとき、２、５、１０、１５、２０、３０又は４０％以下のアミノ酸残基が異なるか；
少なくとも１、２、５、１０又は２０個のアミノ酸であるが、１００、８０、７０、６０、５０、４０又は３０個以下のアミノ酸が異なるか；又は
それと同一であるアミノ酸配列を含む。

【０８６４】

いくつかの実施形態では、ジンクフィンガー分子は、そのジンクフィンガー分子のＺＦＤ配列によって指定される標的ＤＮＡ配列に局在化する。いくつかの実施形態では、ジンクフィンガー分子は、コード配列、例えば、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドのコード配列の初期領域に動員されるときに転写を遮断することができる。いくつかの実施形態では、ジンクフィンガー分子は、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコ

ードする配列に作動可能に連結された制御エレメント、例えば、プロモーターエレメントに動員されるときに転写を遮断することができる。いくつかの実施形態では、さらなる抑制は、転写抑制ドメイン（例えば、ＫＲＡＢ、ＳＩＤ又はＥＲＤ）をジンクフィンガー分子に融合させて、ＺＦＤ配列によって指定される任意のＤＮＡ部位に対するエフェクターの動員を可能にすることによって達成され得る。

【０８６５】

いくつかの実施形態では、ジンクフィンガー分子は、２つ以上（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０又はそれ以上）のＺＦＤを含む。いくつかの実施形態では、ＺＦＤ配列を、既知の標的配列親和性を有するＺＦＤから構築して、所望の特異的な標的配列を有するジンクフィンガー分子又はジンクフィンガーポリペプチドを生み出すことができる。

【０８６６】

いくつかの実施形態では、抑制因子ポリペプチド、例えば、ジンクフィンガー分子のＺＦＤ配列は、標的ＤＮＡ配列を指定する。いくつかの実施形態では、ＺＦＤ配列によって指定される標的配列は、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコードする配列に作動可能に連結された制御エレメント、例えば、プロモーターエレメント内に含まれる。いくつかの実施形態では、ＺＦＤ配列によって指定される標的配列は、組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドをコードする配列とともに含まれる。

【０８６７】

生成物、例えば、本明細書に記載される組換えポリペプチド又は治療用ポリペプチドを高収率で産生できる細胞又は細胞株を同定、選択又は作製するための遺伝子制御回路、細胞及び方法との使用のための例示的な天然に存在するジンクフィンガーポリペプチド配列及び操作されたジンクフィンガーポリペプチド配列並びにジンクフィンガーポリペプチドの設計及び試験のための方法は、例えば、全体として参照により本明細書に組み込まれるＷｏｌｆｅ ＳＡ，ｅｔ ａｌ．Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ｂｉｏｍｏｌ Ｓｔｒｕｃｔ．２０００；２９：１８３－２１２；Ｐａｂｏ ＣＯ，ｅｔ ａｌ．Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｂｉｏｃｈｅｍ．２００１；７０：３１３－３４０；Ｇｒｅｉｓｍａｎ ＨＡ，Ｐａｂｏ ＣＯ．Ｓｃｉｅｎｃｅ．１９９７；２７５：６５７－６６１；Ｉｓａｌａｎ Ｍ，ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ Ｕ Ｓ Ａ．１９９７；９４：５６１７－５６２１；Ｗｏｌｆｅ ＳＡ，ｅｔ ａｌ．Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ．１９９９；２８５：１９１７－１９３４において当技術分野で見出され得る。

【０８６８】

特異的な標的ＤＮＡ配列に結合するＺＦＤ及びＺＦＤ配列を設計する方法は、例えば、全体として本明細書に組み込まれるＭａｅｄｅｒ ＭＬ，ｅｔ ａｌ．Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ．２００８；３１：２９４－３０１；Ｓａｎｄｅｒ ＪＤ，ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｍｅｔｈｏｄｓ．２０１１；８：６７－６９；及びＭｅｎｇ Ｘ，ｅｔ ａｌ．Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２００８；２６：６９５－７０１において当技術分野で見出され得る。

【０８６９】

分解ドメイン

いくつかの実施形態では、本発明の融合ポリペプチドはさらに、分解ドメインを含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、第１の状態及び第２の状態、例えば、安定化／不安定化の状態又はフォールディング／ミスフォールディングの状態を有する。第１の状態は、第１の速度又はレベルで融合ポリペプチドの発現と関連するか、それを引き起こすか又はそれを媒介し、第２の状態は、第２の速度又はレベルで融合ポリペプチドの発現と関連するか、それを引き起こすか又はそれを媒介する。いくつかの実施形態では、第２の状態は、第１の状態の速度又はレベルより高い、例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０又は３０倍高いレベル又は速度を有する。いくつかの実施形態では、第

２の状態は、安定化化合物の存在と関連するか、それによって維持されるか又はそれによって引き起こされる。いくつかの実施形態では、安定化化合物の存在は、例えば、目的の細胞における、第１のフォールディング状態から第２のフォールディング状態への変換、例えば、ミスフォールディング状態からより適切に折り畳まれた状態への変換、例えば、分解されやすい第１の状態から第１の状態よりも分解されにくい第２の状態への変換；又は第１の分解レベルを有する第１のフォールディング状態から第２のより低い分解レベルを有する第２のフォールディング状態への変換と関連するか、それを引き起こすか又はそれを媒介することができる。

【０８７０】

ある実施形態では、複数の細胞、例えば宿主細胞又は本明細書に記載される融合ポリペプチドを含む細胞に対する安定化化合物の添加は、第１の状態から第２の状態への、例えば、本明細書に記載されるとおりの安定化／不安定化の状態又はフォールディング／ミスフォールディングの状態のより少ない複数の細胞の変換を引き起こす。ある実施形態では、安定化化合物の非存在下において、複数の細胞の１０、９、８、７、６、５、４、３、２又は１％未満が第２の状態を含み、複数の細胞の９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８又は９９％以上が第１の状態を含む。ある実施形態では、安定化化合物の存在下において、複数の細胞の２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は９５％以上が第２の状態を含み、複数の細胞の２０、１５、１０、９、８、７、６、５、４、３、２又は１％未満が第１の状態を含む。ある状態を構成する複数の細胞の割合の決定は、本明細書全体にわたって記載される方法を用いて行うことができる。

【０８７１】

一実施形態では、分解ドメインは、異種プロテアーゼ切断部位によって融合ポリペプチドの残部から隔てられている。

【０８７２】

理論に束縛されるものではないが、いくつかの実施形態では、分解ドメインは不安定であり、且つ／又は安定化化合物の非存在下で安定な立体構造に折り畳むことができない。このミスフォールドした／折り畳まれていない分解ドメインは、融合ポリペプチドの残部とともに細胞内分解経路によって分解され得る。安定化化合物の存在下では、分解ドメインは、適切な立体構造をとり、細胞間分解経路に対してより影響を受けにくい。したがって、融合ポリペプチドの発現レベルは、安定化化合物の存在下又は非存在下で制御され得る。

【０８７３】

いくつかの実施形態では、分解ドメインの適切なフォールディングは異種プロテアーゼ切断部位を露出させ、異種プロテアーゼ切断部位の切断及び融合ポリペプチドの残部からの分解ドメインの除去をもたらす。

【０８７４】

安定化化合物の存在下で選択的に安定である分解ドメインを作製する方法は、当技術分野でよく知られており、以下でさらに論じられる。いくつかのそのようなドメイン安定化化合物の対が現在までに作製されており、本発明において注目される。これらは、Ａ Ｒａｐｉｄ，Ｒｅｖｅｒｓｉｂｌｅ，ａｎｄ Ｔｕｎａｂｌｅ Ｍｅｔｈｏｄ ｔｏ Ｒｅｇｕｌａｔｅ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｆｕｎｃｔｉｏｎ ｉｎ Ｌｉｖｉｎｇ Ｃｅｌｌｓ Ｕｓｉｎｇ Ｓｙｎｔｈｅｔｉｃ Ｓｍａｌｌ Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ．”Ｂａｎａｓｚｙｎｓｋｉ，Ｌ．Ａ．；Ｃｈｅｎ，Ｌ．－Ｃ．；Ｍａｙｎａｒｄ－Ｓｍｉｔｈ，Ｌ．Ａ．；Ｏｏｉ，Ａ．Ｇ．Ｌ．；Ｗａｎｄｌｅｓｓ，Ｔ．Ｊ．Ｃｅｌｌ，２００６，１２６，９９５－１００４において記載されるとおりのＦＫＢＰ（例えば、「Ｓｈｉｅｌｄ」安定化化合物を使用する）に基づく分解ドメイン；Ａ ｇｅｎｅｒａｌ ｃｈｅｍｉｃａｌ ｍｅｔｈｏｄ ｔｏ ｒｅｇｕｌａｔｅ ｐｒｏｔｅｉｎ ｓｔａｂｉｌｉｔｙ ｉｎ ｔｈｅ ｍａｍｍａｌｉａｎ ｃｅｎｔｒａｌ ｎｅｒｖｏｕｓ ｓｙｓｔｅｍ。Ｉｗａｍｏｔｏ，Ｍ．；Ｂｊｏｅｒｋｌｕｎｄ，Ｔ．；Ｌｕｎｄｂｅｒｇ，Ｃ．；Ｋｉｒｉｋ，Ｄ．；Ｗａｎｄｌｅｓｓ，Ｔ．Ｊ．Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ＆ Ｂｉｏｌｏｇｙ，２０１０，１７，９８１－９８８

において記載されるとおりのＤＨＦＲ（例えば、安定化化合物としてトリメトプリムを使用する）に基づくドメイン；及びＤｅｓｔａｂｉｌｉｚｉｎｇ ｄｏｍａｉｎｓ ｄｅｒｉｖｅｄ ｆｒｏｍ ｔｈｅ ｈｕｍａｎ ｅｓｔｒｏｇｅｎ ｒｅｃｅｐｔｏｒ Ｙ Ｍｉｙａｚａｋｉ，Ｈ Ｉｍｏｔｏ，Ｌ－ｃ Ｃｈｅｎ，ＴＪ Ｗａｎｄｌｅｓｓ Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．２０１２，１３４，３９４２－３９４５において記載されるとおりのエストロゲン受容体アルファ（例えば、４ＯＨＴが安定化化合物として使用される）に基づくドメインを含む。これらの参考文献の各々が全体として参照により本明細書に組み込まれる。

【０８７５】

本開示は、任意の天然に存在するタンパク質に由来する分解ドメインを包含する。好ましくは、本発明の融合ポリペプチドは、目的の細胞区画において天然に発現されるリガンドがない分解ドメインを含むことになる。例えば、融合ポリペプチドがＴ細胞での発現のために設計される場合、Ｔ細胞において存在する天然起源のリガンドが存在しない分解ドメインを選択することが好ましい。したがって、分解ドメインは、目的の細胞において発現されるとき、外因的に加えられた化合物の存在下でのみ安定化されることになる。注目すべきことに、この特性は、天然に発現されたリガンドにもはや結合しないように（この場合、分解ドメインは合成化合物の存在下でのみ安定である）分解ドメインを操作すること、又は天然に発現されたリガンドが存在しない区画において分解ドメインを発現させる（例えば、分解ドメインは、融合ポリペプチドが発現されることになる種以外の種に由来し得る）ことによって操作され得る。

【０８７６】

分解ドメイン－安定化化合物の対は、任意の天然に存在するタンパク質又は合成的に開発されたタンパク質に由来し得る。安定化化合物は、任意の天然に存在する化合物又は合成的に開発された化合物であり得る。特定の実施形態では、安定化化合物は、既存の処方薬又は処方箋なしの医薬になる。分解ドメインの特性を持つように操作され得るタンパク質の例は、対応する安定化化合物とともに下の表２１において記載される。

【０８７７】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、表２１において列挙されるタンパク質に由来する。

【０８７８】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）に由来する。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４６若しくはそれと少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列又は配列番号４８若しくはそれと少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号４６又は４８のアミノ酸配列を含む。分解ドメインがエストロゲン受容体に由来するとき、安定化化合物は、バゼドキシフェン又は４－ヒドロキシタモキシフェン（４－ＯＨＴ）から選択され得る。いくつかの実施形態では、安定化化合物は、バゼドキシフェンである。タモキシフェン及びバゼドキシフェンは、ＦＤＡに承認された薬物であり、したがって、ヒトにおける使用に対して安全である。

【０８７９】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）に由来する。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５０若しくはそれと少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５０のアミノ酸配列を含む。分解ドメインがＦＫＢＰに由来する場合、安定化化合物は、Ｓｈｉｅｌｄ－１であり得る。

【０８８０】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）に由来する。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５１若しくはそれと少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列のアミノ酸

配列を含む。いくつかの実施形態では、分解ドメインは、配列番号５１のアミノ酸配列を含む。分解ドメインがＤＨＦＲに由来する場合、安定化化合物は、トリメトプリムであり得る。

【０８８１】

いくつかの実施形態では、分解ドメインは、ＦＫＢタンパク質、エストロゲン受容体又はＤＨＦＲに由来しない。

【０８８２】

【表１４８】

表 21. 分解ドメインを作製するための例示的なタンパク質

型	薬物の活性	薬物の例
オキシドレダクターゼ		
アルデヒドデヒドロゲナーゼ	阻害剤	ジスルフィラム
モノアミンオキシダーゼ (MAO)	MAO-A 阻害剤	トラニルシプロミン、モクロベミド
	MAO-B 阻害剤	トラニルシプロミン
シクロオキシゲナーゼ (COX)	COX1 阻害剤	アセチルサリチル酸、プロフェン、アセトアミノフェン及びジピロン (アラキドニルアミドとして)
	COX2 阻害剤	アセチルサリチル酸、プロフェン、アセトアミノフェン及びジピロン (アラキドニルアミドとして)
ビタミン K エポキシドレダクターゼ	阻害剤	ワルファリン、フェンプロクモン
アロマターゼ	阻害剤	エキセメスタン
ラノステロールデメチラーゼ (真菌)	阻害剤	アゾール抗真菌剤
リポキシゲナーゼ	阻害剤	メサラジン
	5-リポキシゲナーゼ阻害剤	ジロートン
甲状腺ペルオキシダーゼ	阻害剤	チオウラシル
ヨードチロニン-5'デヨードナーゼ	阻害剤	プロピルチオウラシル
イノシン一リン酸デヒドロゲナーゼ	阻害剤	ミコフェノール酸モフェチル
HMG-CoA レダクターゼ	阻害剤	スタチン
α-5-テストステロンレダクターゼ	阻害剤	フィナステリド、デュタステリド
ジヒドロ葉酸レダクターゼ (細菌)	阻害剤	トリメトプリム
ジヒドロ葉酸レダクターゼ (ヒト)	阻害剤	メトトレキサート、ペメトレキセド
ジヒドロ葉酸レダクターゼ (寄生虫)	阻害剤	プログアニル

【０８８３】

【表１４９】

ジヒドロ葉酸レダクターゼ	阻害剤	レフルノミド
エノイルレダクターゼ (マイコバクテリア)	阻害剤	イソニアジド
スクアレンエポキシダーゼ (真菌)	阻害剤	テルビナフィン
Δ-14 レダクターゼ (真菌)	阻害剤	アモロルフィン
キサンチンオキシダーゼ	阻害剤	アロプリノール
4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ	阻害剤	ニチシノン
リボヌクレオシド二リン酸レダクターゼ	阻害剤	ヒドロキシカルバミド
トランスフェラーゼ		
プロテインキナーゼ C	阻害剤	ミルテホシン
細菌ペプチジルトランスフェラーゼ	阻害剤	クロラムフェニコール
カテコールアミン-*O*-メチルトランスフェラーゼ	阻害剤	エンタカポン
RNA ポリメラーゼ (細菌)	阻害剤	アンサマイシン
逆転写酵素 (ウイルス)	競合的阻害剤	ジドブジン
	アロステリック阻害剤	エファビレンツ
DNA ポリメラーゼ	阻害剤	アシクロビル、スラミン
GABA トランスアミナーゼ	阻害剤	バルプロ酸、ビガバトリン
チロシンキナーゼ	PDGFR/ABL/KIT 阻害剤	イマチニブ
	EGFR 阻害剤	エルロチニブ
	β-VEGFR2/PDGFR/KIT/FLT3	スニチニブ
	β-VEGFR2/PDGFR/RAF	ソラフェニブ
グリシンアミドリボヌクレオチドホルミルトランスフェラーゼ	阻害剤	ペメトレキセド
ホスホエノールピルビン酸トランスフェラーゼ (MurA、細菌)	阻害剤	ホスホマイシン
ヒト細胞質ゾル分岐鎖アミノトランスフェラーゼ (hBCATc)	阻害剤	ガバペンチン
ヒドロラーゼ (プロテアーゼ)		
アスパチルプロテアーゼ (ウイルス)	HIV プロテアーゼ阻害剤	サキナビル、インジナビル
ヒドロラーゼ (セリンプロテアーゼ)		
非特異的	非特異的阻害剤	アプロチニン
細菌セリンプロテアーゼ	直接的阻害剤	*β*-ラクタム
細菌セリンプロテアーゼ	間接的阻害剤	糖ペプチド
細菌ラクタマーゼ	直接的阻害剤	スルバクタム
ヒトアンチトロンビン	活性化剤	ヘパリン
ヒトプラスミノーゲン	活性化剤	ストレプトキナーゼ
ヒト凝固因子	活性化剤	因子 IX 複合体、因子 VIII
ヒト因子 Xa	阻害剤	フォンダパリヌクス
ヒドロラーゼ (メタロプロテアーゼ)		
ヒト ACE	阻害剤	カプトプリル
ヒト HRD	阻害剤	シラスタチン
ヒトカルボキシペプチダーゼ A (Zn)	阻害剤	ペニシラミン
ヒトエンケファリナーゼ	阻害剤	ラセカドトリル
ヒドロラーゼ (他)		

【０８８４】

【表１５０】

26S プロテアソーム	阻害剤	ボルテゾミブ
エステラーゼ	AChE 阻害剤	フィゾスチグミン
	AChE 再賦活薬	オビドキシム
	PDE 阻害剤	カフェイン
	PDE3 阻害剤	アムリノン、ミルリノン
	PDE4 阻害剤	パパベリン
	PDE5 阻害剤	シルデナフィル
	HDAC 阻害剤	バルプロ酸
	HDAC3/HDAC7 阻害剤	カルバマゼピン
グリコシダーゼ (ウイルス)	α-グリコシダーゼ阻害剤	ザナミビル、オセルタミビル
グリコシダーゼ (ヒト)	α-グリコシダーゼ阻害剤	アカルボース
リパーゼ	胃腸管リパーゼ阻害剤	オルリスタット
ホスファターゼ	カルシニューリン阻害剤	シクロスポリン
	イノシトールポリリン酸 ホスファターゼ阻害剤	リチウムイオン
GTP アーゼ	Rac1 阻害剤	6-チオ-GTP (アザチオプリン代謝物)
ホスホリラーゼ	細菌 C55-脂質リン酸 デホスホリラーゼ阻害剤	バシトラシン
リアーゼ		
DOPA デカルボキシラーゼ	阻害剤	カルビドパ
炭酸脱水酵素	阻害剤	アセタゾラミド
ヒスチジンデカルボキシラーゼ	阻害剤	トリトクアリン
オルニチンデカルボキシラーゼ	阻害剤	エフロルニチン
可溶性グアニリルシクラーゼ	活性化剤	硝酸エステル、モルシドミン
イソメラーゼ		
アラニンラセマーゼ	阻害剤	D-サイクロセリン
DNA ギラーゼ (細菌)	阻害剤	フルオロキノロン
トポイソメラーゼ	トポイソメラーゼ I 阻害剤	イリノテカン
	トポイソメラーゼ II 阻害剤	エトポシド
8,7 イソメラーゼ (真菌)	阻害剤	アモロルフィン
リガーゼ (シンターゼとしても知られる)		
ジヒドロプテロイン酸シンターゼ	阻害剤	スルホンアミド
チミジル酸シンターゼ (真菌及びヒト)	阻害剤	フルオロウラシル
チミジル酸シンターゼ (ヒト)	阻害剤	メトトレキサート、ペメトレキセド
ホスホフルクトキナーゼ	阻害剤	アンチモン化合物
mTOR	阻害剤	ラパマイシン
ヘムポリメラーゼ (プラスモジウム)	阻害剤	キノリン抗マラリア剤
β-1,3--D-グルカンシンターゼ (真菌)	阻害剤	カスポファンギン
グルコシルセラミドシンターゼ	阻害剤	ミグルスタット
基質	**原体**	
アスパラギン	アスパラギナーゼ	
尿酸塩	ラスブリカーゼ (尿酸オキシダーゼ)	
VAMP-シナプトブレビン、 SNAP25、シンタキシン	ボツリヌス神経毒素の軽鎖 (Zn-エンドペプチダーゼ)	
型	**薬物の活性**	**薬物の例**

【０８８５】

【表１５１】

直接的リガンド開口型イオンチャネル受容体		
$GABA_A$受容体	バルビツレート結合部位アゴニスト	バルビツレート
	ベンゾジアゼピン結合部位アゴニスト	ベンゾジアゼピン
	ベンゾジアゼピン結合部位アンタゴニスト	フルマゼニル
アセチルコリン受容体	ニコチン受容体アゴニスト	(アンギオストロンギルス属(Angiostrongylus)の)ピランテル、レバミソール
	ニコチン受容体安定化アンタゴニスト	アルクロニウム
	ニコチン受容体脱分極性アンタゴニスト	スキサメトニウム
	ニコチン受容体アロステリック修飾薬	ガランタミン
グルタミン酸受容体(イオンチャネル型)	NMDAサブタイプアンタゴニスト	メマンチン
	NMDAサブタイプ発現修飾薬	アカンプロサート
	NMDAサブタイプフェンシクリジン結合部位アンタゴニスト	ケタミン
Gタンパク質共役型受容体		
アセチルコリン受容体	ムスカリン受容体アゴニスト	ピロカルピン
	ムスカリン受容体アンタゴニスト	トロパン誘導体
	ムスカリン受容体M_3アンタゴニスト	ダリフェナシン
アデノシン受容体	アゴニスト	アデノシン
	アデノシンA_1受容体アゴニスト	カノコソウ由来のリグナン
	アデノシンA1受容体アンタゴニスト	カフェイン、テオフィリン
	アデノシンA_{2A}受容体アンタゴニスト	カフェイン、テオフィリン
アドレナリン受容体	アゴニスト	アドレナリン、ノルアドレナリン、エフェドリン
	α_1-及びα_2-受容体アゴニスト	キシロメタゾリン
	α_1-受容体アンタゴニスト	エルゴタミン
	α_2-受容体、中枢性アゴニスト	メチルドパ(メチルノルアドレナリンとして)
	β-アドレナリン受容体アンタゴニスト	イソプレナリン
	β_1-受容体アンタゴニスト	プロプラノロール、アテノロール
	β_2-受容体アゴニスト	サルブタモール
	β_2-受容体アンタゴニスト	プロプラノロール
アンジオテンシン受容体	AT_1-受容体アンタゴニスト	サルタン
カルシウム感知受容体	アゴニスト	ストロンチウムイオン
	アロステリック活性化剤	シナカルセト
カンナビノイド受容体	CB_1-及びCB_2-受容体アゴニスト	ドロナビノール
システイニルロイコトリエン受容体	アンタゴニスト	モンテルカスト
ドーパミン受容体	ドーパミン受容体サブタイプの直接的アゴニスト	ドーパミン、レボドパ

【０８８６】

【表１５２】

	D_2, D_3 及び D_4 アゴニスト	アポモルヒネ
	D_2, D_3 及び D_4 アンタゴニスト	クロルプロマジン、フルフェナジン、ハロペリドール、メトクロプラミド、ジプラシドン
エンドセリン受容体 (ET_A、ET_B)	アンタゴニスト	ボセンタン
$GABA_B$ 受容体	アゴニスト	バクロフェン
グルカゴン受容体	アゴニスト	グルカゴン
グルカゴン様ペプチド-1 受容体	アゴニスト	エキセナチド
ヒスタミン受容体	H_1-アンタゴニスト	ジフェンヒドラミン
	H_2-アンタゴニスト	シメチジン
オピオイド受容体	μ-オピオイドアゴニスト	モルフィン、ブプレノルフィン
	μ-, κ-及びδ-オピオイドアンタゴニスト	ナルトレキソン
	κ-オピオイドアンタゴニスト	ブプレノルフィン
ニューロキニン受容体	NK_1 受容体アンタゴニスト	アプレピタント
プロスタノイド受容体	アゴニスト	ミソプロストール、スルプロストン、イロプロスト
プロスタミド受容体	アゴニスト	ビマトプロスト
プリン作動性受容体	P_2Y_{12} アンタゴニスト	クロピドグレル
セロトニン受容体	サブタイプ特異的 (部分的) アゴニスト	エルゴメトリン、エルゴタミン
	5-HT_{1A} 部分的アゴニスト	ブスピロン
	5-$HT_{1B/1D}$ アゴニスト	トリプタン
	5-HT_{2A} アンタゴニスト	クエチアピン、ジプラシドン
	5-HT_3 アンタゴニスト	グラニセトロン
	5-HT_4 部分的アゴニスト	テガセロッド
バソプレシン受容体	アゴニスト	バソプレシン
	V_1 アゴニスト	テルリプレシン
	V_2 アゴニスト	デスモプレシン
	OT アゴニスト	オキシトシン
	OT アンタゴニスト	アトシバン
サイトカイン受容体		
クラス I サイトカイン受容体	成長ホルモン受容体アンタゴニスト	ペグビソマント
	エリスロポエチン受容体アゴニスト	エリスロポエチン
	顆粒球コロニー刺激因子アゴニスト	フィルグラスチム
	顆粒球マクロファージコロニー刺激因子アゴニスト	モルグラモスチム
	インターロイキン-1 受容体アンタゴニスト	アナキンラ
	インターロイキン-2 受容体アゴニスト	アルデスロイキン
TNFα受容体	ミメティック (可溶性)	エタネルセプト
インテグリン受容体		
糖タンパク質 IIb/IIIa 受容体	アンタゴニスト	チロフィバン
チロシンキナーゼと関連する受容体		

【０８８７】

【表１５３】

インスリン受容体	直接的アゴニスト	インスリン
インスリン受容体	感作物質	ビグアナイド
核受容体 (ステロイドホルモン受容体)		
鉱質コルチコイド受容体	アゴニスト	アルドステロン
	アンタゴニスト	スピロノラクトン
糖質コルチコイド受容体	アゴニスト	糖質コルチコイド
プロゲステロン受容体	アゴニスト	ゲスターゲン
エストロゲン受容体	アゴニスト	エストロゲン
	(部分的) アンタゴニスト	クロミフェン
	アンタゴニスト	フルベストラント
	修飾薬	タモキシフェン、ラロキシフェン
	アンドロゲン受容体アゴニスト	テストステロン
	アンタゴニスト	酢酸シプロテロン
ビタミン D 受容体	アゴニスト	レチノイド
ACTH 受容体アゴニスト	アゴニスト	テトラコサクチド (コシントロピンとしても知られる)
核受容体 (他)		
	α-レチノイン酸受容体 RAR アゴニスト	イソトレチノイン
	β-RAR アゴニスト	アダパレン、イソトレチノイン
	γ-RAR アゴニスト	アダパレン、イソトレチノイン
ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 (PPAR)	α-PPAR アゴニスト	フィブラート
	γ-PPAR アゴニスト	グリタゾン
甲状腺ホルモン受容体	アゴニスト	L-チロキシン
電位開口型 Ca^{2+} チャネル		
全般	阻害剤	オクスカルバゼピン
シストソーマ属 (Schistosoma sp.)	阻害剤	プラジカンテル
L-型チャネル	阻害剤	ジヒドロピリジン、ジルチアゼム、レルカニジピン、プレガバリン、ベラパミル
T-型チャネル	阻害剤	サクシニミド
K+チャネル		
上皮 K^+チャネル	開口薬阻害剤	ジアゾキシド、ミノキシジル
		ナテグリニド、スルホニルウレア
電位開口型 K^+チャネル	阻害剤	アミオダロン
Na^+チャネル		
上皮 Na+チャネル (ENaC)	阻害剤	アミロライド、ブピバカイン、リドカイン、プロカインアミド、キニジン
電位開口型 Na^+チャネル	阻害剤	カルバマゼピン、フレカイニド、ラモトリギン、フェニトイン、プロパフェノン、トピラマート、バルプロ酸
リアノジン-イノシトール1,4,5-三リン酸受容体 Ca^{2+} チャネル (RIR-CaC) ファミリー		
リアノジン受容体	阻害剤	ダントロレン
一過性受容器電位 Ca^{2+} チャネル (TRP-CC) ファミリー		
TRPV1 受容体	阻害剤	アセトアミノフェン (アラキドニルアミドとして)

【０８８８】

【表１５４】

Cl- チャネル		
Cl^-チャネル	阻害剤 (マスト細胞) 開口薬 (寄生虫)	クロモグリク酸ナトリウム イベルメクチン
カチオン-塩化物イオン共輸送体 (CCC) ファミリー	チアジド-感受性 NaCl 共輸送体、ヒト阻害剤	チアジド利尿剤
	ブメタニド-感受性 NaCl/KCl 共輸送体、ヒト阻害剤	フロセミド
Na^+/H^+交換輸送体	阻害剤	アミロライド、トリアムテレン
プロトンポンプ	Ca^{2+}-依存的 ATP アーゼ (PfATP6; マラリア原虫) 阻害剤	アルテミシニン及び誘導体
H^+/K^+-ATP アーゼ	阻害剤	オメプラゾール
Na^+/K^+ ATP アーゼ	阻害剤	強心配糖体
真核生物 (推定上) ステロール輸送体 (EST)ファミリー	ニーマン-ピック C1 様 1 (NPC1L1) タンパク質阻害剤	エゼチミブ
ニューロトランスミッター/Na^+ 共輸送体 (NSS) ファミリー	セロトニン/Na^+共輸送体阻害剤	コカイン、三環系抗うつ剤、パロキセチン
	ノルアドレナリン/Na^+共輸送体阻害剤	ブプロピオン、ベンラファキシン
	ドーパミン/Na^+共輸送体阻害剤	三環系抗うつ剤、コカイン、アンフェタミン
	小胞性モノアミン輸送体阻害剤	レセルピン
核酸		
DNA 及び RNA	アルキル化	クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン
	複合体形成	シスプラチン
	インターカレーション	ドキソルビシン
	酸化的分解	ブレオマイシン
	鎖切断	ニトロイミダゾール
RNA	16S-rRNA との相互作用	アミノグリコシド抗感染症薬
	23S-rRNA との相互作用	マクロライド抗感染症薬
	23S-rRNA/tRNA/2-ポリペプチド複合体	オキサゾリジノン抗感染症薬
紡錘体	発生の阻害	ビンカアルカロイド
	脱集合の阻害	タキサン
有糸分裂の阻害	–	コルヒチン
リボソーム		
30S サブユニット (細菌)	阻害剤	テトラサイクリン
50S サブユニット (細菌)	阻害剤	リンコサミド、キヌプリスチン-ダルホプリスチン

【０８８９】

【表１５５】

表 22. 分解ドメインの例示的配列

配列番号	説明	配列
配列番号 44	ER1 WT (305aa-549aa) アミノ酸配列	SLALSLTADQMVSALLDAEPPILYSEYDPTRPFSEASMMGLLTNLAD RELVHMINWAKRVPGFVDLTLHDQVHLLECAWLEILMIGLVWRSM EHPGKLLFAPNLLLDRNQGKCVEGMVEIFDMLLATSSRFRMMNLQG EEFVCLKSIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKITDTLIHLMA KAGLTLQQQHQRLAQLLLILSHIRHMSNKGMEHLYSMKCKNVVPL YDLLLEMLDAHRL
配列番号 45	ER1 WT (305Aa-549aa) ヌクレオチド配列	tcgttggcactttcctgactgccgaccagatggtgtccgccttctggacgccgagcctccaattctgtactc ggagtacgatccgactcgcccgttctccgaagccagcatgatgggcctgttgactaacctggcggaccgcg agttggtgcacatgattaactgggctaagcgggtgccgggcttcgtggacctgactctgcacgaccaagtgc acctcctggaatgcgcctggctggaaatcctcatgatcggcctcgtgtggagatccatggagcatcccggaa agctcctgtttgcacccaacctcctgcttgatcgcaaccagggaaaatgcgtggaagggatggtcgagatttt cgacatgctgctcgccacctcttcccggttccggatgatgaatctgcagggagaagagttcgtgtgtctgaag tcaatcatcctgctgaactccggggtctataccttcctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaaaagacc acatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacaccctatccatctcatggcgaaggctggactgaccctgca acagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagccacatccggcacatgtcgaacaagggga tggaacacctgtacagcatgaagtgcaagaacgtcgtgcctctgtacgatctgctcctggaaatgctggacgc gcacagactc
配列番号 46	ERmut1 (6 個の変異) アミノ酸配列	SLALSLTADQMVSALLDAEPPILYSEYDPTRPFSEASMMGLLTNLAD RELVHMINWAKRVPGFVDLALHDQVHLLECAWMEILMIGLVWRSM EHPGKLLFAPNLLLDRNQGKCVEGGVEIFDMLLATSSRFRMMNLQG EEFVCLKSIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKITDTLIHLMA KAGLTLQQQHQRLAQLLLILSHIRHMSSKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRL

【０８９０】

【表１５６】

配列番号 47	ERmut1 (6個の変異) ヌクレオチド 配列	tcgttggcactttccctgactgccgaccagatggtgtccgcccttctggacgccgagcctccaattctgtactc ggagtacgatccgactcgcccgttctccgaagccagcatgatgggcctgttgactaacctggcggaccgcg agttggtgcacatgattaactgggctaagcgggtgccgggcttcgtggacctggccctgcacgaccaagtgc acctcctggaatgcgcctggatggaaatcctcatgatcggcctcgtgtggagatccatggagcatcccggaa agctcctgtttgcacccaacctcctgcttgatcgcaaccagggaaaatgcgtggaaggggtgtcgagatttt cgacatgctgctcgccacctcttcccggttccggatgatgaatctgcagggagaagagttcgtgtgtctgaag tcaatcatcctgctgaactccggggtctatacttcctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaaaagacc acatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacaccttatccatctcatggcgaaggctggactgaccctgca acagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagccacatccggcacatgtcgtccaagagga tggaacacctgtacagcatgaagtgcaagaacgtcgtgcctctgtccgatctgctcctggaaatgctggacgc gcacagactc
配列番号 48	ERmut2 (4個の変異) アミノ酸配列	SLALSLTADQMVSALLDAEPPILYSEYDPTRPFSEASMMGLLTNLAD RELVHMINWAKRVPGFVDLTLHDQVHLLECAWMEILMIGLVWRSM EHPGKLLFAPNLLLDRNQGKCVEGGVEIFDMLLATSSRFRMMNLQG EEFVCLKSIILLNSGVYTFLSSTLKSLEEKDHIHRVLDKITDTLIHLMA KAGLTLQQQHQRLAQLLLILSHIRHMSNKRMEHLYSMKCKNVVPLS DLLLEMLDAHRL
配列番号 49	ERmut2 (4個の変異) ヌクレオチド配 列	tcgttggcactttccctgactgccgaccagatggtgtccgcccttctggacgccgagcctccaattctgtactc ggagtacgatccgactcgcccgttctccgaagccagcatgatgggcctgttgactaacctggcggaccgcg agttggtgcacatgattaactgggctaagcgggtgccgggcttcgtggacctgaccctgcacgaccaagtgc acctcctggaatgcgcctggatggaaatcctcatgatcggcctcgtgtggagatccatggagcatcccggaa agctcctgtttgcacccaacctcctgcttgatcgcaaccagggaaaatgcgtggaaggggtgtcgagatttt cgacatgctgctcgccacctcttcccggttccggatgatgaatctgcagggagaagagttcgtgtgtctgaag tcaatcatcctgctgaactccggggtctatacttcctgagctcgaccctcaagtcactggaggaaaaagacc acatccatcgcgtgctcgataagatcaccgacaccttatccatctcatggcgaaggctggactgaccctgca acagcagcaccagaggctggcccagttgctgctgattctgagccacatccggcacatgtcgaacaagagga tggaacacctgtacagcatgaagtgcaagaacgtcgtgcctctgtccgatctgctcctggaaatgctggacgc gcacagactc
配列番号 50	FKBP L106P アミノ酸配列	GVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKVDSSRDRNKPF KFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIP PHATLVFDVELLKPE
配列番号 51	DHFR R12Y/G27S/ Y100Iアミノ酸 配列	ISLIAALAVDYVIGMENAMPWNLPADLAWFKRNTLNKPVIMGRHT WESIGRPLPGRKNIILSSQPSTDDRVTWVKSVDEAIAACGDVPEIMVI GGGRVIEQFLPKAQKLYLTHIDAEVEGDTHFPDYEPDDWESVFSEFH DADAQNSHSYCFEILERR

【０８９１】

分解ドメインは、当技術分野で知られる様々な通例の方法のいずれかにより既知のタンパク質（例えば、表２１において記載されるそれらのタンパク質）から設計され得る。一般に、そのような方法は、最初に、例えば、天然に存在するタンパク質に由来するタンパク質を含む目的のライブラリーを作製することを採用する。第二に、個々のライブラリーコンストラクトに由来するタンパク質を発現する細胞又は細胞集団が、その由来するタンパク質の発現が、所望の安定化化合物の存在に依存するかどうかに基づいて選択されることになる。誘導及び選択の過程は、好適な候補を同定するのに必要なサイクルで繰り返され得る。

【０８９２】

例えば、ライブラリーは、選択された化合物に対するタンパク質ドメインの様々な構造及び推定上の親和性をサンプリングすることに基づいて、合理的なタンパク質設計によって作製され得る。代わりに、ライブラリーは、標的タンパク質のランダム変異誘発によって作製され得る。いずれの場合においても、例えば、ジャーカット細胞が、そのコンストラクトから作製されたレンチウイルスライブラリーで形質導入され得る。次に、ジャーカット細胞を、一連のＦＡＣＳソーティングにかけて、目的のタンパク質を構成的に発現する細胞を除去し得る。次の段階において、ソーティングされた細胞は、選択された化合物とともに２４時間インキュベートされ、陽性細胞がＦＡＣＳソーティングされる。これらは、単一細胞クローニングを介して増やされる。そこから、個々の形質導入されたクロー

ンは、化合物依存的な様式で目的のタンパク質の発現を誘導する能力について評価されることになる。

【０８９３】

いくつかの実施形態では、本発明の融合ポリペプチドは、分解ドメイン、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、安定化化合物の存在下での融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、安定化化合物の非存在下での融合ポリペプチドの発現レベルと比較して、少なくとも、例えば、１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大される。

【０８９４】

切断部位

いくつかの実施形態では、本発明の融合ポリペプチドは、異種切断部位によって隔てられた第１のドメイン及び第２のドメインを含み、第１のドメインは分解ドメインを含み、第２のドメインはＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドを含む。

【０８９５】

切断部位は、自己切断部位及び／又はプロテアーゼ切断部位のいずれであり得る。切断部位は、分解ドメインを切断するのに十分なレベルで目的の細胞において発現される（組換え体発現又は内因性発現のいずれかによる）任意の部位特異的プロテアーゼによって切断されるように設計され得る。本発明の重要な態様において、プロテアーゼ切断部位は、目的のタンパク質の発現に適切な細胞区画において存在することになるプロテアーゼに元来（又は細胞工学により）対応するように選択される。プロテアーゼの細胞内輸送は、利用される分解ドメインを含有する目的のタンパク質の細胞内輸送と重複するか又は部分的に重複すべきである。例えば、目的のタンパク質が細胞表面に位置する場合、それを切断する酵素は、外因的に細胞に加えられ得る。

【０８９６】

目的のタンパク質がエンドソーム／リソソーム系に存在する場合、それらの区画に存在する酵素のためのプロテアーゼ切断部位が使用され得る。そのようなプロテアーゼ／コンセンサスモチーフとしては、例えば、

フューリン：ＲＸ（Ｋ／Ｒ）Ｒコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号５２）

ＰＣＳＫ１：ＲＸ（Ｋ／Ｒ）Ｒコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号５２）

ＰＣＳＫ５：ＲＸ（Ｋ／Ｒ）Ｒコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号５２）

ＰＣＳＫ６：ＲＸ（Ｋ／Ｒ）Ｒコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号５２）

ＰＣＳＫ７：ＲＸＸＸ［ＫＲ］Ｒコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号５３）

カテプシンＢ：ＲＲＸ（配列番号５４）

グランザイムＢ：Ｉ－Ｅ－Ｐ－Ｄ－Ｘ（配列番号５５）

因子ＸＡ：Ｉｌｅ－Ｇｌｕ／Ａｓｐ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ（配列番号５６）

エンテロキナーゼ：Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ｌｙｓ（配列番号５７）

Ｇｅｎｅｎａｓｅ：Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－Ａｌａ－Ａｌａ－Ｈｉｓ－Ｔｙｒ（配列番号５８）

ソルターゼ：ＬＰＸＴＧ／Ａ（配列番号５９）

ＰｒｅＳｃｉｓｓｉｏｎプロテアーゼ：Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｖａｌ－Ｐｈｅ－Ｇｌｎ－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ（配列番号６０）

トロンビン：Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｐｒｏ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ（配列番号６１）

ＴＥＶプロテアーゼ：Ｅ－Ｎ－Ｌ－Ｙ－Ｆ－Ｑ－Ｇ（配列番号６２）

エラスターゼ１：［ＡＧＳＶ］－Ｘ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号６３）
が挙げられる。
【０８９７】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載される融合ポリペプチドは、フューリン切断部位を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される融合ポリペプチドは、表２３において列挙されるフューリン切断部位のいずれか１つを含む。
【０８９８】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載される融合ポリペプチドは、ＲＴＫＲ（配列番号１２３）若しくはそれと少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＤＶＧ（配列番号１２５）若しくはそれと少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲ（配列番号１２７）若しくはそれと少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列；ＬＱＷＬＥＱＱＶＡＫＲＲＴＫＲ（配列番号１２９）若しくはそれと少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＧ（配列番号１３１）若しくはそれと少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧ（配列番号１３３）若しくはそれと少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列；ＳＬＮＬＴＥＳＨＮＳＲＫＫＲ（配列番号１３５）若しくはそれと少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列；又はＣＫＩＮＧＹＰＫＲＧＲＫＲＲ（配列番号１３７）若しくはそれと少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列から選択されるフューリン切断部位を含む。
【０８９９】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載される融合ポリペプチドは、ＲＴＫＲ（配列番号１２３）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＤＶＧ（配列番号１２５）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲ（配列番号１２７）；ＬＱＷＬＥＱＱＶＡＫＲＲＴＫＲ（配列番号１２９）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＧ（配列番号１３１）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧ（配列番号１３３）；ＳＬＮＬＴＥＳＨＮＳＲＫＫＲ（配列番号１３５）；又はＣＫＩＮＧＹＰＫＲＧＲＫＲＲ（配列番号１３７）から選択されるフューリン切断部位を含む。
【０９００】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載される融合ポリペプチドは、ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＤＶＧ（配列番号１２５）若しくはそれと少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列又はＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲ（配列番号１２７）若しくはそれと少なくとも９０％、９５％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列から選択されるフューリン切断部位を含む。
【０９０１】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載される融合ポリペプチドは、ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＤＶＧ（配列番号１２５）又はＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲ（配列番号１２７）から選択されるフューリン切断部位を含む。
【０９０２】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載される融合ポリペプチドは、ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＤＶＧ（配列番号１２５）のフューリン切断部位を含む。
【０９０３】

【表１５７】

表 23. 例示的なフューリン切断部位

	アミノ酸配列	核酸配列
フューリン切断部位 1	RTKR (配列番号 123)	cgtactaaaaga (配列番号 139)
フューリン切断部位 2	GTGAEDPRPSRKRRSLGDVG (配列番号 125)	ggaaccggcgcggaagacccccggccctccaggaagcg aaggtccctcggagacgtgggt (配列番号 126)
フューリン切断部位 3	GTGAEDPRPSRKRR (配列番号 127)	ggaaccggcgcggaagacccccggccctccaggaagcg aagg (配列番号 128)
フューリン切断部位 4	LQWLEQQVAKRRTKR (配列番号 129)	ctgcaatggctggagcagcaggtggcgaagcggagaacta agcgg (配列番号 130)
フューリン切断部位 5	GTGAEDPRPSRKRRSLGG (配列番号 131)	ggcacaggtgccgaggaccctcggccaagccgcaaaagg aggtcacttggcggc (配列番号 132)
フューリン切断部位 6	GTGAEDPRPSRKRRSLG (配列番号 133)	ggaaccggagcagaagatcccagaccaagccggaaaag gcggtccctgggt (配列番号 134)
フューリン切断部位 7	SLNLTESHNSRKKR (配列番号 135)	agtctcaatttgactgagtcacacaattccaggaagaaaagg (配列番号 136)
フューリン切断部位 8	CKINGYPKRGRKRR (配列番号 137)	tgcaagatcaacggctaccctaagaggggcagaaagcggc gg (配列番号 138)

【０９０４】

シグナルペプチド

特定の実施形態では、本発明の融合ポリペプチドはさらに、シグナルペプチドを含む。シグナルペプチドは、タンパク質を分泌経路に従わせることが望ましい場合に有用である。いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、融合ポリペプチドの最Ｎ末端に存在するように操作されることになる。例示的なシグナルペプチドが以下：

ＣＤ８：ＭＡＬＰＶＴＡＬＬＬＰＬＡＬＬＬＨＡＡＲＰ（配列番号６４）

ＧＭＣＳＦＲ：ＭＬＬＬＶＴＳＬＬＬＣＥＬＰＨＰＡＦＬＬＩＰ（配列番号６５）

ＩＬ２：ＭＹＲＭＱＬＬＳＣＩＡＬＳＬＡＬＶＴＮＳ（配列番号６６）

ＩｇＫ鎖：ＭＡＱＶＫＬＱＥＳＧＴＥＬＡＫＰＧＡＡＶＫ（配列番号６７）

ＮＰＣ２：ＭＲＦＬＡＡＴＦＬＬＬＡＬＳＴＡＡＱＡ（配列番号６８）

ＬＡＭＢ１：ＭＧＬＬＱＬＬＡＦＳＦＬＡＬＣＲＡＲＶＲＡ（配列番号６９）

Ｐ３ＩＰ１：ＭＬＬＡＷＶＱＡＦＬＶＳＮＭＬＬＡＥＡＹＧ（配列番号７０）

ＤＭＫＮ：ＭＫＦＱＧＰＬＡＣＬＬＬＡＬＣＬＧＳＧＥＡ（配列番号７１）

ＴＰＡ：ＭＤＡＭＫＲＧＬＣＣＶＬＬＬＣＧＡＶＦＶＳＰ（配列番号７２）

ＰＣＳＫ９：ＭＧＴＶＳＳＲＲＳＷＷＰＬＰＬＬＬＬＬＬＬＬＬＧＰＡＧＡＲＡＱＥＤＥＤ（配列番号７３）

ＫＤＥＬ（配列番号７４）又はＫＫＸＸ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号７５）、

に記載され、目的のタンパク質がＥＲ常在タンパク質である場合、目的のタンパク質の最Ｃ末端の誘導体が操作され得る。これらの配列は、シグナルペプチドとともに挿入される必要がある。

【０９０５】

目的のタンパク質は、マンノース－６－リン酸受容体を介した内在化及びエンドソーム／リソソーム系への標的化のためのグリコシル化パターンを含むように操作され得る。これらは、その区画内に常在するタンパク質である場合、目的のタンパク質自体に含まれるべきである。Ｎ－グリコシル化のためのコンセンサスは、Ａｓｎ－Ｘ－Ｓｅｒ／Ｔｈｒであり、ここでＸは、プロリン（Ｐｒｏ）、セリン（Ｓｅｒ）及びスレオニン（Ｔｈｒ）以外の任意のアミノ酸である（配列番号７６）。

【０９０６】

ペルオキシソームで標的化される目的のタンパク質を有することが望ましい実施形態では、融合ポリペプチドは、Ｃ末端ペルオキシソーム標的化シグナル（例えば、ＰＴＳ１：

－ＳＫＬ）を含むように操作され得る。
【０９０７】
融合ポリペプチドをコードする核酸及びベクター
別の態様では、本発明は、本明細書に記載される融合ポリペプチドのいずれかをコードする核酸又はそのような核酸を含むベクターに関する。一実施形態では、ベクターは、ＤＮＡベクター、ＲＮＡベクター、プラスミド、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクター又はレトロウイルスベクターから選択される。一実施形態では、ベクターは、レンチウイルスベクターである。
【０９０８】
本開示は、本開示のＤＮＡが挿入されるベクターも提供する。レンチウイルスなどのレトロウイルスに由来するベクターは、それらが導入遺伝子の長期間安定な組込み及び娘細胞におけるその増殖を可能にするため、長期間の遺伝子導入を達成するための好適なツールである。レンチウイルスベクターは、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に対して、肝細胞などの非増殖細胞に形質導入できるという点で追加の利点を有する。それらは、免疫原性が低いという追加の利点も有する。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（例えば、２つ）の末端反復配列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としては、マウス白血球ウイルス（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）並びにそれらに由来するベクターが挙げられる。他のガンマレトロウイルスベクターは、例えば、参照により本明細書に組み込まれるＴｏｂｉａｓ Ｍａｅｔｚｉｇ ｅｔ ａｌ．，「Ｇａｍｍａｒｅｔｒｏｖｉｒａｌ Ｖｅｃｔｏｒｓ：Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ」 Ｖｉｒｕｓｅｓ．２０１１ Ｊｕｎ；３（６）：６７７－７１３において記載される。
【０９０９】
別の実施形態では、本発明の所望の融合ポリペプチドをコードする核酸を含むベクターは、アデノウイルスベクター（Ａ５／３５）である。別の実施形態では、キメラ分子をコードする核酸の発現は、スリーピングビューティーなどのトランスポゾンを使用するか、ＣＲＩＳＰＲ（例えば、ＣＡＳ９）などの遺伝子編集ツールを使用するか、又はジンクフィンガーヌクレアーゼを使用して達成され得る。例えば、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。
【０９１０】
核酸は、いくつかの型のベクターにクローン化され得る。例えば、核酸は、プラスミド、ファージミド、ファージ誘導体、動物ウイルス及びコスミドを含むがこれらに限定されないベクターにクローン化され得る。特に関心のあるベクターとしては、発現ベクター、複製ベクター、プローブ生成ベクター及び配列決定ベクターが挙げられる。
【０９１１】
融合ポリペプチド、例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含むＣＡＲをコードする核酸コンストラクト
本開示は、本明細書で開示される融合ポリペプチドの１つ以上をコードする核酸分子も提供する。
【０９１２】
一実施形態では、融合ポリペプチドは、本明細書に記載される腫瘍抗原及び／又はＢ細胞抗原を標的化するＣＡＲコンストラクトを含む。一態様では、核酸分子は、メッセンジャーＲＮＡ転写物として提供される。一態様では、核酸分子は、ＤＮＡコンストラクトとして提供される。
【０９１３】

したがって、一態様では、本発明は、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチドを含む融合ポリペプチドをコードする核酸分子に関する。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）であり、ＣＡＲは、本明細書に記載される腫瘍抗原又は本明細書に記載されるＢ細胞抗原に結合する抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン（例えば、本明細書に記載される膜貫通ドメイン）並びに刺激ドメイン、例えば、共刺激シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載される共刺激シグナル伝達ドメイン）及び／又は一次シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載される一次シグナル伝達ドメイン、例えば本明細書に記載されるゼータ鎖）を含む細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメイン）を含む。一実施形態では、膜貫通ドメインは、Ｔ細胞受容体のアルファ、ベータ又はゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７及びＣＤ１５４からなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインである。いくつかの実施形態では、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、ＩＬ２Ｒベータ、ＩＬ２Ｒガンマ、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、ＮＫＧ２Ｄ、ＮＫＧ２Ｃ、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及びＮＫＧ２Ｃの少なくとも膜貫通領域を含み得る。

【０９１４】

一実施形態では、膜貫通ドメインは、配列番号１５５の配列又はその９５～９９％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、抗原結合ドメインは、ヒンジ領域、例えば、本明細書に記載されるヒンジによって膜貫通ドメインに結合される。一実施形態では、ヒンジ領域は、配列番号１４７又は配列番号１４９又は配列番号１５１又は配列番号１５３又はその９５～９９％の同一性を有する配列を含む。一実施形態では、単離核酸分子はさらに、共刺激ドメインをコードする配列を含む。一実施形態では、共刺激ドメインは、ＯＸ４０、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）及び４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）からなる群から選択されるタンパク質の機能的なシグナル伝達ドメインである。このような共刺激分子のさらなる例としては、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（ＳＬ

ＡＭＦ８）、ＳＥＬＰＬＧ（ＣＤ１６２）、ＬＴＢＲ、ＬＡＴ、ＧＡＤＳ、ＳＬＰ－７６、ＰＡＧ／Ｃｂｐ、ＮＫＧ２Ｄ及びＮＫＧ２Ｃが挙げられる。一実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、４－１ＢＢの機能的なシグナル伝達ドメイン及びＣＤ３ゼータの機能的なシグナル伝達ドメインを含む。一実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号１５８、１６１、１７６若しくは１８０の配列又はその９５～９９％の同一性を有する配列及び配列番号１６３若しくは配列番号１６６又はその９５～９９％の同一性を有する配列を含み、細胞内シグナル伝達ドメインを含む配列は、同じフレームにおいて単一のポリペプチド鎖として発現される。

【０９１５】

別の態様では、本発明は、配列番号６４のリーダー配列、本明細書に記載されるとおりのｓｃＦｖドメイン、配列番号１４７若しくは配列番号１４９若しくは配列番号１５１若しくは配列番号１５３（又はその９５～９９％の同一性を有する配列）のヒンジ領域、配列番号１５５の配列（又はその９５～９９％の同一性を有する配列）を有する膜貫通ドメイン、配列番号１５８の配列を有する４－１ＢＢ共刺激ドメイン、配列番号１６１の配列（又はその９５～９９％の同一性を有する配列）を有するＣＤ２７共刺激ドメイン、配列番号１７６の配列（又はその９５～９９％の同一性を有する配列）を有するＩＣＯＳ共刺激ドメイン又は配列番号１８０の配列を有するＣＤ２８共刺激ドメイン及び配列番号１６３又は配列番号１６６の配列（又はその９５～９９％の同一性を有する配列）を有するＣＤ３ゼータ刺激ドメインを含むＣＡＲコンストラクトを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードする単離核酸分子に関する。

【０９１６】

所望の分子をコードする核酸配列は、例えば、標準的な技術を用いて、遺伝子を発現する細胞からライブラリーをスクリーニングすること、遺伝子を含むことが知られるベクターから遺伝子を派生させること、又は遺伝子を含有する細胞及び組織から直接的に単離することなどによる、当技術分野において知られる組換え法を用いて得ることができる。代わりに、目的の遺伝子は、クローン化の代わりに合成的に生成され得る。

【０９１７】

本開示は、本開示の核酸が挿入されるベクターも提供する。レンチウイルスなどのレトロウイルスに由来するベクターは、それらが導入遺伝子の長期間安定な組込み及び娘細胞におけるその増殖を可能にするため、長期間の遺伝子導入を達成するための好適なツールである。レンチウイルスベクターは、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に対して、肝細胞などの非増殖細胞に形質導入できるという点で追加の利点を有する。それらは、免疫原性が低いという追加の利点も有する。

【０９１８】

簡単に要約すると、本発明の融合ポリペプチドをコードする組換え核酸の発現は通常、融合ポリペプチドをコードする核酸をプロモーターに作動可能に連結し、そのコンストラクトを発現ベクターに組み込むことによって達成される。ベクターは、複製及び組込み真核生物にとって好適であり得る。典型的なクローニングベクターは、所望の核酸配列の発現の制御に有用な転写及び翻訳ターミネーター、開始配列及びプロモーターを含有する。

【０９１９】

本開示の発現コンストラクトは、標準的な遺伝子送達プロトコルを使用する核酸免疫化及び遺伝子治療のために使用され得る。遺伝子送達のための方法は、当技術分野において知られている。例えば、全体として参照により本明細書に組み込まれる米国特許第５，３９９，３４６号明細書、同第５，５８０，８５９号明細書、同第５，５８９，４６６号明細書を参照されたい。別の実施形態では、本発明は、遺伝子治療ベクターを提供する。

【０９２０】

核酸は、いくつかの型のベクターにクローン化され得る。例えば、核酸は、プラスミド、ファージミド、ファージ誘導体、動物ウイルス及びコスミドを含むがこれらに限定されないベクターにクローン化され得る。特に関心のあるベクターとしては、発現ベクター、複製ベクター、プローブ生成ベクター及び配列決定ベクターが挙げられる。

【０９２１】
さらに、発現ベクターは、ウイルスベクターの形態において細胞に提供され得る。ウイルスベクター技術は当技術分野においてよく知られており、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の手引き書において記載される。ベクターとして有用なウイルスとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス及びレンチウイルスが挙げられるが、これらに限定されない。一般に、好適なベクターは、少なくとも１種の生物において機能的な複製開始点、プロモーター配列、好都合な制限エンドヌクレアーゼ部位及び１つ以上の選択マーカーを含有する（例えば、国際公開第０１／９６５８４号パンフレット；国際公開第０１／２９０５８号パンフレット；及び米国特許第６，３２６，１９３号明細書）。
【０９２２】
いくつかのウイルスに基づく系が、哺乳動物細胞への遺伝子移行のために開発されてきた。例えば、レトロウイルスは、遺伝子送達系のための便利なプラットフォームを提供する。選択された遺伝子が、当技術分野において知られる技術を用いてベクターに挿入され、レトロウイルス粒子にパッケージ化され得る。次に、組換えウイルスが単離され、インビボ又はエクスビボのいずれかにおいて対象の細胞に送達され得る。いくつかのレトロウイルス系が当技術分野において知られている。いくつかの実施形態では、アデノウイルスベクターが使用される。いくつかのアデノウイルスベクターが当技術分野において知られている。一実施形態では、レンチウイルスベクターが使用される。
【０９２３】
追加のプロモーターエレメント、例えば、エンハンサーは、転写開始の頻度を制御する。通常、これらは開始部位の上流の領域３０～１１０ｂｐに位置するが、いくつかのプロモーターは、開始部位の下流にも機能的なエレメントを含有することが示されている。プロモーターエレメント間の間隔は柔軟であることが多く、その結果、プロモーター機能は、エレメントが互いに反転されるか又は移動される場合にも維持される。チミジンキナーゼ（ｔｋ）プロモーターにおいて、プロモーターエレメント間の間隔は、活性が衰退し始める手前の５０ｂｐの間隔まで広げることができる。プロモーターに応じて、個々のエレメントは、協調的又は独立的に機能して転写を活性化できると考えられる。例示的なプロモーターとしては、ＣＭＶ ＩＥ遺伝子、ＥＦ－１α、ユビキチンＣ又はホスホグリセロキナーゼ（ＰＧＫ）プロモーターが挙げられる。
【０９２４】
いくつかの実施形態では、プロモーターは、組織特異的プロモーターである。いくつかの実施形態では、プロモーターは、特定の発生段階で活性化される。いくつかの実施形態では、プロモーターは、誘導性プロモーターである。いくつかの実施形態では、プロモーターは、テトラサイクリン誘導性プロモーターである。いくつかの実施形態では、プロモーターは、メタロチオネインプロモーターである。いくつかの実施形態では、プロモーターは、ＨＳＶ ＴＫプロモーターである。
【０９２５】
例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現できるプロモーターであって、哺乳動物Ｔ細胞においてＣＡＲをコードする核酸分子を含むドメインを含むプロモーターの例は、ＥＦ１ａプロモーターである。天然のＥＦ１ａプロモーターは、アミノアシルｔＲＮＡのリボソームへの酵素的送達に関与する伸長因子－１複合体のアルファサブユニットの発現を駆動する。ＥＦ１ａプロモーターは、哺乳動物発現プラスミドにおいて広範に使用されており、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドであって、ＣＡＲを含むドメインを含む融合ポリペプチドの発現を、レンチウイルスベクターにクローン化された核酸分子から駆動するのに有効であることが示されている。例えば、Ｍｉｌｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）を参照されたい。一態様では、ＥＦ１ａプロモーターは、配列番号１として提供さ

れる配列を含む。

【０９２６】

プロモーターの別の例は、最初期サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）プロモーター配列である。このプロモーター配列は、それに作動可能に連結された任意のポリヌクレオチド配列を高い発現レベルで駆動できる強力な構成的プロモーター配列である。しかしながら、サルウイルス４０（ＳＶ４０）初期プロモーター、マウス乳癌ウイルス（ＭＭＴＶ）、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）末端反復配列（ＬＴＲ）プロモーター、ＭｏＭｕＬＶプロモーター、トリ白血病ウイルスプロモーター、エプスタイン・バーウイルス最初期プロモーター、ラウス肉腫ウイルスプロモーター並びに限定されないがアクチンプロモーター、ミオシンプロモーター、伸長因子－１プロモーター、ヘモグロビンプロモーター及びクレアチンキナーゼプロモーターなどのヒト遺伝子プロモーターを含むがこれらに限定されない他の構成的プロモーター配列も使用され得る。さらに、本発明は、構成的プロモーターの使用に限定されるべきではない。誘導性プロモーターも本発明の一部として考えられる。誘導性プロモーターの使用は、分子スイッチであって、それが作動可能に連結されたポリヌクレオチド配列の発現を、そのような発現が望まれる場合に活性化できるか、又は発現が望まれない場合にその発現を不活性化できる分子スイッチを提供する。誘導性プロモーターの例としては、メタロチオニンプロモーター、グルココルチコイドプロモーター、プロゲステロンプロモーター及びテトラサイクリンプロモーターが挙げられるが、これらに限定されない。

【０９２７】

プロモーターの別の例としては、ホスホグリセリン酸キナーゼ（ＰＧＫ）プロモーターである。実施形態において、トランケートされたＰＧＫプロモーター（例えば、野生型ＰＧＫプロモーター配列と比較して、１つ以上、例えば、１、２、５、１０、１００、２００、３００又は４００個のヌクレオチド欠失を有するＰＧＫプロモーター）が望ましい場合がある。例示的なＰＧＫプロモーターのヌクレオチド配列が以下に提供される。

ＷＴ　ＰＧＫプロモーター

【化５８】

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCC
GAACGTCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGC
GGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATA
ACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTC
CCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTTGGCGTTCCTTG
GAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTCGCAGCGGCCCCCCGGGTGTTCCCATCGCCGCTTC
TAGGCCCACTGCGACGCTTGCCTGCACTTCTTACACGCTCTGGGTCCCAGCCGCGGCGACGC
AAAGGGCCTTGGTGCGGGTCTCGTCGGCGCAGGGACGCGTTTGGGTCCCGACGGAACCTTTT
CCGCGTTGGGGTTGGGGCACCATAAGCT (配列番号823)

例示的なトランケートされたＰＧＫプロモーター：

ＰＧＫ１００：

【化５９】

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCC
GAACGTCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTG (配列
番号824)

ＰＧＫ２００：

【化６０】

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCC
GAACGTCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGC
GGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATA
ACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACG (配列番号825)

ＰＧＫ３００：
【化６１】

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCC
GAACGTCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGC
GGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATA
ACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTC
CCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTTGGCGTTCCTTG
GAAGGGCTGAATCCCCG (配列番号826)

ＰＧＫ４００：
【化６２】

ACCCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCC
GAACGTCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGC
GGAGGGCGTGGCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATA
ACCGGTGTCGGGTAGCGCCAGCCGCGCGACGGTAACGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTC
CCATGATCACTCTGCACGCCGAAGGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTTGGCGTTCCTTG
GAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTCGCAGCGGCCCCCCGGGTGTTCCCATCGCCGCTTC
TAGGCCCACTGCGACGCTTGCCTGCACTTCTTACACGCTCTGGGTCCCAGCCG (配列番号827)

【０９２８】
ベクターは、例えば、分泌を促進するためのシグナル配列、ポリアデニル化シグナル及び転写ターミネーター（例えば、ウシ成長ホルモン（ＢＧＨ）遺伝子由来）、エピソーム複製及び原核生物における複製を可能にするエレメント（例えば、ＳＶ４０オリジン及びＣｏｌＥ１又は当技術分野において知られる他のもの）並びに／又は選択を可能にするエレメント（例えば、アンピシリン耐性遺伝子及び／又はゼオシンマーカー）も含み得る。
【０９２９】
ＣＡＲポリペプチド又はその部分を含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合タンパク質の発現を評価するために、細胞に導入することになる発現ベクターは、ウイルスベクターによってトランスフェクト又は感染させようとした細胞の集団からの発現細胞の同定及び選択を容易にするための選択マーカー遺伝子若しくはレポーター遺伝子のいずれか又は両方も含有し得る。他の態様において、選択マーカーは、ＤＮＡの別々の断片上に保有され、コトランスフェクション手法において使用され得る。選択マーカー及びレポーター遺伝子は両方ともに、宿主細胞における発現を可能にするように適切な制御配列と隣接され得る。有用な選択マーカーとしては、例えば、ｎｅｏなどの抗生物質耐性遺伝子が挙げられる。
【０９３０】
レポーター遺伝子は、トランスフェクトされた可能性がある細胞を同定するため及び制御配列の機能性を評価するために使用される。一般に、レポーター遺伝子は、レシピエント生物又は組織に存在しないか又はそれらによって発現されない遺伝子であり、且つその発現がいくつかの容易に検出可能な特性、例えば、酵素活性によって顕在化されるポリペプチドをコードする遺伝子である。レポーター遺伝子の発現は、ＤＮＡがレシピエントの細胞に導入された後の好適な時間にアッセイされる。好適なレポーター遺伝子としては、ルシフェラーゼ、ベーターガラクトシダーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ、分泌型アルカリホスファターゼをコードする遺伝子又は緑色蛍光タンパク質遺伝子を挙げ得る（例えば、Ｕｉ－Ｔｅｉｅｔａｌ．，２０００ ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔｅｒｓ ４７９：７９－８２）。好適な発現系はよく知られており、既知の技術を使用して作製され得るし、商業的に入手し得る。一般に、レポーター遺伝子の最大レベルの発現を示す最小の５’フランキング領域を有するコンストラクトが、プロモーターとして同定される。このようなプロモーター領域は、レポーター遺伝子に連結され、プロモーターによって駆動される転写を調節する能力のための薬剤を評価するために使用され得る。

【０９３１】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載される融合タンパク質、例えば、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合タンパク質をコードする核酸配列を含むベクターはさらに、ポリペプチド、例えば、ＣＡＲ分子を含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合タンパク質の活性化を増大させる薬剤をコードする第２の核酸配列を含み得る。いくつかの実施形態では、単一の核酸分子又は前記核酸分子を含むベクターは、本明細書に記載されるＣＡＲを含むドメインを各々が含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの複数の融合タンパク質をコードする。いくつかの実施形態では、第１の融合ポリペプチドをコードする核酸は、（例えば、本明細書に記載されるプロモーターによる）第２の融合ポリペプチドをコードする核酸とは別の（例えば、本明細書に記載されるプロモーターによる）調節性の制御下にある。他の実施形態では、２つ以上の核酸配列は、同じフレーム内の単一のポリペプチド鎖として単一の核酸分子によりコードされる。この態様では、ＣＡＲを含むドメインを各々が含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの２つ以上の融合ポリペプチドは、例えば、１つ以上のペプチド切断部位（例えば、自己切断部位又は細胞内プロテアーゼの基質）により隔てられ得る。ペプチド切断部位の例としては、以下のものが挙げられ、ＧＳＧ残基は任意選択である。
Ｔ２Ａ：（ＧＳＧ）Ｅ Ｇ Ｒ Ｇ Ｓ Ｌ Ｌ Ｔ Ｃ Ｇ Ｄ Ｖ Ｅ Ｅ Ｎ Ｐ Ｇ Ｐ（配列番号８２８）
Ｐ２Ａ：（ＧＳＧ）Ａ Ｔ Ｎ Ｆ Ｓ Ｌ Ｌ Ｋ Ｑ Ａ Ｇ Ｄ Ｖ Ｅ Ｅ Ｎ Ｐ Ｇ Ｐ（配列番号８２９）
Ｅ２Ａ：（ＧＳＧ）Ｑ Ｃ Ｔ Ｎ Ｙ Ａ Ｌ Ｌ Ｋ Ｌ Ａ Ｇ Ｄ Ｖ Ｅ Ｓ Ｎ Ｐ Ｇ Ｐ（配列番号８３０）
Ｆ２Ａ：（ＧＳＧ）Ｖ Ｋ Ｑ Ｔ Ｌ Ｎ Ｆ Ｄ Ｌ Ｌ Ｋ Ｌ Ａ Ｇ Ｄ Ｖ Ｅ Ｓ Ｎ Ｐ Ｇ Ｐ（配列番号８３１）
【０９３２】
いくつかの実施形態では、本開示は、例えば、第１の分子をコードする第１の核酸配列及び第２の分子をコードする第２の核酸配列を含む核酸分子を提供する。いくつかの実施形態では、第１の分子は、第１のＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び第１の異種ポリペプチド（例えば、第１のＣＡＲ分子）を含む第１の融合ポリペプチドであり、且つ／又は第２の分子は、第２のＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び第２の異種ポリペプチド（例えば、第２のＣＡＲ分子）を含む第２の融合ポリペプチドである。いくつかの実施形態では、第１及び第２の核酸配列は、単一の核酸分子上に配置される。いくつかの実施形態では、第１及び第２の核酸配列は、別々の核酸分子上に配置される。いくつかの実施形態では、第１のＣＡＲ分子はＣＤ１９に結合し（例えば、第１のＣＡＲ分子は、表５、６、７及び３０において開示される抗ＣＤ１９　ＣＡＲであり）、第２のＣＡＲ分子はＣＤ２２に結合する（例えば、第２のＣＡＲ分子は、表１９及び２０において開示される抗ＣＤ２２　ＣＡＲである）。いくつかの実施形態では、第１のＣＡＲ分子はＣＤ１９に結合し（例えば、第１のＣＡＲ分子は、表５、６、７及び３０において開示される抗ＣＤ１９　ＣＡＲであり）、第２のＣＡＲ分子はＣＤ２０に結合する（例えば、第２のＣＡＲ分子は、表３２において開示される抗ＣＤ２０　ＣＡＲである）。実施形態において、核酸分子は、ＲＮＡ又はＤＮＡを含む。実施形態において、第１及び第２の核酸配列は、同じ方向づけで位置し、例えば、第１及び第２の核酸配列の転写は、同じ方向に進む。実施形態において、第１及び第２の核酸配列は、異なる方向づけで位置する。実施形態において、単一のプロモーターが、第１及び第２の核酸配列の発現を制御する。実施形態において、プロテアーゼ切断部位（Ｔ２Ａ、Ｐ２Ａ、Ｅ２Ａ又はＦ２Ａ切断部位など）をコードする核酸は、第１の核酸配列と第２の核酸配列の間に位置する。実施形態において、プロテアーゼ切断部位は、細胞が、第１の分子及び第２の分子を含む融合タンパク質を発現でき、続いてそのタンパク質がタンパク分解性の切断によって２つのペプチドにプロセシングされるように置かれる。いくつかの実施形態では、第１の核酸配列は、第２の核酸

配列の上流にあるか、又は第２の核酸配列は、第１の核酸配列の上流にある。実施形態において、第１のプロモーターは第１の核酸配列の発現を制御し、第２のプロモーターは第２の核酸配列の発現を制御する。実施形態において、核酸分子はプラスミドである。実施形態において、核酸分子はウイルスパッケージングエレメントを含む。いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載される核酸分子、例えば、上記の第１及び第２の核酸配列を含む核酸分子を含む細胞、例えば免疫エフェクター細胞を提供する。細胞は、Ｔ２Ａ、Ｐ２Ａ、Ｅ２Ａ又はＦ２Ａ切断部位を切断するプロテアーゼ（例えば、外因性又は内因性）を含み得る。

【０９３３】

遺伝子を細胞に導入して発現させる方法は、当技術分野で知られている。発現ベクターに関連して、ベクターは、当技術分野における任意の方法により、宿主細胞、例えば、哺乳動物、細菌、酵母又は昆虫細胞に容易に導入され得る。例えば、発現ベクターは、物理的、化学的又は生物学的手段によって宿主細胞に導入され得る。ポリヌクレオチドを宿主細胞に導入するための物理的方法としては、リン酸カルシウム沈殿、リポフェクション、微粒子銃、マイクロインジェクション、エレクトロポレーションなどが挙げられる。ベクター及び／又は外因性核酸を含む細胞を作製するための方法は、当技術分野でよく知られている。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，２０１２，ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ ＣＬＯＮＩＮＧ：Ａ ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＹ ＭＡＮＵＡＬ，ｖｏｌｕｍｅｓ １－４，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ）を参照されたい。宿主細胞へのポリヌクレオチドの導入のための好ましい方法は、リン酸カルシウムトランスフェクション又はエレクトロポレーションである。

【０９３４】

宿主細胞に目的のポリヌクレオチドを導入するための生物学的方法としては、ＤＮＡ及びＲＮＡベクターの使用が挙げられる。ウイルスベクター及び特にレトロウイルスベクターは、哺乳動物、例えば、ヒト細胞に遺伝子を挿入するための最も広範に使用される方法になった。他のウイルスベクターは、レンチウイルス、ポックスウイルス、単純ヘルペスウイルスＩ、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルスなどに由来し得る。例えば、米国特許第５，３５０，６７４号明細書及び同第５，５８５，３６２号明細書を参照されたい。

【０９３５】

宿主細胞にポリヌクレオチドを導入するための化学的手段としては、高分子複合体、ナノカプセル、マイクロスフェア、ビーズなどのコロイド分散系及び水中油型エマルション、ミセル、混合ミセル及びリポソームを含む脂質に基づく系が挙げられる。インビトロ及びインビボにおける送達ビヒクルとして使用するため例示的なコロイド系は、リポソーム（例えば、人工膜小胞）である。最先端の標的化された核酸送達の他の方法は、標的化ナノ粒子又は他の好適なサブミクロンサイズの送達系によるポリヌクレオチドの送達などが利用可能である。

【０９３６】

非ウイルス送達系が利用される場合、例示的な送達ビヒクルはリポソームである。脂質製剤の使用は、宿主細胞への核酸の導入（インビトロ、エクスビボ又はインビボ）のために企図される。別の態様では、核酸は、脂質と会合され得る。脂質と会合された核酸は、リポソームの水性の内部に被包され得るし、リポソームの脂質二重層内に散在され得るし、リポソームとオリゴヌクレオチドの両方と会合される連結分子を介してリポソームに付着され得るし、リポソーム中に封入され得るし、リポソームと複合体を形成し得るし、脂質を含有する溶液中に分散され得るし、脂質と混合され得るし、脂質と組み合わされ得るし、脂質中の懸濁液として含有され得るし、ミセルとともに含有されるか若しくはミセルと複合体を形成し得るか、又はそれ以外の方法で脂質と会合され得る。脂質、脂質／ＤＮＡ又は脂質／発現ベクターが会合した組成物は、溶液中におけるいかなる特定の構造にも限定されない。例えば、それらは、二重層構造において、ミセルとして又は「崩壊した」構造において存在し得る。それらは、単に溶液中に散在され得、サイズ又は形状が均一でない凝集体を形成する可能性もある。脂質は、天然に存在するか又は合成脂質であり得る

脂肪性の物質である。例えば、脂質としては、細胞質中で天然に存在する脂肪性の液滴並びに長鎖脂肪族炭化水素及びそれらの誘導体、例えば、脂肪酸、アルコール、アミン、アミノアルコール並びにアルデヒドなどを含有する化合物のクラスが挙げられる。

【０９３７】

使用に好適な脂質は、市販の供給元から得ることができる。例えば、ジミリスチルホスファチジルコリン（「ＤＭＰＣ」）は、Ｓｉｇｍａ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯから得ることができ；リン酸ジセチル（「ＤＣＰ」）は、Ｋ＆Ｋ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ｐｌａｉｎｖｉｅｗ、ＮＹ）から得ることができ；コレステロール（「Ｃｈｏｉ」）は、Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ－Ｂｅｈｒｉｎｇから得ることができ；ジミリスチルホスファチジルグリセロール（「ＤＭＰＧ」）及び他の脂質は、Ａｖａｎｔｉ Ｐｏｌａｒ Ｌｉｐｉｄｓ，Ｉｎｃ．（Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ、ＡＬ）から得ることができる。クロロホルム又はクロロホルム／メタノール中の脂質の原液は、約－２０℃で保存することができる。クロロホルムは、メタノールより容易に蒸発するため、唯一の溶媒として使用される。「リポソーム」は、封入された脂質二重層又は凝集体の生成によって形成された様々な単層及び多層の脂質媒介物を包含する一般的な用語である。リポソームは、リン脂質二重層膜及び内部の水性媒体を有する小胞構造を有するものとして特徴付けられ得る。多重膜リポソームは、水性媒体によって隔てられた複数の脂質層を有する。それらは、リン脂質が過剰量の水溶液中に懸濁されると自発的に形成される。脂質成分は、閉構造の形成前に自己再構成を経て、水を閉じ込め、脂質二重層の間に溶質を溶解させる（Ｇｈｏｓｈ ｅｔ ａｌ．，１９９１ Ｇｌｙｃｏｂｉｏｌｏｇｙ ５：５０５－１０）。しかしながら、溶液中で通常の小胞構造と異なる構造を有する組成物も包含される。例えば、脂質は、ミセル構造をとる場合があるか、又は単に脂質分子の不均一な凝集体として存在する場合がある。また、リポフェクトアミン－核酸複合体も企図される。

【０９３８】

宿主細胞に外因性核酸を導入するために使用される方法又はそれとは別に細胞を本開示の阻害剤に暴露する方法にかかわらず、宿主細胞中の組換えＤＮＡ配列の存在を確認するために、様々なアッセイが実施され得る。このようなアッセイとしては、例えば、当業者によく知られる「分子生物学的な」アッセイ、例えば、サザン及びノーザンブロッティング、ＲＴ－ＰＣＲ及びＰＣＲ；「生化学的な」アッセイ、例えば免疫学的な手段（ＥＬＩＳＡ及びウエスタンブロット）によるか、又は本発明の範囲内に含まれる薬剤を同定するための本明細書に記載されるアッセイによる、特定のペプチドの有無を検出することが挙げられる。

【０９３９】

本開示はさらに、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードする核酸分子を含むベクターを提供する。一実施形態では、ベクターは、例えば、本明細書に記載されるとおりのＣＡＲをコードする核酸分子を含む。一実施形態では、ベクターは、２つのＣＡＲをコードする核酸分子を含む。一態様では、１つ以上のＣＡＲベクター（例えば、第１のＣＡＲをコードする核酸分子を含むベクター及び第２のＣＡＲをコードする核酸分子を含むベクター又は第１及び第２のＣＡＲをコードする核酸の両方を含むベクター）は、細胞、例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞に直接的に形質導入され得る。一態様では、ベクターは、クローニング又は発現ベクター、例えば、１つ以上のプラスミド（例えば、発現プラスミド、クローニングベクター、ミニサークル、ミニベクター、二重微小染色体）、レトロウイルス及びレンチウイルスベクターコンストラクトを含むがこれらに限定されないベクターである。一態様では、ベクターは、哺乳動物免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）においてＣＡＲコンストラクトを発現することができる。

【０９４０】

一実施形態では、各々がＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの１つ以上（例えば、１つ又は２つ）の融合ポリペプチドの安定な発現が望まれる場合、１つ以上（例えば、１つ又は２つ）のＣＡＲをコードする核酸分子を含むベクター

が、免疫エフェクター細胞に形質導入される。例えば、各々がＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの２つの融合ポリペプチドの安定な発現を有する免疫エフェクター細胞は、レンチウイルスベクターを使用して作製され得る。各々がＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの２つの融合ポリペプチドの安定な発現を呈する細胞は、形質導入後少なくとも１週間、２週間、３週間、４週間、５週間、６週間、７週間、８週間、３ヶ月、６ヶ月、９ヶ月又は１２ヶ月間ＣＡＲを発現する。

【０９４１】

一実施形態では、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの１つ以上（例えば、１つ又は２つ）の融合ポリペプチドの一過的な発現が望まれる場合、１つ以上（例えば、１つ又は２つ）の融合ポリペプチドをコードする核酸分子が、免疫エフェクター細胞に形質導入される。ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの１つ以上（例えば、１つ又は２つ）の融合ポリペプチドをコードする核酸分子は、１つ以上（例えば、１つ又は２つ）のＣＡＲをコードする核酸分子を含むベクター又はインビトロで転写されたＲＮＡの１つ以上（例えば、１つ又は２つ）のＣＡＲであり得る。インビトロで転写されたＲＮＡ　ＣＡＲ及び免疫エフェクター細胞への形質導入のための方法が、以下にさらに記載される。１つ以上（例えば、１つ又は２つ）のＣＡＲの一過的な発現を呈する細胞は、形質導入後４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５日間１つ以上（例えば、１つ又は２つ）のＣＡＲを発現する。

【０９４２】

ＲＮＡトランスフェクション

本明細書では、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードするインビトロで転写されたＲＮＡを作製する方法が開示される。本開示は、細胞に直接的にトランスフェクトされ得る、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードするＲＮＡコンストラクトも含む。トランスフェクションにおける使用のためのｍＲＮＡを作製するための方法は、３’及び５’非翻訳配列（「ＵＴＲ」）、５’キャップ及び／又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）、発現されることになる核酸並びにポリＡテールを含有する、通常長さが５０～５０００塩基のコンストラクト（配列番号１７４）を作製するための、特別に設計されたプライマーを用いる鋳型のインビトロ転写（ＩＶＴ）、それに続くポリＡ付加を含み得る。そのように作製されたＲＮＡは、異なる種類の細胞に効率的にトランスフェクトすることができる。一態様では、鋳型は、ＣＡＲのための配列を含む。

【０９４３】

一態様では、本開示のＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドは、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）によってコードされる。一態様では、本明細書に記載されるＣＡＲをコードするｍＲＮＡは、Ｔ細胞又はＮＫ細胞に導入される。

【０９４４】

一実施形態では、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードするインビトロで転写されたＲＮＡは、一過的トランスフェクションの形態で細胞に導入され得る。ＲＮＡは、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）で生成した鋳型を使用したインビトロでの転写によって作製される。任意の供給源からの目的のＤＮＡは、適切なプライマー及びＲＮＡポリメラーゼを使用して、ＰＣＲによって直接的にインビトロでのｍＲＮＡ合成のための鋳型に変換され得る。ＤＮＡの供給源は、例えば、ゲノムＤＮＡ、プラスミドＤＮＡ、ファージＤＮＡ、ｃＤＮＡ、合成ＤＮＡ配列又は任意の他の適切なＤＮＡの供給源であり得る。インビトロでの転写に望ましい鋳型は、本明細書に記載されるＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドである。例えば、ＲＮＡ　ＣＡＲのための鋳型は、本明細書に記載される抗原に対する抗体の単鎖可変ドメインを含む細胞外領域；ヒンジ領域（例えば、本明細書に記載されるヒンジ領域）、膜貫通ドメイン（例えば、本明細書に記載される膜貫通

ドメイン、例えば、ＣＤ８ａの膜貫通ドメイン）；及び例えば、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、細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメインを含む細胞質内領域を含む。

【０９４５】

一実施形態では、ＰＣＲに使用されることになるＤＮＡは、オープンリーディングフレームを含有する。ＤＮＡは、生物のゲノムからの天然に存在するＤＮＡ配列由来であり得る。一実施形態では、核酸は、５’及び／又は３’非翻訳領域（ＵＴＲ）の一部又は全てを含み得る。核酸は、エクソン及びイントロンを含み得る。一実施形態では、ＰＣＲに使用されることになるＤＮＡは、ヒト核酸配列である。別の実施形態では、ＰＣＲに使用されることになるＤＮＡは、５’及び３’ＵＴＲを含むヒト核酸配列である。代わりに、ＤＮＡは、天然に存在する生物では通常発現されない人工ＤＮＡ配列であり得る。例示的な人工ＤＮＡ配列は、融合ポリペプチドをコードするオープンリーディングフレームを形成するために合わせてライゲートされる遺伝子の一部を含有するものである。合わせてライゲートされるＤＮＡの一部は、単一の生物由来であり得るし、２種以上の生物由来であり得る。

【０９４６】

ＰＣＲは、トランスフェクションに使用されるｍＲＮＡのインビトロでの転写のための鋳型を作製するために使用される。ＰＣＲを実施するための方法は、当技術分野において知られている。ＰＣＲにおける使用のためのプライマーは、ＰＣＲのための鋳型として使用されることになるＤＮＡの領域に実質的に相補的な領域を有するように設計される。本明細書で使用する場合、「実質的に相補的」は、プライマー配列中の塩基の大部分又は全てが相補的であるか、又は１つ以上の塩基が非相補的であるか若しくはミスマッチであるヌクレオチドの配列を指す。実質的に相補的な配列は、ＰＣＲに使用されるアニーリング条件下で、意図したＤＮＡ標的にアニールできるか、又は意図したＤＮＡ標的とハイブリダイズできる。プライマーは、ＤＮＡ鋳型のいずれかの部分に実質的に相補的になるように設計され得る。例えば、プライマーは、５’及び３’ＵＴＲを含む、細胞中で正常に転写される核酸（オープンリーディングフレーム）の一部を増幅するように設計され得る。プライマーは、目的の特定のドメインをコードする核酸の一部を増幅するようにも設計され得る。一実施形態では、プライマーは、５’及び３’ＵＴＲの全て又は一部を含むヒトｃＤＮＡのコード領域を増幅するように設計される。ＰＣＲに有用なプライマーは、当技術分野においてよく知られる合成方法によって作製され得る。「フォワードプライマー」は、増幅されることになるＤＮＡ配列の上流にあるＤＮＡ鋳型上のヌクレオチドに実質的である相補的なヌクレオチドの領域を含有するプライマーである。「上流」は、コード鎖に対して、増幅されることになるＤＮＡ配列の５位を指すものとして本明細書で使用される。「リバースプライマー」は、増幅されることになるＤＮＡ配列の下流にある二本鎖ＤＮＡ鋳型に実質的に相補的であるヌクレオチドの領域を含有するプライマーである。「下流」は、コード鎖に対して、増幅されることになるＤＮＡ配列の３’位を指すものとして本明細書で使用される。

【０９４７】

ＰＣＲに有用な任意のＤＮＡポリメラーゼが、本明細書で開示される方法において使用され得る。試薬及びポリメラーゼは、いくつかの供給元から市販されている。

【０９４８】

安定性及び／又は翻訳効率を促進する能力を有する化学構造も使用され得る。ＲＮＡは、好ましくは、５’及び３’ＵＴＲを有する。一実施形態では、５’ＵＴＲは、１～３０００ヌクレオチド長である。コード領域に付加されることになる５’及び３’ＵＴＲ配列の長さは、限定されないが、ＵＴＲの異なる領域にアニールするＰＣＲのためのプライマーを設計することを含む様々な方法によって変更され得る。このアプローチを使用して、当業者は、転写されたＲＮＡのトランスフェクション後に最適な翻訳効率を達成するのに必要な５’及び３’ＵＴＲの長さを改変することができる。

【０９４９】

５’及び３’ＵＴＲは、目的の核酸に関する天然に存在する内因性５’及び３’ＵＴＲであり得る。代わりに、フォワード及びリバースプライマーにＵＴＲ配列を組み込むことにより、又は鋳型の任意の他の改変により、目的の核酸に対して内因性ではないＵＴＲ配列が付加され得る。目的の核酸に対して内因性ではないＵＴＲ配列の使用が、ＲＮＡの安定性及び／又は翻訳効率を改変するのに有用である場合がある。例えば、３’ＵＴＲ配列中のＡＵリッチエレメントは、ｍＲＮＡの安定性を低減させる場合があることが知られている。したがって、３’ＵＴＲを選択又は設計して、当技術分野においてよく知られるＵＴＲの特性に基づいて転写されたＲＮＡの安定性を増大させることができる。

【０９５０】

一実施形態では、５’ＵＴＲは、内因性核酸のコザック配列を含有し得る。代わりに、目的の核酸に対して内因性ではない５’ＵＴＲが上記のとおりにＰＣＲによって付加されている場合、５’ＵＴＲ配列を付加することによってコンセンサスコザック配列を再設計し得る。コザック配列は一部のＲＮＡ転写物の翻訳効率を増大させることができるが、効率的な翻訳を可能にするために全てのＲＮＡに必要であるとは考えられない。多くのｍＲＮＡに関するコザック配列の要件は当技術分野において知られている。他の実施形態では、５’ＵＴＲは、ＲＮＡのゲノムが細胞中で安定であるＲＮＡウイルスの５’ＵＴＲであり得る。他の実施形態では、様々なヌクレオチド類似体は、３’又は５’ＵＴＲにおいて、エキソヌクレアーゼによるｍＲＮＡの分解を妨害するために使用され得る。

【０９５１】

遺伝子クローニングを必要とすることなくＤＮＡ鋳型からのＲＮＡの合成を可能にするためには、転写のプロモーターが、転写されることになる配列の上流でＤＮＡ鋳型に結合されるべきである。ＲＮＡポリメラーゼに関するプロモーターとして機能する配列がフォワードプライマーの５’末端に付加される場合、ＲＮＡポリメラーゼのプロモーターは、転写されることになるオープンリーディングフレームの上流でＰＣＲ産物に組み込まれる。好ましい一実施形態では、プロモーターは、本明細書の他の箇所に記載されるとおり、Ｔ７ポリメラーゼプロモーターである。他の有用なプロモーターとしては、Ｔ３及びＳＰ６ＲＮＡポリメラーゼプロモーターが挙げられるが、これらに限定されない。Ｔ７、Ｔ３及びＳＰ６プロモーターのコンセンサスヌクレオチド配列は、当技術分野において知られている。

【０９５２】

好ましい実施形態では、ｍＲＮＡは、５’末端上のキャップと３’ポリ（Ａ）テールの両方を有しており、これらがリボソーム結合、翻訳の開始及び細胞中でのｍＲＮＡの安定性を決定する。環状ＤＮＡ鋳型、例えば、プラスミドＤＮＡにおいて、ＲＮＡポリメラーゼは、真核細胞での発現にとって好適ではない長いコンカテマー生成物を生成する。３’ＵＴＲの末端で直線化されたプラスミドＤＮＡの転写は、正常なサイズのｍＲＮＡをもたらすが、これは転写後にポリアデニル化される場合でも真核生物のトランスフェクションにおいて有効ではない。

【０９５３】

直鎖状ＤＮＡ鋳型において、ファージＴ７ＲＮＡポリメラーゼは、鋳型の最後の塩基を過ぎても転写物の３’末端を伸長できる（Ｓｃｈｅｎｂｏｒｎ ａｎｄ Ｍｉｅｒｅｎｄｏｒｆ，Ｎｕｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１３：６２２３－３６（１９８５）；Ｎａｃｈｅｖａ ａｎｄ Ｂｅｒｚａｌ－Ｈｅｒｒａｎｚ，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，２７０：１４８５－６５（２００３）。

【０９５４】

ポリＡ／Ｔ区間をＤＮＡ鋳型に統合する従来の方法は、分子クローニングである。しかしながら、プラスミドＤＮＡに統合されたポリＡ／Ｔ配列は、プラスミドを不安定化する可能性があり、これが、細菌細胞から得られたプラスミドのＤＮＡ鋳型に、欠失及び他の異常が高度に混入されることが多い理由である。これにより、クローニング手法は労力を要し、時間がかかるだけでなく、多くの場合信頼できないものになる。それが、クローニングを用いずにポリＡ／Ｔ３’区間を有するＤＮＡ鋳型の構築が可能になる方法が極めて望

ましい理由である。
【０９５５】
転写のＤＮＡ鋳型のポリＡ／Ｔセグメントは、ポリＴテール、例えば、１００個のＴテール（配列番号８３２）（サイズは、５０～５０００個のＴであり得る（配列番号８３３））を含有するリバースプライマーを使用することによってＰＣＲ中に生成され得るか、又はＤＮＡライゲーション若しくはインビトロでの組換えを含むがこれらに限定されない任意の他の方法によってＰＣＲ後に生成され得る。ポリ（Ａ）テールもＲＮＡに安定性をもたらし、それらの分解を減少させる。一般に、ポリ（Ａ）テールの長さは、転写されたＲＮＡの安定性と正の相関がある。一実施形態では、ポリ（Ａ）テールは、１００～５００個のアデノシンである（配列番号８３４）。
【０９５６】
ＲＮＡのポリ（Ａ）テールは、Ｅ．コリ（Ｅ．ｃｏｌｉ）のポリＡポリメラーゼ（Ｅ－ＰＡＰ）などのポリ（Ａ）ポリメラーゼの使用によるインビトロでの転写の後にさらに伸長され得る。一実施形態では、ポリ（Ａ）テールの長さを１００個のヌクレオチドから、３００～４００個のヌクレオチド（配列番号８３５）に増大させることにより、ＲＮＡの翻訳効率の約２倍の増大がもたらされる。加えて、３’末端への異なる化学基の付着により、ｍＲＮＡの安定性を増大させることができる。このような付着は、改変された／人工ヌクレオチド、アプタマー及び他の化合物を含有し得る。例えば、ＡＴＰ類似体は、ポリ（Ａ）ポリメラーゼを使用してポリ（Ａ）テールに組み込まれ得る。ＡＴＰ類似体は、ＲＮＡの安定性をさらに増大させることができる。
【０９５７】
５’キャップもＲＮＡ分子に安定性もたらす。好ましい実施形態では、本明細書で開示される方法によって生成されるＲＮＡは、５’キャップを含む。５’キャップは、当技術分野において知られ、且つ本明細書に記載される技術を使用してもたらされる（Ｃｏｕｇｏｔ，ｅｔ ａｌ．，Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｃｉ．，２９：４３６－４４４（２００１）；Ｓｔｅｐｉｎｓｋｉ，ｅｔ ａｌ．，ＲＮＡ，７：１４６８－９５（２００１）；Ｅｌａｎｇｏ，ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．，３３０：９５８－９６６（２００５））。
【０９５８】
本明細書で開示される方法によって生成されるＲＮＡは、配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）配列も含有し得る。ＩＲＥＳ配列は、任意のウイルス配列、染色体配列又は人工的に設計された配列であり得、これは、ｍＲＮＡに対するキャップ非依存的なリボソーム結合を開始させ、翻訳開始を促進する。糖、ペプチド、脂質、タンパク質、抗酸化剤及び界面活性剤などの細胞透過性及び生存能を促進する因子を含有し得る細胞エレクトロポレーションにとって好適なあらゆる溶質が含まれ得る。
【０９５９】
ＲＮＡは、いくつかの異なる方法、例えば、エレクトロポレーション（ＡｍａｘａＮｕｃｌｅｏｆｅｃｔｏｒ－ＩＩ（Ａｍａｘａ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｃｏｌｏｇｎｅ、Ｇｅｒｍａｎｙ））、（ＥＣＭ８３０（ＢＴＸ）（Ｈａｒｖａｒｄ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ、Ｂｏｓｔｏｎ，Ｍａｓｓ．）又はＧｅｎｅ Ｐｕｌｓｅｒ ＩＩ（ＢｉｏＲａｄ、Ｄｅｎｖｅｒ、Ｃｏｌｏ．）、Ｍｕｌｔｉｐｏｒａｔｏｒ（Ｅｐｐｅｎｄｏｒｔ、Ｈａｍｂｕｒｇ Ｇｅｒｍａｎｙ）、リポフェクションを使用するカチオン性リポソーム媒介性トランスフェクション、ポリマーのカプセル封入、ペプチド媒介性トランスフェクション又は「遺伝子銃」などの微粒子銃粒子送達系（例えば、Ｎｉｓｈｉｋａｗａ，ｅｔ ａｌ．Ｈｕｍ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．，１２（８）：８６１－７０（２００１）を参照のこと）を含むがこれらに限定されない市販の方法を使用して標的細胞に導入され得る。
【０９６０】
非ウイルス性の送達方法
いくつかの態様では、非ウイルス性の方法を使用して、本明細書に記載されるキメラ分子又は融合タンパク質をコードする核酸を細胞又は組織又は対象に送達することができる。

【０９６１】
いくつかの実施形態では、非ウイルス性の方法としては、トランスポゾン（転移因子とも呼ばれる）の使用が挙げられる。いくつかの実施形態では、トランスポゾンは、ゲノム中の位置にそれ自体を挿入できるＤＮＡの断片、例えば、自己複製してそのコピーをゲノムに挿入できるＤＮＡの断片又はより長い核酸からプライスしてゲノム中の別の場所に挿入できるＤＮＡの断片である。例えば、トランスポゾンは、転移のための遺伝子に隣接する逆方向反復で構成されるＤＮＡ配列を含む。
【０９６２】
いくつかの実施形態では、例えば、本明細書に記載されるとおりのキメラ分子又は融合ポリペプチドを発現する細胞、例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞は、ＳＢＴＳを使用する遺伝子挿入及びヌクレアーゼ（例えば、ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ＺＦＮ）、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥＮ）、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓシステム又は操作されたメガヌクレアーゼを再操作したホーミングエンドヌクレアーゼ）を使用する遺伝的編集との組合せを使用することによって作製される。
【０９６３】
いくつかの実施形態では、非ウイルス性の送達方法の使用は、細胞、例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞の再プログラミング及び細胞の対象への直接的な注入を可能にする。非ウイルスベクターの利点としては、患者集団を満たすのに必要となる十分な量を生産するのが容易且つ比較的低コストであること、貯蔵中の安定性及び免疫原性の欠如が挙げられるが、これらに限定されない。
【０９６４】
細胞
本明細書では、例えば、本明細書に記載されるとおりの核酸分子、融合ポリペプチド分子又はベクターを含む、細胞、例えば免疫エフェクター細胞（例えば、細胞の集団、例えば、免疫エフェクター細胞の集団）も提供される。いくつかの実施形態では、提供される細胞は、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド、ＣＡＲを含むドメインを含む融合ポリペプチドをコードする核酸分子又はそれを含むベクターを含む。
【０９６５】
特定の態様では、免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞は、Ｆｉｃｏｌｌ（商標）分離などの、当業者に知られるいくつかの技術を使用して、対象から収集した血液の単位から得ることができる。好ましい一態様では、個体の循環血液に由来する細胞は、アフェレーシスによって得られる。アフェレーシス産物は通常、Ｔ細胞を含むリンパ球、単球、顆粒球、Ｂ細胞、他の有核の白血球細胞、赤血球細胞及び血小板を含有する。一態様では、アフェレーシスによって収集された細胞を洗浄して血漿画分を除去して、任意選択によりそれに続く処理工程のために細胞を適切な緩衝液又は培地中に置き得る。一実施形態では、細胞は、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で洗浄される。代替的実施形態では、洗浄溶液はカルシウムを欠き、且つマグネシウムを欠くか、又は全ての二価カチオンでないとしても多くの二価カチオンを欠き得る。
【０９６６】
カルシウムの非存在下での初期の活性化工程により、活性化を強めることができる。当業者であれば容易に理解できるであろうが、洗浄工程は、当業者に知られる方法により、例えば半自動の「流水式」遠心分離機（例えば、Ｃｏｂｅ　２９９１セルプロセッサー、Ｂａｘｔｅｒ　ＣｙｔｏＭａｔｅ又はＨａｅｍｏｎｅｔｉｃｓ　Ｃｅｌｌ　Ｓａｖｅｒ　５）を製造業者の指示書に従って使用することにより行われ得る。洗浄後、細胞は、例えば、Ｃａ非含有、Ｍｇ非含有ＰＢＳ、ＰｌａｓｍａＬｙｔｅ　Ａ又は他の緩衝液含有又は非含有生理食塩水などの様々な生体適合性緩衝液中に再懸濁され得る。代わりに、アフェレーシス試料の望ましくない成分を除去し、細胞を培養培地に直接再懸濁させ得る。
【０９６７】
適用の方法は、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、

既知の培養培地条件及び組成、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において記載されるものを採用できることが認識される。

【０９６８】

一態様では、Ｔ細胞は、赤血球細胞を溶解すること及び単球を枯渇させることにより、例えばＰＥＲＣＯＬＬ（商標）勾配による遠心分離により又は向流遠心水簸により、末梢血リンパ球から単離される。

【０９６９】

本明細書に記載される方法は、例えば、免疫エフェクター細胞の特定の部分集団、例えば、制御性Ｔ細胞枯渇集団、ＣＤ２５＋枯渇細胞であるＴ細胞の特定の部分集団の選択であって、例えば、本明細書に記載される、例えば、陰性選択技術を使用する選択を含み得る。好ましくは、制御性Ｔ細胞枯渇集団は、３０％、２５％、２０％、１５％、１０％、５％、４％、３％、２％、１％未満のＣＤ２５＋細胞を含有する。

【０９７０】

一実施形態では、制御性Ｔ細胞、例えば、ＣＤ２５＋Ｔ細胞は、抗ＣＤ２５抗体若しくはその断片又はＣＤ２５結合リガンド、ＩＬ－２を使用して集団から除去される。一実施形態では、抗ＣＤ２５抗体若しくはその断片又はＣＤ２５結合リガンドは、基体、例えば、ビーズにコンジュゲートされるか、又は別の方法で基体、例えば、ビーズにコーティングされる。一実施形態では、抗ＣＤ２５抗体又はその断片は、本明細書に記載されるとおりの基体にコンジュゲートされる。

【０９７１】

一実施形態では、制御性Ｔ細胞、例えば、ＣＤ２５＋Ｔ細胞は、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ（商標）のＣＤ２５枯渇試薬を使用して、集団から除去される。一実施形態では、ＣＤ２５枯渇試薬に対する細胞の比率は、２０ｕＬに対して細胞１ｅ７個、又は１５ｕＬに対して細胞１ｅ７個、又は１０ｕＬに対して細胞１ｅ７個、又は５ｕＬに対して細胞１ｅ７個、又は２．５ｕＬに対して細胞１ｅ７個、又は１．２５ｕＬに対して細胞１ｅ７個である。一実施形態では、例えば、制御性Ｔ細胞、例えば、ＣＤ２５＋枯渇の場合、５億細胞／ｍｌより多くが使用される。さらなる態様では、６億、７億、８億又は９億細胞／ｍｌの細胞濃度が使用される。

【０９７２】

一実施形態では、枯渇されることになる免疫エフェクター細胞の集団は、約6×10^{9}個のＣＤ２５＋Ｔ細胞を含む。他の態様では、枯渇されることになる免疫エフェクター細胞の集団は、約1×10^{9}から１×１０１０個及びその間の任意の整数値のＣＤ２５＋Ｔ細胞を含む。一実施形態では、得られた制御性Ｔ細胞枯渇集団は、2×10^{9}個以下の制御性Ｔ細胞、例えば、ＣＤ２５＋細胞（例えば、1×10^{9}、5×10^{8}、1×10^{8}、5×10^{7}、1×10^{7}個以下のＣＤ２５＋細胞）を有する。

【０９７３】

一実施形態では、制御性Ｔ細胞、例えば、ＣＤ２５＋細胞は、ＣｌｉｎｉＭＡＣＳシステムを、例えば、チュービング１６２－０１などの枯渇チュービングセットとともに使用して、集団から除去される。一実施形態では、ＣｌｉｎｉＭＡＣＳシステムは、例えば、ＤＥＰＬＥＴＩＯＮ２．１などの枯渇設定で実行される。

【０９７４】

特定の理論に束縛されるものではないが、アフェレーシスの前の対象において、又はＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現する細胞生成物の製造中に、免疫細胞の負の調節因子のレベルを低下させること（例えば、不要な免疫細胞、例えば、ＴＲＥＧ細胞の数を減少させること）により、対象の再

発リスクを低減できる。例えば、ＴＲＥＧ細胞を枯渇させる方法は、当技術分野において知られている。ＴＲＥＧ細胞を減少させる方法としては、シクロホスファミド、抗ＧＩＴＲ抗体（本明細書に記載されるとおりの抗ＧＩＴＲ抗体）、ＣＤ２５枯渇及びその組合せが挙げられるが、これらに限定されない。

【０９７５】

いくつかの実施形態では、製造方法は、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現する細胞の製造前に、ＴＲＥＧ細胞の数を減少させること（例えば、枯渇させること）を含む。例えば、製造方法は、例えば、ＣＡＲを発現する細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）生成物の製造前にＴＲＥＧ細胞を枯渇させるために、試料、例えば、アフェレーシス試料を、抗ＧＩＴＲ抗体及び／若しくは抗ＣＤ２５抗体（若しくはその断片又はＣＤ２５結合リガンド）と接触させることを含む。

【０９７６】

ある実施形態では、対象は、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現する細胞生成物の製造のための細胞の収集の前に、ＴＲＥＧ細胞を減少させる１種以上の治療で前処置され、それにより、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現する細胞の治療に対する対象の再発のリスクが低減される。ある実施形態では、ＴＲＥＧ細胞を減少させる方法としては、シクロホスファミド、抗ＧＩＴＲ抗体、ＣＤ２５枯渇又はその組合せの１つ以上の対象に対する投与が挙げられるが、これらに限定されない。シクロホスファミド、抗ＧＩＴＲ抗体、ＣＤ２５枯渇又はその組合せの１つ以上の投与は、ＣＡＲ発現細胞生成物の注入の前、その間又はその後に行われ得る。

【０９７７】

ある実施形態では、対象は、ＣＡＲを発現する細胞生成物の製造のための細胞の収集の前に、シクロホスファミドで前処置され、それにより、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現する細胞の治療に対する対象の再発のリスクが低減される。ある実施形態では、対象は、ＣＡＲを発現する細胞生成物の製造のための細胞の収集の前に、抗ＧＩＴＲ抗体で前処置され、それにより、ＣＡＲを発現する細胞の治療に対する対象の再発のリスクが低減される。

【０９７８】

一実施形態では、除去されることになる細胞の集団は、制御性Ｔ細胞又は腫瘍細胞のいずれでもないが、他の点でＣＡＲＴ細胞、例えば、ＣＤ１４、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ３３、ＣＤ１５又は免疫抑制細胞によって発現される可能性がある他のマーカーを発現する細胞の増殖及び／又は機能に負の影響を及ぼす細胞である。一実施形態では、このような細胞は、制御性Ｔ細胞及び／若しくは腫瘍細胞と同時に、又は前記枯渇の後に、又は別の順序で除去されることが想定される。

【０９７９】

本明細書に記載される方法は、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細胞集団の濃縮は、例えば、陰性選択された細胞に固有の表面マーカーを対象とする抗体の組合せを用いて達成できる。１つの方法は、陰性選択された細胞上に存在する細胞表面マーカーを対象とするモノクローナル抗体のカクテルを使用する負磁気免疫接着若しくはフローサイトメトリーによるセルソーティング及び／又は選択である。例えば、陰性選択によりＣＤ４＋細胞を濃縮するために、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。

【０９８０】

本明細書に記載される方法はさらに、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を発現する集団から細胞を除去して、それにより、ＣＡＲ、例えば本明細書に記載されるＣＡＲを含むドメインを含む、例えば本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドの発現に好適である、制御性Ｔ枯渇、例えば、ＣＤ２５＋枯渇及び腫瘍抗原枯渇細胞の

集団を提供することを含み得る。一実施形態では、腫瘍抗原を発現する細胞は、制御性Ｔ細胞、例えば、ＣＤ２５＋細胞と同時に除去される。例えば、抗ＣＤ２５抗体又はその断片及び抗腫瘍抗原抗体又はその断片が、同じ基体、例えば、細胞を除去するために使用され得るビーズに付着され得るし、抗ＣＤ２５抗体若しくはその断片又は抗腫瘍抗原抗体若しくはその断片が、別々のビーズに付着され得、その混合物は、細胞を除去するために使用され得る。他の実施形態では、制御性Ｔ細胞、例えば、ＣＤ２５＋細胞の除去及び腫瘍抗原を発現する細胞の除去は、逐次的であり、例えば、どちらの順序においても行うことができる。

【０９８１】

また、集団からチェックポイント阻害剤、例えば、本明細書に記載される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種以上を除去することにより、制御性Ｔ細胞枯渇、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＋枯渇細胞の集団をもたらすことを含む方法も提供される。例示的なチェックポイント阻害剤としては、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が挙げられる。一実施形態では、チェックポイント阻害剤発現細胞は、制御性Ｔ、例えば、ＣＤ２５＋細胞と同時に除去される。例えば、抗ＣＤ２５抗体又はその断片及び抗チェックポイント阻害剤抗体又はその断片が、細胞を除去するために使用され得る同じビーズに付着され得るし、抗ＣＤ２５抗体又はその断片及び抗チェックポイント阻害剤抗体又はその断片が、別々のビーズに付着され得、その混合物は、細胞を除去するために使用され得る。他の実施形態では、制御性Ｔ細胞、例えば、ＣＤ２５＋細胞の除去及びチェックポイント阻害剤を発現する細胞の除去は、逐次的であり、例えば、どちらの順序においても行うことができる。

【０９８２】

本明細書に記載される方法は、陽性選択工程を含み得る。例えば、所望のＴ細胞の陽性選択に十分な期間において、ＤＹＮＡＢＥＡＤＳ（登録商標）Ｍ－４５０　ＣＤ３／ＣＤ２８Ｔなどの抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８（例えば、３×２８）コンジュゲートビーズとのインキュベーションにより、Ｔ細胞を単離することができる。一実施形態では、期間は、約３０分である。さらなる態様では、期間は、３０分から３６時間以上の範囲及びその間の全ての整数値である。さらなる実施形態では、期間は、少なくとも１、２、３、４、５又は６時間である。さらに別の実施形態では、期間は、１０から２４時間、例えば、２４時間である。より長いインキュベーション時間を使用して、腫瘍組織又は免疫無防備状態の個体から腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）を単離する場合のように、他の細胞型と比較してＴ細胞がほとんど存在しないいずれかの状況においてＴ細胞を単離する場合もある。さらに、より長いインキュベート時間の使用により、ＣＤ８＋Ｔ細胞の捕捉効率を増大させることができる。したがって、単に時間を短くするか又は長くするかにより、Ｔ細胞をＣＤ３／ＣＤ２８ビーズに結合させることができ、且つ／又はＴ細胞に対するビーズの比率を増加又は減少させることによって（本明細書にさらに記載されるとおり）、培養開始時又は工程中の他の時点で、Ｔ細胞の部分集団を、優先的に選択できるか又は反対に選択できる。さらに、ビーズ又は他の表面に対する抗ＣＤ３及び／又は抗ＣＤ２８抗体の比率を増加又は減少させることにより、培養開始時又は他の所望の時点でＴ細胞の部分集団を優先的に選択できるか又は反対に選択できる。

【０９８３】

一実施形態では、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種以上を発現するＴ細胞集団が選択され得る。細胞発現に関してスクリーニングする方法は、例えば、ＰＣＴ公開国際公開第２０１３／１２６７１２号パンフレットにおいて記載される方法によって決定され得る。

【０９８４】

陽性又は陰性選択による細胞の所望の集団の単離のために、細胞及び表面（例えば、ビーズなどの粒子）の濃度は変動し得る。特定の態様では、細胞及びビーズの接触を確実に最大化するために、ビーズ及び細胞を合わせて混合する体積を著しく減少させる（例えば、細胞の濃度を増加させる）ことが望ましい場合がある。例えば、一態様では、１００億細胞／ｍｌ、９０億個／ｍｌ、８０億個／ｍｌ、７０億個／ｍｌ、６０億個／ｍｌ又は５０億個／ｍｌの濃度が使用される。一態様では、１０億細胞／ｍｌの濃度が使用される。さらなる一態様では、７５００万、８０００万、８５００万、９０００万、９５００万又は１億細胞／ｍｌの細胞濃度が使用される。さらなる態様では、１億２５００万又は１億５０００万細胞／ｍｌの濃度が使用され得る。

【０９８５】

高濃度の使用により、細胞収量、細胞の活性化及び細胞増殖の増大をもたらすことができる。さらに、高い細胞濃度の使用により、ＣＤ２８陰性Ｔ細胞などの目的の標的抗原を弱く発現する場合がある細胞又は多くの腫瘍細胞が存在する試料（例えば、白血病の血液、腫瘍組織など）に由来する細胞のより効率的な捕捉が可能になる。このような細胞集団は治療的価値を有する場合があり、得ることが望ましいであろう。例えば、高濃度の細胞の使用により、通常は弱いＣＤ２８発現を有するＣＤ８＋Ｔ細胞のより効率的な選択が可能になる。

【０９８６】

関連する態様では、より低い細胞の濃度を使用することが望ましい場合がある。Ｔ細胞及び表面（例えば、ビーズなどの粒子）の混合物を著しく希釈することにより、粒子と細胞との間の相互作用が最小化される。これにより、粒子に結合されることになる大量の所望の抗原を発現する細胞が選択される。例えば、ＣＤ４＋Ｔ細胞は、より高レベルのＣＤ２８を発現するが、薄い濃度においてＣＤ８＋Ｔ細胞より効率的に捕捉される。一態様では、使用される細胞の濃度は、５×１０^{６}／ｍｌである。他の態様では、使用される濃度は、約１×１０^{５}／ｍｌ～１×１０^{６}／ｍｌ及びその間の任意の整数値であり得る。

【０９８７】

他の態様では、細胞は、ローテーター上において、様々な時間にわたって様々な速度おいて２～１０℃又は室温のいずれかでインキュベートされ得る。

【０９８８】

刺激のためのＴ細胞は、洗浄工程後にも凍結され得る。理論に束縛されるものではないが、凍結工程及びそれに続く解凍工程は、細胞集団中の顆粒球及びある程度の単球を除去することによってより均一な生成物をもたらす。血漿及び血小板を除去する洗浄工程の後、細胞は凍結溶液に懸濁され得る。多くの凍結用溶液及びパラメーターは当技術分野において知られており、これに関連して有用になるが、１つの方法は、２０％ＤＭＳＯ及び８％ヒト血清アルブミンを含有するＰＢＳ又は１０％デキストラン４０及び５％デキストロース、２０％ヒト血清アルブミン並びに７．５％ＤＭＳＯを含有する培養培地又は３１．２５％Ｐｌａｓｍａｌｙｔｅ－Ａ、３１．２５％デキストロース５％、０．４５％ＮａＣｌ、１０％デキストラン４０及び５％デキストロース、２０％ヒト血清アルブミン及び７．５％ＤＭＳＯを含有する培養培地又は例えば、ヘスパン及びＰｌａｓｍａＬｙｔｅ Ａを含有する他の好適な細胞凍結培地を使用し、続いて細胞を１分当たり１°の速度で－８０℃に凍結させ、液体窒素貯蔵タンクの蒸気相中で保存することを含む。－２０℃又は液体窒素中での即座の制御されていない凍結の他に、他の制御された凍結方法が使用され得る。

【０９８９】

特定の態様では、凍結保存された細胞は、本明細書に記載されるとおりに融解され、洗浄され、本発明の方法を使用して活性化する前に室温で１時間置かれる。

【０９９０】

本発明に関連して、本明細書に記載されるとおりの増殖した細胞が必要とされ得るときに先立つ期間での、対象からの血液試料又はアフェレーシス産物の収集も企図される。そのため、増殖されることになる細胞の供給源は、必要な任意の時点で収集され得、Ｔ細胞

などの所望の細胞は、本明細書に記載されるものなどの免疫エフェクター細胞療法から恩恵を被ることになるいくつかの疾患又は状態のための免疫エフェクター細胞療法における後の使用のために、単離され、凍結され得る。一態様では、血液試料又はアフェレーシスは、概して健康な対象から採取される。特定の態様では、血液試料又はアフェレーシスは、疾患を発症するリスクがあるが、まだ疾患を発症していない概して健康な対象から採取され、目的の細胞が、後の使用のために単離され、凍結される。特定の態様では、Ｔ細胞は、後の時点で増殖され、凍結され、且つ使用され得る。特定の態様では、試料は、本明細書に記載されるとおりの特定の疾患の診断の直後であるがいずれかの治療の前に、患者から収集される。さらなる態様では、細胞は、薬剤、例えば、ナタリズマブ、エファリズマブ、抗ウイルス剤、化学療法、放射線、免疫抑制剤、例えば、シクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキセート、ミコフェノール酸塩及びＦＫ５０６、抗体又は他の免疫除去剤、例えば、ＣＡＭＰＡＴＨ、抗ＣＤ３抗体、シトキサン、フルダラビン、シクロスポリン、ＦＫ５０６、ラパマイシン、マイコフェノール酸、ステロイド、ＦＲ９０１２２８及び放射線照射による治療を含むがこれらに限定されない、いくつかの適切な治療モダリティの前に対象の血液試料又はアフェレーシスから単離される。

【０９９１】

本発明のさらなる態様では、Ｔ細胞は、対象に機能的なＴ細胞を残す治療の直後に患者から得られる。これに関して、特定の癌治療の後、特に、免疫系に損傷を与える薬物での治療の後、患者が治療から正常に回復しているであろう期間中の治療の直後に、得られたＴ細胞の質が、エクスビボで増殖するそれらの能力に関して最適になるか又は向上される可能性があることが観察されている。同様に、本明細書に記載される方法を使用するエクスビボでの操作の後、これらの細胞は、生着及びインビボでの増殖の亢進にとって好ましい状態であり得る。したがって、本開示に関連して、この回復期間中に、Ｔ細胞、樹状細胞又は造血系列の他の細胞を含む血液細胞を収集することが企図される。さらに、特定の態様では、動員（例えば、ＧＭ－ＣＳＦによる動員）及び移植前処置を使用して、特に療法後の規定の時間帯の間、特定の細胞型の再増殖、再循環、再生及び／又は増殖が好都合な状態を対象において作り出すことができる。例示的な細胞型としては、Ｔ細胞、Ｂ細胞、樹状細胞及び免疫系の他の細胞が挙げられる。

【０９９２】

一実施形態では、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書に記載されるとおりのＣＡＲ分子を含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現する免疫エフェクター細胞は、免疫を増強する低用量のｍＴＯＲ阻害剤を受容した対象から得られる。ある実施形態では、対象における又は対象から収集された、ＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞のレベル又はＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞／ＰＤ１陽性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞の比率が少なくとも一過的に増加されるように、十分な時間の後又は免疫を増強する低用量のｍＴＯＲ阻害剤の十分な投与の後、ＣＡＲを発現するように操作されることになる免疫エフェクター細胞、例えばＴ細胞の集団が収集される。

【０９９３】

他の実施形態では、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合タンパク質を発現するように操作されたか又は操作されることになる免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞の集団は、ＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞の数を増加させるか又はＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞／ＰＤ１陽性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞の比率を増加させるある量のｍＴＯＲ阻害剤との接触により、エクスビボで処理され得る。

【０９９４】

一実施形態では、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のＲＮＡ又はタンパク質を発現しない細胞を含むか、又は低減又は阻害されたＤＧＫ活性を有する。ＤＧＫ欠損細胞は、遺伝学的アプローチにより、例えばＤＧＫ発現を低減するか又は妨げるためにＲＮＡ干渉剤、例え、ｓｉＲＮＡ、ｓｈ

ＲＮＡ、ｍｉＲＮＡを投与することにより作製され得る。代わりに、ＤＧＫ欠損細胞は、本明細書に記載されるＤＧＫ阻害剤による処理によって作製され得る。

【０９９５】

一実施形態では、Ｔ細胞集団は、イカロス欠損である。イカロス欠損細胞は、イカロスのＲＮＡ又はタンパク質を発現しない細胞を含むか、又は低減又は阻害されたイカロス活性を有し、イカロス欠損細胞は、遺伝学的アプローチにより、例えばイカロス発現を低減するか又は妨げるためにＲＮＡ干渉剤、例えばｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、ｍｉＲＮＡを投与することにより作製され得る。代わりに、イカロス欠損細胞は、イカロス阻害剤、例えば、レナリドミドによる処理によって作製され得る。

【０９９６】

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、又は低減若しくは阻害されたＤＧＫ及びイカロス活性を有する。このようなＤＧＫ及びイカロス欠損細胞は、本明細書に記載される方法のいずれかによって作製され得る。

【０９９７】

ある実施形態では、ＮＫ細胞は、対象から得られる。別の実施形態では、ＮＫ細胞は、ＮＫ細胞株、例えばＮＫ－９２細胞株（Ｃｏｎｋｗｅｓｔ）である。

【０９９８】

追加の発現される薬剤

別の実施形態では、本明細書に記載されるＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現する免疫エフェクター細胞はさらに、別の薬剤、例えば、ＣＡＲ発現細胞の活性を増強する薬剤を発現できる。例えば、一実施形態では、薬剤は、阻害分子を阻害する薬剤であり得る。阻害分子の例としては、例えば、本明細書に記載されるとおりの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ベータが挙げられる。一実施形態では、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、本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメインを伴う第１のポリペプチド、例えば、阻害分子を含む。一実施形態では、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ＴＧＦベータ又はこれらのいずれかの断片などの阻害分子の第１のポリペプチド並びに本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、共刺激ドメイン（例えば、本明細書に記載されるとおりの４１ＢＢ、ＣＤ２７又はＣＤ２８）及び／又は一次シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載される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。一実施形態では、薬剤は、ＰＤ－１又はその断片の第１のポリペプチド及び本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載されるＣＤ２８、ＣＤ２７、ＯＸ４０若しくは４－１ＢＢシグナル伝達ドメイン及び／又は本明細書に記載される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。

【０９９９】

一実施形態では、本明細書に記載されるＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現する免疫エフェクター細胞はさらに、ＣＡＲ、例えば、同じ標的（例えば、上記の標的）又は異なる標的に対する異なる抗原結合ドメインを含む、例えば、第２のＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの第２の融合ポリペプチドを含み得る。一実施形態では、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。一実施形態では、ＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞は、第１の抗原を標的化し、且つ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化し、且つ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。

【１０００】

理論に束縛されるものではないが、共刺激シグナル伝達ドメイン、例えば、４－１ＢＢ、ＣＤ２８、ＣＤ２７又はＯＸ－４０の第１のＣＡＲ上への配置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上での配置は、両方の標的が発現される細胞に対するＣＡＲ活性を制限し得る。一実施形態では、ＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞は、例えば、上記の標的を標的化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並びに第１のＣＡＲによって標的化される抗原（例えば、第１の標的と同じ癌細胞型で発現される抗原）以外の抗原を標的化し、且つ抗原結合ドメイン、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。一実施形態では、ＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞は、例えば、上記の標的を標的化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刺激ドメインを含む第１のＣＡＲ並びに第１のＣＡＲによって標的化される抗原（例えば、第１の標的と同じ癌細胞型で発現される抗原）以外の抗原を標的化し、且つ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。

【１００１】

一実施形態では、ＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞は、本明細書に記載されるＣＡＲ、例えば、上記の標的に対するＣＡＲ及び阻害性ＣＡＲを含む。一実施形態では、阻害性ＣＡＲは、癌細胞ではない正常細胞、例えば、標的も発現する正常細胞上で見出される抗原と結合する抗原結合ドメインを含む。一実施形態では、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。

【１００２】

一実施形態では、免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）は、本明細書に記載されるとおり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断片を含む第２のＣＡＲを含む。

【１００３】

一実施形態では、細胞はさらに、上記のとおりの阻害分子を含む。

【１００４】

一実施形態では、細胞中の第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。一実施形態では、第２のＣＡＲ分子は、ＰＤ１の細胞外ドメイン又はその断片を含む。

【１００５】

実施形態において、細胞中の第２のＣＡＲ分子はさらに、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含む。

【１００６】

他の実施形態では、細胞中の細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ゼータの機能性ドメインを含む一次シグナル伝達ドメイン及び４－１ＢＢの機能性ドメインを含む共刺激シグナル伝達ドメインを含む。

【１００７】

特定の実施形態では、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ＶＨＨドメインを含む。

【１００８】

スプリットＣＡＲ

いくつかの実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、スプリットＣＡＲを使用する。スプリットＣＡＲのアプローチは、参照により本明細書に組み込まれる公報の国際公開第２０１４／０５５４４２号パンフレット及び国際公開第２０１４／０５５６５７号パンフレットにおいてより詳細に記載される。簡潔に述べると、スプリットＣＡＲシステムは、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、この細胞は、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の抗原と遭遇するとき、共刺激ドメインが活性化され、細胞は増殖する。細胞が第２の抗原と遭遇するとき、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する。したがって、ＣＡＲ発現細胞は、両方の抗原の存在下でのみ完全に活性化される。

【１００９】

複数のＣＡＲ発現

一態様では、本明細書に記載されるＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現する細胞はさらに、ＣＡＲ、例えば、同じ標的又は異なる標的（例えば、本明細書に記載される癌関連抗原以外の標的又は本明細書に記載される異なる癌関連抗原）に対する異なる抗原結合ドメインを含む、例えば、第２のＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの第２の融合ポリペプチドを含み得る。一実施形態では、第２のＣＡＲは、その癌関連抗原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。一実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、第１の抗原を標的化し、且つ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化し、且つ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。理論に束縛されるものではないが、共刺激シグナル伝達ドメイン、例えば、４－１ＢＢ、ＣＤ２８、ＣＤ２７又はＯＸ－４０の第１のＣＡＲ上への配置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上での配置は、両方の標的が発現される細胞に対するＣＡＲ活性を制限し得る。一実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、本明細書に記載される標的抗原と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並びに異なる標的抗原（例えば、第１の標的抗原と同じ癌細胞型で発現される抗原）を標的化し、且つ抗原結合ドメイン、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。別の実施形態では、ＣＡＲ発現細胞は、本明細書に記載される標的抗原と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並びに第１の標的抗原以外の抗原（例えば、第１の標的抗原と同じ癌細胞型で発現される抗原）を標的化し、且つ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。

【１０１０】

いくつかの実施形態では、請求される本発明は、第１のＣＡＲ及び第２のＣＡＲを含み、前記第１のＣＡＲ、前記第２のＣＡＲの１つ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では、前記第１のＣＡＲ、前記第２のＣＡＲの１つ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では、前記第１のＣＡＲ、前記第２のＣＡＲの１つ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の単一ＶＨドメイン又はヒト若しくはマウスに由来する単一ＶＨドメインを含む。いくつかの実施形態では、前記第１のＣＡＲ、前記第２のＣＡＲの１つ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では、前記第１のＣＡＲ、前記第２のＣＡＲの１つの抗原結合ドメインは、ラクダ科ＶＨＨドメインを含む。

【１０１１】
同種異系細胞
本明細書に記載される実施形態において、免疫エフェクター細胞は、同種異系免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞であり得る。例えば、細胞は、同種異系Ｔ細胞、例えば、機能的なＴ細胞受容体（ＴＣＲ）並びに／又はヒト白血球抗原（ＨＬＡ）、例えば、ＨＬＡクラスＩ及び／若しくはＨＬＡクラスＩＩ又はベータ２ミクログロブリン（Ｂ２Ｍ）の発現を欠く同種異系Ｔ細胞であり得る。
【１０１２】
機能的なＴＣＲを欠くＴ細胞は、例えば、その表面にいかなる機能的なＴＣＲも発現しないように操作され得るし、機能的なＴＣＲ、例えば、ＴＲＡＣ、ＴＲＢＣ１、ＴＲＢＣ２、ＣＤ３Ｅ、ＣＤ３Ｇ若しくはＣＤ３Ｄを含む１つ以上のサブユニットを発現しないように操作され得るし、その表面で機能的なＴＣＲをほとんど産生しないように操作され得る。代わりに、Ｔ細胞は、例えば、ＴＣＲのサブユニットの１つ以上の変異されたか又はトランケートされた形態の発現により、実質的に機能が損なわれたＴＣＲを発現し得る。用語「実質的に機能が損なわれたＴＣＲ」は、このＴＣＲが、宿主において有害な免疫反応を誘発しないことを意味する。
【１０１３】
本明細書に記載されるＴ細胞は、例えば、その表面上に機能的なＨＬＡを発現しないように操作され得る。例えば、本明細書に記載されるＴ細胞は、ＨＬＡ、例えばＨＬＡクラス１及び／若しくはＨＬＡクラスＩＩ又はＨＬＡ発現のサブユニット若しくは調節因子、例えば、Ｂ２Ｍの細胞表面発現が下方制御されるように操作され得る。
【１０１４】
本明細書に記載されるＴ細胞は、例えば、その表面上に機能的なＢ２Ｍを発現しないように操作され得る。例えば、本明細書に記載されるＴ細胞は、Ｂ２Ｍの細胞表面発現が下方制御されるように操作され得る。
【１０１５】
いくつかの実施形態では、Ｔ細胞は、機能的なＴＣＲ及び機能的なＨＬＡ、例えば、ＨＬＡクラスＩ及び／又はＨＬＡクラスＩＩを欠き得る。
【１０１６】
機能的なＴＣＲ及び／又はＨＬＡの発現を欠く改変Ｔ細胞は、ＴＣＲ又はＨＬＡの１つ以上のサブユニットのノックアウト又はノックダウンを含む任意の好適な手段により得ることができる。例えば、Ｔ細胞は、ｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（ＣＲＩＳＰＲ）転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥＮ）又はジンクフィンガーエンドヌクレアーゼ（ＺＦＮ）を使用する、ＴＣＲ及び／又はＨＬＡのノックダウンを含み得る。
【１０１７】
いくつかの実施形態では、同種異系細胞は、例えば、本明細書に記載される任意の方法によって阻害分子を発現しないか又は低いレベルで発現する細胞であり得る。例えば、細胞は、阻害分子を発現しないか又は低いレベルで発現する細胞、例えばＣＡＲ発現細胞の免疫エフェクター応答を開始する能力を減少させることができる細胞であり得る。阻害分子の例としては、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＣＥＡＣＡＭ（例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及び／又はＣＥＡＣＡＭ－５）、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４及びＴＧＦＲベータが挙げられる。阻害分子の阻害、例えばＤＮＡ、ＲＮＡ又はタンパク質レベルでの阻害による阻害は、ＣＡＲ発現細胞の性能を最適化できる。実施形態において、阻害核酸、例えば、本明細書に記載される阻害核酸、例えば、ｄｓＲＮＡ、例えば、ｓｉＲＮＡ又はｓｈＲＮＡ、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（ＣＲＩＳＰＲ）、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥＮ）又はジンクフィンガーエンドヌクレアーゼ（ＺＦＮ）が使用され得る。
【１０１８】

ｓｉＲＮＡ及びｓｈＲＮＡ
いくつかの実施形態では、ＴＣＲ発現及び／又はＨＬＡ若しくはＢ２Ｍ発現は、Ｔ細胞においてＴＣＲ及び／又はＨＬＡをコードする核酸を標的化するｓｉＲＮＡ又はｓｈＲＮＡを使用して阻害され得る。
【１０１９】
ＣＲＩＳＰＲ
本明細書で使用する場合、「ＣＲＩＳＰＲ」又は「ＴＣＲ及び／又はＨＬＡに対するＣＲＩＳＰＲ」又は「ＴＣＲ及び／又はＨＬＡを阻害するＣＲＩＳＰＲ」は、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピートのセット又はこのようなリピートのセットを含むシステムを指す。本明細書で使用する場合、「Ｃａｓ」は、ＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質を指す。「ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ」システムは、ＴＣＲ及び／若しくはＨＬＡ又はＢ２Ｍ遺伝子をサイレンシングするか又は変異させるために使用され得る、ＣＲＩＳＰＲ及びＣａｓに由来するシステムを指す。
【１０２０】
当技術分野において知られる技術を使用して、例えば、全体として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２０１４００６８７９７号明細書及びＣｏｎｇ（２０１３）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３３９：８１９－８２３において記載される、ＴＣＲ及び／又はＨＬＡを阻害する人工的なＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓシステムが作製され得る。例えば、全体として参照により本明細書に組み込まれるＴｓａｉ（２０１４）Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，３２：６ ５６９－５７６、米国特許第８，８７１，４４５号明細書；同第８，８６５，４０６号明細書；同第８，７９５，９６５号明細書；同第８，７７１，９４５号明細書；及び同第８，６９７，３５９号明細書において記載される、ＴＣＲ及び／又はＨＬＡを阻害する当技術分野において知られる他の人工的なＣＲＩＳＰＲ／ＣＡＳシステムも作製され得る。
【１０２１】
ＴＡＬＥＮ
「ＴＡＬＥＮ」又は「ＨＬＡ及び／又はＴＣＲに対するＴＡＬＥＮ」又は「ＨＬＡ及び／又はＴＣＲを阻害するＴＡＬＥＮ」は、ＨＬＡ又はＢ２Ｍ及び／又はＴＣＲ遺伝子を編集するために使用され得る人工ヌクレアーゼである、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼを指す。
【１０２２】
ＴＡＬＥＮは、ＴＡＬエフェクターＤＮＡ結合ドメインをＤＮＡ切断ドメインに融合させることによって人工的に作製される。ＨＬＡ又はＴＣＲ遺伝子の一部を含む任意の所望のＤＮＡ配列に結合するように、転写活性化因子様作用（ＴＡＬＥ）が操作され得る。操作されたＴＡＬＥとＤＮＡ切断ドメインを組み合わせることにより、ＨＬＡ又はＴＣＲ配列を含む任意の所望のＤＮＡ配列に特異的である制限酵素が作製され得る。次に、これらを細胞に導入することができ、それらは、全体として参照により本明細書に組み込まれる、Ｂｏｃｈ（２０１１）Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈ．２９：１３５－６；Ｂｏｃｈ ｅｔ ａｌ．（２００９）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３２６：１５０９－１２；及びＭｏｓｃｏｕ ｅｔ ａｌ．（２００９）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３２６：３５０１において記載されるとおり、ゲノム編集のために使用され得る。
【１０２３】
ＨＬＡ又はＴＣＲにおける配列に特異的なＴＡＬＥＮは、全体として参照により本明細書に組み込まれるＺｈａｎｇ ｅｔ ａｌ．（２０１１）Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈ．２９：１４９－５３；及びＧｅｉｂｌｅｒ ｅｔ ａｌ．（２０１１）ＰＬｏＳ ＯＮＥ ６：ｅ１９５０９において記載されるとおり、モジュラー成分を使用する様々なスキームを含む当技術分野において知られる任意の方法を使用して構築され得る。
【１０２４】
ＨＬＡ及び／又はＴＣＲを阻害するジンクフィンガーヌクレアーゼ
「ＺＦＮ」又は「ジンクフィンガーヌクレアーゼ」又は「ＨＬＡ及び／又はＴＣＲに対

するＺＦＮ」又は「ＨＬＡ及び／又はＴＣＲを阻害するＺＦＮ」は、ＨＬＡ遺伝子及び／又はＴＣＲ遺伝子又はＢ２Ｍ遺伝子を編集するのに使用され得る人工ヌクレアーゼである、ジンクフィンガーヌクレアーゼを指す。

【１０２５】

ＨＬＡ及び／又はＴＣＲにおける配列に特異的なＺＦＮは、全体として参照により本明細書に組み込まれるＰｒｏｖａｓｉ（２０１１）Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄ．１８：８０７－８１５；Ｔｏｒｉｋａｉ（２０１３）Ｂｌｏｏｄ １２２：１３４１－１３４９；Ｃａｔｈｏｍｅｎ ｅｔ ａｌ．（２００８）Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．１６：１２００－７；Ｇｕｏ ｅｔ ａｌ．（２０１０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４００：９６；米国特許出願公開第２０１１／０１５８９５７号明細書；及び米国特許出願公開第２０１２／００６０２３０号明細書において記載されるとおり、当技術分野において知られる任意の方法を使用して構築され得る。

【１０２６】

テロメラーゼ発現

いかなる特定の理論にも束縛されるものではないが、いくつかの実施形態では、治療用Ｔ細胞は、Ｔ細胞におけるテロメアの短縮に起因して患者において短期間の持続を有し；したがって、テロメラーゼ遺伝子によるトランスフェクションにより、Ｔ細胞のテロメアを延ばし、患者におけるＴ細胞の持続を改善することができる。全体として参照により本明細書に組み込まれるＣａｒｌ Ｊｕｎｅ，「Ａｄｏｐｔｉｖｅ Ｔ ｃｅｌｌ ｔｈｅｒａｐｙ ｆｏｒ ｃａｎｃｅｒ ｉｎ ｔｈｅ ｃｌｉｎｉｃ」，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｉｎｖｅｓｔｉｇａｔｉｏｎ，１１７：１４６６－１４７６（２００７）を参照されたい。したがって、ある実施形態では、免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞は、テロメラーゼサブユニット、例えば、テロメラーゼの触媒サブユニット、例えば、ＴＥＲＴ、例えば、ｈＴＥＲＴを異所的に発現する。いくつかの態様では、本開示は、ＣＡＲ発現細胞を作製する方法であって、細胞を、テロメラーゼサブユニット、例えば、テロメラーゼの触媒サブユニット、例えば、ＴＥＲＴ、例えば、ｈＴＥＲＴをコードする核酸と接触させることを含む方法を提供する。細胞は、ＣＡＲをコードするコンストラクトと接触させる前に、それと同時に又はその後に核酸と接触され得る。

【１０２７】

増殖及び活性化

Ｔ細胞などの免疫エフェクター細胞は、通常、例えば、各々が全体として参照により本明細書に組み込まれる米国特許第６，３５２，６９４号明細書；同第６，５３４，０５５号明細書；同第６，９０５，６８０号明細書；同第６，６９２，９６４号明細書；同第５，８５８，３５８号明細書；同第６，８８７，４６６号明細書；同第６，９０５，６８１号明細書；同第７，１４４，５７５号明細書；同第７，０６７，３１８号明細書；同第７，１７２，８６９号明細書；同第７，２３２，５６６号明細書；同第７，１７５，８４３号明細書；同第５，８８３，２２３号明細書；同第６，９０５，８７４号明細書；同第６，７９７，５１４号明細書；同第６，８６７，０４１号明細書；及び米国特許出願公開第２００６０１２００５号明細書において記載される方法を用いて活性化及び増殖され得る。

【１０２８】

一般に、免疫エフェクター細胞、例えば、制御性Ｔ細胞枯渇細胞の集団は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体関連シグナを刺激する薬剤及びＴ細胞の表面上の共刺激分子を刺激するリガンドを付着させた表面と接触させることによって増殖され得る。特に、Ｔ細胞集団は、表面上に固定化された抗ＣＤ３抗体若しくはその抗原結合断片又は抗ＣＤ２抗体と接触させることにより、又はカルシウムイオノフォアとともにプロテインキナーゼＣ活性化剤（例えば、ブリオスタチン）と接触させることになどより、本明細書に記載されるとおりに刺激され得る。Ｔ細胞の表面上のアクセサリー分子の共刺激のために、アクセサリー分子に結合するリガンドが使用される。例えば、Ｔ細胞の集団は、Ｔ細胞の増殖を刺激するのに適切な条件下で、抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体と接触され得る。ＣＤ４＋Ｔ細胞又はＣＤ８＋Ｔ細胞のいずれかの増殖を刺激するため、抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体が使用

され得る。抗ＣＤ２８抗体の例としては、９．３、Ｂ－Ｔ３、ＸＲ－ＣＤ２８（Ｄｉａｃｌｏｎｅ、Ｂｅｓａｎｃｏｎ、Ｆｒａｎｃｅ）が挙げられ、これらは、当技術分野において一般的に知られる他の方法と同様にして使用され得る（Ｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔ Ｐｒｏｃ．３０（８）：３９７５－３９７７，１９９８；Ｈａａｎｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１９０（９）：１３１９１３２８，１９９９；Ｇａｒｌａｎｄ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈ．２２７（１－２）：５３－６３，１９９９）。

【１０２９】

特定の態様では、Ｔ細胞に関する一次刺激シグナル及び共刺激シグナルは、様々なプロトコルによってもたらされ得る。例えば、各シグナルをもたらす薬剤は、溶液中にあるか又は表面に結合され得る。表面に結合される場合、薬剤は、同じ表面に結合され得るし（すなわち、「シス」形態）又は別々の表面に（すなわち、「トランス」形態）結合され得る。代わりに、一方の薬剤が表面に結合され、他の薬剤が溶液中にあり得る。一態様では、共刺激シグナルをもたらす薬剤が細胞表面に結合しており、一次活性化シグナルをもたらす薬剤が、溶液中にあるか又は表面に結合される。特定の態様では、両方の薬剤が溶液中にあり得る。一態様では、薬剤は、可溶性の形態であり得、続いて、Ｆｃ受容体を発現する細胞などの表面又は薬剤に結合することになる抗体若しくは他の結合剤に架橋され得る。これに関して、例えば、本発明においてＴ細胞を活性化して増殖させることに使用することが企図される人工抗原提示細胞（ａＡＰＣ）に関する、全体として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２００４０１０１５１９号明細書及び同第２００６００３４８１０号明細書を参照されたい。

【１０３０】

一態様では、２種の薬剤が、同じビーズ上、すなわち「シス」又は別々のビーズ上、すなわち「トランス」のいずれかでビーズ上に固定化される。一例として、一次活性化シグナルをもたらす薬剤は、抗ＣＤ３抗体又はその抗原結合断片であり、共刺激シグナルをもたらす薬剤は、抗ＣＤ２８抗体又はその抗原結合断片であり；両方の薬剤が、同じ分子の量で同じビーズにともに固定化される。一態様では、ＣＤ４＋Ｔ細胞の増殖及びＴ細胞成長のためのビーズに結合した１：１の比の各抗体が使用される。本発明の特定の態様では、１：１の比を使用して観察された増殖と比較して、Ｔ細胞増殖の増加が観察されるように、ビーズに結合した抗ＣＤ３：ＣＤ２８抗体の比が使用される。特定の一態様では、１：１の比を使用して観察された増殖と比較して、約１から約３倍の増加が観察される。一態様では、ビーズに結合したＣＤ３：ＣＤ２８抗体の比は、１００：１から１：１００の範囲及びその間の全ての整数値である。一態様では、抗ＣＤ３抗体より多くの抗ＣＤ２８抗体が、粒子に結合しており、すなわち、ＣＤ３：ＣＤ２８の比の値は１未満である。特定の態様では、ビーズに結合した抗ＣＤ２８抗体と抗ＣＤ３抗体の比は、２：１より大きい。特定の一態様では、１：１００　ＣＤ３：ＣＤ２８比のビーズに結合した抗体が使用される。一態様では、１：７５　ＣＤ３：ＣＤ２８比のビーズに結合した抗体が使用される。さらなる態様では、１：５０　ＣＤ３：ＣＤ２８比のビーズに結合した抗体が使用される。一態様では、１：３０　ＣＤ３：ＣＤ２８比のビーズに結合した抗体が使用される。好ましい一態様では、１：１０　ＣＤ３：ＣＤ２８比のビーズに結合した抗体が使用される。一態様では、１：３　ＣＤ３：ＣＤ２８比のビーズに結合した抗体が使用される。さらなる一態様では、３：１　ＣＤ３：ＣＤ２８比のビーズに結合した抗体が使用される。

【１０３１】

Ｔ細胞又は他の標的細胞を刺激するために、１：５００～５００：１及びその間の任意の整数値の粒子と細胞の比が使用され得る。当業者であれば容易に理解できるとおり、粒子と細胞の比は、標的細胞に対する粒径に依存し得る。例えば、小さいサイズのビーズは、少数の細胞とのみ結合できるが、より大きいビーズは多くと結合できる。特定の態様では、細胞と粒子の比は、１：１００から１００：１の範囲及びその間の任意の整数値であり、さらなる態様では、この比は、１：９～９：１及びその間の任意の整数値を含み、これらもＴ細胞を刺激するために使用され得る。Ｔ細胞の刺激をもたらす、抗ＣＤ３及び抗

ＣＤ２８結合粒子とＴ細胞の比は上述のとおり変動し得るが、特定の好ましい値としては、１：１００、１：５０、１：４０、１：３０、１：２０、１：１０、１：９、１：８、１：７、１：６、１：５、１：４、１：３、１：２、１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、１０：１及び１５：１が挙げられ、１つの好ましい比は、粒子とＴ細胞が少なくとも１：１である。一態様では、１：１以下の粒子と細胞との比が使用される。特定の一態様では、好ましい粒子：細胞の比は、１：５である。さらなる態様では、粒子と細胞の比は、刺激の日に応じて変動され得る。例えば、一態様では、粒子と細胞の比は、１日目では１：１から１０：１であり、その後、毎日又は１日おきに最大１０日まで細胞に追加の粒子が添加され、最終的に、１：１から１：１０の比になる（添加日の細胞数に基づく）。特定の一態様では、粒子と細胞の比は、刺激の１日目には１：１であり、刺激の３日目及び５日目には１：５に調整される。一態様では、粒子は、１日目の最終的な１：１の比を基準にして毎日又は１日おきに添加され、刺激の３日目及び５日目に１：５にする。一態様では、粒子と細胞の比は、刺激の１日目には２：１であり、刺激の３日目及び５日目には１：１０に調整される。一態様では、粒子は、１日目の最終的な１：１の比を基準にして毎日又は１日おきに添加され、刺激の３日目及び５日目に１：１０にする。当業者であれば、様々な他の比が本発明における使用に好適であり得ることを理解するであろう。特に、比は、粒径並びに細胞のサイズ及び型に応じて変動することになる。一態様では、使用のための最も典型的な比は、１日目に１：１、２：１及び３：１の付近である。

【１０３２】

さらなる態様では、Ｔ細胞などの細胞は、薬剤でコーティングされたビーズと組み合わされ、その後ビーズ及び細胞を分離し、続いて細胞を培養する。代替的態様では、培養の前に薬剤でコーティングしたビーズと細胞を分離せずに、ともに培養する。さらなる態様では、まず、ビーズ及び細胞を磁力などの力の適用によって濃縮して、細胞表面マーカーのライゲーションを増加させることにより、細胞の刺激を誘導する。

【１０３３】

一例として、細胞表面タンパク質は、抗ＣＤ３及び抗ＣＤ２８が付着している常磁性ビーズ（３×２８個のビーズ）をＴ細胞に接触させることによってライゲートされ得る。一態様では、細胞（例えば、10^4から10^9個のＴ細胞）及びビーズ（例えば、１：１の比のＤＹＮＡＢＥＡＤＳ（登録商標）Ｍ－４５０　ＣＤ３／ＣＤ２８Ｔ常磁性ビーズ）を、緩衝液、例えば、ＰＢＳ（カルシウム及びマグネシウムなどの二価カチオンを含まない）中で組み合わせる。また、当業者であれば、任意の細胞濃度が使用され得ることを容易に理解できる。例えば、標的細胞は、試料中において極めて希少であり得るし、試料のわずか０．０１％のみを含み得るか、又は試料全体（すなわち１００％）が目的の標的細胞を含み得る。したがって、任意の細胞数が本発明の内容に含まれる。特定の態様では、細胞と粒子の接触を確実に最大化するために、粒子及び細胞がともに混合されている体積を著しく減少させること（すなわち、細胞の濃度を増加させること）が望ましい場合がある。例えば、一態様では、約１００億細胞／ｍｌ、９０億個／ｍｌ、８０億個／ｍｌ、７０億個／ｍｌ、６０億個／ｍｌ、５０億個／ｍｌ又は２０億細胞／ｍｌの濃度が使用される。一態様では、１億細胞／ｍｌを超えて使用される。さらなる態様では、１０００万、１５００万、２０００万、２５００万、３０００万、３５００万、４０００万、４５００万又は５０００万細胞／ｍｌの細胞の濃度が使用される。さらなる一態様では、７５００万、８０００万、８５００万、９０００万、９５００万又は１億細胞／ｍｌの細胞濃度が使用される。さらなる態様では、１億２５００万又は１億５０００万細胞／ｍｌの濃度が使用され得る。高濃度の使用により、細胞収量、細胞の活性化及び細胞増殖の増大をもたらすことができる。さらに、高い細胞濃度の使用により、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より効率的な捕捉が可能になる。このような細胞集団は治療的価値を有する場合があり、特定の態様において得ることが望ましいであろう。例えば、高濃度の細胞の使用により、通常は弱いＣＤ２８発現を有するＣＤ８＋Ｔ細胞のより効率的な選択が可能になる。

【１０３４】
一実施形態では、ＣＡＲ、例えば、本明細書に記載されるＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードする核酸で形質導入した細胞は、例えば、本明細書に記載される方法により増殖される。一実施形態では、細胞は、培養物中で、数時間（例えば、約２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、１８、２１時間）～約１４日間（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４日）増殖される。一実施形態では、細胞は、４～９日間増殖される。一実施形態では、細胞は、８日間以下、例えば、７、６又は５日間増殖される。一実施形態では、細胞は、培養物中で５日間増殖され、得られる細胞は、培養物中の同じ培養条件下において９日間増殖された同じ細胞より強力である。効力は、例えば、種々のＴ細胞機能、例えば、増殖、標的細胞の死滅、サイトカイン産生、活性化、遊走又はこれらの組合せにより定義することができる。一実施形態では、５日間増殖される細胞は、培養物中において同じ培養条件下で９日間増殖された同じ細胞と比較して、抗原刺激時の細胞倍加において少なくとも１、２、３又は４倍の増加を示す。一実施形態では、細胞は、培養物中で５日間増殖され、得られる細胞は、培養物中において同じ培養条件下で９日間増殖された同じ細胞と比較して、高い炎症促進性サイトカイン産生、例えば、ＩＦＮγ及び／又はＧＭ－ＣＳＦレベルを呈する。一実施形態では、５日間増殖された細胞は、培養物中において同じ培養条件下で９日間増殖された同じ細胞と比較して、炎症促進性サイトカイン産生、例えば、ＩＦＮγ及び／又はＧＭ－ＣＳＦレベルのｐｇ／ｍｌ単位で少なくとも１、２、３、４、５、１０倍以上の増加を示す。

【１０３５】
Ｔ細胞の培養時間が６０日以上となり得るような、数サイクルの刺激が望ましい場合もある。Ｔ細胞培養に適切な条件としては、血清（例えば、ウシ胎児又はヒト血清）、インターロイキン－２（ＩＬ－２）、インスリン、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－４、ＩＬ－７、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１０、ＩＬ－１２、ＩＬ－１５、ＴＧＦβ及びＴＮＦ－αを含む増殖及び生存能に必要な因子又は当業者に知られる細胞の成長に関する任意の他の添加剤を含有し得る適切な培地（例えば、最小必須培地又はＲＰＭＩ培地１６４０又はＸ－ｖｉｖｏ １５、（Ｌｏｎｚａ））が挙げられる。細胞の成長のための他の添加剤としては、界面活性剤、プラスマネート並びにＮ－アセチル－システイン及び２－メルカプトエタノールなどの還元剤が挙げられるが、これらに限定されない。培地としては、アミノ酸、ピルビン酸ナトリウム及びビタミンが添加され、無血清であるか、又は適切な量の血清（又は血漿）若しくは規定された一連のホルモン及び／若しくはＴ細胞の成長及び増殖に十分なある量のサイトカインが補充されたＲＰＭＩ１６４０、ＡＩＭ－Ｖ、ＤＭＥＭ、ＭＥＭ、α－ＭＥＭ、Ｆ－１２、Ｘ－Ｖｉｖｏ １５及びＸ－Ｖｉｖｏ ２０、Ｏｐｔｉｍｉｚｅｒを挙げることができる。抗生物質、例えば、ペニシリン及びストレプトマイシンは、実験的培養の場合のみに含まれ、対象に注入されることになる細胞の培養に含まれない。標的細胞は、例えば、適切な温度（例えば、３７℃）及び雰囲気（例えば、空気及び５％CO_2）などの成長を助けるのに必要な条件下で維持される。

【１０３６】
一実施形態では、細胞は、１４日間の増殖期間にわたって、例えば、フローサイトメトリーなどの本明細書に記載される方法により測定されるとおり、細胞の少なくとも２００倍（例えば、２００倍、２５０倍、３００倍、３５０倍）の増加をもたらす１種以上のインターロイキンを含む適切な培地（例えば、本明細書に記載される培地）中で増殖される。 一実施形態では、細胞は、ＩＬ－１５及び／又はＩＬ－７（例えば、ＩＬ－１５及びＩＬ－７）の存在下で増殖される。

【１０３７】
実施形態において、本明細書に記載される方法、例えば、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現する細胞の製造方法は、例えば、抗ＣＤ２５抗体若しくはその断片又はＣＤ２５結合リガンド、ＩＬ－２を使用して、細胞集団から制御性Ｔ細胞、例えば、ＣＤ２５＋Ｔ細胞を除去することを含む。細

胞集団から制御性Ｔ細胞、例えば、ＣＤ２５＋Ｔ細胞を除去する方法は、本明細書に記載される。実施形態において、方法、例えば製造方法はさらに、細胞集団（例えば、ＣＤ２５＋Ｔ細胞などの制御性Ｔ細胞が枯渇された細胞集団；又は抗ＣＤ２５抗体、その断片若しくはＣＤ２５結合リガンドと以前に接触したことがある細胞集団）をＩＬ－１５及び／又はＩＬ－７と接触させることを含む。例えば、細胞集団（例えば、抗ＣＤ２５抗体、その断片又はＣＤ２５結合リガンドと以前に接触したことがある）は、ＩＬ－１５及び／又はＩＬ－７の存在下で増殖される。

【１０３８】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現する細胞を、ＣＡＲ発現細胞の製造中に、例えば、エクスビボで、インターロイキン－１５（ＩＬ－１５）ポリペプチド、インターロイキン－１５受容体アルファ（ＩＬ－１５Ｒａ）ポリペプチド又はＩＬ－１５ポリペプチド及びＩＬ－１５Ｒａポリペプチド、例えば、ｈｅｔＩＬ－１５の両方の組合せを含む組成物と接触させる。実施形態において、本明細書に記載されるＣＡＲ発現細胞を、ＣＡＲ発現細胞の製造中に、例えば、エクスビボで、ＩＬ－１５ポリペプチドを含む組成物と接触させる。実施形態において、本明細書に記載されるＣＡＲ発現細胞を、ＣＡＲ発現細胞の製造中に、例えば、エクスビボで、ＩＬ－１５ポリペプチド及びＩＬ－１５Ｒａポリペプチドの両方の組合せを含む組成物と接触させる。実施形態において、本明細書に記載されるＣＡＲ発現細胞を、ＣＡＲ発現細胞の製造中に、例えば、エクスビボで、ｈｅｔｌＩＬ－１５を含む組成物と接触させる。

【１０３９】

一実施形態では、本明細書に記載されるＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現する細胞を、エクスビボにおける増殖中に、ｈｅｔＩＬ－１５を含む組成物と接触させる。ある実施形態では、本明細書に記載されるＣＡＲ発現細胞を、エクスビボにおける増殖中に、ＩＬ－１５ポリペプチドを含む組成物と接触させる。ある実施形態では、本明細書に記載されるＣＡＲ発現細胞を、エクスビボにおける増殖中に、ＩＬ－１５ポリペプチド及びＩＬ－１５Ｒａポリペプチドの両方を含む組成物と接触させる。一実施形態では、接触させることにより、リンパ球亜集団、例えば、ＣＤ８＋Ｔ細胞の生存及び増殖がもたらされる。

【１０４０】

様々な刺激時間に曝されたＴ細胞は、異なる特徴を示す場合がある。例えば、典型的な血液又はアフェレーシスで得られた末梢血単核球産物は、細胞毒性又はサプレッサーＴ細胞集団（ＴＣ、ＣＤ８＋）より大きいヘルパーＴ細胞集団（ＴＨ、ＣＤ４＋）を有する。エクスビボでのＣＤ３及びＣＤ２８受容体を刺激することによるＴ細胞増殖は、約８～９日目の前には主にＴＨ細胞からなるＴ細胞の集団をもたらすが、約８～９日目の後、Ｔ細胞の集団は、よりいっそう多くのＴＣ細胞の集団を含む。したがって、治療の目的に応じて、主にＴＨ細胞を含むＴ細胞集団を対象に注入することが有利な場合がある。同様に、ＴＣ細胞の抗原特異的なサブセットが単離された場合、このサブセットをより大きい程度まで増殖させることが有益な場合がある。

【１０４１】

さらに、ＣＤ４及びＣＤ８マーカーに加えて、細胞増殖プロセスの経過中、他の表現型マーカーが、著しくはあるが、大部分は再現性よく変動する。したがって、このような再現性により、活性化されたＴ細胞産物に特定の目的に合わせる能力が与えられる。

【１０４２】

本明細書に記載されるＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドが構築されると、様々なアッセイを使用して、限定されないが、抗原刺激後にＴ細胞を増殖させて再刺激の非存在下でＴ細胞の増殖を維持する能力及び適切なインビトロ及び動物モデルにおける抗癌活性などの分子の活性を評価できる。本開示のＣＡＲの効果を評価するためのアッセイは、以下にさらに詳細に記載した。

【１０４３】

初代Ｔ細胞における、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド発現のウエスタンブロット分析を使用して、単量体及び二量体の存在を検出できる。例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）を参照されたい。非常に簡潔に述べると、ＣＡＲを発現するＴ細胞（ＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞とＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の１：１混合物）を、１０日間を超えてインビトロで増殖させた後、溶解し、還元条件下でのＳＤＳ－ＰＡＧＥにかける。完全長ＴＣＲ－ζ細胞質内ドメイン及び内因性ＴＣＲ－ζ鎖を含有するＣＡＲを、ＴＣＲ－ζ鎖に対する抗体を使用してウエスタンブロッティングにより検出する。同じＴ細胞サブセットを非還元条件下でＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析に使用して、共有結合性の二量体形成の評価を可能にする。

【１０４４】

抗原刺激後の、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド$^{+}$、例えば、ＣＡＲ$^{+}$Ｔ細胞のインビトロでの増殖は、フローサイトメトリーによって測定され得る。例えば、ＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の混合物を、αＣＤ３／αＣＤ２８　ａＡＰＣで刺激した後、分析されることになるプロモーターの制御下でＧＦＰを発現するレンチウイルスベクターによる形質導入を行う。例示的なプロモーターとしては、ＣＭＶ　ＩＥ遺伝子、ＥＦ－１α、ユビキチンＣ又はホスホグリセロキナーゼ（ＰＧＫ）プロモーターが挙げられる。培養の６日目に、ＣＤ４$^{+}$及び／又はＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞サブセットにおいてＧＦＰ蛍光をフローサイトメトリーによって評価する。例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）を参照されたい。代わりに、０日目に、ＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の混合物を、αＣＤ３／αＣＤ２８でコーティングされた磁気ビーズで刺激し、１日目に、２Ａリボゾームスキッピング配列を使用してｅＧＦＰとともにＣＡＲを発現するバイシストロニックなレンチウイルスベクターを使用して、ＣＡＲで形質導入する。培養物を、洗浄の後に本明細書に記載されるとおりの癌関連抗原$^{+}$Ｋ５６２細胞（本明細書に記載されるとおりの癌関連抗原を発現するＫ５６２）、野生型Ｋ５６２細胞（Ｋ５６２野生型）又は抗ＣＤ３及び抗ＣＤ２８抗体の存在下でｈＣＤ３２及び４－１ＢＢＬを発現するＫ５６２細胞（Ｋ５６２－ＢＢＬ－３／２８）のいずれかで再刺激する。１日おきに外因性ＩＬ－２を１００ＩＵ／ｍｌで培養物に添加する。ＧＦＰ$^{+}$Ｔ細胞は、ビーズに基づく計数を使用するフローサイトメトリーによって数え上げられる。例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）を参照されたい。

【１０４５】

再刺激がない場合のＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの持続された融合ポリペプチド$^{+}$、例えば、ＣＡＲ$^{+}$Ｔ細胞増殖も測定され得る。例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）を参照されたい。簡潔に述べると、０日目のαＣＤ３／αＣＤ２８でコーティングされた磁気ビーズによる刺激及び１日目の指定されたＣＡＲによる形質導入の後、Ｃｏｕｌｔｅｒ　Ｍｕｌｔｉｓｉｚｅｒ　ＩＩＩ粒子カウンター、Ｎｅｘｃｅｌｏｍ　Ｃｅｌｌｏｍｅｔｅｒ　Ｖｉｓｉｏｎ又はＭｉｌｌｉｐｏｒｅ　Ｓｃｅｐｔｅｒを使用して、培養の８日目に平均Ｔ細胞体積（ｆｌ）が測定される。

【１０４６】

動物モデルを使用して、ＣＡＲＴ活性を測定することもできる。例えば、本明細書に記載されるヒト癌関連抗原に特異的なＣＡＲ$^{+}$Ｔ細胞を使用して免疫不全マウスの原発性ヒトプレＢ　ＡＬＬを治療する異種移植モデルが使用され得る。例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）を参照されたい。非常に簡潔に述べると、ＡＬＬの確立後、マウスが治療群に無作為化される。癌関連抗原に特異的な様々な数のＣＡＲで操作されたＴ細胞が、Ｂ－ＡＬＬを有するＮＯＤ－ＳＣＩＤ－γ^{-}／$^{-}$マウスに１：１比でコンジュゲートされる。マウス由来の脾臓ＤＮＡにおける癌関連抗原特異的ＣＡＲベクターのコピー数が、Ｔ細胞注射後様々

な時点で評価される。動物は１週間間隔で白血病について評価される。末梢血の本明細書に記載されるとおりの癌関連抗原＋Ｂ－ＡＬＬ芽細胞数が、本明細書に記載される癌関連抗原－ζ　ＣＡＲ＋Ｔ細胞又はモック形質導入Ｔ細胞で注射されるマウスにおいて測定される。群の生存曲線は、ログランク検定を使用して比較される。加えて、ＮＯＤ－ＳＣＩＤ－γ－／－マウスにおけるＴ細胞注射の４週間後の絶対末梢血ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞数も分析され得る。マウスは白血病細胞を注射され、３週間後、ｅＧＦＰに連結されたＣＡＲをコードするバイシストロニックなレンチウイルスベクターによりＣＡＲを発現するように操作されたＴ細胞を注射される。Ｔ細胞は、注射前にモック形質導入細胞と混合することにより４５～５０％インプットＧＦＰ＋Ｔ細胞に正規化され、フローサイトメトリーによって確認される。動物は１週間間隔で白血病について評価される。ＣＡＲ＋Ｔ細胞群に関する生存曲線は、ログランク検定を使用して比較される。

【１０４７】

ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドの用量依存的な治療応答が評価され得る。例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）を参照されたい。例えば、末梢血は、２１日目にＣＡＲ　Ｔ細胞が注射されたか、同数のモック形質導入Ｔ細胞が注射されたか、又はＴ細胞が注射されていないマウスにおいて、白血病を確立した３５～７０日後に得られる。各群由来のマウスは、末梢血の本明細書に記載されるとおりの癌関連抗原＋ＡＬＬ芽細胞数の決定のために無作為に採血され、続いて３５及び４９日目に　殺される。残りの動物は、５７及び７０日目に評価される。

【１０４８】

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）で以前に記載されている。簡潔に述べると、ＣＡＲ媒介性増殖の評価は、マイクロタイタープレートにおいて、洗浄したＴ細胞を、本明細書に記載される癌関連抗原（Ｋ１９）又はＣＤ３２及びＣＤ１３７（ＫＴ３２－ＢＢＬ）を発現するＫ５６２細胞と２：１の最終Ｔ細胞：Ｋ５６２比のために混合することにって実施される。Ｋ５６２細胞は、使用前にガンマ線で照射される。抗ＣＤ３（クローンＯＫＴ３）及び抗ＣＤ２８（クローン９．３）モノクローナル抗体は、Ｔ細胞増殖を刺激するための陽性対照として機能するＫＴ３２－ＢＢＬ細胞とともに培養物に添加されるが、それはこれらのシグナルがエクスビボでの長期ＣＤ８＋Ｔ細胞増殖を助けるためである。Ｔ細胞は、培養物中において、ＣｏｕｎｔＢｒｉｇｈｔ（商標）蛍光ビーズ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）及びフローサイトメトリーを製造業者により記載されるとおりに使用して数え上げられる。ＣＡＲ＋Ｔ細胞は、ｅＧＦＰ－２Ａに連結されたＣＡＲを発現するレンチウイルスベクターを用いて操作されたＴ細胞を使用して、ＧＦＰ発現によりを同定される。ＧＦＰを発現しないＣＡＲ＋Ｔ細胞については、ＣＡＲ＋Ｔ細胞は、本明細書に記載されるとおりの癌関連抗原のビオチン化された組換え体タンパク質及び二次アビジン－ＰＥコンジュゲートを用いて検出される。Ｔ細胞上でのＣＤ４＋及びＣＤ８＋発現も特異的モノクローナル抗体（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で同時に検出される。サイトカイン測定は、ヒトＴＨ１／ＴＨ２サイトカインサイトメトリックビーズアレイキット（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）を製造業者の指示に従って使用して、再刺激の２４時間後に収集した上清に対して実施される。蛍光は、ＦＡＣＳｃａｌｉｂｕｒフローサイトメーターを使用して評価され、データは、製造業者の指示に従って分析される。

【１０４９】

細胞毒性は、標準的な５１Ｃｒ放出アッセイによって評価され得る。例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）を参照されたい。簡潔に述べると、標的細胞（Ｋ５６２系統及び初代プロＢ－ＡＬＬ細胞）は、３７℃で２時間、高頻度で撹拌しながら５１Ｃｒ（ＮａＣｒＯ４として、Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｎｕｃｌｅａｒ、Ｂｏｓｔｏｎ、ＭＡ）をロードされ、完全ＲＰＭＩで２回洗浄され、マイクロタイタープレートに播種される。エフェクターＴ

細胞は、ウェル内で完全ＲＰＭＩ中の標的細胞と様々なエフェクター細胞：標的細胞（Ｅ：Ｔ）比で混合される。培地のみを含有する追加のウェル（自然放出、ＳＲ）又はトリトン－Ｘ１００界面活性剤の１％溶液を含有する追加のウェル（全放出、ＴＲ）も調製される。３７℃で４時間のインキュベーションの後、各ウェルから上清が収集される。次に、放出された５１Ｃｒが、ガンマ粒子カウンター（Ｐａｃｋａｒｄ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔ　Ｃｏ．、Ｗａｌｔｈａｍ、ＭＡ）を使用して測定される。各条件は少なくとも３回ずつ実施され、次の式を使用して溶解のパーセンテージが計算される：％溶解＝（ＥＲ－ＳＲ）／（ＴＲ－ＳＲ）（式中、ＥＲは、各実験条件について放出された平均５１Ｃｒを表す）。

【１０５０】

イメージング技術を使用して、担腫瘍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。そのようなアッセイは、例えば、Ｂａｒｒｅｔｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｈｕｍａｎ　Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒａｐｙ　２２：１５７５－１５８６（２０１１）において記載されている。簡潔に述べると、ＮＯＤ／ＳＣＩＤ／γｃ$^{-}$／$^{-}$（ＮＳＧ）マウスにＮａｌｍ－６細胞をＩＶ注射し、続いて７日後に、ＣＡＲコンストラクトのエレクトロポレーションの４時間後にＴ細胞を注射する。Ｔ細胞にレンチウイルスコンストラクトを安定的にトランスフェクトして、ホタルルシフェラーゼを発現させ、マウスを生物発光についてイメージングする。代わりに、Ｎａｌｍ－６異種移植モデルにおけるＣＡＲ$^{+}$Ｔ細胞の単回注射の治療効果及び特異性を、次のように測定してもよい：ホタルルシフェラーゼを安定的に発現するように形質導入されたＮａｌｍ－６をＮＳＧマウスに注射し、続いて７日後に、本開示のＣＡＲによりエレクトロポレーションされたＴ細胞の単回尾静脈注射を行う。注射後の様々な時点で動物をイメージングする。例えば、５日目（治療の２日前）及び８日目（ＣＡＲ$^{+}$ＰＢＬの２４時間後）に代表的なマウスにおけるホタルルシフェラーゼ陽性白血病の光子密度ヒートマップが作製され得る。

【１０５１】

本明細書における実施例の節で記載されるもの及び当技術分野において知られるものを含む他のアッセイも、本明細書に記載されるＣＡＲを評価するために使用され得る。

【１０５２】

ＣＡＲ発現細胞を作製する方法

別の態様では、本発明は、細胞（例えば、免疫エフェクター細胞又はその集団）を作製する方法であって、ＣＡＲ、例えば、本明細書に記載されるＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードする核酸を含むベクター又はＣＡＲ分子、例えば、本明細書に記載されるＣＡＲをコードする核酸を含むベクターを、細胞、例えば、本明細書に記載されるＴ細胞又はＮＫ細胞に導入すること（例えば、形質導入すること）を含む方法に関する。

【１０５３】

本方法における細胞は、免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞若しくはＮＫ細胞又はその組合せ）である。いくつかの実施形態では、本方法における細胞は、ジアシルグリセロールキナーゼ（ＤＧＫ）及び／又はイカロス欠損である。

【１０５４】

いくつかの実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸分子を導入することは、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードする核酸分子を含むベクターを形質導入すること、又はＣＡＲをコードする核酸分子であって、インビトロで転写されたＲＮＡである核酸分子をトランスフェクトすることを含む。

【１０５５】

いくつかの実施形態において、方法はさらに、

免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞）の集団を提供すること；及び

その集団から制御性Ｔ細胞を除去することにより、制御性Ｔ細胞枯渇集団を提供することを含み、工程ａ）及びｂ）は、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードする核酸を集団に導入する前に実施される。

【１０５６】

本方法の実施形態において、制御性Ｔ細胞は、ＣＤ２５＋Ｔ細胞を含み、抗ＣＤ２５抗体又はその断片を使用して細胞集団から除去される。抗ＣＤ２５抗体又はその断片は、基体、例えば、ビーズにコンジュゲートされ得る。

【１０５７】

他の実施形態では、工程（ｂ）から得られる制御性Ｔ細胞枯渇集団は、３０％、２５％、２０％、１５％、１０％、５％、４％、３％、２％、１％未満のＣＤ２５＋細胞を含有する。

【１０５８】

さらに他の実施形態では、方法はさらに、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードする核酸を集団に導入する前に、ＣＤ２５を含まない腫瘍抗原を発現する細胞を集団から除去して、制御性Ｔ細胞が枯渇し且つ腫瘍抗原が枯渇した細胞の集団を提供することを含む。腫瘍抗原は、ＣＤ１９、ＣＤ３０、ＣＤ３８、ＣＤ１２３、ＣＤ２０、ＣＤ１４若しくはＣＤ１１ｂ又はその組合せから選択され得る。

【１０５９】

他の実施形態では、方法はさらに、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードする核酸を集団に導入する前に、チェックポイント阻害剤を発現する細胞を集団から除去して、制御性Ｔ細胞が枯渇し且つ阻害分子が枯渇した細胞の集団を提供することを含む。チェックポイント阻害剤は、ＰＤ－１、ＬＡＧ－３、ＴＩＭ３、Ｂ７－Ｈ１、ＣＤ１６０、Ｐ１Ｈ、２Ｂ４、ＣＥＡＣＡＭ（例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及び／又はＣＥＡＣＡＭ－５）、ＴＩＧＩＴ、ＣＴＬＡ－４、ＢＴＬＡ並びにＬＡＩＲ１から選択され得る。

【１０６０】

本明細書で開示されるさらなる実施形態は、免疫エフェクター細胞の集団を提供することを包含する。提供される免疫エフェクター細胞の集団は、ＣＤ３、ＣＤ２８、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ４５ＲＡ及び／又はＣＤ４５ＲＯの１つ以上の発現に基づいて選択され得る。特定の実施形態では、提供される免疫エフェクター細胞の集団は、ＣＤ３＋及び／又はＣＤ２８＋である。

【１０６１】

本方法の特定の実施形態では、方法はさらに、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードする核酸分子が導入された後に、細胞の集団を増殖させることを含む。

【１０６２】

実施形態において、細胞の集団は、８日以下の間増殖される。

【１０６３】

特定の実施形態では、細胞の集団は、培養物中で５日間増殖され、得られる細胞は、培養物中の同じ培養条件下において９日間増殖された同じ細胞より強力である。

【１０６４】

他の実施形態では、培養物中で５日間増殖される細胞の集団は、培養物中において同じ培養条件下で９日間増殖された同じ細胞と比較して、抗原刺激時の細胞倍加において少なくとも１、２、３又は４倍の増加を示す。

【１０６５】

さらに他の実施形態では、細胞の集団は、培養物中で５日間増殖され、得られる細胞は、培養物中において同じ培養条件下で９日間増殖された同じ細胞と比較して、高い炎症促進性ＩＦＮγ及び／又はＧＭ－ＣＳＦレベルを呈する。

【１０６６】

他の実施形態では、細胞の集団は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体関連シグナルを刺激する薬剤及び／又は細胞の表面の共刺激分子を刺激するリガンドの存在下で細胞を培養することにより増殖される。薬剤は、抗ＣＤ３抗体若しくはその断片及び／又は抗ＣＤ２８抗体若しくはその断片とコンジュゲートされたビーズであり得る。

【１０６７】
他の実施形態では、細胞の集団は、１４日間の増殖期間にわたって、例えば、フローサイトメトリーより測定されるとおり、細胞の少なくとも２００倍、２５０倍、３００倍又は３５０倍の増加をもたらす１種以上のインターロイキンを含む適切な培地中で増殖される。
【１０６８】
他の実施形態では、細胞の集団は、ＩＬ－１５及び／又はＩＬ－７の存在下で増殖される。
【１０６９】
特定の実施形態では、方法はさらに、適切な増殖期間後に細胞の集団を凍結保存することを含む。
【１０７０】
さらに他の実施形態では、本明細書で開示される作製方法はさらに、免疫エフェクター細胞の集団と、テロメラーゼサブユニット、例えばｈＴＥＲＴをコードする核酸を接触させることを含む。テロメラーゼサブユニットをコードする核酸は、ＤＮＡであり得る。
【１０７１】
本開示は、ＲＮＡが操作された細胞、例えば、本明細書に記載される細胞、例えば免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）であって、外因性ＲＮＡを一過的に発現する細胞の集団を作製する方法も提供する。方法は、インビトロで転写されたＲＮＡ又は合成ＲＮＡを細胞に導入することを含み、ＲＮＡは、本明細書に記載される、ＣＡＲ分子を含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードする核酸を含む。
【１０７２】
別の態様では、本発明は、対象において抗腫瘍免疫をもたらす方法あって、ＣＡＲ分子を含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを含む細胞、例えば、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を発現する細胞の有効量を対象に投与することを含む方法に関する。一実施形態では、細胞は、自己Ｔ細胞又はＮＫ細胞である。一実施形態では、細胞は、同種異系Ｔ又はＮＫ細胞である。一実施形態では、対象は、ヒトである。
【１０７３】
一態様では、本発明は、例えば、本明細書に記載されるとおりのＣＡＲ分子を含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードする核酸分子を含むベクターでトランスフェクト又は形質導入されている自己細胞の集団を含む。一実施形態では、ベクターは、レトロウイルスベクターである。一実施形態では、ベクターは、本明細書の他の箇所に記載されるとおりの自己不活性化レンチウイルスベクターである。一実施形態では、ベクターは、細胞、例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞に（例えば、トランスフェクション又はエレクトロポレーションにより）送達され、ベクターは、ｍＲＮＡ分子として転写される、本明細書に記載される本開示のＣＡＲをコードする核酸分子を含み、本開示のＣＡＲは、ＲＮＡ分子から翻訳され、細胞の表面に発現される。
【１０７４】
別の態様では、本開示は、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現する細胞、例えばＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞）の集団を提供する。いくつかの実施形態では、ＣＡＲ発現細胞の集団は、異なるＣＡＲを発現する細胞の混合物を含む。例えば、一実施形態では、ＣＡＲ発現免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞）の集団は、本明細書に記載されるとおりの第１の腫瘍抗原に結合する抗原結合ドメインを有するＣＡＲを発現する第１の細胞及び本明細書に記載されるとおりの第２の腫瘍抗原に結合する異なる抗原結合ドメインを有するＣＡＲを発現する第２の細胞を含み得る。別の例として、ＣＡＲ発現細胞の集団は、本明細書に記載されるとおりの腫瘍抗原に結合する抗原結合ドメインを含むＣＡＲを発現する第１の細胞及び本明細書に記載されるとおりの腫瘍抗原以外の標的に対

する抗原結合ドメインを含むＣＡＲを発現する第２の細胞を含み得る。一実施形態では、ＣＡＲ発現細胞の集団は、例えば、一次細胞内シグナル伝達ドメインを含むＣＡＲを発現する第１の細胞及び二次シグナル伝達ドメイン、例えば、共刺激シグナル伝達ドメインを含むＣＡＲを発現する第２の細胞を含む。

【１０７５】

別の態様では、本開示は、集団中の少なくとも１つの細胞が、本明細書に記載されるとおりの腫瘍抗原に結合する抗原結合ドメインを有するＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドを発現し、第２の細胞が、別の薬剤、例えば、ＣＡＲ発現細胞の活性を増強する薬剤を発現する細胞の集団を提供する。例えば、一実施形態では、薬剤は、阻害分子を阻害する薬剤であり得る。阻害分子の例としては、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ベータが挙げられる。一実施形態では、阻害分子を阻害する薬剤は、例えば、本明細書に記載される分子、例えば、正のシグナルを細胞にもたらす第２のポリペプチド、例えば、本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメインを伴う第１のポリペプチド、例えば、阻害分子を含む薬剤である。一実施形態では、薬剤は、例えば、ＰＤ－１、ＬＡＧ－３、ＣＴＬＡ－４、ＣＤ１６０、ＢＴＬＡ、ＬＡＩＲ１、ＴＩＭ－３、ＣＥＡＣＡＭ（例えば、ＣＥＡＣＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ－３及び／若しくはＣＥＡＣＡＭ－５）、２Ｂ４及びＴＩＧＩＴなどの阻害分子又はこれらいずれかの断片の第１のポリペプチド並びに本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、共刺激ドメイン（例えば、本明細書に記載されるとおりの、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、本明細書に記載される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。一実施形態では、薬剤は、ＰＤ－１又はその断片の第１のポリペプチド及び本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載されるＣＤ２８、ＣＤ２７、ＯＸ４０若しくは４－ＩＢＢシグナル伝達ドメイン及び／又は本明細書に記載される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。

【１０７６】

一実施形態では、例えば、本明細書に記載されるとおりの本開示分子のＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドをコードする核酸分子は、ｍＲＮＡ分子として発現される。一実施形態では、本発明の遺伝子改変されたＣＡＲを発現する細胞、例えば免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）は、所望のＣＡＲをコードするＲＮＡ分子（例えば、ベクター配列を伴わない）の細胞へのトランスフェクション又はエレクトロポレーションによって作製され得る。一実施形態では、本開示のＣＡＲは、組み込まれるとＲＮＡ分子から翻訳され、組換え細胞の表面に発現される。

【１０７７】

トランスフェクションにおける使用のためのｍＲＮＡを作製するための方法は、３’及び５’非翻訳配列（「ＵＴＲ」）（例えば、本明細書に記載される３’及び／又は５’ＵＴＲ）、５’キャップ（例えば、本明細書に記載される５’キャップ）並びに／又は配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）（例えば、本明細書に記載されるＩＲＥＳ）、発現されることになる核酸並びにポリＡテールを含有する、通常、長さが５０～５０００塩基のコンストラクト（配列番号１７４）を作製するために、特別に設計されたプライマーを用いる鋳型のインビトロ転写（ＩＶＴ）、それに続くポリＡ付加を含む。そのように作製されたＲＮＡは、異なる種類の細胞に効率的にトランスフェクトすることができる。一実施形態では、鋳型は、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドのための配列を含む。ある実施形態では、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりのＲＮＡ融合ポリペプチドのベクターが、エレクトロポレーションにより細胞、例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞に形質導入される。

【１０７８】
一実施形態では、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチドは、例えば、インビトロ転写を使用して、免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）に導入され、対象（例えば、ヒト）は、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド、本発明の免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）の初回投与を受け、ＣＡＲを含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド、本発明の免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）の１回以上の後続する投与を受け、１回以上の後続する投与は、前の投与後１５日未満、例えば、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３又は２日未満に投与される。一実施形態では、本発明のＣＡＲ免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）の１週間当たり２回以上の投与が対象（例えば、ヒト）に対して施され、例えば本発明のＣＡＲ免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）の１週間当たり２、３又は４回の投与が施される。一実施形態では、対象（例えば、ヒト対象）は、ＣＡＲ免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）の１週間当たり２回以上の投与（例えば、週に２、３又は４回の投与）（本明細書ではサイクルとも称される）を受けた後、１週間はＣＡＲ免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）の投与を受けず、続いて、ＣＡＲ免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）の１回以上のさらなる投与（例えば、ＣＡＲ免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）の１週間当たり２回以上の投与）が対象に対して施される。別の実施形態では、対象（例えば、ヒト対象）は、２サイクル以上のＣＡＲ免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）を受け、各サイクルの間の期間は、１０、９、８、７、６、５、４又は３日間未満である。一実施形態では、ＣＡＲ免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）は、１日おきに１週間当たり３回投与される。一実施形態では、本発明のＣＡＲ免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）は、少なくとも２、３、４、５、６、７、８週間以上投与される。
【１０７９】
一態様では、ＣＡＲ発現細胞は、レンチウイルスなどのレンチウイルスウイルスベクターを使用して作製される。このようにして作製された細胞、例えばＣＡＲＴは、安定なＣＡＲ発現を有することになる。
【１０８０】
一態様では、ＣＡＲ発現細胞、例えばＣＡＲＴは、ガンマレトロウイルスベクター、例えば、本明細書に記載されるガンマレトロウイルスベクターなどのウイルスベクターを使用して作製される。これらのベクターを使用して作製されたＣＡＲＴは、安定なＣＡＲ発現を有することができる。
【１０８１】
一態様では、ＣＡＲＴは、ＣＡＲベクターを、形質導入後４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５日間一過的に発現する。ＣＡＲの一過的発現は、ＲＮＡ　ＣＡＲベクターの送達によりもたらされ得る。一態様では、ＣＡＲ　ＲＮＡは、エレクトロポレーションによりＴ細胞に形質導入される。
【１０８２】
ＣＡＲを一過的に発現する免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）を使用して（特に、マウスｓｃＦｖを有するＣＡＲＴを用いて）治療されている患者において生じる可能性がある潜在的な問題は、複数回の治療後のアナフィラキシーである。
【１０８３】
この理論に束縛されるものではないが、そのようなアナフィラキシー応答は、患者が体液性抗ＣＡＲ応答、すなわち、抗ＩｇＥアイソタイプを有する抗ＣＡＲ抗体を発生させることにより引き起こされる可能性があると考えられる。抗原への曝露が１０日から１４日中断されるとき、患者の抗体産生細胞が、ＩｇＧアイソタイプ（アナフィラキシーを引き起こさない）からＩｇＥアイソタイプへのクラススイッチを起こすと考えられる。患者が、一過的なＣＡＲ療法の過程で抗ＣＡＲ抗体応答（例えば、ＲＮＡ形質導入により起こる

もの）を起こすリスクが高い場合、ＣＡＲＴの注入中断が１０～１４日より長く続かないようにすべきである。

【１０８４】

医薬組成物

本開示の医薬組成物は、本明細書に記載されるとおりの任意の融合ポリペプチド、そのような融合ポリペプチドをコードする核酸又は融合ポリペプチドを含む細胞及び１つ以上の薬学的に若しくは生理学的に許容される担体、希釈剤若しくは賦形剤を含み得る。このような組成物は、中性緩衝生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水などの緩衝液；グルコース、マンノース、スクロース又はデキストラン、マンニトールなどの炭水化物；タンパク質；ポリペプチド又はグリシンなどのアミノ酸；抗酸化剤；ＥＤＴＡ又はグルタチオンなどのキレート剤；アジュバント（例えば、水酸化アルミニウム）；及び保存剤を含み得る。本開示の組成物は、一態様において、静脈内投与用に製剤化される。

【１０８５】

本開示の医薬組成物は、治療（又は予防）されることになる疾患に適した様式で投与され得る。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のような因子によって決定されることになるが、適切な投薬量は臨床試験によって決定され得る。

【１０８６】

一態様では、本発明は、本明細書に記載されるとおりの方法における使用のために製剤化された医薬組成物であって、自殺遺伝子をコードする核酸並びに抗Ｂ細胞結合ドメイン、膜貫通ドメイン、共刺激ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインを含むキメラ抗原受容体をコードする核酸を含む改変Ｔ細胞を含む組成物を含む。

【１０８７】

別の態様では、本発明は、本明細書に記載されるとおりの方法における使用のために製剤化された医薬組成物であって、二量体化ドメイン並びに抗Ｂ細胞結合ドメイン、膜貫通ドメイン、共刺激ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインを含むキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする核酸を含む改変Ｔ細胞を含む組成物を含む。

【１０８８】

一実施形態では、医薬組成物は、例えば、内毒素、マイコプラズマ、複製能を有するレンチウイルス（ＲＣＬ）、ｐ２４、ＶＳＶ－Ｇ核酸、ＨＩＶ ｇａｇ、残留した抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８でコーティングされたビーズ、マウス抗体、プールされたヒト血清、ウシ血清アルブミン、ウシ血清、培養培地成分、ベクターの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夾雑物を実質的に含まず、例えば、検出可能なレベルの夾雑物がない。一実施形態では、細菌は、アルカリゲネス・フェカーリス（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・メニンギティディス（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｍｅｎｉｎｇｉｔｉｄｅｓ）、シュードモナス・アエルギノーサ（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・ニューモニエ（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。

【１０８９】

「免疫学的有効量」、「抗腫瘍有効量」、「腫瘍阻害有効量」又は「治療量」が示される場合、投与されることになる本開示の組成物の正確な量は、患者（対象）の年齢、体重、腫瘍のサイズ、感染又は転移の程度及び状態の個体差を医師が検討することによって決定され得る。本明細書に記載される免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）を含む医薬組成物が、範囲内の全ての整数値を含む、10^4～10^9細胞／ｋｇ体重の投与量、いくつかの場合において、10^5～10^6細胞／ｋｇ体重の投与量で投与され得ることを一般に述べることができる。Ｔ細胞組成物はまた、これらの投与量で複数回投与さ

れ得る。細胞は、免疫療法で一般的によく知られる注入技術を使用することによって投与され得る（例えば、Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｎｅｗ Ｅｎｇ．Ｊ．ｏｆ Ｍｅｄ．３１９：１６７６，１９８８を参照されたい）。

【１０９０】

特定の態様では、対象に活性化された免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）を投与し、続いてその後再度採血し（又はアフェレーシスが実施される）、それからの免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）を本発明に従って活性化し、これらの活性化及び増殖され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こともある。このプロセスは、数週間毎に複数回実行され得る。特定の態様では、１０ｃｃ～４００ｃｃの採取された血液から、免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）が活性化され得る。特定の態様では、２０ｃｃ、３０ｃｃ、４０ｃｃ、５０ｃｃ、６０ｃｃ、７０ｃｃ、８０ｃｃ、９０ｃｃ又は１００ｃｃの採取された血液から、免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）が活性化される。

【１０９１】

対象組成物の投与は、エアロゾル吸入、注射、摂取、輸注、埋め込み又は移植によるものを含む、任意の従来の様式で実行され得る。本明細書に記載される組成物は、経動脈、皮下、皮内、腫瘍内、リンパ節内、髄内、筋肉内、静脈内（ｉ．ｖ．）注射により又は腹腔内で患者に投与され得る。一態様では、本開示の細胞組成物は、患者に皮内又は皮下注射により投与される。一態様では、本開示の細胞組成物は、ｉ．ｖ．注射により投与される。免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）の組成物を、腫瘍、リンパ節又は感染部位に直接注射し得る。

【１０９２】

特定の例示的な態様では、対象は、白血球がエクスビボで収集、濃縮又は枯渇されて、目的の細胞、例えば、Ｔ細胞を選択及び／又は単離する白血球除去を受け得る。これらのＴ細胞単離物は、当技術分野において知られる方法によって増殖され、且つ本発明の１つ以上のＣＡＲコンストラクトが導入され、それによって本発明のＣＡＲ　Ｔ細胞を生成し得るように処理され得る。それを必要とする対象は、その後、高用量の化学療法による標準的な治療に続いて末梢血幹細胞移植を受け得る。特定の態様では、移植後又は移植と同時に、対象は、本発明の増殖したＣＡＲ　Ｔ細胞の注入を受ける。さらなる態様では、増殖した細胞は、手術の前又は後に投与される。

【１０９３】

患者に投与されることになる上記の治療の投与量は、治療されている状態の正確な性質及び治療のレシピエントに応じて変動することになる。ヒトへの投与のための投与量のスケーリングは、当技術分野で認められる慣例に従って実施され得る。

【１０９４】

融合ポリペプチドの発現を選択的に制御する方法

本明細書では、融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド、例えば、ＣＡＲポリペプチドを含む融合ポリペプチド）を選択的に制御する（例えば、分解する）方法も提供される。そのような方法は、本明細書に記載される融合ポリペプチド又はそのような融合ポリペプチドをコードする核酸のいずれかを含む細胞をＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３と接触させることを含み得る。いくつかの実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の存在下において、例えば、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の非存在下での修飾及び／又は分解と比較して、融合ポリペプチドの翻訳後修飾及び／又は分解を増加させる。一実施形態では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の存在下において、例えば、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の非存在下でのユビキチン化と比較して、融合ポリペプチドの選択的なビキチン化を増加させる。いくつかの実施形態では、細胞は、インビボでＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３と接触される。いくつかの実施形態では、細胞は、エクスビボでＣＯ

Ｆ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３と接触される。
【１０９５】
本明細書で使用する場合、融合ポリペプチド又は標的ポリペプチドなどを「選択的に分解すること」は、参照ポリペプチド、例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを伴わないポリペプチドと比較して、融合ポリペプチド又は標的ポリペプチドの分解の増加（例えば、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、１００％、２００％、５００％、１０倍、１００倍、１，０００倍以上の例えば、分解のレベル及び／又は速度の増大）を指す。
【１０９６】
本明細書では、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ又はＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、異種ポリペプチド及び分解ドメインを含む融合ポリペプチドを選択的に制御する（例えば、分解する）方法も提供される。このような方法は、以下の工程：
ｉ）融合ポリペプチド又は融合ポリペプチドを含む細胞を安定化化合物と接触させる工程であって、任意選択により、安定化化合物の存在下において、融合ポリペプチドの発現レベルが、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、安定化化合物の非存在下での融合ポリペプチドの発現レベルと比較して、少なくとも、例えば、１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増加される工程、及び
ｉｉ）融合ポリペプチド又は融合ポリペプチドを含む細胞をＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３と接触させる工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の存在下において、融合ポリペプチドの発現レベルが、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント実質的に減少される、工程
の１つ以上を含む。
【１０９７】
別の態様では、本開示は、療法として本発明の融合ポリペプチドを投与することを含む方法を提供する。通常、そのような投与は、本発明の融合ポリペプチドを発現する細胞（例えば、自己宿主細胞又は同種異系宿主細胞）を対象に投与する形で行われる。したがって、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の投与を通して（インビボ又はエクスビボのいずれか）、治療薬（例えば、異種タンパク質）の発現が制御され得る。したがって、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３の投与を通して（インビボ又はエクスビボのいずれか）、治療薬（例えば、異種タンパク質）の発現が制御され得る。したがって、既知の合成的な治療用タンパク質又は膜貫通受容体（例えば、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含むドメインを含む、例えば、本明細書に記載されるとおりの、例えば、融合ポリペプチド）の発現が制御され得る。一実施形態では、対象は本明細書に記載される障害を有し、例えば、対象は癌を有し、例えば、対象は本明細書に記載される標的抗原を発現する癌を有する。一実施形態では、対象は、ヒトである。
【１０９８】
本明細書では、有効量の細胞、例えば、本明細書に記載される融合ポリペプチド又はそのような融合ポリペプチドをコードする核酸のいずれかを含む宿主細胞を対象に投与することにより、腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法が提供される。いくつかの実施形態では、異種ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端方向において、腫瘍抗原、膜貫通ドメイン及び１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインに特異的に結合する抗原結合ドメインを含むキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を含む。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、対象に対して自己由来である。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、前記対象に対して同種異系である。いくつかの実施形態では、細胞は、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ

３と接触される。
【１０９９】
さらに別の態様では、本発明は、腫瘍抗原（例えば、本明細書に記載される抗原）の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、有効量の細胞、例えばＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを含む免疫エフェクター細胞（例えば、免疫エフェクター細胞の集団）を対象に投与することを含み、ＣＡＲ分子が、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、前記細胞内ドメインが、共刺激ドメイン及び／又は一次シグナル伝達ドメインを含み、前記抗原結合ドメインが、疾患と関連する腫瘍抗原、例えば、本明細書に記載される腫瘍抗原に結合する方法を特徴とする。
【１１００】
関連する態様において、本発明は、腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法を特徴とする。方法は、有効量の細胞、例えばＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを、免疫細胞の有効性を増大させる薬剤と組み合わせて含む免疫エフェクター細胞（例えば、免疫エフェクター細胞の集団）を対象に投与することであって、免疫細胞の有効性を増大させる薬剤は、
（ｉ）タンパク質ホスファターゼ阻害剤；
（ｉｉ）キナーゼ阻害剤；
（ｉｉｉ）サイトカイン；
（ｉｖ）免疫阻害分子の阻害剤；又は
（ｖ）T_{REG}細胞のレベル又は活性を低減する薬剤
の１つ以上から選択されることを含む。
【１１０１】
別の態様では、本発明は、腫瘍抗原の発現を伴う疾患、例えば、本明細書に記載される障害を有する対象の治療における使用のための、ＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるとおりのＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチド）を含む免疫エフェクター細胞（例えば、免疫エフェクター細胞の集団）を含む組成物を特徴とする。
【１１０２】
前述の方法又は使用のいずれかの特定の実施形態では、腫瘍抗原、例えば、本明細書に記載される腫瘍抗原を伴う疾患は、癌又は悪性腫瘍又は骨髄形成異常、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される腫瘍抗原の発現を伴う非癌関連徴候である。一実施形態では、疾患は、本明細書に記載される癌、例えば、本明細書に記載される標的と関連しているような本明細書に記載される癌である。一実施形態では、疾患は、血液癌である。
【１１０３】
一実施形態では、血液癌は、白血病である。一実施形態では、癌は、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）を含むがこれらに限定されない１種以上の急性白血病；慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）を含むがこれらに限定されない１種以上の慢性白血病；Ｂ細胞前リンパ性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、ヘアリーセル白血病、小細胞型又は大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性病態、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、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症及び骨髄血液細胞の産生不全（又は形成異常）によりまとめられる血液学的病態の多様な集合である「前白血病」を含むがこれらに限定されない追加の血液癌又は血液学的状態並びに非定型及び／又は非古典的癌、悪性腫瘍、前癌状態又は本明細書に記載されるとおりの腫瘍抗原を発現する増殖性疾患を含むがこれらに限定されない、本明細書に記載される腫瘍抗原の発現を伴う疾患；並びにそれらの任意の組合せからなる群から選択される。別の実施形態では、本明細書に記載される腫瘍抗原を伴う疾患は、固形腫瘍である。

【１１０４】
特定の実施形態では、これらの方法又は使用は、免疫エフェクター細胞の有効性を増大させる薬剤、例えば、本明細書に記載される薬剤と組み合わせて実行される。前述の方法又は使用のいずれかにおいて、腫瘍抗原の発現を伴う疾患は、増殖性疾患、前癌状態、癌及び腫瘍抗原の発現を伴う非癌関連徴候からなる群から選択される。
【１１０５】
癌は、血液癌、例えば、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、急性白血病、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）、Ｂ細胞急性リンパ性白血病（Ｂ－ＡＬＬ）、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（Ｔ－ＡＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、Ｂ細胞前リンパ性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、ヘアリーセル白血病、小細胞型又は大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性病態、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、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症又は前白血病の１つ以上から選択される癌であり得る。
【１１０６】
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、頭部又は頸部の癌、皮膚又は眼球内悪性黒色腫、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、腎臓又は尿管の癌、腎盂癌、中枢神経系（ＣＮＳ）の新生物、原発性ＣＮＳリンパ腫、腫瘍血管新生、脊椎腫瘍、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、環境誘発性癌、前記癌の組合せ及び前記癌の転移性病変からも選択され得る。
【１１０７】
本明細書に記載される方法又は使用の特定の実施形態では、細胞は、細胞の有効性を増大させる薬剤、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種以上；又はＴ$_{REG}$細胞のレベル若しくは活性を低減する薬剤と組み合わせて投与される。
【１１０８】
本明細書に記載される方法又は使用の特定の実施形態では、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。
【１１０９】
本明細書に記載される方法又は使用の他の実施形態では、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阻害剤又は二重Ｐ１３Ｋ／ｍＴＯＲ阻害剤の１種以上から選択される。一実施形態では、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。
【１１１０】
本明細書に記載される方法又は使用の他の実施形態では、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若しくは抗体断片、阻害核酸、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（ＣＲＩＳＰＲ）、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥＮ）又はジンクフィンガーエンドヌクレアーゼ（ＺＦＮ）を含む。
【１１１１】
本明細書に記載される方法又は使用の他の実施形態では、ＴＲＥＧ細胞のレベル又は活性を低減する薬剤は、シクロホスファミド、抗ＧＩＴＲ抗体、ＣＤ２５枯渇又はその組合せから選択される。
【１１１２】
本明細書に記載される方法又は使用の特定の実施形態では、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。

【１１１３】

他の実施形態では、阻害分子を阻害する薬剤は、阻害分子又はその断片を含む第１のポリペプチド及び細胞に正のシグナルをもたらす第２のポリペプチドを含み、第１及び第２のポリペプチドは、ＣＡＲ含有免疫細胞上で発現され、（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又はそれらの断片を含み；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。一実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ゼータの機能性ドメインを含み；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性ドメインを含む。

【１１１４】

他の実施形態では、サイトカインは、ＩＬ－７、ＩＬ－１５、ＩＬ－１８若しくはＩＬ－２１又はその組合せから選択される。

【１１１５】

他の実施形態では、融合ポリペプチド及び第２の、例えば、本明細書で開示される併用療法のいずれか（例えば、免疫エフェクター細胞の有効性を増大させる薬剤）を含む免疫エフェクター細胞は、実質的に同時に又は逐次的に投与される。

【１１１６】

他の実施形態では、融合ポリペプチドを含む免疫細胞は、ＧＩＴＲを標的化し、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。特定の実施形態では、ＧＩＴＲを標的化し、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前又はアフェレーシス前に投与される。

【１１１７】

一実施形態では、リンパ球注入液、例えば、同種異系間のリンパ球注入液は、癌の治療において使用され、リンパ球注入液は、少なくとも１つの本発明のＣＡＲ発現細胞を含む。一実施形態では、自己のリンパ球注入液は、癌の治療において使用され、自己のリンパ球注入液は、少なくとも１つの本明細書に記載されるＣＡＲ発現細胞を含む。

【１１１８】

一実施形態では、細胞はＴ細胞であり、Ｔ細胞はジアシルグリセロールキナーゼ（ＤＧＫ）欠損である。一実施形態では、細胞はＴ細胞であり、Ｔ細胞はイカロス欠損である。一実施形態では、細胞はＴ細胞であり、Ｔ細胞はＤＧＫ及びイカロスの両方が欠損している。

【１１１９】

一実施形態では、方法は、本明細書に記載されるとおりのＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを発現する細胞を、ＣＡＲ発現細胞の活性を増強する薬剤と組み合わせて投与することを含み、薬剤は、サイトカイン、例えば、ＩＬ－７、ＩＬ－１５、ＩＬ－１８、ＩＬ－２１又はそれらの組合せである。サイトカインは、ＣＡＲ発現細胞の投与と、例えば、同時に又はその直後に組み合わせて送達され得る。代わりに、サイトカインは、ＣＡＲ発現細胞の投与後に長期間経った後、例えば、ＣＡＲ発現細胞に対する対象の応答の評価の後に送達され得る。一実施形態では、サイトカインは、本明細書に記載される細胞又は細胞の集団の投与と同時に（例えば、同じ日に投与される）又は直後に（例えば、投与後１日目、２日目、３日目、４日目、５日目、６日目又は７日目に投与される）対象に投与される。他の実施形態では、サイトカインは、本明細書に記載される細胞若しくは細胞の集団の投与後に長期間経った後（例えば、少なくとも２週、３週、４週、６週、８週、１０週以上）又は細胞に対する対象の応答の評価の後に対象に投与される。

【１１２０】

他の実施形態では、ＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを発現する細胞は、ＣＡＲ分子を発現する細胞の投与に関連付けられる１つ以上の副作用を改善する薬剤と組み合わせて投与される。ＣＡＲ発現細胞に関連付けられる副作用は、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。

【１１２１】

前述の方法又は使用のいずれかの実施形態では、ＣＡＲ分子を発現する細胞は、腫瘍抗原の発現を伴う疾患を治療する薬剤、例えば、本明細書で開示される第２又は第３の療法のいずれかと組み合わせて投与される。

【１１２２】

追加の例示的組合せとしては、以下の１つ以上が挙げられる。

【１１２３】

別の実施形態では、例えば、本明細書に記載されるとおりのＣＡＲ分子を発現する細胞は、別の薬剤、例えば、本明細書に記載されるキナーゼ阻害剤及び／又はチェックポイント阻害剤と組み合わせて投与され得る。実施形態において、ＣＡＲ分子を発現する細胞はさらに、別の薬剤、例えば、ＣＡＲ発現細胞の活性を増強する薬剤を発現できる。

【１１２４】

例えば、一実施形態では、ＣＡＲ発現細胞の活性を増強する薬剤は、阻害分子（例えば、免疫阻害分子）を阻害する薬剤であり得る。阻害分子の例としては、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ベータが挙げられる。

【１１２５】

一実施形態では、阻害分子を阻害する薬剤は、ｄｓＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ又はｓｈＲＮＡである阻害核酸である。実施形態において、阻害核酸は、ＣＡＲ分子の構成要素をコードする核酸に連結される。例えば、阻害分子は、ＣＡＲ発現細胞上で発現され得る。

【１１２６】

別の実施形態では、阻害分子を阻害する薬剤は、本明細書に記載される分子、例えば、正のシグナルを細胞にもたらす第２のポリペプチド、例えば、本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメインを伴う第１のポリペプチド、例えば、阻害分子を含む薬剤である。一実施形態では、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ＴＧＦベータ又はこれらのいずれかの断片（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のポリペプチド並びに本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、共刺激ドメイン（例えば、本明細書に記載されるとおりの４１ＢＢ、ＣＤ２７又はＣＤ２８）及び／又は一次シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載される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。一実施形態では、薬剤は、ＰＤ１又はその断片（例えば、ＰＤ１の細胞外ドメインの少なくとも一部）の第１のポリペプチド及び本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載されるＣＤ２８シグナル伝達ドメイン及び／又は本明細書に記載される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。

【１１２７】

一実施形態では、本発明の細胞、例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞は、以前に幹細胞移植、例えば、自己の幹細胞移植を受けた対象に投与される。

【１１２８】

一実施形態では、本発明の細胞、例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞は、以前にメルファランの投与を受けた対象に投与される。

【１１２９】

一実施形態では、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合ポ

リペプチドを発現する細胞は、ＣＡＲ分子を発現する細胞の有効性を増大させる薬剤、例えば、本明細書に記載される薬剤と組み合わせて投与される。

【１１３０】

一実施形態では、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを発現する細胞は、免疫を増強する低用量のｍＴＯＲ阻害剤と組み合わせて投与される。理論に束縛されるものではないが、免疫を増強する低用量（例えば、免疫系を完全に抑制するのに不十分であるが、免疫機能を向上させるのに十分な用量）による治療は、ＰＤ－１陽性Ｔ細胞の増加又はＰＤ－１陰性細胞の減少を伴うと考えられる。ＰＤ－１陰性Ｔ細胞ではなくＰＤ－１陽性Ｔ細胞は、ＰＤ－１リガンド、例えば、ＰＤ－Ｌ１又はＰＤ－Ｌ２を発現する細胞との関与によって枯渇され得る。

【１１３１】

ある実施形態では、このアプローチを使用して、対象における本明細書に記載されるＣＡＲ細胞の性能を最適化することができる。理論に束縛されるものではないが、ある実施形態では、内因性の非改変免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞の性能が改善されると考えられる。理論に束縛されるものではないが、ある実施形態では、標的抗原ＣＡＲ発現細胞の性能が改善されると考えられる。他の実施形態では、ＣＡＲを発現するように操作されたか又は操作されることになる細胞、例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞は、ＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞の数を増加させるか又はＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞／ＰＤ１陽性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞の比率を増加させるある量のｍＴＯＲ阻害剤との接触により、エクスビボで処理され得る。

【１１３２】

ある実施形態では、免疫を増強する低用量のｍＴＯＲ阻害剤、例えば、アロステリックな阻害剤、例えば、ＲＡＤ００１又は触媒的阻害剤の投与は、本明細書に記載されるＣＡＲ発現細胞、例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞の投与前に開始される。ある実施形態では、ＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞のレベル又はＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞／ＰＤ１陽性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞の比率が少なくとも一過的に増加されるように、十分な時間の後又はｍＴＯＲ阻害剤の十分な投与の後にＣＡＲ細胞は投与される。

【１１３３】

ある実施形態では、対象における又は対象から収集された、ＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞のレベル又はＰＤ１陰性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞／ＰＤ１陽性免疫エフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞の比率が少なくとも一過的に増加されるように、十分な時間の後又は免疫を増強する低用量のｍＴＯＲ阻害剤の十分な投与の後、ＣＡＲを発現するように操作されることになる細胞、例えば、Ｔ細胞又はＮＫ細胞が収集される。

【１１３４】

一実施形態では、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを発現する細胞は、ＣＡＲ分子を発現する細胞の投与に関連付けられる１つ以上の副作用を改善する薬剤、例えば、本明細書に記載される薬剤と組み合わせて投与される。

【１１３５】

一実施形態では、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを発現する細胞は、本明細書に記載される癌関連抗原を伴う疾患を治療する薬剤、例えば、本明細書に記載される薬剤と組み合わせて投与される。

【１１３６】

一実施形態では、例えば、本明細書に記載されるとおりのＣＡＲ分子を含む２つ以上の融合ポリペプチドを発現する細胞は、癌を治療するためにそれを必要とする対象に投与される。一実施形態では、例えば、本明細書に記載されるとおりのＣＡＲ発現細胞を含む、融合ポリペプチドを含む細胞の集団は、癌を治療するためにそれを必要とする対象に投与

される。
【１１３７】
一実施形態では、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを発現する細胞は、本明細書に記載される用量及び／又は投与スケジュールで投与される。
【１１３８】
一実施形態では、ＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドは、例えば、インビトロ転写を使用して、免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）に導入され、対象（例えば、ヒト）は、ＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを含む細胞の初回の投与及びＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを含む細胞の１回以上の後続する投与を受け、１回以上の後続する投与は、以前の投与の１５日未満、例えば、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３又は２日後に投与される。一実施形態では、ＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを含む細胞の１週当たり２回以上の投与が、対象（例えば、ヒト）に施され、例えば、ＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを含む細胞の１週当たり２、３又は４回の投与が施される。一実施形態では、対象（例えば、ヒト対象）は、ＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを含む細胞の１週当たり２回以上投与（例えば、１週当たり２、３又は４回の投与）（本明細書ではサイクルとも称される）を受けた後、ＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを含む細胞の投与を１週間受けず、続いてＣＡＲ分子を含む細胞の１回以上の追加投与（例えば、ＣＡＲ分子を含む細胞の１週当たり２回以上の投与）が対象に施される。別の実施形態では、対象（例えば、ヒト対象）は、２サイクル以上のＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを含む細胞を受け、各サイクルの間の期間は、１０、９、８、７、６、５、４又は３日間未満である。一実施形態では、ＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを含む細胞は、１週当たり１日おきに３回の投与で施される。一実施形態では、ＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを含む細胞は、少なくとも２、３、４、５、６、７、８週間以上投与される。
【１１３９】
一実施形態では、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを含む細胞は、疾患、例えば、癌、例えば、本明細書に記載される癌のための第一選択治療として投与される。別の実施形態では、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを含む細胞は、疾患、例えば、癌、例えば、本明細書に記載される癌のための第二、第三、第四選択治療として投与される。
【１１４０】
一実施形態では、本明細書に記載される細胞の集団が投与される。
【１１４１】
別の態様では、本発明は、本明細書に記載されるキナーゼ阻害剤及び／又はチェックポイント阻害剤と組み合わせた医薬としての使用のための、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを発現する細胞に関する。別の態様では、本発明は、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を発現する細胞と組み合わせた医薬としての使用のための、本明細書に記載されるキナーゼ阻害剤及び／又はチェックポイント阻害剤に関する。
【１１４２】
別の態様では、本発明は、ＣＡＲによって標的化される腫瘍抗原を発現する疾患の治療における、サイトカイン、例えば、本明細書に記載されるとおりのＩＬ－７、ＩＬ－１５及び／又はＩＬ－２１と組み合わせた使用のための本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを発現する細胞に関する。別の態様では、本発明は、ＣＡＲによって標的化される腫瘍抗原を発現する疾患の治療における、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを発現する細胞と組み合わせた使用のための本明細書に記載されるサイトカインに関する。
【１１４３】
別の態様では、本発明は、ＣＡＲによって標的化される腫瘍抗原を発現する疾患の治療における、本明細書に記載されるキナーゼ阻害剤及び／又はれるチェックポイント阻害剤

と組み合わせた使用のための本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを発現する細胞に関する。別の態様では、本発明は、ＣＡＲによって標的化される腫瘍抗原を発現する疾患の治療における、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドを発現する細胞と組み合わせた使用のための本明細書に記載されるキナーゼ阻害剤及び／又はチェックポイント阻害剤に関する。

【１１４４】

別の態様では、本開示は、ＣＡＲ分子、例えば、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチド又はＣＡＲ分子、例えば、本明細書に記載されるＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドをコードする核酸を含む細胞を投与することを含む方法を提供する。一実施形態では、対象は本明細書に記載される障害を有し、例えば、対象は癌を有し、例えば、対象は本明細書に記載される腫瘍支持抗原を発現する腫瘍支持細胞を有する。一実施形態では、対象は、ヒトである。

【１１４５】

本明細書に記載される方法又は使用の一実施形態では、ＣＡＲ分子を含む融合ポリペプチドは、別の薬剤と組み合わせて投与される。一実施形態では、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阻害剤又は二重ＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲ阻害剤及びその組合せであり得る。一実施形態では、キナーゼ阻害剤は、ＣＤＫ４阻害剤、例えば、本明細書に記載されるＣＤＫ４阻害剤、例えば、ＣＤ４／６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）－８－Ｈ－ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－７－オン、塩酸塩（パルボシクリブ又はＰＤ０３３２９９１とも称される）などである。一実施形態では、キナーゼ阻害剤は、ＢＴＫ阻害剤、例えば、本明細書に記載されるＢＴＫ阻害剤、例えば、イブルチニブなどである。一実施形態では、キナーゼ阻害剤は、ｍＴＯＲ阻害剤、例えば、本明細書に記載される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、本明細書に記載されるｍＴＯＲＣ１阻害剤及び／又はｍＴＯＲＣ２阻害剤であり得る。一実施形態では、キナーゼ阻害剤は、ＭＮＫ阻害剤、例えば、本明細書に記載される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。二重ＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲ阻害剤は、例えば、ＰＦ－０４６９５１０２であり得る。

【１１４６】

本明細書に記載される方法又は使用の一実施形態では、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、塩酸塩（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－ベンゾイミダゾール－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）；ディナシクリブ（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］ベンゾアゼピン－２－イル］アミノ］－安息香酸（ＭＬＮ８０５４）；５－［３－（４，６－ジフルオロ－１Ｈ－ベンゾイミダゾール－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－ジヒド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（ＡＴ７５１９）；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。

【１１４７】

本明細書に記載される方法又は使用の一実施形態では、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、パルボシクリブは、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、ある期間毎日、例えば、２８日サイクルの１４～２１日間毎日又は２１日サイクルの７～１２日間毎日投与される。一実施形態では、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２又はそれ以上のサイクルのパルボシクリブが投与される。

【１１４８】

本明細書に記載される方法又は使用の一実施形態では、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。一実施形態では、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、且つ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。

【１１４９】

本明細書に記載される方法又は使用の一実施形態では、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、イブルチニブは、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、ある期間毎日、例えば、２１日サイクルの間毎日又は２８日サイクルの間毎日投与される。一実施形態では、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２又はそれ以上のサイクルのイブルチニブが投与される。

【１１５０】

本明細書に記載される方法又は使用の一実施形態では、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は、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、ある期間毎日、例えば、２８日サイクルの間毎日投与される。一実施形態では、１、２、３、４、５、６、７又はそれ以上のサイクルのＲＮ－４８６が投与される。

【１１５１】

本明細書に記載される方法又は使用の一実施形態では、キナーゼ阻害剤は、テムシロリムス；ＡＰ２３５７３及びＭＫ８６６９としても知られるリダフォロリムス（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－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ナート；エベロリムス（ＲＡＤ００１）；ラパマイシン（ＡＹ２２９８９）；シマピモド；（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－［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（ＰＦ０４６９１５０２）；及びＮ２－［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８３６）、分子内塩（ＳＦ１１２６）；及びＸＬ７６５から選択されるｍＴＯＲ阻害剤である。

【１１５２】

本明細書に記載される方法又は使用の一実施形態では、キナーゼ阻害剤は、ｍＴＯＲ阻害剤、例えば、ラパマイシンであり、ラパマイシンは、約３ｍｇ、４ｍｇ、５ｍｇ、６ｍｇ、７ｍｇ、８ｍｇ、９ｍｇ、１０ｍｇ（例えば、６ｍｇ）の用量で、ある期間毎日、例えば、２１日サイクルの間毎日又は２８日サイクルの間毎日投与される。一実施形態では、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２又はそれ以上のサイクルのラパマイシンが投与される。一実施形態では、キナーゼ阻害剤は、ｍＴＯＲ阻害剤、例えば、エベロリムスであり、エベロリムスは、約２ｍｇ、２．５ｍｇ、３ｍｇ、４ｍｇ、５ｍｇ、６ｍｇ、７ｍｇ、８ｍｇ、９ｍｇ、１０ｍｇ、１１ｍｇ、１２ｍｇ、１３ｍｇ、１４ｍｇ、１５ｍｇ（例えば、１０ｍｇ）の用量で、ある期間毎日、例えば、２８日サイクルの間毎日投与される。一実施形態では、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２又はそれ以上のサイクルのエベロリムスが投与される。

【１１５３】

本明細書に記載される方法又は使用の一実施形態では、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）；セルコスポルアミド；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。

【１１５４】

本明細書に記載される方法又は使用の一実施形態では、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］ウレア（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、ＳＢ２３４３）；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）から選択される二重の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。

【１１５５】

本明細書に記載される方法又は使用の一実施形態では、本明細書に記載される融合ポリペプチドを含む細胞は、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

記載されるタンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤と組み合わせて対象に投与される。一実施形態では、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、本明細書に記載されるＳＨＰ－１阻害剤、例えば、スチボグルコン酸ナトリウムなどである。一実施形態では、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。

【１１５６】

本明細書に記載される方法又は使用の一実施形態では、本明細書に記載される融合ポリペプチドを含む細胞は、別の薬剤と組み合わせて投与され、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又はその組合せであり得る。別の実施形態では、本明細書に記載される融合ポリペプチドを含む細胞は、チェックポイント阻害剤、例えば、本明細書に記載されるチェックポイント阻害剤と組み合わせて投与される。例えば、一実施形態では、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。

【１１５７】

一態様では、本明細書に記載される融合ポリペプチドを使用して、本明細書に記載されるとおりの腫瘍抗原を発現する正常細胞を根絶することができ、それによって細胞移植の前の細胞条件付け療法としての使用のために適用できる。一態様では、本明細書に記載されるとおりの腫瘍抗原を発現する正常細胞は正常幹細胞であり、細胞移植は幹細胞移植である。

【１１５８】

チェックポイント阻害剤

本明細書に記載される方法又は使用の他の実施形態では、本明細書に記載される融合ポリペプチドを含む細胞は、別の薬剤と組み合わせて投与され、その薬剤は、チェックポイント阻害剤の阻害剤、例えば、ＰＤ－１阻害剤、ＰＤ－Ｌ１阻害剤、ＴＩＭ－３阻害剤、ＬＡＧ－３阻害剤である。例示的な阻害剤は、本明細書において以下により詳細に開示される。

【１１５９】

ＰＤ－１阻害剤

特定の実施形態では、チェックポイント阻害剤の阻害剤は、ＰＤ－１阻害剤である。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１阻害剤は、ＰＤＲ００１（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ニボルマブ（Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）、ペムブロリズマブ（Ｍｅｒｃｋ＆Ｃｏ）、ピディリズマブ（ＣｕｒｅＴｅｃｈ）、ＭＥＤＩ０６８０（Ｍｅｄｉｍｍｕｎｅ）、ＲＥＧＮ２８１０（Ｒｅｇｅｎｅｒｏｎ）、ＴＳＲ－０４２（Ｔｅｓａｒｏ）、ＰＦ－０６８０１５９１（Ｐｆｉｚｅｒ）、ＢＧＢ－Ａ３１７（Ｂｅｉｇｅｎｅ）、ＢＧＢ－１０８（Ｂｅｉｇｅｎｅ）、ＩＮＣＳＨＲ１２１０（Ｉｎｃｙｔｅ）又はＡＭＰ－２２４（Ａｍｐｌｉｍｍｕｎｅ）から選択される。

【１１６０】

例示的なＰＤ－１阻害剤

一実施形態では、ＰＤ－１阻害剤は、抗ＰＤ－１抗体分子である。一実施形態では、ＰＤ－１阻害剤は、全体が参照により組み込まれる「Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ　ｔｏ　ＰＤ－１　ａｎｄ　Ｕｓｅｓ　Ｔｈｅｒｅｏｆ」という表題で２０１５年７月３０日に公開された米国特許出願公開第２０１５／０２１０７６９号明細書において記載されるとおりの抗ＰＤ－１抗体分子である。本明細書に記載される抗体分子は、全体が参照により組み込まれる米国特許出願公開第２０１５／０２１０７６９号明細書に記載されるベクター、宿主細胞及び方法によって作製され得る。

【１１６１】

他の例示的なＰＤ－１阻害剤

一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ＭＤＸ－１１０６、ＭＤＸ－１１０６－０４、ＯＮＯ－４５３８、ＢＭＳ－９３６５５８又はＯＰＤＩＶＯ（登録商標）としても知られるニボルマブ（Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）である。ニボルマブ（クローン５Ｃ４）及び他の抗ＰＤ－１抗体は、全体が参照により組み込まれる米国特許第８，００８，４４９号明細書及び国際公開第２００６／１２１１６８号パンフレットに開示される。

【１１６２】

一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ランブロリズマブ、ＭＫ－３４７５、ＭＫ０３４７５、ＳＣＨ－９００４７５又はＫＥＹＴＲＵＤＡ（登録商標）としても知られるペムブロリズマブ（Ｍｅｒｃｋ＆Ｃｏ）である。ペムブロリズマブ及び他の抗ＰＤ－１抗体は、全体が参照により組み込まれるＨａｍｉｄ，Ｏ．ｅｔ　ａｌ．（２０１３）Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ　３６９（２）：１３４－４４、米国特許第８，３５４，５０９号明細書及び国際公開第２００９／１１４３３５号パンフレットに開示される。

【１１６３】

一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ＣＴ－０１１としても知られるピディリズマブ（ＣｕｒｅＴｅｃｈ）である。ピディリズマブ及び他の抗ＰＤ－１抗体は、全体が参照により組み込まれるＲｏｓｅｎｂｌａｔｔ，Ｊ．ｅｔ　ａｌ．（２０１１）Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ　３４（５）：４０９－１８、米国特許第７，６９５，７１５号明細書、米国特許第７，３３２，５８２号明細書及び米国特許第８，６８６，１１９号明細書に開示される。

【１１６４】

一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ＡＭＰ－５１４としても知られるＭＥＤＩ０６８０（Ｍｅｄｉｍｍｕｎｅ）である。ＭＥＤＩ０６８０及び他の抗ＰＤ－１抗体は、全体が参照により組み込まれる米国特許第９，２０５，１４８号明細書及び国際公開第２０１２／１４５４９３号パンフレットに開示される。一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ＭＥＤＩ０６８０のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。

【１１６５】

一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ＲＥＧＮ２８１０（Ｒｅｇｅｎｅｒｏｎ）である。一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ＲＥＧＮ２９１０のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。

【１１６６】

一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ＰＦ－０６８０１５９１（Ｐｆｉｚｅｒ）である。一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ＰＦ－０６８０１５９１のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。

【１１６７】

一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ＢＧＢ－Ａ３１７又はＢＧＢ－１０８（Ｂｅｉｇｅｎｅ）である。一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ＢＧＢ－Ａ３１７又はＢＧＢ－１０８のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。

【１１６８】

一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ＩＮＣＳＨＲ０１２１０又はＳＨＲ－１２１０としても知られるＩＮＣＳＨＲ１２１０（Ｉｎｃｙｔｅ）である。一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ＩＮＣＳＨＲ１２１０のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。

【１１６９】

一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ＡＮＢ０１１としても知られるＴＳＲ－０４

２（Ｔｅｓａｒｏ）である。一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体分子は、ＴＳＲ－０４２のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。

【１１７０】

さらなる既知の抗ＰＤ－１抗体としては、例えば、全体が参照により組み込まれる国際公開第２０１５／１１２８００号パンフレット、国際公開第２０１６／０９２４１９号パンフレット、国際公開第２０１５／０８５８４７号パンフレット、国際公開第２０１４／１７９６６４号パンフレット、国際公開第２０１４／１９４３０２号パンフレット、国際公開第２０１４／２０９８０４号パンフレット、国際公開第２０１５／２００１１９号パンフレット、米国特許第８，７３５，５５３号明細書、米国特許第７，４８８，８０２号明細書、米国特許第８，９２７，６９７号明細書、米国特許第８，９９３，７３１号明細書及び米国特許第９，１０２，７２７号明細書において記載されるものが挙げられる。

【１１７１】

一実施形態では、抗ＰＤ－１抗体は、本明細書に記載される抗ＰＤ－１抗体の１つと同じＰＤ－１上のエピトープとの結合について競合し、且つ／又は結合する抗体である。

【１１７２】

一実施形態では、ＰＤ－１阻害剤は、例えば、全体が参照により組み込まれる米国特許第８，９０７，０５３号明細書に記載されるとおりのＰＤ－１シグナル伝達経路を阻害するペプチドである。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１阻害剤は、イムノアドヘシン（例えば、定常領域（例えば、免疫グロブリン配列のＦｃ領域）に融合したＰＤ－Ｌ１若しくはＰＤ－Ｌ２の細胞外部分又はＰＤ－１結合部分を含むイムノアドヘシン）である。一実施形態では、ＰＤ－１阻害剤は、ＡＭＰ－２２４（例えば、全体が参照により組み込まれる国際公開第２０１０／０２７８２７号パンフレット及び国際公開第２０１１／０６６３４２号パンフレットに開示されるＢ７－ＤＣＩｇ（Ａｍｐｌｉｍｍｕｎｅ））である。

【１１７３】

ＰＤ－Ｌ１阻害剤

特定の実施形態では、チェックポイント阻害剤の阻害剤は、ＰＤ－Ｌ１阻害剤である。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１阻害剤は、ＦＡＺ０５３（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、アテゾリズマブ（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ）、アベルマブ（Ｍｅｒｃｋ Ｓｅｒｏｎｏ及びＰｆｉｚｅｒ）、デュルバルマブ（ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ／ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）又はＢＭＳ－９３６５５９（Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ）から選択される。

【１１７４】

例示的なＰＤ－Ｌ１阻害剤

一実施形態では、ＰＤ－Ｌ１阻害剤は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体分子である。一実施形態では、ＰＤ－Ｌ１阻害剤は、全体が参照により組み込まれる「Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ ｔｏ ＰＤ－Ｌ１ ａｎｄ Ｕｓｅｓ Ｔｈｅｒｅｏｆ」という表題で２０１６年４月２１日に公開された米国特許出願公開第２０１６／０１０８１２３号明細書において開示されるとおりの抗ＰＤ－Ｌ１抗体分子である。本明細書に記載される抗体分子は、全体が参照により組み込まれる米国特許出願公開第２０１６／０１０８１２３号明細書に記載されるベクター、宿主細胞及び方法によって作製され得る。

【１１７５】

他の例示的なＰＤ－Ｌ１阻害剤

一実施形態では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体分子は、ＭＰＤＬ３２８０Ａ、ＲＧ７４４６、ＲＯ５５４１２６７、ＹＷ２４３．５５．Ｓ７０又はＴＥＣＥＮＴＲＩＱ（商標）としても知られるアテゾリズマブ（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ）である。アテゾリズマブ及び他の抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、全体が参照により組み込まれる米国特許第８，２１７，１４９号明細書に開示される。

【１１７６】

一実施形態では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体分子は、ＭＳＢ００１０７１８Ｃとしても知られる

アベルマブ（Ｍｅｒｃｋ　Ｓｅｒｏｎｏ及びＰｆｉｚｅｒ）である。アベルマブ及び他の抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、全体が参照により組み込まれる国際公開第２０１３／０７９１７４号パンフレットに開示される。

【１１７７】

一実施形態では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体分子は、ＭＥＤＩ４７３６としても知られるデュルバルマブ（ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ／ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）である。デュルバルマブ及び他の抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、全体が参照により組み込まれる米国特許第８，７７９，１０８号明細書に開示される。

【１１７８】

一実施形態では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体分子は、ＭＤＸ－１１０５又は１２Ａ４としても知られるＢＭＳ－９３６５５９（Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）である。ＢＭＳ－９３６５５９及び他の抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、全体が参照により組み込まれる米国特許第７，９４３，７４３号明細書及び国際公開第２０１５／０８１１５８号パンフレットに開示される。

【１１７９】

さらなる既知の抗ＰＤ－Ｌ１抗体としては、例えば、全体が参照により組み込まれる国際公開第２０１５／１８１３４２号パンフレット、国際公開第２０１４／１００７９号パンフレット、国際公開第２０１６／０００６１９号パンフレット、国際公開第２０１４／０２２７５８号パンフレット、国際公開第２０１４／０５５８９７号パンフレット、国際公開第２０１５／０６１６６８号パンフレット、国際公開第２０１３／０７９１７４号パンフレット、国際公開第２０１２／１４５４９３号パンフレット、国際公開第２０１５／１１２８０５号パンフレット、国際公開第２０１５／１０９１２４号パンフレット、国際公開第２０１５／１９５１６３号パンフレット、米国特許第８，１６８，１７９号明細書、米国特許第８，５５２，１５４号明細書、米国特許第８，４６０，９２７号明細書及び米国特許第９，１７５，０８２号明細書に記載されるものが挙げられる。

【１１８０】

一実施形態では、抗ＰＤ－Ｌ１抗体は、本明細書に記載される抗ＰＤ－Ｌ１抗体の１つと同じＰＤ－Ｌ１上のエピトープとの結合について競合し、且つ／又は結合する抗体である。

【１１８１】

ＬＡＧ－３阻害剤

特定の実施形態では、チェックポイント阻害剤の阻害剤は、ＬＡＧ－３阻害剤である。いくつかの実施形態では、ＬＡＧ－３阻害剤は、ＬＡＧ５２５（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ＢＭＳ－９８６０１６（Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）又はＴＳＲ－０３３（Ｔｅｓａｒｏ）から選択される。

【１１８２】

例示的なＬＡＧ－３阻害剤

一実施形態では、ＬＡＧ－３阻害剤は、抗ＬＡＧ－３抗体分子である。一実施形態では、ＬＡＧ－３阻害剤は、全体が参照により組み込まれる「Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ　ｔｏ　ＬＡＧ－３　ａｎｄ　Ｕｓｅｓ　Ｔｈｅｒｅｏｆ」という表題で２０１５年９月１７日に公開された米国特許出願公開第２０１５／０２５９４２０号明細書において開示されるとおりの抗ＬＡＧ－３抗体分子である。本明細書に記載される抗体分子は、全体が参照により組み込まれる米国特許出願公開第２０１５／０２５９４２０号明細書に記載されるベクター、宿主細胞及び方法によって作製され得る。

【１１８３】

他の例示的なＬＡＧ－３阻害剤

一実施形態では、抗ＬＡＧ－３抗体分子は、ＢＭＳ９８６０１６としても知られるＢＭＳ－９８６０１６（Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）である。ＢＭＳ－９８６０１６及び他の抗ＬＡＧ－３抗体は、全体が参照により組み込まれる国際公開第２０１５／１１６５３９号パンフレット及び米国特許第９，５０５，８３９号明細書に開示され

る。
【１１８４】
一実施形態では、抗ＬＡＧ－３抗体分子は、ＴＳＲ－０３３（Ｔｅｓａｒｏ）である。一実施形態では、抗ＬＡＧ－３抗体分子は、ＴＳＲ－０３３のＣＤＲ配列の１つ以上（又はまとめて全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。
【１１８５】
一実施形態では、抗ＬＡＧ－３抗体分子は、ＩＭＰ７３１又はＧＳＫ２８３１７８１（ＧＳＫ及びＰｒｉｍａ　ＢｉｏＭｅｄ）である。ＩＭＰ７３１及び他の抗ＬＡＧ－３抗体は、全体が参照により組み込まれる国際公開第２００８／１３２６０１号パンフレット及び米国特許第９，２４４，０５９号明細書に開示される。一実施形態では、抗ＬＡＧ－３抗体分子は、ＩＭＰ７３１のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。一実施形態では、抗ＬＡＧ－３抗体分子は、ＧＳＫ２８３１７８１のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。
【１１８６】
一実施形態では、抗ＬＡＧ－３抗体分子は、ＩＭＰ７６１（Ｐｒｉｍａ　ＢｉｏＭｅｄ）である。一実施形態では、抗ＬＡＧ－３抗体分子は、ＩＭＰ７６１のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。
【１１８７】
さらなる既知の抗ＬＡＧ－３抗体としては、例えば、全体が参照により組み込まれる国際公開第２００８／１３２６０１号パンフレット、国際公開第２０１０／０１９５７０号パンフレット、国際公開第２０１４／１４０１８０号パンフレット、国際公開第２０１５／１１６５３９号パンフレット、国際公開第２０１５／２００１１９号パンフレット、国際公開第２０１６／０２８６７２号パンフレット、米国特許第９，２４４，０５９号明細書、米国特許第９，５０５，８３９号明細書において記載されるものが挙げられる。
【１１８８】
一実施形態では、抗ＬＡＧ－３抗体は、本明細書に記載される抗ＬＡＧ－３抗体の１つと同じＬＡＧ－３上のエピトープとの結合について競合し、且つ／又は結合する抗体である。
【１１８９】
一実施形態では、抗ＬＡＧ－３阻害剤は、例えば、全体が参照により組み込まれる国際公開第２００９／０４４２７３号パンフレットにおいて開示される、可溶性ＬＡＧ－３タンパク質、例えば、ＩＭＰ３２１（Ｐｒｉｍａ　ＢｉｏＭｅｄ）である。
【１１９０】
ＴＩＭ－３阻害剤
特定の実施形態では、チェックポイント阻害剤の阻害剤は、ＴＩＭ－３阻害剤である。いくつかの実施形態では、ＴＩＭ－３阻害剤は、ＭＧＢ４５３（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）又はＴＳＲ－０２２（Ｔｅｓａｒｏ）である。
【１１９１】
例示的なＴＩＭ－３阻害剤
一実施形態では、ＴＩＭ－３阻害剤は、抗ＴＩＭ－３抗体分子である。一実施形態において、ＴＩＭ－３阻害剤は、全体が参照により組み込まれる「Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ　ｔｏ　ＴＩＭ－３　ａｎｄ　Ｕｓｅｓ　Ｔｈｅｒｅｏｆ」という表題で２０１５年８月６日に公開された米国特許出願公開第２０１５／０２１８２７４号明細書において開示される抗ＴＩＭ－３抗体分子である。
【１１９２】
本明細書に記載される抗体分子は、全体が参照により組み込まれる米国特許出願公開第２０１５／０２１８２７４号明細書に記載されるベクター、宿主細胞及び方法によって作

製され得る。
【１１９３】
他の例示的なＴＩＭ－３阻害剤
一実施形態では、抗ＴＩＭ－３抗体分子は、ＴＳＲ－０２２（ＡｎａｐｔｙｓＢｉｏ／Ｔｅｓａｒｏ）である。一実施形態では、抗ＴＩＭ－３抗体分子は、ＴＳＲ－０２２のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。一実施形態では、抗ＴＩＭ－３抗体分子は、ＡＰＥ５１３７又はＡＰＥ５１２１のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。ＡＰＥ５１３７、ＡＰＥ５１２１及び他の抗ＴＩＭ－３抗体は、全体が参照により組み込まれる国際公開第２０１６／１６１２７０号パンフレットに開示される。
【１１９４】
一実施形態において、抗ＴＩＭ－３抗体分子は、抗体クローンＦ３８－２Ｅ２である。一実施形態では、抗ＴＩＭ－３抗体分子は、Ｆ３８－２Ｅ２のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。
【１１９５】
さらなる既知の抗ＴＩＭ－３抗体としては、例えば、全体が参照により組み込まれる国際公開第２０１６／１１１９４７号パンフレット、国際公開第２０１６／０７１４４８号パンフレット、国際公開第２０１６／１４４８０３号パンフレット、米国特許第８，５５２，１５６号明細書、米国特許第８，８４１，４１８号明細書及び米国特許第９，１６３，０８７号明細書に記載されるものが挙げられる。
【１１９６】
一実施形態では、抗ＴＩＭ－３抗体は、本明細書に記載される抗ＴＩＭ－３抗体の１つと同じＴＩＭ－３上のエピトープとの結合について競合し、且つ／又は結合する抗体である。
【１１９７】
ＧＩＴＲアゴニスト
特定の実施形態では、融合ポリペプチドは、ＧＩＴＲアゴニストと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ＧＩＴＲアゴニストは、ＧＷＮ３２３（ＮＶＳ）、ＢＭＳ－９８６１５６、ＭＫ－４１６６又はＭＫ－１２４８（Ｍｅｒｃｋ）、ＴＲＸ５１８（Ｌｅａｐ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、ＩＮＣＡＧＮ１８７６（Ｉｎｃｙｔｅ／Ａｇｅｎｕｓ）、ＡＭＧ２２８（Ａｍｇｅｎ）又はＩＮＢＲ－１１０（Ｉｎｈｉｂｒｘ）である。
【１１９８】
例示的なＧＩＴＲアゴニスト
一実施形態では、ＧＩＴＲアゴニストは、抗ＧＩＴＲ抗体分子である。一実施形態では、ＧＩＴＲアゴニストは、全体が参照により組み込まれる「Ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎｓ ａｎｄ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ Ｕｓｅ ｆｏｒ Ａｕｇｍｅｎｔｅｄ Ｉｍｍｕｎｅ Ｒｅｓｐｏｎｓｅ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ」という表題で２０１６年４月１４日に公開された国際公開第２０１６／０５７８４６号パンフレットにおいて記載されるとおりの抗ＧＩＴＲ抗体分子である。
【１１９９】
本明細書に記載される抗体分子は、全体が参照により組み込まれる国際公開第２０１６／０５７８４６号パンフレットに記載されるベクター、宿主細胞及び方法によって作製され得る。
【１２００】
他の例示的なＧＩＴＲアゴニスト
一実施形態では、抗ＧＩＴＲ抗体分子は、ＢＭＳ ９８６１５６又はＢＭＳ９８６１５６としても知られるＢＭＳ－９８６１５６（Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ）である。ＢＭＳ－９８６１５６及び他の抗ＧＩＴＲ抗体は、例えば、全体が参照により

組み込まれる米国特許第９，２２８，０１６号明細書及び国際公開第２０１６／１９６７９２号パンフレットに開示される。一実施形態では、抗ＧＩＴＲ抗体分子は、ＢＭＳ－９８６１５６のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。

【１２０１】

一実施形態では、抗ＧＩＴＲ抗体分子は、ＭＫ－４１６６又はＭＫ－１２４８（Ｍｅｒｃｋ）である。ＭＫ－４１６６、ＭＫ－１２４８及び他の抗ＧＩＴＲ抗体は、例えば、全体が参照により組み込まれる米国特許第８，７０９，４２４号明細書、国際公開第２０１１／０２８６８３号パンフレット、国際公開第２０１５／０２６６８４号パンフレット及びＭａｈｎｅ ｅｔ ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２０１７；７７（５）：１１０８－１１１８に開示される。一実施形態では、抗ＧＩＴＲ抗体分子は、ＭＫ－４１６６又はＭＫ－１２４８のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。

【１２０２】

一実施形態では、抗ＧＩＴＲ抗体分子は、ＴＲＸ５１８（Ｌｅａｐ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）である。ＴＲＸ５１８及び他の抗ＧＩＴＲ抗体は、例えば、全体が参照により組み込まれる米国特許第７，８１２，１３５号明細書、米国特許第８，３８８，９６７号明細書、米国特許第９，０２８，８２３号明細書、国際公開第２００６／１０５０２１号パンフレット及びＰｏｎｔｅ Ｊ ｅｔ ａｌ．（２０１０）Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ；１３５：Ｓ９６に開示される。一実施形態では、抗ＧＩＴＲ抗体分子は、ＴＲＸ５１８のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。

【１２０３】

一実施形態では、抗ＧＩＴＲ抗体分子は、ＩＮＣＡＧＮ１８７６（Ｉｎｃｙｔｅ／Ａｇｅｎｕｓ）である。ＩＮＣＡＧＮ１８７６及び他の抗ＧＩＴＲ抗体は、例えば、全体が参照により組み込まれる米国特許出願公開第２０１５／０３６８３４９号明細書及び国際公開第２０１５／１８４０９９号パンフレットに開示される。一実施形態では、抗ＧＩＴＲ抗体分子は、ＩＮＣＡＧＮ１８７６のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。

【１２０４】

一実施形態では、抗ＧＩＴＲ抗体分子は、ＡＭＧ ２２８（Ａｍｇｅｎ）である。ＡＭＧ２２８及び他の抗ＧＩＴＲ抗体は、例えば、全体が参照により組み込まれる米国特許第９，４６４，１３９号明細書及び国際公開第２０１５／０３１６６７号パンフレットに開示される。一実施形態では、抗ＧＩＴＲ抗体分子は、ＡＭＧ ２２８のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域配列又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。

【１２０５】

一実施形態では、抗ＧＩＴＲ抗体分子は、ＩＮＢＲＸ－１１０（Ｉｎｈｉｂｒｘ）である。ＩＮＢＲＸ－１１０及び他の抗ＧＩＴＲ抗体は、例えば、全体が参照により組み込まれる米国特許出願公開第２０１７／００２２２８４号明細書及び国際公開第２０１７／０１５６２３号パンフレットに開示される。一実施形態では、ＧＩＴＲアゴニストは、ＩＮＢＲＸ－１１０のＣＤＲ配列の１つ以上（又は一括して全てのＣＤＲ配列）、重鎖若しくは軽鎖可変領域又は重鎖若しくは軽鎖配列を含む。

【１２０６】

一実施形態では、ＧＩＴＲアゴニスト（例えば、融合ポリペプチド）は、ＭＥＤＩ１８７３としても知られるＭＥＤＩ １８７３（ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ）である。ＭＥＤＩ １８７３及び他のＧＩＴＲアゴニストは、例えば、全体が参照により組み込まれる米国特許出願公開第２０１７／００７３３８６号明細書、国際公開第２０１７／０２５６１０号パンフレット及びＲｏｓｓ ｅｔ ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ２０１６；７６（１４ Ｓｕｐｐｌ）：Ａｂｓｔｒａｃｔ ｎｒ ５６１に開示される。一実施形態では、ＧＩＴＲアゴ

ニストは、ＭＥＤＩ　１８７３のＩｇＧ　Ｆｃドメイン、機能的多量体化ドメイン及びグルココルチコイド誘導性ＴＮＦ受容体リガンド（ＧＩＴＲＬ）の受容体結合ドメインの１つ以上を含む。

【１２０７】

さらなる既知のＧＩＴＲアゴニスト（例えば、抗ＧＩＴＲ抗体）としては、例えば、全体が参照により組み込まれる国際公開第２０１６／０５４６３８号パンフレットに記載されるものが挙げられる。

【１２０８】

一実施形態では、抗ＧＩＴＲ抗体は、本明細書に記載される抗ＧＩＴＲ抗体の１つと同じＧＩＴＲ上のエピトープと結合に関して競合し、且つ／又はそれに結合する抗体である。

【１２０９】

一実施形態では、ＧＩＴＲアゴニストは、ＧＩＴＲシグナル伝達経路を活性化するペプチドである。一実施形態では、ＧＩＴＲアゴニストは、定常領域（例えば、免疫グロブリン配列のＦｃ領域）に融合したイムノアドヘシン結合断片（例えば、ＧＩＴＲＬの細胞外部分又はＧＩＴＲ結合部分を含むイムノアドヘシン結合断片）である。

【１２１０】

ＩＬ１５／ＩＬ－１５Ｒａ複合体

特定の実施形態では、融合ポリペプチドは、ＩＬ－１５／ＩＬ－１５Ｒａ複合体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ＩＬ－１５／ＩＬ－１５Ｒａ複合体は、ＮＩＺ９８５（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ＡＴＬ－８０３（Ａｌｔｏｒ）又はＣＹＰ０１５０（Ｃｙｔｕｎｅ）から選択される。

【１２１１】

例示的なＩＬ－１５／ＩＬ－１５Ｒａ複合体

一実施形態では、ＩＬ－１５／ＩＬ－１５Ｒａ複合体は、ヒトＩＬ－１５Ｒａの可溶性形態と複合体を形成したヒトＩＬ－１５を含む。複合体は、ＩＬ－１５Ｒａの可溶性形態に共有結合的又は非共有結合的に結合されたＩＬ－１５を含み得る。特定の実施形態では、ヒトＩＬ－１５は、ＩＬ－１５Ｒａの可溶性形態に非共有結合的に結合される。特定の実施形態では、組成物のヒトＩＬ－１５は、全体が参照により組み込まれる国際公開第２０１４／０６６５２７号パンフレットに記載されるとおりのアミノ酸配列を含む。本明細書に記載される分子は、全体が参照により組み込まれる国際公開第２００７／０８４３４２号パンフレットに記載されるベクター、宿主細胞及び方法によって作製され得る。

【１２１２】

他の例示的なＩＬ－１５／ＩＬ－１５Ｒａ複合体

一実施形態では、ＩＬ－１５／ＩＬ－１５Ｒａ複合体は、ＡＬＴ－８０３、ＩＬ－１５／ＩＬ－１５Ｒａ　Ｆｃ融合ポリペプチド（ＩＬ－１５Ｎ７２Ｄ：ＩＬ－１５ＲａＳｕ／Ｆｃ可溶性複合体）である。ＡＬＴ－８０３は、全体が参照により本明細書に組み込まれる国際公開第２００８／１４３７９４号パンフレットに開示される。

【１２１３】

一実施形態では、ＩＬ－１５／ＩＬ－１５Ｒａ複合体は、ＩＬ－１５Ｒａ（ＣＹＰ０１５０、Ｃｙｔｕｎｅ）のｓｕｓｈｉドメインに融合されたＩＬ－１５を含む。ＩＬ－１５Ｒａのｓｕｓｈｉドメインは、ＩＬ－１５Ｒａのシグナルペプチド後の１番目のシステイン残基で始まり、前記シグナルペプチド後の４番目のシステイン残基で終わるドメインを指す。ＩＬ－１５Ｒａのｓｕｓｈｉドメインに融合されたＩＬ－１５の複合体は、全体が参照により組み込まれる国際公開第２００７／０４６０６号パンフレット及び国際公開第２０１２／１７５２２２号パンフレットに開示される。

【１２１４】

スクリーニング方法

本発明は、特定の生物学的表現型と関連する遺伝因子、例えば、障害、例えば、癌の発症及び／又は進行と関連する遺伝因子を同定する方法を含む。方法は、（ｉ）細胞、例えば宿主細胞における融合ポリペプチドの発現を、前記細胞をＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯ

Ｆ３に暴露することによって調節する工程、（ｉｉ）細胞を目的の表現型、例えば、障害、例えば、癌の発症及び／又は進行に関連付けられる表現型で選択する工程、及び（ｉｉｉ）目的の表現型を誘導する融合ポリペプチドを同定する工程であって、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３への細胞の暴露により、ＣＯＦ１、ＣＯＦ２又はＣＯＦ３に対する暴露前の前記融合ポリペプチドの発現レベルと比較して、前記融合ポリペプチドの発現を、例えば、少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させる工程を含む。

【１２１５】

対象を治療する方法

いくつかの態様では、本開示は患者を治療する方法であって、融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び目的の異種ポリペプチドを含む）又は本明細書に記載されるとおりに製造された融合ポリペプチドを発現する細胞（例えば、ＣＡＲ発現細胞）を、任意選択により１つ以上の他の療法と組み合わせて投与する工程を含む方法を提供する。いくつかの態様では、本開示は患者を治療する方法であって、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド又は融合ポリペプチドを発現する細胞（例えば、ＣＡＲ発現細胞）を含む反応混合物を、任意選択により１つ以上の他の療法と組み合わせて投与する工程を含む方法を提供する。いくつかの態様では、本開示は、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド又は融合ポリペプチドを発現する細胞（例えば、ＣＡＲ発現細胞）を含む反応混合物を、輸送又は受容する工程を含む方法を提供する。

【１２１６】

いくつかの態様では、本開示は患者を治療する方法であって、融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び目的の異種ポリペプチドを含む）又は本明細書に記載されるとおりに製造された融合ポリペプチドを発現する細胞（例えば、ＣＡＲ発現細胞）を受容する工程を含み、且つ患者に融合ポリペプチド又は融合ポリペプチドを発現する細胞（例えば、ＣＡＲ発現細胞）を、任意選択により１つ以上の他の療法と組み合わせて投与する工程をさらに含む方法を提供する。いくつかの態様では、本開示は患者を治療する方法であって、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド又は融合ポリペプチドを発現する細胞（例えば、ＣＡＲ発現細胞）を製造する工程を含み、且つ患者に融合ポリペプチド又は融合ポリペプチドを発現する細胞（例えば、ＣＡＲ発現細胞）を、任意選択により１つ以上の他の療法と組み合わせて投与する工程をさらに含む方法を提供する。他の療法は、例えば、化学療法などの癌療法であり得る。

【１２１７】

本明細書に記載される方法はさらに、医薬組成物中に融合ポリペプチド（例えば、ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ、ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ若しくはＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び目的の異種ポリペプチドを含む）又は融合ポリペプチドを発現する細胞（例えば、ＣＡＲ発現細胞）を製剤化する工程を含む。医薬組成物は、本明細書に記載されるとおりの融合ポリペプチド又は融合ポリペプチドを発現する細胞（例えば、ＣＡＲ発現細胞）、例えば、複数の融合ポリペプチド又は融合ポリペプチドを発現する細胞（例えば、ＣＡＲ発現細胞）を、１つ以上の薬学的に又は生理学的に許容される担体、希釈剤又は賦形剤と組み合わせて含み得る。このような組成物は、中性緩衝生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水などの緩衝液；グルコース、マンノース、スクロース又はデキストラン、マンニトールなどの炭水化物；タンパク質；グリシンなどのポリペプチド又はアミノ酸；抗酸化剤；ＥＤＴＡ又はグルタチオンなどのキレート剤；アジュバント（例えば、水酸化アルミニウム）；及び保存剤を含み得る。組成物は、例えば、静脈内投与のために製剤化され得る。

【１２１８】

一実施形態では、医薬組成物は、例えば、内毒素、マイコプラズマ、複製能を有するレンチウイルス（ＲＣＬ）、ｐ２４、ＶＳＶ－Ｇ核酸、ＨＩＶ　ｇａｇ、残留した抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８でコーティングされたビーズ、マウス抗体、プールされたヒト血清、ウシ血

清アルブミン、ウシ血清、培養培地成分、ベクターの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夾雑物を実質的に含まず、例えば、検出可能なレベルの夾雑物がない。一実施形態では、細菌は、アルカリゲネス・フェカーリス（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・メニンギティディス（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｍｅｎｉｎｇｉｔｉｄｅｓ）、シュードモナス・アエルギノーサ（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・ニューモニエ（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。

【１２１９】

「免疫学的有効量」、「抗癌有効量」、「癌阻害有効量」又は「治療量」が示される場合、投与されることになる組成物の正確な量は、患者（対象）の年齢、体重、腫瘍のサイズ、感染又は転移の程度及び状態の個体差を医師が検討することによって決定され得る。本明細書に記載される免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）を含む医薬組成物が、範囲内の全ての整数値を含む、10^4～10^9細胞／ｋｇ体重の投与量、いくつかの場合において、10^5～10^6細胞／ｋｇ体重の投与量で投与され得ることを一般に述べることができる。Ｔ細胞組成物はまた、これらの投与量で複数回投与され得る。細胞は、免疫療法で一般的によく知られる注入技術を使用することによって投与され得る（例えば、Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｎｅｗ Ｅｎｇ．Ｊ．ｏｆ Ｍｅｄ．３１９：１６７６，１９８８を参照されたい）。

【１２２０】

いくつかの実施形態では、ＣＡＲ細胞（例えば、ＣＤ１９ ＣＡＲ細胞）の用量は、約1×10^6、1.1×10^6、2×10^6、3.6×10^6、5×10^6、1×10^7、1.8×10^7、2×10^7、5×10^7、1×10^8、2×10^8又は5×10^8細胞／ｋｇを含む。いくつかの実施形態では、ＣＡＲ細胞（例えば、ＣＤ１９ ＣＡＲ細胞）の用量は、少なくとも約1×10^6、1.1×10^6、2×10^6、3.6×10^6、5×10^6、1×10^7、1.8×10^7、2×10^7、5×10^7、1×10^8、2×10^8又は5×10^8細胞／ｋｇを含む。いくつかの実施形態では、ＣＡＲ細胞（例えば、ＣＤ１９ ＣＡＲ細胞）の用量は、最大約1×10^6、1.1×10^6、2×10^6、3.6×10^6、5×10^6、1×10^7、1.8×10^7、2×10^7、5×10^7、1×10^8、2×10^8又は5×10^8細胞／ｋｇを含む。いくつかの実施形態では、ＣＡＲ細胞（例えば、ＣＤ１９ ＣＡＲ細胞）の用量は、約1.1×10^6～1.8×10^7細胞／ｋｇを含む。いくつかの実施形態では、ＣＡＲ細胞（例えば、ＣＤ１９ ＣＡＲ細胞）の用量は、約1×10^7、2×10^7、5×10^7、1×10^8、2×10^8、5×10^8、1×10^9、2×10^9又は5×10^9個の細胞を含む。いくつかの実施形態では、ＣＡＲ細胞（例えば、ＣＤ１９ ＣＡＲ細胞）の用量は、少なくとも約1×10^7、2×10^7、5×10^7、1×10^8、2×10^8、5×10^8、1×10^9、2×10^9又は5×10^9個の細胞を含む。いくつかの実施形態では、ＣＡＲ細胞（例えば、ＣＤ１９ ＣＡＲ細胞）の用量は、最大約1×10^7、2×10^7、5×10^7、1×10^8、2×10^8、5×10^8、1×10^9、2×10^9又は5×10^9個の細胞を含む。特定の態様では、対象に活性化された免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）を投与し、続いてその後再度採血し（又はアフェレーシスが実施される）、それからの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され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こともある。このプロセスは、数週間毎に複数回実行され得る。特定の態様では、１０ｃｃ～４００ｃｃの採取された血液から、免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）が活性化され得る。特定の態様では、２０ｃｃ、３０ｃｃ、４０ｃｃ、５０ｃｃ、６０ｃｃ、７０ｃｃ、８

０ｃｃ、９０ｃｃ又は１００ｃｃの採取された血液から、免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）が活性化される。

【１２２１】

実施形態において、ＣＡＲ発現細胞（例えば、ＣＤ１９　ＣＡＲ発現細胞）は、複数の用量、例えば、第１の用量、第２の用量及び任意選択により第３の用量で投与される。実施形態において、方法は、癌（例えば、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ））を有する対象（例えば、成人対象）を治療する工程を含み、第１の用量、第２の用量及び任意選択により１つ以上の追加の用量であって、各用量がＣＡＲ分子、例えば、ＣＤ１９　ＣＡＲ分子を発現する免疫エフェクター細胞を含む用量を対象に投与する工程を含む。

【１２２２】

実施形態において、方法は、２～５×１０^{6}個のＣＡＲ発現生細胞／ｋｇの用量を投与する工程であって、対象が５０ｋｇ未満の体重を有する工程；又は１．０～２．５×１０^{8}個のＣＡＲ発現生細胞／ｋｇの用量を投与する工程であって、対象が少なくとも５０ｋｇの体重を有する工程を含む。

【１２２３】

実施形態において、単一の用量が、対象、例えば、小児対象に投与される。

【１２２４】

実施形態において、その用量は連日投与され、例えば、第１の用量が１日目に投与され、第２の用量が２日目に投与され、任意選択の第３の用量（投与される場合）が３日目に投与される。

【１２２５】

実施形態において、第４、第５若しくは第６又はそれ以上の用量が投与される。

【１２２６】

ある実施形態では、第１の用量は総用量の約１０％を含み、第２の用量は総用量の約３０％を含み、第３の用量は総用量の約６０％を含み、ここで、前述のパーセンテージの合計は１００％である。実施形態において、第１の用量は総用量の約９～１１％、８～１２％、７～１３％又は５～１５％を含む。実施形態において、第２の用量は総用量の約２９～３１％、２８～３２％、２７～３３％、２６～３４％、２５～３５％、２４～３６％、２３～３７％、２２～３８％、２１～３９％又は２０～４０％を含む。実施形態において、第３の用量は総用量の約５５～６５％、５０～７０％、４５～７５％又は４０～８０％を含む。実施形態において、総用量は、１週間、２週間、３週間又は４週間にわたり投与されるＣＡＲ発現生細胞の総数を指す。２つの用量が投与されるいくつかの実施形態では、総用量は、第１及び第２の用量で対象に投与されるＣＡＲ発現生細胞の数の合計を指す。３つの用量が投与されるいくつかの実施形態では、総用量は、第１、第２及び第３の用量で対象に投与されるＣＡＲ発現生細胞の数の合計を指す。

【１２２７】

実施形態において、用量は、その中のＣＡＲ発現生細胞の数に従って測定される。ＣＡＲ発現は、例えば、ＣＡＲ分子と結合する抗体分子及び検出可能な標識を使用するフローサイトメトリーによって測定され得る。生存能は、例えば、Ｃｅｌｌｏｍｅｔｅｒによって測定され得る。

【１２２８】

実施形態において、ＣＡＲ発現生細胞は漸増用量で投与される。実施形態において、第２の用量は、第１の用量より多く、例えば、１０％、２０％、３０％又は５０％多い。実施形態において、第２の用量は、第１の用量の２倍、３倍、４倍又は５倍のサイズである。実施形態において、第３の用量は、第２の用量より多く、例えば、１０％、２０％、３０％又は５０％多い。実施形態において、第３の用量は、第２の用量の２倍、３倍、４倍又は５倍のサイズである。

【１２２９】

特定の実施形態では、方法は、次のａ）～ｈ）の１、２、３、４、５、６、７個又は全てを含む：

ａ）第１の用量で投与されるＣＡＲ発現生細胞の数は、第２の用量で投与されるＣＡＲ発現生細胞の数の１／３以下である；
ｂ）第１の用量で投与されるＣＡＲ発現生細胞の数は、投与されるＣＡＲ発現生細胞の総数の１／Ｘ以下であり、ここで、Ｘは、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、３０、４０又は５０である；
ｃ）第１の用量で投与されるＣＡＲ発現生細胞の数は、1×10^{7}、2×10^{7}、3×10^{7}、4×10^{7}、5×10^{7}、6×10^{7}、7×10^{7}、8×10^{7}、9×10^{7}、1×10^{8}、2×10^{8}、3×10^{8}、4×10^{8}又は5×10^{8}個以下のＣＡＲ発現生細胞であり、第２の用量は第１の用量より多い；
ｄ）第２の用量で投与されるＣＡＲ発現生細胞の数は、第３の用量で投与されるＣＡＲ発現生能細胞の数の１／２以下である；
ｅ）第２の用量で投与されるＣＡＲ発現生細胞の数は、投与されるＣＡＲ発現生細胞の総数の１／Ｙ以下であり、ここで、Ｙは、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、３０、４０又は５０である；
ｆ）第２の用量で投与されるＣＡＲ発現生細胞の数は、1×10^{7}、2×10^{7}、3×10^{7}、4×10^{7}、5×10^{7}、6×10^{7}、7×10^{7}、8×10^{7}、9×10^{7}、1×10^{8}、2×10^{8}、3×10^{8}、4×10^{8}又は5×10^{8}個以下のＣＡＲ発現生細胞であり、第３の用量は第２の用量より多い；
ｈ）第１、第２及び任意選択により第３の用量の投与の投与量及び期間は、対象が４、３、２又は１以下のレベルでＣＲＳを経験するように選択される。

【１２３０】

実施形態において、総用量は、約5×10^{8}個のＣＡＲ発現生細胞である。実施形態において、総用量は、約5×10^{7}～5×10^{8}個のＣＡＲ発現生細胞である。実施形態において、第１の用量は約5×10^{7}個（例えば、±１０％、２０％又は３０％）のＣＡＲ発現生細胞であり、第２の用量は約1.5×10^{8}個（例えば、±１０％、２０％又は３０％）のＣＡＲ発現生細胞であり、第３の用量は約3×10^{8}個（例えば、±１０％、２０％又は３０％）のＣＡＲ発現生細胞である。

【１２３１】

実施形態において、対象は、ある用量を受容した後、例えば、第１の用量、第２の用量及び／又は第３の用量を受容した後、ＣＲＳについて評価される。

【１２３２】

実施形態において、対象は、ＣＲＳ治療、例えば、トシリズマブ、コルチコステロイド、エタネルセプト又はシルツキシマブを受容する。実施形態において、ＣＲＳ治療は、ＣＡＲ分子を含む細胞の第１の用量の前又は後に施される。実施形態において、ＣＲＳ治療は、ＣＡＲ分子を含む細胞の第２の用量の前又は後に施される。実施形態において、ＣＲＳ治療は、ＣＡＲ分子を含む細胞の第３の用量の前又は後に施される。実施形態において、ＣＲＳ治療は、ＣＡＲ分子を含む細胞の第１と第２の用量の間及び／又はＣＡＲ分子を含む細胞の第２と第３の用量の間に施される。

【１２３３】

対象組成物の投与は、任意の簡便な方法で実施され得る。本明細書に記載される組成物は、経動脈、皮下、皮内、腫瘍内、リンパ節内、髄内、筋肉内、静脈内（ｉ．ｖ．）注射により又は腹腔内、例えば、皮内注射又は皮下注射により患者に投与され得る。免疫エフェクター細胞（例えば、Ｔ細胞、ＮＫ細胞）の組成物を、腫瘍、リンパ節又は感染部位に直接注射し得る。

【１２３４】

ある実施形態では、本明細書に記載されるＣＡＲを発現する細胞は、T_{REG}細胞集団を減少させる分子と組み合わせて対象に投与される。T_{REG}細胞の数を減少させる（例えば、枯渇させる）方法は当技術分野において知られており、例えば、ＣＤ２５枯渇、シクロホスファミド投与及びＧＩＴＲ機能を調節することを含む。理論に束縛されるものではないが、アフェレーシスの前又は本明細書に記載されるＣＡＲ発現細胞の投与前に対象にお

いてＴＲＥＧ細胞の数を減少させることにより、腫瘍微小環境中の望まれない免疫細胞（例えば、Ｔｒｅｇ）の数が減少し、且つ対象の再発のリスクが減少すると考えられる。

【１２３５】

一実施形態では、本明細書に記載されるＣＡＲを発現する細胞は、制御性Ｔ細胞（ＴＲＥＧ）を枯渇させるＧＩＴＲアゴニスト及び／又はＧＩＴＲ抗体などのＧＩＴＲを標的化し且つ／又はＧＩＴＲ機能を調節する分子と組み合わせて対象に投与される。実施形態において、本明細書に記載されるＣＡＲを発現する細胞は、シクロホスファミドと組み合わせて対象に投与される。一実施形態では、ＧＩＴＲ結合分子及び／又はＧＩＴＲ機能を調節する分子（例えば、ＧＩＴＲアゴニスト及び／又はＴｒｅｇを枯渇させるＧＩＴＲ抗体）は、ＣＡＲ発現細胞の投与前に投与される。例えば、一実施形態では、ＧＩＴＲアゴニストは、細胞のアフェレーシスの前に投与され得る。実施形態において、シクロホスファミドは、ＣＡＲ発現細胞の投与（例えば、注入又は再注入）前又は細胞のアフェレーシス前に対象に投与される。実施形態において、シクロホスファミド及び抗ＧＩＴＲ抗体は、ＣＡＲ発現細胞の投与（例えば、注入又は再注入）前又は細胞のアフェレーシス前に対象に投与される。一実施形態では、対象は、癌（例えば、固形癌又はＡＬＬ若しくはＣＬＬなどの血液癌）を有する。ある実施形態では、対象はＣＬＬを有する。実施形態において、対象はＡＬＬを有する。実施形態において、対象は、固形癌、例えば、本明細書に記載される固形癌を有する。例示的なＧＩＴＲアゴニストとしては、例えば、米国特許第６，１１１，０９０号明細書、欧州特許第０９０５０５Ｂ１号明細書、米国特許第８，５８６，０２３号明細書、ＰＣＴ公開番号国際公開第２０１０／００３１１８号パンフレット及び同第及び２０１１／０９０７５４号パンフレットに記載されるＧＩＴＲ融合ポリペプチド又は例えば、米国特許第７，０２５，９６２号明細書、欧州特許第１９４７１８３Ｂ１号明細書、米国特許第７，８１２，１３５号明細書、米国特許第８，３８８，９６７号明細書、米国特許第８，５９１，８８６号明細書、欧州特許第１８６６３３９号明細書、ＰＣＴ公開番号国際公開第２０１１／０２８６８３号パンフレット、ＰＣＴ公開番号国際公開第２０１３／０３９９５４号パンフレット、ＰＣＴ公開番号国際公開第２００５／００７１９０号パンフレット、ＰＣＴ公開番号国際公開第２００７／１３３８２２号パンフレット、ＰＣＴ公開番号国際公開第２００５／０５５８０８号パンフレット、ＰＣＴ公開番号国際公開第９９／４０１９６号パンフレット、ＰＣＴ公開番号国際公開第２００１／０３７２０号パンフレット、ＰＣＴ公開番号国際公開第９９／２０７５８号パンフレット、ＰＣＴ公開番号国際公開第２００６／０８３２８９号パンフレット、ＰＣＴ公開番号国際公開第２００５／１１５４５１号パンフレット、米国特許第７，６１８，６３２号明細書及びＰＣＴ公開番号国際公開第２０１１／０５１７２６号パンフレットにおいて記載されるＧＩＴＲ融合ポリペプチドなどのＧＩＴＲ融合ポリペプチド及び抗ＧＩＴＲ抗体（例えば、二価抗ＧＩＴＲ抗体）が挙げられる。

【１２３６】

一実施形態では、本明細書に記載されるＣＡＲ発現細胞は、ＧＩＴＲアゴニスト、例えば、本明細書に記載されるＧＩＴＲアゴニストと組み合わせて対象に投与される。一実施形態では、ＧＩＴＲアゴニストは、ＣＡＲ発現細胞の前に投与される。例えば、一実施形態では、ＧＩＴＲアゴニストは、細胞のアフェレーシスの前に投与され得る。一実施形態では、対象はＣＬＬを有する。

【実施例】

【１２３７】

本発明はさらに、以下の実験上の実施例に対する参照によって詳細に記載される。これらの実施例は、説明のみを目的として提供され、別段の指定がない限り限定を意図するものではない。したがって、本発明は、以下の実施例に限定されるものと解釈されるべきではなく、むしろ、本明細書で提供される教示の結果として明らかになるあらゆる変形形態を包含するものと解釈されるべきである。

【１２３８】

実施例１：ルシフェラーゼアッセイによるＩＫＺＦ３に基づく分解タグの評価

本実施例において、ＩＫＺＦ３に基づく分解タグは、標的タンパク質のレナリドミド依存的分解を促進するその能力について試験された。ＩＫＺＦ３に基づく分解タグは、ヒトＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０及び２３６～２４９を含み、配列番号３のアミノ酸配列を含む。このタグは、本明細書において「ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９」又は「ＨｉｌＤタグ」と称される。ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９は、１６ＧＳリンカーＧＧＧＧＳＧＧＧＧＴＧＧＧＧＳＧ（配列番号２８）を介してナノルシフェラーゼのＮ末端に融合された（図１Ａ）。ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きナノルシフェラーゼをコードするｐＮＬ１．１ＣＭＶベクターは、合計で０ｎｇ、５ｎｇ、５０ｎｇ又は２５０ｎｇのＤＮＡを使用してＨＥＫ２９３Ｔ細胞にリバーストランスフェクトされた（ここでのＤＮＡの値は、３８４ウェルの２５μｌトランスフェクションに基づいたが、これはその後６ウェルディッシュにスケールアップされた）。

【１２３９】

トランスフェクトされた細胞は、０μＭ、１μＭ、１０μＭ又は１００μＭのレナリドミドによる２、４又は６時間の処理の前に、１２８ｎｇ／ｍＬのシクロヘキサミド、１２．８ｎｇ／ｍＬのシクロヘキサミド又は１０μＭのＭＧ１３２による１時間の前処理を受けた。ＤＭＳＯは、溶媒対照として含まれた。発光は、ＶｉｅｗＬｕｘ（登録商標）上で各３８４ウェルのプレートを１秒及び５秒の暴露で読み取ることによって測定された。データは、Ｓｐｏｔｆｉｒｅ（登録商標）にインポートされ、可視化は、次の式によるＮＣ３正規化を行うことによってなされた：１００＊（［発光］／［ＤＭＳＯ］）。

【１２４０】

ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０及び２３６～２４９を含む分解タグは、標的タンパク質のレナリドミド依存的分解を促進できる（図１Ｂ）。ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９は、試験されたＤＮＡの全ての濃度で観察されたナノルシフェラーゼのレナリドミド依存的分解を促進した。最大の分解（約６０％）は、５ｎｇのＤＮＡでトランスフェクトされた細胞において観察された（図１Ｂ）。重要なこととして、レナリドミド依存的分解は、ＭＧ１３２処理によって遮断され、これは標的タンパク質のレナリドミド依存的分解がプロテアソーム依存的であることを示す（図１Ｂ）。ナノルシフェラーゼのレナリドミド依存的分解における明らかな減少は、シクロヘキサミド処理では観察されなかった（データは示さず）。

【１２４１】

実施例２：ウエスタンブロットによるＩＫＺＦ３に基づく分解タグの評価

ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９で促進されたナノルシフェラーゼのレナリドミド依存的分解は、ウエスタンブロットによって評価された。上記のＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きナノルシフェラーゼをコードするｐＮＬ１．１ＣＭＶベクターは、２９３ＧＴ細胞及び２９３ＧＴセレブロン（ＣＲＢＮ）ノックアウト（ＫＯ）細胞にトランスフェクトされた。次に、トランスフェクトされた細胞は、１００μＭ、１０μＭ、１μＭ、０．１μＭ、０．０１μＭ又は０．００１μＭのレナリドミド又はＤＭＳＯにより３７℃で１時間処理された。前処理試料は、１００μＭのレナリドミドによる処理の前に１０μＭのＭＧ１３２により３７℃で１時間処理された。試料は、ペレット化され、溶解され、タンパク質ゲルに流され、膜にトランスファーされ、抗体で探索され、フィルムで現像された。

【１２４２】

データはさらに、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９が、レナリドミド濃度の増加とともに標的タンパク質のレナリドミド依存的分解を促進できたことを示す（ＩＣ５０＝約１０ｎＭ）（図２）。ナノルシフェラーゼのレナリドミド依存的分解は、トランスフェクトされた２９３ＧＴ　ＣＲＢＮ　ＫＯ細胞又はＭＧ１３２で前処理された細胞において観察されなかった（図２）。これらのデータは、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグを有する標的タンパク質のレナリドミド依存的分解が、ＣＲＢＮ及びプロテアソーム依存的であることを示す。

【１２４３】
実施例３：変異体ＩＫＺＦ３に基づく分解タグの設計及び評価
　より短いＩＫＺＦ３に基づく分解タグが、標的タンパク質のレナリドミド依存的分解を促進できたかどうかを決定するために、以下のＩＫＺＦ３に基づく分解タグが設計された：ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０を含んだ「ＩＫＺＦ３　１３６～１８０」（配列番号５のアミノ酸配列を含むタグ）；ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１４５～１７０を含んだ「ＩＫＺＦ３　１４５～１７０」（配列番号９のアミノ酸配列を含むタグ）；及びＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１４０～１６９を含んだ「ＩＫＺＦ３　１４０～１６９」（配列番号２４のアミノ酸配列を含むタグ）。
【１２４４】
　さらに、ＩＫＺＦ３に基づく分解タグは、以下の戦略を用いて改変された：
（１）Ｎ末端及び／又はＣ末端アミノ酸残基を欠失させること；
（２）ＩＫＺＦ３のアルファ－ヘリックスに相当するアミノ酸残基２３６～２４９を、ＭＡＬＥＫＭＡＬＥＫＭＡＬＥ（配列番号９１）のアミノ酸配列と置き換えること；及び／又は
（３）ＩＫＺＦ３のアルファ－ヘリックスにおけるアミノ酸位置２４５でリジン残基をアルギニン又はセリンに変異させること（すなわち、配列番号１９に従って番号付けされるＫ２４５Ｒ又はＫ２４５Ｓ変異を組み込むことによって）。
【１２４５】
　これらの変異体ＩＫＺＦ３に基づく分解タグは、ナノルシフェラーゼのＮ末端に融合され、ＣＭＶプロモーターを有するｐＮＬ１．１ＣＭＶベクターにクローン化された。５ｎｇ（配列番号１９の残基２３６～２４９を含まない全てのタグに関して）又は５０ｎｇ（配列番号１９の残基２３６～２４９を含む全てのタグに関して）の各コンストラクトが、ＨＥＫ２９３Ｔ細胞にトランスフェクトされた。トランスフェクトされた細胞は、１００μＭ、１０μＭ、１μＭ、０．１μＭ、０．０１μＭ又は０．００１μＭのレナリドミド又はＤＭＳＯ対照により３７℃で２～４時間処理された。前処理試料は、１００μＭのレナリドミドによる処理の前に１０μＭのＭＧ１３２により３７℃で１時間処理された。タンパク質分解は、実施例２に記載されるとおりのウエスタンブロットを使用して測定された。
【１２４６】
　２つの試験からの結果は、下に記載される。
【１２４７】
　１つ目の試験において、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９（配列番号３のアミノ酸配列を含むタグ）は、ナノルシフェラーゼのレナリドミド依存的分解を促進した（図３Ｂ）。２４５位（配列番号１９に従って番号付けされる）のリジン残基を、アルギニン（配列番号８４のアミノ酸配列を含むタグ）又はセリン（配列番号１００のアミノ酸配列を含むタグ）に変異させることは、分解を媒介するタグの能力に著しい影響を及ぼさなかった（図３Ｂ）。同様に、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０ＭＡＬＥＫ（配列番号８５のアミノ酸配列を含むタグ）及びＩＫＺＦ３の１３６～１７０ＭＡＬＥＫ（配列番号８６のアミノ酸配列を含むタグ）であって、残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）がヘリックスＭＡＬＥＫＭＡＬＥＫＭＡＬＥ（配列番号１９）で置き換えられたものもまた、レナリドミド依存的分解を促進する能力を保持した（図３Ｂ）。対照的に、ＩＫＺＦ３の１４０～１７０ＭＡＬＥＫ（配列番号８７のアミノ酸配列を含むタグ）、ＩＫＺＦ３の１４１～１６３ＭＡＬＥＫ（配列番号８８のアミノ酸配列を含むタグ）及びＩＫＺＦ３の１４５～１５５ＭＡＬＥＫ（配列番号８９のアミノ酸配列を含むタグ）は、レナリドミド誘導性分解を媒介しなかったが（図３Ｂ）、これは少なくとも最初の４つのアミノ酸ＨＫＲＳ（配列番号４０）（１３６～１３９位、配列番号１９に従って番号付けされる）が分解に必要とされることを示唆している。
【１２４８】
　２つ目の実験において、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０タグ付きナノルシフェラーゼ又は

ＩＫＺＦ３の１３６～１７０ＭＡＬＥＫタグ付きナノルシフェラーゼを発現する細胞は、様々な用量のレナリドミドで２時間処理され、上記のとおりのウエスタンブロットを使用して分析された。両方のタグが、レナリドミド依存的分解を媒介することができた（図４Ａ及び４Ｂ）。分解のレベルは、レナリドミドの濃度が増加するにつれて増大した（図４Ａ及び４Ｂ）。加えて、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０タグ付きナノルシフェラーゼを発現する細胞は、ウエスタンブロット分析の前に次第に時間をかけて１０μＭのレナリドミドで処理した。分解は、１時間目には明らかであり、４時間目までにほぼ完了した（図４Ｃ）。

【１２４９】

実施例４：転写因子に結合したＩＫＺＦ３に基づく分解タグの評価

ＩＫＺＦ３に基づく分解タグは、メラニン形成関連転写因子（ＭＩＴＦ）又はトリ骨髄細胞腫症ウイルス癌遺伝子（ＭＹＣ）ホモログの分解を促進するそれらの能力についてウエスタンブロットによって評価された。ＩＫＺＦ３に基づく分解タグに加えて、ＭＩＴＦ及びＭＹＣは、抗ＦＬＡＧ抗体を使用するそれらの検出を容易にするためにＦＬＡＧタグにも融合された。

【１２５０】

１つ目の試験において、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＭＩＴＦ又はＩＫＺＦ３の１３６～１８０タグ付きＭＩＴＦが、レナリドミド依存的分解に対するそれらの感受性について試験された。細胞は、タグ付きＭＩＴＦ融合物をコードするｐＮＬ１．１ＣＭＶコンストラクトを使用してトランスフェクトされ、様々な濃度のレナリドミドで４時間処理されたか又は１０μＭのレナリドミドで様々な時間処理された後、細胞は、ウエスタンブロット分析にかけられた。一部の細胞を、１００μＭのレナリドミドによる処理の前にＭＧ１３２で前処理した。ＤＭＳＯは、溶媒対照として使用された。図５Ａ及び５Ｂに示されるとおり、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９は、ＭＩＴＦのレナリドミド依存的分解の媒介においてＩＫＺＦの１３６～１８０より効率的であった。分解のレベルは、レナリドミドの濃度（図５Ａ）及びレナリドミド処理の長さ（図５Ｂ）に相関したが、これは、残留している標的タンパク質レベルのレベルを、レナリドミドの投与によって微調整できたことを示唆している。

【１２５１】

２つ目の試験において、リジンを含まないＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９（タグ中の全てのリジン残基がアルギニンに変異されたＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９の変異体）（配列番号４のアミノ酸配列を含むタグ）が、レナリドミド依存的分解を媒介するその能力について試験された。理論に束縛されるものではないが、レナリドミド依存的分解が、ＩＫＺＦに基づくタグ自体ではなく標的タンパク質（本実施例ではＭＩＴＦ）のユビキチン化を介して主に媒介される場合、タグ中の全てのリジン残基をアルギニンで置き換えることが、分解のレベルに対して著しい影響を及ぼさない可能性がある。図６Ａ、６Ｂ、６Ｃ及び６Ｄに示されるとおり、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９分解タグ中の全てのリジン残基を置き換えることは、このタグのＭＩＴＦのレナリドミド依存的分解を媒介する能力に著しい影響を及ぼさなかったが、これは、タグ付きＭＩＴＦの分解が主に、タグ自体ではなくＭＩＴＦのユビキチン化によるものであったことを示唆している。レナリドミド及びポマリドミドの両方が、タグ付きＭＩＴＦの分解を効率的に促進した（図６Ｄ）。

【１２５２】

３つ目の試験において、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０　Ｑ１４７Ｈ（配列番号１９に基づいて番号付けされる１４７位のグルタミン残基がヒスチジンで置き換えられたＩＫＺＦ３の１３６～１８０の変異体）（配列番号２７）が試験された。１４７位のグルタミンは、ＩＭｉＤ誘導性ＣＲＢＮ結合及びＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３の分解に必須であることが示されている（全体が参照により本明細書に組み込まれるＫｒｏｅｎｋｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ．２０１４　Ｊａｎ　１７；３４３（６１６８）：３０１－５）。予想されるとおり、Ｑ１４７Ｈ置換は、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０のＭＩＴＦのレナリドミド依

存的分解を媒介する能力を遮断した（図７）。

【１２５３】

４つ目の試験において、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９は、別の転写因子トリ骨髄細胞腫症ウイルス癌遺伝子（ＭＹＣ）ホモログのレナリドミド依存的分解を媒介するその能力について試験された。ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９がＭＹＣのＮ末端に融合された融合分子でトランスフェクトされたＨＥＫ２９３Ｔ細胞が、様々な濃度のレナリドミドで４時間処理された。ＦＬＡＧタグにも融合されたタグ付きＭＹＣのレベルは、抗ＦＬＡＧ抗体を使用してウエスタンブロットによって評価された。図８に示されるとおり、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９は、タグ付きＭＹＣのレナリドミド依存的分解も媒介した。分解のレベルは、レナリドミドの濃度に相関した（図８）。

【１２５４】

実施例５：膜貫通タンパク質に結合したＩＫＺＦ３に基づく分解タグのウエスタンブロットによる評価

一回膜貫通の細胞表面タンパク質ＣＤ３ゼータ、ＣＤ８、ＣＤ８／ＣＤ３ゼータ、ＣＤ１９及びＣＤ２２のレナリドミド依存的分解を促進するＩＫＺＦ３に基づく分解タグの能力が評価された。ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ（配列番号２のアミノ酸配列を含むタグ）は、１６ＧＳリンカーＧＧＧＧＳＧＧＧＧＴＧＧＧＧＳＧ（配列番号２８）を用いて一回膜貫通タンパク質のＣ末端に融合された）。ウイルスは、ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＣＤ３ゼータ、ＣＤ８、ＣＤ８／ＣＤ３ゼータ、ＣＤ１９及びＣＤ２２のＧｅｎｅｗｉｚから購入したｍａｘｉ　ｐｒｅｐから作製された。安定なジャーカット細胞株がウイルスで形質導入され、ウエスタンブロットによる分析の前に１０μＭのレナリドミドで４時間処理された。全てのタグ付き膜タンパク質はさらに、抗Ｖ５抗体を使用してそれらの検出を容易にするためのＶ５タグを含む。

【１２５５】

図９Ａ、９Ｂ、９Ｃ及び９Ｄに示されるとおり、試験された全てのコンストラクトはレナリドミド依存的分解に対して感受性であったが、感受性のレベルはコンストラクト間で異なった。興味深いことに、細胞質ゾル中により多くのアミノ酸を有する標的タンパク質が、より大きい程度まで分解されたため、レナリドミド依存的分解のレベルと標的タンパク質中の細胞質ゾルアミノ酸の数（図９Ａ）との間には相関があるように見える。

【１２５６】

全体的に見て、これらのデータは、ＩＫＺＦ３に基づく分解タグが、レナリドミドの存在下でＣＤタンパク質（及び一般に一回膜貫通タンパク質）の分解を媒介できる場合があることを示唆する。

【１２５７】

実施例６：膜貫通タンパク質に結合したＩＫＺＦ３に基づく分解タグのフローサイトメトリーによる評価

ＩＫＺＦ３に基づく分解タグに融合された標的タンパク質に対するレナリドミド処理の用量反応効果は、フローサイトメトリーによって評価された。特に、フローサイトメトリー分析を実施して、分解された標的タンパク質の総量と細胞表面上に発現された標的タンパク質の総量の間に差があったかどうかを決定した。

【１２５８】

ＩＫＺＦ３の１３６～１８０及び２３６～２４９タグ付きＣＤ１９を発現するジャーカット細胞が、１μＭ又は１０μＭレナリドミドによる処理の０、１、６、１６及び２４時間後にフローサイトメトリーによって分析された　ＣＤ１９は、抗ヒトＣＤ１９抗体（ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ　５５５４１３）で染色された。

【１２５９】

形質導入されたジャーカット細胞の９０％が表面上にＣＤ１９を発現し、親ジャーカット細胞上では検出可能なＣＤ１９の発現はなかった（図１０Ｅ）。平均蛍光強度（ＭＦＩ）及びＣＤ１９発現のパーセンテージの減少が、細胞がレナリドミドで１６時間又は２４

時間処理された後に観察されたが、これはＭＧ１３２処理によって遮断され得る（図１０Ｃ、１０Ｄ、１０Ｅ及び１０Ｆ）。これは、１０μＭのレナリドミド処理の６時間後にＣＤＲ１９レベルの大幅な低減を示す実施例５に記載されるウエスタンブロット分析において見られたものと異なる。

【１２６０】

これらのデータは、ＩＫＺＦ３に基づく分解タグを使用して、一回膜貫通型タンパク質を選択的に分解できることを示す。

【１２６１】

実施例７：ＨｉｌＤタグ及びＦｕｒＯＮに融合されたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）のウエスタンブロットによる評価

本実施例において、抗ＣＤ１９キメラ抗原受容体ＣＡＲ１９は、ＨｉｌＤタグ及び／又はフューリンデグロン（ＦｕｒＯＮ）により修飾された。ＦｕｒＯＮは、ＣＡＲ分子に融合される場合、スイッチとして機能できる。ＦｕｒＯＮは、２つの構成要素を含む：（１）小分子リガンド（例えば、バゼドキシフェン）の非存在下で適切な立体構造を得ることができない変異されたタンパク質ドメインであるデグロン又は分解ドメイン、及び（２）フューリン切断部位（図１１）。理論に束縛されるものではないが、小分子リガンド（例えば、バゼドキシフェン）の非存在下において、ミスフォールドした／折り畳まれていない分解ドメインは、分解ドメインに融合されているＣＡＲ分子とともに細胞内分解経路によって分解され得る（図１１）。小分子リガンド（例えば、バゼドキシフェン）の存在下において、分解ドメインは適切な立体構造をとり、フューリン切断部位の露出及び分解ドメインの除去をもたらす（図１１）。いくつかの実施形態では、ＦｕｒＯＮスイッチは、ＨｉｌＤスイッチと組み合わされ得る（図１２Ｃ）。これらの２つのスイッチを組み合わせることにより、毒性の存在下でのＣＡＲ発現及び活性を不活性化する速度を増大させることができた（１２Ｃ）。

【１２６２】

ＨｉｌＤタグ付きＣＡＲ１９をコードするポリヌクレオチド配列は、ｐＮＧｘ－ＬＶ＿ｖ００２レンチウイルス発現ベクターにクローン化された。ｇＢｌｏｃｋｓは、ＩＤＴから注文された。表２４は、これらのｇＢｌｏｃｋｓに対する情報を提供する。コンストラクト７６５は、Ｎ末端からＣ末端までに、シグナルペプチド、ＦｕｒＯＮ及びＣＡＲ１９を含む。コンストラクト７６６は、Ｎ末端からＣ末端までに、シグナルペプチド、ＦｕｒＯＮ、ＣＡＲ１９、１６ＧＳリンカー、ＨｉｌＤタグ及びＶ５を含む。コンストラクト７６７は、Ｎ末端からＣ末端までに、シグナルペプチド、ＦｕｒＯＮ、ＣＡＲ１９、１６ＧＳリンカー及びＨｉｌＤタグを含む。コンストラクト７６８は、Ｎ末端からＣ末端までに、シグナルペプチド、ＣＡＲ１９、１６ＧＳリンカー、ＨｉｌＤタグ及びＶ５を含む。コンストラクト７６９は、Ｎ末端からＣ末端までに、シグナルペプチド、ＣＡＲ１９、１６ＧＳリンカー及びＨｉｌＤタグを含む。コンストラクト７７０は、Ｎ末端からＣ末端までに、シグナルペプチド、ＣＡＲ１９、１６ＧＳリンカー及びリジンを含まないＨｉｌＤタグを含む。リジンを含まないＨｉｌＤタグ（表２４において「ＨｉｌＤタグ＿ＮｏＫ」として示される）において、タグ中の全てのリジン残基はアルギニンによって置き換えられている。コンストラクト７７１は、Ｎ末端からＣ末端までに、シグナルペプチド、ＣＡＲ１９、ＨｉｌＤタグ及びＶ５を含む。コンストラクト６７６１は、Ｎ末端からＣ末端までに、シグナルペプチド、ＣＡＲ１９、１６ＫＧＳリンカー、ＨｉｌＤタグ及びＶ５を含む。コンストラクト７７３は、Ｎ末端からＣ末端までに、改変されたシグナルペプチド、ＨｉｌＤタグ、フューリン切断部位及びＣＡＲ１９を含む。コンストラクト７７４は、Ｎ末端からＣ末端までに、シグナルペプチド、ＨｉｌＤタグ、フューリン切断部位及びＣＡＲ１９を含む。簡潔に述べると、ｇＢｌｏｃｋｓは消化され、Ｑｉａｇｅｎ　ＭｉｎＥｌｕｔｅ　ＰＣＲ精製キット（ｃａｔ＃　２８００４）を使用して精製され、ｐＮＧｘ－ＬＶ＿ｖ００２レンチウイルス発現ベクターにライゲートされた。得られたクローンは、配列決定によって確認された。

【１２６３】

【表１５８】

表 24. gBlocks の構成要素

コンストラクト #	gBlocks	アミノ酸配列 (シグナルペプチドが含まれる)の配列番号
765	FurON_CAR19	配列番号 92
766	FurON_CAR19_16GS_HilDタグ_V5	配列番号 93
767	FurON_CAR19_16GS_HilDタグ	配列番号 32
768	CAR19_16GS_HilDタグ_V5	配列番号 94
769	CAR19_16GS_HilDタグ	配列番号 30
770	CAR19_16GS_HilDタグ_NoK	配列番号 31
771	CAR19_HilDタグ_V5	配列番号 95
6761	CAR19_16KGS_HilDタグ_V5	配列番号 96
773	HilDタグ_CAR19_modSigPep	配列番号 97
774	HilDタグ_CAR19	配列番号 98

【１２６４】

ウイルスは、ｍａｘｉ　ｐｒｅｐから調製され、ＪＮＬ細胞を形質導入するために使用された。２７５μＬのウイルス上清又は７００μＬのウイルス上清のいずれかが形質導入のために使用された。ＪＮＬ細胞は、ＮＦＡＴプロモーターの制御下のルシフェラーゼ遺伝子で操作されたジャーカット細胞である。形質導入されたＪＮＬ細胞は、レナリドミド処理の有無におけるＣＡＲ発現についてウエスタンブロットを使用して試験された。

【１２６５】

簡潔に述べると、細胞は、６ウェルのディッシュにおいて合計３ｍＬ中の０．５ｍＬ×10^6個に希釈された。各細胞株を２つのウェルに蒔いた（ＤＭＳＯのためのもの、１０μＭのレナリドミド処理のためのもの）。バゼドキシフェンを、ＦｕｒＯＮを含む融合物を発現する細胞株を含有した全てのウェルに１μＭの最終濃度で添加した。全ての細胞株について、１０μＭの最終濃度のレナリドミド又はＤＭＳＯが添加された。細胞を３７℃及び５％CO_2で一晩インキュベートした。

【１２６６】

化合物処理の２４時間後、細胞をペレット化し、ＰＢＳで洗浄し、プロテアーゼ阻害剤（Ｒｏｃｈｅ　０４６９３１２４００１）を含有する５０μＬのＲＩＰＡ緩衝液（Ｂｏｓｔｏｎ　Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ　ＢＰ－１１５Ｄ）で溶解させた。ライセートを遠心分離し、上清を新しいチューブに移し、タンパク質量をローリーアッセイ（ＢｉｏＲａｄ　５０００１１１）によって読み取った。各試料を、４×試料緩衝液（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　ＮＰ０００７）及び１０×還元剤（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　ＮＰ０００９）で２０μＬ体積中において３０μｇの総タンパク質に正規化した。試料を、１：１０００希釈のマウス抗Ｖ５抗体（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　ＭＡ５－１５２５３）、１：１００００希釈のマウス抗アクチン抗体（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ　Ａ５４４１）及び／又は１：１０００希釈のマウス抗ＣＤ３ｚ抗体（ＢＤ　５５１０３４）を使用するウエスタンブロット分析にかけた。

【１２６７】

予想されるとおり、レナリドミドは、ＨｉｌＤタグを伴わないＦｕｒＯＮ－ＣＡＲ１９に対していかなる影響も及ぼさなかった（図１３Ａ）。ＨｉｌＤタグの存在下において、１０μＭのレナリドミドによる処理は、Ｖ５タグの存在にもかかわらずＦｕｒＯＮ－ＣＡＲ１９をほとんど完全に分解した（図１３Ｂ及び１３Ｃ）。１０μＭのレナリドミド処理は、１６ＧＳリンカー又はＶ５タグの存在にもかかわらず全てのＣＡＲ１９－ＨｉｌＤコンストラクトもほとんど完全に分解した（図１４Ａ～１４Ｃ）。リジンを含まないＨｉｌＤタグ（ＨｉｌＤタグ中の全てのリジン残基がアルギニンに置き換えられた）を含むコンストラクト７７０のレナリドミド依存的分解（図１４Ｄ）は、ＣＡＲ１９の分解が、Ｈｉ

ｌＤタグではなくＣＡＲ１９自体のユビキチン化によって主に媒介されたことを示唆する。
【１２６８】
次に、ＣＡＲ１９分解のキネティクス及びＣＡＲ１９発現の低減のために有効なレナリドミド用量が、ウエスタンブロットによって試験された。コンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）を発現するＪＮＬ細胞は、６ウェルのディッシュにおいて合計３ｍＬ中の０．５ｍＬ×１０^{6}個に希釈された。各細胞株をレナリドミド処理／時点のために複数のウェルに蒔いた。細胞が蒔かれると、試料は、様々な用量（１０μＭ、１μＭ、０．１μＭ、０．０１μＭ又は０．００１μＭ）のレナリドミド又はＤＭＳＯで様々な時間において処理された。細胞が収集され、１：１００００希釈のマウス抗アクチン抗体（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ　Ａ５４４１）又は１：１０００希釈のマウス抗ＣＤ３ゼータ抗体（ＢＤ　５５１０３４）を使用する上記のとおりのウエスタンブロットにかけられた。
【１２６９】
１０μＭのレナリドミドは、時間依存的な様式でＣＡＲ１９－１６ＧＳ－ＨｉｌＤ－タグ融合タンパク質を分解した（図１５Ａ）。分解は、４時間目には明らかであり、８時間目までに最大の分解に達したように見えた（図１５Ａ）。分解のレベルは、８～２４時間まで安定であり、明らかなタンパク質発現の回復はなかった（図１５Ａ）。
【１２７０】
図１５Ｂに示されるとおり、レナリドミドは、１００ｎＭという低い濃度でＣＡＲ１９－１６ＧＳ－ＨｉｌＤ－タグ融合タンパク質を分解した。ＣＡＲ１９の分解は、１００ｎＭを超えるいずれの用量の化合物でも明らかであり（図１５Ｂ）、これは化合物のフック効果がなかったことを示している。より低いレナリドミド濃度で見られるタンパク質分解のタイトレーションは、分解が調整可能であり、正確なＣＡＲ１９レベルがレナリドミドの投薬を調整することによって制御され得ることを示唆する。
【１２７１】
実施例８：ＨｉｌＤタグ及び／又はＦｕｒＯＮに融合されたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）のフローサイトメトリーによる評価
次に、安定に形質導入されたＪＮＬ細胞上でのＣＡＲ１９の表面発現がフローサイトメトリーによって試験された。１日目に、形質導入されたＪＮＬ細胞を、１０μＭのレナリドミドを伴うか又は伴わなずに２４時間蒔いた。ＦｕｒＯＮ－ＣＡＲ１９コンストラクトを発現する細胞を、バゼドキシフェンの存在下又は非存在下でレナリドミドを伴うか又は伴わずに培養した。２日目に、細胞を収集し、ビオチン化プロテインＬ（Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ、Ｍ００００９７）を用いて染色した後、ＰＥコンジュゲートストレプトアビジン（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂ、０１６－１１０－０８４）で染色し、Ｆｏｒｔｅｓｓａ機器を使用するフローサイトメトリー分析にかけた。
【１２７２】
ＨｉｌＤタグがＣＡＲ１９（コンストラクト７６９、７７１、６７６１、７６８及び７７０）のＣ末端に融合された分子に関して、形質導入された細胞は、６０％を超える細胞でＣＡＲ発現を示した（図１６Ａ、１６Ｂ、１６Ｃ、１６Ｄ及び１６Ｅ）。親ＪＮＬ細胞ではＣＡＲ発現は検出されなかった（図１６Ａ、１６Ｂ、１６Ｃ、１６Ｄ及び１６Ｅ）。２４時間の１０μＭのレナリドミドによる処理は、表面ＣＡＲ発現を著しく減少させた（図１６Ａ、１６Ｂ、１６Ｃ、１６Ｄ及び１６Ｅ）。注目すべきことに、リジンを含まないＨｉｌＤタグも表面ＣＡＲ発現のレナリドミド依存的減少を媒介した（図１６Ｅ）。
【１２７３】
ＨｉｌＤタグがフューリン切断部位及びさらにＣＡＲ１９（コンストラクト７７３及び７７４）のＮ末端に融合された分子に関して、形質導入された細胞は、ＣＡＲ発現を示した（図１６Ｆ及び１６Ｇ）。１０μＭのレナリドミドで２４時間インキュベートすることは、表面ＣＡＲ発現に影響を及ぼさなかった（図１６Ｆ及び１６Ｇ）。
【１２７４】
さらに、ＨｉｌＤを伴うか又は伴わないＦｕｒＯＮ－ＣＡＲ１９コンストラクトが、バ

ゼドキシフェン及び／又はレナリドミドの制御下でそれらの表面発現について試験された。図１７Ａ、１７Ｂ及び１７Ｃに示されるとおり、表面ＣＡＲ発現は、バゼドキシフェンの存在下でのみ検出され、レナリドミド依存的な表面ＣＡＲレベルの低減は、ＣＡＲ１９がＨｉｌＤタグに融合された場合においてのみ観察された。

【１２７５】

表２５は、図１６Ａ、１６Ｂ、１６Ｃ、１６Ｄ、１６Ｅ、１６Ｆ、１６Ｇ、１７Ａ、１７Ｂ及び１７Ｃにおいて示されるフローサイトメトリーのデータの概要を提供する。

【１２７６】

【表１５９】

表 25. フローサイトメトリーデータの概要

コンストラクト #	コンストラクト	CAR 発現	バゼドキシフェンの効果	レナリドミドの効果	% CAR 発現の減少
768	CAR19_16GS_HilD タグ_V5	あり	N/A	あり	88
769	CAR19_16GS_HilD タグ	あり	N/A	あり	90
770	CAR19_16GS_HilD タグ_NoK	あり	N/A	あり	83
771	CAR19_HilD タグ_V5	あり	N/A	あり	87
773	HilD タグ_CAR19_modSigPep	あり	N/A	なし	4
774	HilD タグ_CAR19	あり	N/A	なし	5
6761	CAR19_16KGS_HilD タグ_V5	あり	N/A	あり	77
765	FurON_CAR19	あり	あり	なし	N/A
766	FurON_CAR19_16GS_HilD タグ_V5	あり	あり	あり	92
767	FurON_CAR19_16GS_HilD タグ	あり	あり	あり	95

【１２７７】

次に、レナリドミドの用量調節の存在下での表面ＣＡＲ発現が、フローサイトメトリーによって試験された。簡潔に述べると、コンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）又はコンストラクト７７０（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ＿ＮｏＫ）で安定に形質導入されたＪＮＬ細胞を、８種類の異なる濃度のレナリドミドとインキュベートして（２μＭで４時間の処理又は１μＭで２０時間の処理で開始する）、用量反応効果を決定した。続いて、細胞を、ビオチン化プロテインＬ（Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ、Ｍ００００９７）後にＰＥコンジュゲートストレプトアビジン（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂ、０１６－１１０－０８４）を使用する、上記のとおりのフローサイトメトリーによって分析した。

【１２７８】

４時間処理群についての結果は、図１８Ａ及び１８Ｂ並びに表２６において示される。２０時間処理群についての結果は、図１８Ｃ、１８Ｄ、１８Ｅ及び１８Ｆ並びに表２７において示される。４時間のレナリドミド処理の後、ＭＦＩの低減は、％ＣＡＲ発現（ＣＡＲを発現する細胞の％）の若干の減少を有して検出された（表２６）。２０時間の処理の後、レナリドミドは、用量依存的な様式で％ＣＡＲ発現及びＭＦＩをより顕著に減少させた（表２７、図１８Ｅ及び１８Ｆ）。コンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）からの結果とコンストラクト７７０（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ＿ＮｏＫ）からの結果の間に著しい差はなく、これはユビキチン化が、ＨｉｌＤタグ自体

においてよりも標的タンパク質のリジン残基を介して主に起こり得ることを示唆している。

【１２７９】

【表１６０】

表 26. 処理の 4 時間後のレナリドミドの効果

	コンストラクト 769		コンストラクト 770	
レナリドミド濃度 (μM)	% CAR 発現	MFI	% CAR 発現	MFI
2	59.5	2446	50.8	1576
0.633	60.5	2428	51.9	1577
0.2	61	2464	51.9	1700
0.063	64.6	2743	56.7	1945
0.02	66.1	3117	58	2124
0.006	67	3591	63.6	2763
0.002	67.1	4297	51.2	2255
0.001	68.8	4980	52	2224
0	66.8	5975	59.4	3398

【１２８０】

【表１６１】

表 27. 処理の 20 時間後のレナリドミドの効果

	コンストラクト 769		コンストラクト 770	
レナリドミド濃度 (μM)	% CAR 発現	MFI	% CAR 発現	MFI
1	3.42	414	3.44	429
0.3165	6.07	447	4.3	425
0.1001	7.79	533	5.21	425
0.0317	7.49	501	6.83	477
0.01	11.7	592	10.3	502
0.0032	23.8	873	21.2	885
0.001	41.7	1552	35.4	1246
0.0003	57.7	2542	46.8	1731
0	66.8	5975	59.4	3398

【１２８１】

実施例９：ＨｉｌＤタグ及び／又はＦｕｒＯＮに融合されたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）の機能的読み取りを使用する評価

本実施例において、いくつかの試験を実施して、ＣＡＲ１９及びＦｕｒＯＮ－ＣＡＲ１９がＨｉｌＤでタグ付けされた場合に機能的かどうか及びレナリドミドにより誘導された分解が、ジャーカット細胞におけるＣＡＲ１９の機能を消失させるのに十分であったかどうかを決定した。

【１２８２】

この試験は、上記のＪＮＬ細胞株を使用したが、これはＮＦＡＴルシフェラーゼレポーターで修飾されたジャーカット細胞株である。ＣＡＲ１９発現ＪＮＬ細胞とＣＤ１９発現Ｂ細胞の共培養は、ＮＦＡＴシグナル伝達を活性化して、ルシフェラーゼ発現をもたらす。

【１２８３】

１つ目の試験において、コンストラクト７６７（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）又はコンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）を発現するＪＮＬ細胞を蒔いた。コンストラクト７６７（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ

＿ＨｉｌＤタグ）を発現するＪＮＬ細胞を、１μＭのバゼドキシフェンとともにインキュベートした。全てのＪＮＬ細胞を、１０μＭのレナリドミドで４時間又は２４時間処理した。レナリドミドで処理されたＪＮＬ細胞を、Ｎａｌｍ６細胞、Ｋ５６２細胞又はＣＤ１９発現Ｋ５６２細胞とともに４時間、８時間又は２０時間インキュベートした。試料を、製造業者のプロトコルに従ってＢｒｉｇｈｔｇｌｏ（Ｐｒｏｍｅｇａ　Ｅ２６２０）で処理し、発光をＰｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ　Ｖｉｅｗｌｕｘにおいて５秒又は４０秒の露光で読み取った。

【１２８４】

予想されるとおり、発光シグナルは、コンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）を発現するＪＮＬ細胞をＣＤ１９＋標的細胞（Ｎａｌｍ６細胞及びＣＤ１９発現Ｋ５６２細胞）と共培養した場合においてのみ観察された（図１９Ａ）。レナリドミド処理は、４時間のレナリドミド／４時間の標的細胞処理を除いて、全ての場合に発光シグナルをバックグラウンドレベルまで減少させた（図１９Ａ）。一つの可能な説明は、コンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）を発現するＪＮＬ細胞は、このＮＦＡＴルシフェラーゼレポーターアッセイにおける発光シグナルを減少させるためには、８時間より長くレナリドミドで処理されなければならなかったということである。バックグラウンドシグナル（培地試料からのシグナル）を差し引いた後、レナリドミド処理は、ＣＤ１９発現Ｋ５６２細胞と共培養したＣＡＲ発現ＪＮＬ細胞では約９５％、Ｎａｌｍ６細胞と共培養したＣＡＲ発現ＪＮＬ細胞では約８８％の発光シグナルを減少させた。このデータは、ＨｉｌＤタグが、レナリドミドの存在下でＣＡＲ１９機能を著しく低減するのに十分であることを示唆する。

【１２８５】

同様に、発光シグナルは、バゼドキシフェンの存在下において、コンストラクト７６７（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）を発現するＪＮＬ細胞をＣＤ１９＋細胞（Ｎａｌｍ６細胞及びＣＤ１９発現Ｋ５６２細胞）と共培養した場合においてのみ観察された（図２０Ａ）。レナリドミド処理は、バゼドキシフェンと同時に処理された試料においてバックグラウンドレベルまで発光シグナルを減少させた（図２０Ａ）。バックグラウンドシグナル（培地試料からのシグナル）を差し引いた後、レナリドミド処理は、ＣＤ１９発現Ｋ５６２細胞と共培養したＣＡＲ発現ＪＮＬ細胞では約９０％、Ｎａｌｍ６細胞と共培養したＣＡＲ発現ＪＮＬ細胞では約８３％の発光シグナルを減少させた（図２０Ｂ）。このデータは、ＦｕｒＯＮ及びＨｉｌＤタグの両方によって改変されたＣＡＲ１９コンストラクトに関して、ＣＡＲ１９の機能が、バゼドキシフェン処理によって上昇され、さらにレナリドミド処理によって低減され得ることを示唆した。

【１２８６】

２つ目の試験を実施して、レナリドミド依存的分解に対するＨｉｌＤタグ付きＣＡＲ１９又はＦｕｒＯＮ－ＣＡＲ１９の感受性を決定した。コンストラクト７６５（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９）、コンストラクト７６７（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）、コンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）又はコンストラクト７７０（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ＿ＮｏＫ）を発現するＪＮＬ細胞を蒔いた。コンストラクト７６５（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９）又はコンストラクト７６７（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）を発現するＪＮＬ細胞を、１μＭのバゼドキシフェンとともにインキュベートした。３つの処理群があった：「２０時間前－標的細胞」（合計で４４時間のレナリドミド処理）、「４時間前－標的細胞」（合計で２８時間のレナリドミド処理）及び「１６時間後－標的細胞」（合計で８時間のレナリドミド処理）。「２０時間前－標的細胞」群に関して、ＭＧ１３２（１０μＭの最終濃度）は、バゼドキシフェンが添加された３時間後に形質導入されたＪＮＬ細胞に添加され、レナリドミドは、ＭＧ１３２が添加された１時間後に添加され、Ｋ５６２細胞又はＣＤ１９発現Ｋ５６２標的細胞は、レナリドミドが添加された２０時間後に添加された。「４時間前－標的細胞」群に関して、ＭＧ１３２（１０μＭの最終濃度）は、バゼドキシフェンが添加された１９時間後に形質導入されたＪＮＬ細胞に添加され、レナリドミドは、ＭＧ１３２

が添加された１時間後に添加され、Ｋ５６２細胞又はＣＤ１９発現Ｋ５６２標的細胞は、レナリドミドが添加された４時間後に添加された。「１６時間後－標的細胞」群に関して、Ｋ５６２細胞又はＣＤ１９発現Ｋ５６２細胞は、バゼドキシフェンが添加された２４時間後に形質導入されたＪＮＬ細胞に添加され、ＭＧ１３２（１０μＭの最終濃度）は、標的細胞が添加された１５時間後に添加され、レナリドミドは、ＭＧ１３２が添加された１時間後に添加された。標的細胞の共培養物に関して、Ｋ５６２細胞又はＣＤ１９発現Ｋ５６２細胞は、ＪＮＬ細胞を含有する各ウェルに添加され、３７℃及び５％CO_2のインキュベーター中のＧＮＦ　Ｓｙｓｔｅｍｓの超ハイスループットスクリーニングシステムにおいて培養された。Ｋ５６２細胞又はＣＤ１９発現Ｋ５６２細胞が添加された２４時間後、試料を、製造業者のプロトコルに従ってＢｒｉｇｈｔｇｌｏ（Ｐｒｏｍｅｇａ　Ｅ２６２０）で処理し、発光をＰｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ　Ｖｉｅｗｌｕｘにおいて５秒の露光で読み取った。

【１２８７】

予想されるとおり、形質導入されたＪＮＬ細胞のみが、Ｋ５６２細胞ではなくＣＤ１９を発現するＫ５６２細胞に応答した（図２１Ａ、２１Ｂ、２１Ｃ及び２１Ｄ）。ＨｉｌＤタグがない場合、レナリドミド処理は、レポーター応答に影響を及ぼさなかった（図２１Ａ）。バゼドキシフェンの存在下において、コンストラクト７６７（ＦｕｒＯＮ＿ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）を発現するＪＮＬ細胞は、ＣＤ１９発現Ｋ５６２細胞と共培養された後にレポーター活性化を示し、このレポーター活性化は、用量依存的な様式でレナリドミドによって阻害された（図２１Ｂ）。ＩＣ５０は、約５μＭ～０．１μＭの範囲である。レナリドミドのＩＣ５０は経時的に減少した力価に変化し、８時間の処理で最高のＩＣ５０（図２１Ｂの「１６時間後－標的細胞」）及び４４時間の処理で最低のＩＣ５０（図２１Ｂの「２０時間前－標的細胞」）を有した。最高用量のレナリドミドは、４４時間処理群（図２１Ｂの「２０時間前－標的細胞」）及び２８時間処理群（図２１Ｂの「４時間前－ｂ－細胞」）において１００％、及び８時間処理群（図２１Ｂの「１６時間後－標的細胞」）において９０％発光シグナルを減少させた。レナリドミドは、用量依存的な様式でコンストラクト７６９（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ）を発現するＪＮＬ細胞におけるＮＦＡＴルシフェラーゼレポーター活性化も阻害した（図２１Ｃ）。ＩＣ５０は、１μＭから０．０５μＭの範囲であり、レナリドミド処理時間の増加によりＩＣ５０は減少した。最高の２～３用量のレナリドミド（１０μＭ、３．１６μＭ及び１μＭ）は、発光シグナルをほぼ１００％減少させた（図２１Ｃ）。同様に、レナリドミドは、コンストラクト７７０（ＣＡＲ１９＿１６ＧＳ＿ＨｉｌＤタグ＿ＮｏＫ）を発現するＪＮＬ細胞においてレポーター活性を用量依存的に阻害した（図２１Ｄ）。ＩＣ５０は、１μＭから０．０５μＭの範囲であり、レナリドミド処理時間の増加によりＩＣ５０は減少した。最高の２～３用量のレナリドミド（１０μＭ、３．１６μＭ及び１μＭ）は、シグナルをほぼ１００％減少させた（図２１Ｄ）。リジンを含まないＨｉｌＤタグに融合されたＣＡＲ１９について見られたこの応答は、野生型ＨｉｌＤタグに融合されたＣＡＲ１９について観察された応答に類似していたが、これは、ＣＡＲ１９の分解が主に、ＨｉｌＤタグのリジン残基ではなくＣＡＲ１９上のリジン残基のユビキチン化に起因することを示唆している。

【１２８８】

２８時間の１０μＭレナリドミド処理は、ＨｉｌＤタグ付きＣＡＲ分子を発現する全ての細胞株においてＣＡＲ１９発現の減少をもたらし、この減少は、プロテアソーム阻害剤ＭＧ１３２によって部分的にレスキューされ得る（データは示さず）。異なるコンストラクトを発現するＪＮＬ細胞は、それらが異なるレベルのＣＡＲ発現を有したことにより、ＣＤ１９＋細胞に対して異なるレベルの応答をもたらしたため、直接的に比較できなかった。代わりに、比較は、同じ細胞株における処理の間でなされた（図２２Ａ、２２Ｂ、２２Ｃ及び２２Ｄ）。ＦｕｒＯＮを含むコンストラクトに関して、バゼドキシフェン処理は、ＣＤ１９＋細胞の存在下でＮＦＡＴルシフェラーゼレポーターを活性化するのに必要であった（図２２Ａ及び２２Ｂ）。ＨｉｌＤタグの非存在下において、レナリドミド処理は

発光シグナルに影響を及ぼさず、ＭＧ１３２はシグナルを増加させ得る（図２２Ａ）。ＨｉｌＤタグの存在下において、レナリドミド処理は、ＣＤ１９誘導性のレポーター活性化をほとんどバックグラウンドレベルまで減少させ（約８０％）、この減少は、大部分がプロテアソーム阻害剤ＭＧ１３２によってレスキューできた（図２２Ｂ）。ＦｕｒＯＮを含まないコンストラクトは、レポーター活性化のためにバゼドキシフェンを必要としなかった（図２２Ｃ及び２２Ｄ）。ＨｉｌＤタグ付きＣＡＲ１９又はリジンを含まないＨｉｌＤタグ付きＣＡＲ１９を発現するＪＮＬ細胞は、レナリドミドに対して類似した応答を共有した：ＣＤ１９誘導性のＮＦＡＴレポーターシグナルはレナリドミドによって著しく減少され、この減少は、ＭＧ１３２によって部分的にレスキューできた（図２２Ｃ及び２２Ｄ）。

【１２８９】

実施例１０：ＨｉｌＤタグ付きタウタンパク質の評価

方法

コンストラクト

コンストラクトは、遺伝子ブロック（ＩＤＴ）の合成及びギブソン・アッセンブリーによる内製のプラスミドへの導入によって作製された。表２８は、本実施例において使用されるコンストラクトの配列を列挙する。

【１２９０】

【表１６２】

表 28. タウコンストラクトの配列。

配列番号	説明	配列
配列番号 35	タウ 0N4R	MAEPRQEFEVMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGL KAEEAGIGDTPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGA DGKTKIATPRGAAPPGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSG DRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAK SRLQTAPVPMPDLKNVKSKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSN VQSKCGSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPVDLSKVTSKCGSLGNIHHKP GGGQVEVKSEKLDFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTF RENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSPRHLSNVSSTGSIDMVDSPQ LATLADEVSASLAKQGL
配列番号 36	タウ 0N4R P301S	MAEPRQEFEVMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGL KAEEAGIGDTPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGA DGKTKIATPRGAAPPGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSG DRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAK SRLQTAPVPMPDLKNVKSKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSN VQSKCGSKDNIKHVSGGGSVQIVYKPVDLSKVTSKCGSLGNIHHKP GGGQVEVKSEKLDFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTF RENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSPRHLSNVSSTGSIDMVDSPQ LATLADEVSASLAKQGL
配列番号 101	HilD - 16xGS - タウ 0N4R	MHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLC NTASAEARHIKAEMGGGGGSGGGGTGGGGSGMAEPRQEFEVMED HAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAEEAGIGDTPSLE DEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAP PGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTP GSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPDL KNVKSKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKH VPGGGSVQIVYKPVDLSKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKL DFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHGA EIVYKSPVVSGDTSPRHLSNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEVSASLA KQGL

【１２９１】

【表１６３】

配列番号 102	HilD - 16xGS - タウ 0N4R (P301S) - XTEN リンカー - YFP	MHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLC NTASAEARHIKAEMGGGGGSGGGGTGGGGSGMAEPRQEFEVMED HAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAEEAGIGDTPSLE DEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAP PGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTP GSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPDL KNVKSKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKH VSGGGSVQIVYKPVDLSKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKL DFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHGA EIVYKSPVVSGDTSPRHLSNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEVSASLA KQGLGSSGSETPGTSESATPESVSKGEELFTGVVPILVELDGDVNGH KFSVSGEGEGDATYGKLTLKFICTTGKLPVPWPTLVTTFGYGLQCF ARYPDHMKQHDFFKSAMPEGYVQERTIFFKDDGNYKTRAEVKFEG DTLVNRIELKGIDFKEDGNILGHKLEYNYNSHNVYIMADKQKNGIK VNFKIRHNIEDGSVQLADHYQQNTPIGDGPVLLPDNHYLSYQSALS KDPNEKRDHMVLLEFVTAAGITLGMDELYK
配列番号 103	HilD - 16xGS - タウ 0N4R - 16xGS リンカー - ビオチン リガーゼ	MHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLC NTASAEARHIKAEMGGGGGSGGGGTGGGGSGMAEPRQEFEVMED HAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAEEAGIGDTPSLE DEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAP PGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTP GSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPDL KNVKSKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKH VPGGGSVQIVYKPVDLSKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKL DFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHGA EIVYKSPVVSGDTSPRHLSNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEVSASLA KQGLGGGGSGGGGTGGGGSGMDFKNLIWLKEVDSTQERLKEWNV SYGTALVADRQTKGRGGLGRKWISQEGGLYFSFLLNPKEFENLLQ LPLVLGLSVSEALEEITEIPFSLKWPNDVYFQEKKVSGVLCELSKDK LIVGIGINVNQREIPEEIKDRATTLYEITGKDWDRKEVLLKVLKRISE NLKKFKEKSFKEFKGKIESKMLYLGEEVKLLGEGKITGKLVGLSEK GGALILTEEGIKEILSGEFSLRRS

【１２９２】

【表１６４】

配列番号104	HilD-16xGS-タウ0N4R-16xGS-V5リンカー-ビオチンリガーゼ	MHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLC NTASAEARHIKAEMGGGGGSGGGGTGGGGSGMAEPRQEFEVMED HAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAEEAGIGDTPSLE DEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAP PGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTP GSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPDL KNVKSKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKH VPGGGSVQIVYKPVDLSKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKL DFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHGA EIVYKSPVVSGDTSPRHLSNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEVSASLA KQGLGGGGSGGGGTGGGGSGGKPIPNPLLGLDSTGSGMDFKNLIW LKEVDSTQERLKEWNVSYGTALVADRQTKGRGGLGRKWLSQEGG LYFSFLLNPKEFENLLQLPLVLGLSVSEALEEITEIPFSLKWPNDVYF QEKKVSGVLCELSKDKLIVGIGINVNQREIPEEIKDRATTLYEITGKD WDRKEVLLKVLKRISENLKKFKEKSFKEFKGKIESKMLYLGEEVKL LGEGKITGKLVGLSEKGGALILTEEGIKEILSGEFSLRRS
配列番号105	HilD-16xGS-タウ0N4R-33xGS-リンカー-ビオチンリガーゼ	MHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLC NTASAEARHIKAEMGGGGGSGGGGTGGGGSGMAEPRQEFEVMED HAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAEEAGIGDTPSLE DEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAP PGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTP GSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPDL KNVKSKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKH VPGGGSVQIVYKPVDLSKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKL DFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHGA EIVYKSPVVSGDTSPRHLSNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEVSASLA KQGLGGGGSGGGGTGGGGGSGGGGTGGGGGSGGGGTGMDFKNL IWLKEVDSTQERLKEWNVSYGTALVADRQTKGRGGLGRKWLSQE GGLYFSFLLNPKEFENLLQLPLVLGLSVSEALEEITEIPFSLKWPNDV YFQEKKVSGVLCELSKDKLIVGIGINVNQREIPEEIKDRATTLYEITG KDWDRKEVLLKVLKRISENLKKFKEKSFKEFKGKIESKMLYLGEEV KLLGEGKITGKLVGLSEKGGALILTEEGIKEILSGEFSLRRS
配列番号106	HilD-16xGS–タウ0N4R-XTENリンカー-ビオチンリガーゼ	MHKRSHTGERPFQCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLC NTASAEARHIKAEMGGGGGSGGGGTGGGGSGMAEPRQEFEVMED HAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAEEAGIGDTPSLE DEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAP PGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTP GSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPDL KNVKSKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKH VPGGGSVQIVYKPVDLSKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKL DFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHGA EIVYKSPVVSGDTSPRHLSNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEVSASLA KQGLSGSETPGTSESATPESMDFKNLIWLKEVDSTQERLKEWNVSY GTALVADRQTKGRGGLGRKWLSQEGGLYFSFLLNPKEFENLLQLP LVLGLSVSEALEEITEIPFSLKWPNDVYFQEKKVSGVLCELSKDKLI VGIGINVNQREIPEEIKDRATTLYEITGKDWDRKEVLLKVLKRISEN LKKFKEKSFKEFKGKIESKMLYLGEEVKLLGEGKITGKLVGLSEKG GALILTEEGIKEILSGEFSLRRS

【１２９３】

【表１６５】

配列番号107	タウ0N4R-16xGS-ビオチンリガーゼ	MAEPRQEFEVMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGL KAEEAGIGDTPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGA DGKTKIATPRGAAPPGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSG DRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAK SRLQTAPVPMPDLKNVKSKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSN VQSKCGSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPVDLSKVTSKCGSLGNIHHKP GGGQVEVKSEKLDFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTF RENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSPRHLSNVSSTGSIDMVDSPQ LATLADEVSASLAKQGLGGGGSGGGGTGGGGSGMDFKNLIWLKE VDSTQERLKEWNVSYGTALVADRQTKGRGGLGRKWLSQEGGLYF SFLLNPKEFENLLQLPLVLGLSVSEALEEITEIPFSLKWPNDVYFQEK KVSGVLCELSKDKLIVGIGINVNQREIPEEIKDRATTLYEITGKDWD RKEVLLKVLKRISENLKKFKEKSFKEFKGKIESKMLYLGEEVKLLG EGKITGKLVGLSEKGGALILTEEGIKEILSGEFSLRRS
配列番号108	タウ0N4R-16xGS-V5-ビオチンリガーゼ	MAEPRQEFEVMEDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGL KAEEAGIGDTPSLEDEAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGA DGKTKIATPRGAAPPGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSG DRSGYSSPGSPGTPGSRSRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAK SRLQTAPVPMPDLKNVKSKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSN VQSKCGSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPVDLSKVTSKCGSLGNIHHKP GGGQVEVKSEKLDFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTF RENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSPRHLSNVSSTGSIDMVDSPQ LATLADEVSASLAKQGLGGGGSGGGGTGGGGSGGKPIPNPLLGLD STGSGMDFKNLIWLKEVDSTQERLKEWNVSYGTALVADRQTKGR GGLGRKWLSQEGGLYFSFLLNPKEFENLLQLPLVLGLSVSEALEEIT EIPFSLKWPNDVYFQEKKVSGVLCELSKDKLIVGIGINVNQREIPEEI KDRATTLYEITGKDWDRKEVLLKVLKRISENLKKFKEKSFKEFKGK IESKMLYLGEEVKLLGEGKITGKLVGLSEKGGALILTEEGIKEILSGE FSLRRS

【１２９４】

ビオチンリガーゼトランスフェクション及びビオチン免疫沈降

６ウェルの組織培養ディッシュ中で増殖されたＨＥＫ２９３Ｔ細胞は、６μＬのリポフェクタミン２０００を使用して、２００μＬの最終体積のＯｐｔｉｍｅｍ培地中において３マイクログラムのＦＬＡＧタグ付きＣＲＢＮ及び２．１マイクログラムの指定のタウ融合コンストラクトでトランスフェクトされた。トランスフェクションの４８時間後、細胞を５０μＭのビオチン（ＤＭＳＯ中で調製された１００ｍＭの原液から希釈された）及びＤＭＳＯ（１～１０，０００）又は１マイクロモル濃度のレナリドミドのいずれかで処理した。細胞を２１時間インキュベートし、続いて１×Ｈａｌｔプロテアーゼ阻害剤（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ ＃１８６１２８１）を含有する３００μＬの氷冷Ｍ－ＰＥＲ緩衝液（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ ＃７８５０１）を含む氷冷ＰＢＳ中での洗浄の後に溶解させた。細胞ライセートを除去し、ＢＣＡ反応によってタンパク質を定量し、Ｍ－ＰＥＲ緩衝液中でタンパク質濃度を正規化した。２０％の細胞ライセート（６０μＬ）を、ＩＰ－溶解緩衝液（１５ｍＭ Ｔｒｉｓ ｐＨ７．５、１２０ｍＭ ＮａＣｌ、２５ｍＭ ＫＣｌ、２ｍＭ ＥＧＴＡ、２ｍＭ ＥＤＴＡ、０．５％Ｔｒｉｔｏｎ Ｘ－１００、１×Ｈａｌｔプロテアーゼ阻害剤）で４倍に希釈し、５０μＬのストレプトアビジンＭ－２８０磁性Ｄｙｎａｂｅａｄｓ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｃａｔ ＃１１２０５Ｄ）とともに室温で３０分間インキュベートした。その後、ビーズをＩＰ溶解緩衝液で３回洗浄し、続いて最終的にプロテアーゼ阻害剤を含有する２０μＬのＭ－ＰＥＲ緩衝液中で溶解させた。４×ＮｕＰａｇｅ ＬＤＳ緩衝液を、この免疫沈降された材料中において１×の最終濃度まで添加し、細胞ライセートを同様に希釈した。次に、１０×ＮｕＰａｇｅ還元緩衝液を１×の濃度まで添加し、試料を９５℃で５分間加熱した。細胞ライセート又は免疫沈降された材料を、１０％Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ Ｃｒｉｔｅｒｉｏｎ ＸＴゲル（ＢｉｏＲａｄ

３４５０１１１）上に流し、ブロットし（ＴｕｒｂｏＢｌｏｔ）、示されるとおりの一次抗体とインキュベートした。ＬｉＣｏｒ　ＲＤｙｅ　８００ＣＷヤギ抗ウサギ（＃９２５－３２２１１）又は６８０　ＲＤ（＃９２５－６８０７０）二次抗体をインキュベートし、シグナルをＬｉ－Ｃｏｒ　Ｏｄｙｓｓｅｙ　ＣＬｘイメージングステーション上で測定した。

【１２９５】

ＨＥＫ２９３Ｔ細胞におけるＨｉｌＤ－タウ－ＹＦＰ融合物の画像分析

トランスフェクションの１日前に、野生型ＨＥＫ２９３Ｔ又はＣＲＢＮノックアウト（ＫＯ）ＨＥＫ２９３Ｔ細胞を、９６ウェルプレートにおいてウェル当たり２２．５Ｋ細胞で播種した。次に、細胞を、０．０２マイクログラムのＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）融合コンストラクトでトランスフェクトした。トランスフェクションの１日後、ウェルを様々な濃度のレナリドミドで処理した。一晩の処理の後、細胞を、４％ＰＦＡ及び４％スクロースの最終溶液中において１５分間固定した。固定された細胞をＰＢＳで洗浄した。次に、細胞を、１：５０００のＨｏｅｃｈｓｔ及び１：１００００のＣｅｌｌｍａｓｋ　ＨＣＳで１５分間インキュベートし、洗浄し、続いて画像化した。

【１２９６】

プレートを、Ｉｎｃｅｌｌ　Ａｎａｌｙｚｅｒ　６０００上で２０×対物レンズによる取得並びにＤＡＰＩ、ＦＩＴＣ及びＣｙ５チャンネルを使用して画像化した。次に、画像データを、ｃｅｌｌｐｒｏｆｉｌｅｒを用いて定量化し、ここで、細胞核は、Ｈｏｅｃｈｓｔ染色により分割され、さらに細胞体は核対象を分割された細胞の端に拡張することによって同定され、Ｃｅｌｌ　ｍａｓｋ染色によって同定された。次に、この細胞対象を使用して、ＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰに相当するＦＩＴＣ強度を測定した。

【１２９７】

ＨＥＫ２９３Ｔトランスフェクション及びウエスタン分析によるＨｉｌＤ－タウ分解の定量化

トランスフェクションの１日前に、ＨＥＫ２９３Ｔ細胞を、２４ウェルプレートにおいてウェル当たり１５０，０００個の密度で蒔いた。次に、細胞を、０．１７５マイクログラムのＨｉｌＤ－タウ（野生型）でトランスフェクトした。トランスフェクションの４時間又は２４時間後、ウェルを用量反応のレナリドミドで処理した。細胞を一晩インキュベートした。次に、細胞を氷冷ＰＢＳで洗浄し、Ｈａｌｔプロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤を補充した８５μＬのＮ－ＰＥＲ緩衝液（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　＃８７７９２）中で溶解させた。プレートを、時折振盪させながら１５分間氷上でインキュベートした。次に、ライセートを１５０００ｇ、４℃で１５分間の遠心分離により清澄化した。ＬＤＳ緩衝液及び還元剤を、清澄化されたライセートに添加し、続いて試料を９５℃で８分間加熱した。試料を、１５０Ｖで７０分間１０％ｂｉｓ－ｔｒｉｓゲルに流した。ブロットを、Ｂｉｏｒａｄのｔｕｒｂｏｂｌｏｔを用いてトランスファーした（混合分子量設定）。ブロットを、ＤＡＫＯタウ（全タウ）（Ｄａｋｏ　＃Ａ００２４）、アクチン（Ｃｅｌｌ　ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　＃３７００Ｓ）及びＡＴ８（ホスホ－タウ）（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　＃ＭＮ１０２０）で探索した。ブロットを、Ｓｕｐｅｒｓｉｇｎａｌ　ｗｅｓｔ　ｆｅｍｔｏ化学発光基質（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　＃３４０９５）で現像した。

【１２９８】

ウエスタンのバンドの定量化は、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｓｙｃｈｉａｔｒｙ（２０１７）２２，４１７－４２９に従った。

【１２９９】

ラット神経細胞の解剖及びヌクレオフェクション

ラットの皮質を、胎生期１８．５日目のラットから単離した。単一細胞懸濁液を、３ｍＬのＨｉｂｅｒｎａｔｅ　Ｅ（－Ｃａ）溶液（Ｂｒａｉｎｂｉｔｓ　＃ＨＥＣＡ）中で希釈したパパイン（Ｂｒａｉｎｂｉｔｓ　＃ＰＡＰ）中において３７℃で１５分間消化することによって調製し；次に、ＤＮアーゼ（０．５　ｍｇ／ｍＬの濃度まで）を補充し；粉砕し；３７℃で１０分間インキュベートし；粉砕し；そして最後に４０μｍのセルストレー

ナーに通して濾過した。約８００万個の細胞をＰ３溶液（Ｌｏｎｚａ ｎｕｃｌｅｏｆｅｃｔｉｏｎ ｋｉｔ ＃Ｖ４ＸＰ－１０２４）を用いて２マイクログラムの指定されたプラスミドでヌクレオフェクションした。４Ｄヌクレオフェクター上のプログラムＣＵ－１３３を使用した。次に、細胞を、１％血清を含有するｎｅｕｒｏｂａｓａｌ培地（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ ＃２１１０３）で希釈し、９６ウェルＢｉｏｃｏａｔ（Ｃｏｒｎｉｎｇ ＃３５６６４０）プレートのウェル当たり８０，０００個の細胞の密度で蒔いた。高い初期プレーティング密度を必要とするヌクレオフェクションの後に相当な細胞死が発生したことに留意されたい。翌日、培地を、血清を欠く培地と完全に交換した。

【１３００】

７日毎に培地を５０％交換した。９日目に、化合物を、指定の最終濃度で培地に添加した。ＹＦＰシグナルの画像化は、Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ ＯｒｂｉｔｏｒＲＳロボットを介してＬｉｃｏｎｉｃ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ ＩＣインキュベーター（Ｃａｔ ３９１１８０７００）／プレートホテルに連結されたＩｎＣｅｌｌ ６０００システム（Ｇｅｎｅｒａｌ Ｅｌｅｃｔｒｉｃ）を用いて指定の間隔で実施された。

【１３０１】

ヒト神経細胞のヌクレオフェクション

ヒト多能性幹細胞（ｈＰＳＣ）を、ビトロネクチンでコーティングされた組織培養プレート上のＥ８培地（Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）中で維持した。ｈＰＳＣのコンフルエントな単層を、培地をＰｈ Ｉに変えることによって神経性に転換した（培地の製法については下を参照のこと）。誘導の７日後、細胞を、アキュターゼを含む単一細胞懸濁液に解離し、２マイクロモル濃度のチアゾビビン及び１０ｎｇ／ｍＬ ＦＧＦ２（最終））が補充されたＰｈ ＩＩ／ＩＩＩ培地を含むスピナーフラスコ中において１ミリリットル当たり１５０万個の細胞で播種し、４０ｒｐｍのｍｉｃｒｏ－ｓｔｉｒプレート上おいて３７℃で４日間インキュベートした。次に、培地をＰｈ ＩＩ／ＩＩＩに変え、１週間に２回５０％の培地を変えながら神経球をさらに６０ｒｐｍで１７日間培養した。２８日目に、培地をＰｈ ＩＶに変え、１週間に２回５０％の培地を変えながら培養物をさらに２１日維持した。４９日目からは、培養物を、維持のためのＰｈ Ｖ培地に切り替え、ラミニン、フィブロネクチン及びマトリゲルでコーティングされたプレート上で神経細胞のプレートダウンのためにパパインキット（Ｗｏｒｔｈｉｎｇｔｏｎ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）で解離させた。単一細胞懸濁液は、２マイクログラムのコンストラクトでヌクレオフェクションされた（１つの反応当たり１０００万個の細胞）。ウェル当たり８０，０００個の細胞を９６ウェルプレートに蒔いた。神経細胞を、フェーズ５培地＋ブラストサイジン中でインキュベートした。培地は、１週間に２回変えられた（５０％）。

【１３０２】

フェーズＩ培地：基剤：Ａｄｖａｎｃｅｄ ＤＭＥＭ／Ｆ１２；Ｇｌｕｔａｍａｘ（１Ｘ）（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ ＃３５０５０）；Ｐｅｎ／Ｓｔｒｅｐ（１ｘ）（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ ＃１５１４０）；Ｎ－アセチル－システイン（５００マイクロモル濃度）；ヘパリン（２マイクログラム／ｍＬ）；ＳＢ４３１５４２（１０マイクロモル濃度）；ＬＤＮ１９３１８９（１００ｎＭ）；ＸＡＶ９３９（２マイクロモル濃度）；Ｎ２サプリメント（０．５％ｖ／ｖ）。

【１３０３】

フェーズＩＩ／ＩＩＩ培地：基剤：Ａｄｖａｎｃｅｄ ＤＭＥＭ／Ｆ１２；Ｇｌｕｔａｍａｘ（１Ｘ）；Ｐｅｎ／Ｓｔｒｅｐ（１Ｘ）；Ｎ－アセチル－システイン（５００マイクロモル濃度）；ヘパリン（２マイクログラム／ｍｌ）；Ｎ２サプリメント（０．５％ｖ／ｖ）；Ｂ２７サプリメント（１％ｖ／ｖ）（Ｌｉｌｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ ＃１７５０４）；ＦＧＦ２（１０ｎｇ／ｍＬ、最初の４日；２．５ｎｇ／ｍＬ、フェーズＩＩ／ＩＩＩの残り）；ＬＤＮ１９３１８９（１００ｎＭ）；ＣＨＩＲ９９０２１（２０ｎＭ）；レチノイン酸（５ｎＭ）。

【１３０４】

フェーズＩＶ培地：基剤：Ａｄｖａｎｃｅｄ ＤＭＥＭ／Ｆ１２；ＧｌｕｔａＭａｘ（

１ｘ）；Ｐｅｎ／Ｓｔｒｅｐ（１ｘ）；ヘパリン（２マイクログラム／ｍＬ）；Ｎ２サプリメント（０．５％ｖ／ｖ）；Ｂ２７サプリメント（０．４％ｖ／ｖ）；フォルスコリン（１０マイクロモル濃度）；塩化カルシウム（６００マイクロモル濃度）。

【１３０５】

フェーズＶ培地：基剤：Ａｄｖａｎｃｅｄ ＤＭＥＭ／Ｆ１２；ＧｌｕｔａＭａｘ（１ｘ）；Ｐｅｎ／Ｓｔｒｅｐ（１ｘ）；ヘパリン（２マイクログラム／ｍＬ）；Ｎ２サプリメント（０．５％ｖ／ｖ）；Ｂ２７サプリメント（１％ｖ／ｖ）；フォルスコリン（１０マイクロモル濃度）；塩化カルシウム（６００マイクロモル濃度）；ＢＤＮＦ（５ｎｇ／ｍＬ）；ＧＤＮＦ（５ｎｇ／ｍＬ）。

【１３０６】

不溶性タウ画分の作製

サルコシル不溶性分画を、Ｐ３０１Ｓ変異を有するタウの全長ヒト０Ｎ４Ｒアイソフォームを過剰発現する内製タウトランスジェニックマウスモデルである６ヶ月齢５８／４（ｔｇ／ｔｇ）トランスジェニックマウスに対して実施した。簡潔に述べると、マウスから単離された脳組織を、プロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤並びに０．１％サルコシルを含む９：１（ｖ／ｗ）の高塩緩衝液（１０ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣＬ、ｐＨ７．４、０．８Ｎａｃｌ、１ｍＭ ＥＤＴＡ及び２ｍＭジチオスレイトール）中でホモジナイズした。ホモジネートを、１０，０００ｇおいて４℃で１０分間遠心分離し、上清を収集した。ペレットを、同じ緩衝液条件を用いて２回再抽出し、全ての上清をプールした。追加のサルコシルを、１％の最終サルコシル濃度になるまで上清に添加した。室温で１時間章動させた後、試料を２８０，０００ｇおいて４℃で１時間遠心分離した。最後に、得られたペレットをＰＢＳ（３００ｕｌ／組織のｇ）中で再懸濁し、手持ち式プローブ（ＱＳｏｎｉｃａ）を用いて短い間超音波処理した（２０％の力で１０回、１０秒周期）。この最終画分は、使用するまで－８０℃で保管され、サルコシル不溶性タウ画分と呼ばれた。

【１３０７】

結果

凝集傾向のあるタウ変異を含むＨｉｌＤ－タウ融合物を作製して、タウタンパク質の凝集傾向のある毒性形態の分解をモニターするためのツールを構築した（図２３）。

【１３０８】

１つ目の実験において、タウに対するＨｉｌＤタグの融合が、免疫調節性薬剤のレナリドミドによる処理を介するＥ３リガーゼセレブロン（ＣＲＢＮ）の動員を誘導できたかどうかが試験された。ＨｉｌＤ－タウ－ビオチンリガーゼ融合物が作製された（図２４Ａ）。ビオチンリガーゼは、ビオチンに曝されると、半径数十ナノメートル内の近接したタンパク質と共有結合する反応性ビオチン種を生成する。対照条件ではなくレナリドミドで処理すると、ＨｉｌＤ－タウ－ビオチンリガーゼは、ＨＥＫ２９３Ｔ細胞においてＨｉｌＤ－タウ－ビオチンリガーゼコンストラクトと共トランスフェクトされたＦＬＡＧタグ付きＣＲＢＮコンストラクトの強固なビオチン化を引き起こした（図２４Ｂ）。このことから、ＨＩｌＤタグがレナリドミド三元錯体形成を介してＣＲＢＮをタウに動員できることが確認される。

【１３０９】

次に、異種細胞においてＣＲＢＮ動員によってタウが分解され得るかどうかが試験された。ＨＥＫ２９３Ｔ細胞は、Ｎ末端ＨｉｌＤタグ及びＣ末端ＹＦＰ（黄色蛍光タンパク質）レポーターと融合されたタウの毒性の凝集傾向のある形態である０Ｎ４ＲタウＰ３０１Ｓでトランスフェクトされた。このコンストラクトの発現は、細胞において経時的に毒性をもたらす。レナリドミドによる処理は、ＹＦＰ発現を減少させ（図２５Ａ及び２５Ｂ）、ＨＥＫ細胞の生存能を向上させた（図２５Ｃ）。これは、ＨｉｌＤ－タウ融合物を使用して、神経変性疾患において見出されるような毒性タウタンパク質の分解の細胞保護的な作用を明らかにできることを示す。

【１３１０】

さらに、ＹＦＰタグを欠くタウがＨＥＫ２９３Ｔ細胞において分解されるかどうかが試

験された。レナリドミド処理は、アクチン負荷対照に対するウエスタン分析によって定量されるとおり、タウレベルを減少させた（図２６Ａ）。興味深いことに、トランスフェクトされるＤＮＡ量を減らすことによるタウ発現量の減少は、特にリン酸化形態のタウの分解の効率を増大させた（図２６Ａ、下部のパネル）。このことは、この系を使用して、異なるレベルのタウタンパク質を分解するためのＥ３リガーゼ及びプロテアソーム系の能力が探索される可能性があり、さらに、この系を使用して、誘導性分解に対する毒性タンパク質の特定の形態の選択的脆弱性が探索される可能性があることを示唆する。リン酸化タウの減少が亢進されたことは、タウの特定のサブタイプがより分解されやすいか、又はこのエピトープを含有するタウの断片がタウの他のアイソフォームよりも大幅に分解されることを示唆する。

【１３１１】

タウの分解がＣＲＢＮ　Ｅ３リガーゼの動員を介して媒介されることをさらに検証するための一連の対照実験において、ＣＲＢＮを欠くＨＥＫ２９３Ｔ細胞においてＨｉｌＤ－タウ又はＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰの分解を試験したところ、分解が起こらないことが確認された（図２６Ｂ及び２６Ｃ）。さらに、分解は、ＮＥＤＤ付加阻害剤ＭＬＮ４９２４に対して感受性であった（図２６Ｄ）。ＮＥＤＤ付加は、Ｅ３リガーゼＣＲＢＮの活性に必須であり、このことは、ＣＲＢＮのユビキチン化活性が、タウを標的とした分解に必要とされることを示している。

【１３１２】

次に、タウ媒介性の神経変性疾患に関する疾患関連細胞型である神経細胞においてタウが分解されるかどうか、及びタウをユビキチン化することによるこの分解過程により、副産物として凝集したタウが生成されるかどうかが調査された。最初に、ＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰ融合物は、このコンストラクトによりヌクレオフェクションされた神経細胞を、変異体タウを過剰発現するトランスジェニックマウスから単離された齧歯類の脳の不溶性画分で処理することにより、凝集のための能力があることが確証された。ＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰの凝集は、神経細胞の細胞体及び樹状突起内の強い点状のＹＦＰ蛍光によって示されるとおり明らかに目に見えた（図２７）。

【１３１３】

加えて、胚組織から調製されたラット初代皮質神経細胞及びヒト胚性幹細胞由来の神経球からトランスフェクトされた神経細胞及び神経前駆細胞において、ＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰの分解感受性が試験された（図２８及び２９）。一次神経細胞において、ＨｉｌＤ－タウ（Ｐ３０１Ｓ）－ＹＦＰは、単独及びＦＬＡＧタグ付きヒトセレブロンと共トランスフェクトした場合の両方でレナリドミド誘導性分解について試験された。サリドマイド及びレナリドミドなどのいわゆる免疫調節性薬剤は、齧歯類では催奇形性などヒトと異なる作用を呈することが報告されているが、この系では、レナリドミドはヒトＣＲＢＮと共トランスフェクトされていない場合でもＨｉｌＤ－タウ－ＹＦＰの分解を誘導した（図２８）。このことは、この系が、神経変性疾患動物モデルにおけるタウ分解の影響を評価するために、トランスジェニックマウスにＨｉｌＤタウをノックインすることなどにより、齧歯類系において機能する可能性があることを示す。ＨｉｌＤ－タウ－ＹＦＰコンストラクトは、細胞体とプロセス全体で、タウの生理学的な局在と一致する神経細胞における細胞内分布を示した。レナリドミドの分解により、神経細胞体全体にわたってタウレベルの広範な低減が明らかになり、このことは、この系が、Ｅ３リガーゼＣＲＢＮが神経細胞体の区画に全体にわたって分布する可能性があることを検証するために使用され得ることを示している。この系に関するＹＦＰ標識の使用も、時間をかけたライブセルイメージングを繰り返すことにより、分解のキネティクスの直接の決定を可能にした。分解は齧歯類及びヒトの神経細胞の両方で強固であり（図２９）、神経細胞におけるタウを標的とするタンパク質分解の原理の証明として機能した。どちらのケースでも、ＣＲＢＮのレナリドミド媒介性の動員によって形成された凝集タウの目に見える証拠はなかった。

【１３１４】

ＨｉｌＤ－タウ系は凝集するように誘導され得るため、凝集タウがユビキチン化される

かどうか、及びプロテアソームによって分解されるかどうかの状況を評価するために使用され得ることが想定される。

【１３１５】

実施例１１：ジャーカット細におけるＣＡＲ１９－ＨｉｌＤの評価

この試験は、ジャーカット細胞におけるＣＡＲ１９－ＨｉｌＤに対するレナリドミドのキネティクス及びＣＡＲ１９の発現がレナリドミドを細胞から洗浄した後に戻るかどうかを試験する。

【１３１６】

方法

細胞処理：ＣＡＲ１９－１６ＧＳ－ＨｉｌＤタグで形質導入されたジャーカット細胞が、希釈され、２つのフラスコ中に播種された。細胞を蒔いた後、経時的な収集のために一方のフラスコをＤＭＳＯで処理し、他方のフラスコを１０μＭレナリドミドで処理した。化合物処理後１、２、４、６、８、１２及び２４時間でのフローサイトメトリー及びウエスタンブロットのために各フラスコから３ｍｌの細胞を収集した。レナリドミドで処理されたフラスコ中の細胞を、２４時間の時点で２つのフラスコに分けた。一方は「洗浄」と標識され、他方は「処理」と標識された。レナリドミドを、３００ｇでの遠心分離によって「洗浄」細胞から洗い流し、新鮮な培地中で３回再懸濁させ、他方の半分を以前から培地中に存在する残留レナリドミドとともに分けた（１０μＭレナリドミド処理は１回のみ実施された）。細胞を、洗浄の１、２、４、６時間後及び化合物処理後３６、４８、６０及び７２時間後に収集した。

【１３１７】

ウエスタンブロット：細胞をペレット化し、ＰＢＳで洗浄し、ペレットを、プロテアーゼ阻害剤（Ｒｏｃｈｅ　０４６９３１２４００１）を含む５０μｌのＲＩＰＡ緩衝液（Ｂｏｓｔｏｎ　Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ　ＢＰ－１１５Ｄ）で溶解させた。ライセートを遠心分離し、上清を新しいチューブに移し、タンパク質量をローリーアッセイ（ＢｉｏＲａｄ　５０００１１１）によって読み取った。各試料を、４×試料緩衝液（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　ＮＰ０００７）及び１０×還元剤（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　ＮＰ０００９）で２０μＬ体積中において３０μｇの総タンパク質に正規化した。試料を４～１２％のＢｉｓ－Ｔｒｉｓアクリルアミドゲル（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　ＷＧ１４０２ＢＯＸ）上に流した。ゲルは二つ組において流され、一方がアクチンに対して探索され、他方がＶ５又はＣＤ３Ｚに対して探索された。ゲルをニトロセルロース膜にトランスファーし、膜を次の抗体：１：１００００希釈のマウス抗アクチン（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ　Ａ５４４１）及び１：１０００希釈のマウス抗ＣＤ３ｚ（ＢＤ　５５１０３４）の１つとともにＴＢＳ－０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０中の３％ミルク中で一晩インキュベートした。翌日、ブロットを、ＴＢＳ－０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０中で洗浄し、１：１００００ヒツジ抗マウスＨＲＰ二次抗体（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ　ＮＡ９３１）を含むＴＢＳ－０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０中の３％ミルク中に室温で１時間置いた後、ブロットを洗浄し、ＥＣＬ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　３４０７６）で現像した。

【１３１８】

フローサイトメトリー：細胞を、Ｕ底プレート中に収集し、１×ＰＢＳを用いて洗浄した。洗浄した細胞を、１：１０００×で１μｇ／ｍｌに希釈した１００μＬのビオチン化プロテインＬ（Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ　Ｍ０００９７）で染色した。一次抗体を４℃で４５分間インキュベートした。インキュベーションの後、細胞を、ＰＢＳを用いて洗浄した。細胞を、１：３００×希釈のＰＥコンジュゲートストレプトアビジン（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂ　０１６－１１０－０８４）と４℃で３０分間インキュベートした。細胞をＰＢＳで２回洗浄し、１００μＬの固定化緩衝液（ＰＢＳ中の２％パラホルムアルデヒド）中において室温で１０分間懸濁した。固定された細胞をＰＢＳで洗浄し、１５０μＬのＰＢＳ中で懸濁した。次に、これらの細胞を、ＢＤ　ＬＳＲＦ　Ｆｏｒｔｅｓｓａ細胞分析機器を用いて得た。死細胞を、ＦＳＣ及びＳＳＣプロットを用いてサイズに基づいて除外した。

生細胞を、それらのＰＥ　ＣＡＲ発現について分析した。ＦＡＣＳの結果は、染色されていないＪＮＬ親細胞株を用いてゲーティングされ、各試料について１０ｋイベントが記録された。

【１３１９】

結果

図３０Ａにおいてウエスタンブロットを用いて示されるとおり、１０μＭのレナリドミドは時間依存的様式でＣＡＲ１９－ＨｉｌＤを分解し、レナリドミドが洗い流された後、ＣＡＲ１９－ＨｉｌＤ発現が戻った。この観察は、フローサイトメトリーを用いて確認された。レナリドミドは経時的にＣＡＲ１９－ＨｉｌＤを分解し続け、レナリドミドを洗い流すことによってＣＡＲ１９－ＨｉｌＤ表面発現が増加した（図３０Ｂ）。

【１３２０】

実施例１２：初代Ｔ細胞におけるＣＡＲ１９－ＨｉｌＤの評価

この試験では、レナリドミドの初代Ｔ細胞におけるＣＡＲ発現及び機能に対する用量反応効果を分析する。

【１３２１】

最初に、レナリドミド処理を２４時間及び４８時間伴う場合又は伴わない場合のＣＡＲ１９－ＨＩＬＤ　ＣＡＲＴ細胞におけるＣＡＲの表面発現を試験した。２番目に、ＣＤ１９発現細胞の存在下でのＣＡＲ　Ｔ死滅及びサイトカイン産生に対するレナリドミドの影響を分析した。

【１３２２】

方法

ｐＥＬＰＳベクターウイルスの産生：ＬｅｎｔｉＸ－２９３Ｔ細胞（Ｃｌｏｎｅｔｅｃｈ　６３２１８０）を、１０％のＦＢＳを含むＤＭＥＭ中において３７℃及び５％のCO_2で培養した。細胞を５枚の１５ｃｍ組織培養プレート（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　３５６４５１）において２５ｍｌのＤＭＥＭ、１０％ＦＢＳ中に１プレート当たり１４×１０＾６個の細胞で播種し、一晩インキュベートした。翌日、１５μｇのｐＥＬＰｓベクターを、１５ｃｍプレート毎にレンチウイルスパッケージングミックス（１８μｇのｐＲＳＶ．ＲＥＶ、１８μｇのｐＭＤＬｇ／ｐ．ＲＲＥ及び７μｇのｐＶＳＶ－Ｇ）、９０μｌのリポフェクタミン２０００（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　１１６６８－０１９）及び３ｍｌのＯｐｔｉＭＥＭ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　１１０５８０２１）と組み合わせ、蒔かれた細胞に添加した。翌日、培地を除去し、１５ｍｌの新鮮な培地と置き換えた。細胞を３０時間インキュベートした後、ウイルスを収集し、５００ｇで１０分間遠心分離し、０．４５μＭの酢酸セルロースフィルター（Ｃｏｒｎｉｎｇ　４３０３１４）に通して濾過した。ウイルス上清をＬｅｎｔｉ－Ｘ濃縮機（Ｃｌｏｎｅｔｅｃｈ　６１１２３２）を用いて４℃で一晩濃縮し、１５００ｇおいて４℃で４５分間ペレット化した後、上清の吸引を行い、ＤＭＥＭ、１０％ＦＢＳ中において初期体積の１／１００で再懸濁した。ウイルスを等分し、－８０℃で保管した。

【１３２３】

ＳＵＰＴ１力価：１００μＬのＳＵＰＴ１細胞を、２Ｅ５細胞／ｍｌで平底９６ウェルプレートに蒔いた。５０μＬの希釈されたウイルスを細胞に加えた。プレートをCO_2中において３７℃で一晩インキュベートした。１００μＬのＲＰＭＩ培地を各ウェルに添加し、プレートをインキュベーターに戻した。形質導入の４日目に、細胞を収集し、プロテインＬについて染色し、ＣＡＲ発現をＦｌｏｗ　Ｊｏを用いて分析した。

【１３２４】

１０日間のＣＡＲＴ増殖：ＣＡＲＴ細胞は、Ｔ細胞のＣＤ３リンパ球についての陰性選択によってナイーブＴ細胞が得られた健常ドナーからアフェレーシス産物を出発させることによって作製された。Ｔ細胞は２４ウェルプレートの１ウェル当たり１ｍＬの培地中において０．５×10^6個のＴ細胞で培養した。これらの細胞は、Ｔ細胞培地中において１：３（Ｔ細胞対ビーズ）の比でＣＤ３／ＣＤ２８ビーズ（Ｄｙｎａｂｅａｄｓ（登録商標）ヒトＴ－Ｅｘｐａｎｄｅｒ　ＣＤ３／ＣＤ２８）の添加によって活性化された。

【１３２５】
２４時間後、Ｔ細胞は、ＣＡＲＴ１９又はＣＡＲＴ１９－ＨｉｌＤに関して、形質導入されていない（ＵＴＤ）ままであったか又は４の感染多重度（ＭＯＩ）で形質導入された。Ｔ細胞増殖は、１ｍＬ当たりの細胞数を測定することによってモニターされ、Ｔ細胞は、２日おきに新鮮な培地中で希釈された。７日目に、１００万個の細胞を２４ウェルプレートに移して、３つの異なる濃度１μＭ、０．１μＭ及び０．０１μＭで２４時間又は４８時間レナリドミドの効果を評価した。形質導入された細胞（細胞表面にＣＤ１９特異的ＣＡＲを発現する細胞）のパーセンテージは、ＦＡＣＳ Ｆｏｒｔｅｓｓａ（ＢＤ）上のフローサイトメトリー分析によって決定された。
【１３２６】
ＦＡＣＳ染色：
細胞を収集し、ＰＢＳで洗浄した。次に、細胞を、１００μＬのビオチン化プロテインＬとともに４℃で４５分間インキュベートした。次に、細胞を、ＰＢＳを用いて洗浄し、１：３００×希釈のＰＥコンジュゲートストレプトアビジン及び１：２００希釈のＢＶ４２１ ＣＤ３抗体とともに４℃で３０分間インキュベートした。次に、細胞をＰＢＳで２回洗浄し、１００μＬの固定化緩衝液２％パラホルムアルデヒド中において室温で１０分間懸濁した。固定された細胞をＰＢＳで洗浄し、１５０μＬのＰＢＳ中で懸濁した。次に、これらの細胞がＦｏｒｔｅｓｓａ機器において得られ、結果をＦｌｏｗ Ｊｏソフトウェアを用いて分析した。
【１３２７】
凍結ＣＡＲＴ細胞をＴ細胞培地中で解凍し、両方がルシフェラーゼを発現するＣＤ１９陰性（Ｋ５６２細胞）又はＣＤ１９陽性標的細胞（Ｎａｌｍ６細胞）のいずれかと共培養した。ＣＡＲＴ細胞の数とＴ細胞の総数の両方を、試料全体を通して正規化し；後者は、ＵＴＤ細胞を添加することによって得られた。標的細胞数を一定の２５，０００細胞に保ちながらＣＡＲＴ細胞のタイトレーションを行った。探索された最高のエフェクター：Ｔ細胞比（Ｅ：Ｔ）は２０：１であり、８点の希釈曲線が使用された。レナリドミドは、１μＭの最終濃度で添加された。共培養実験は、透明底黒色プレート中で２００μＬの最終体積において実施された。２０時間のインキュベーション後、１００μＬの上清を除去し、サイトカインレベルを測定した。残りに対して１００μＬのＢｒｉｇｈｔ－Ｇｌｏルシフェラーゼアッセイ試薬（基質＋酵素）を添加し、室温で１０分間インキュベートした。％死滅は、式：比溶解（％）＝（１－（試料発光／平均最大発光））＊１００を用いて測定された。
【１３２８】
結果
図３１Ａに示されるとおり、ＣＡＲ１９及びＣＡＲ１９－ＨｉｌＤの形質導入効率は同等であった。ＣＡＲ１９又はＣＡＲ１９－ＨｉｌＤで形質導入された初代Ｔ細胞の増殖率も同等であった。レナリドミド処理は、ＣＡＲ１９の増殖に影響を及ぼさなかった（図３１Ｂ）。対照的に、ＣＡＲ１９－ＨｉｌＤを発現する細胞は、レナリドミド処理下でＣＡＲ１９発現の用量依存的減少を示した（図３１Ｃ）。ＣＡＲ発現に対する影響は、４８時間でより顕著であった（図３１Ｃ）。
【１３２９】
ＣＤ１９陰性細胞に対する低いバックグラウンドの死滅は、レナリドミドの添加にかかわらず試料全体を通して観察された（図３２Ａ）。レナリドミドの非存在下でのＣＡＲＴ１９及びＣＡＲＴ１９－ＨｉｌＤのＣＤ１９陽性細胞を死滅させる能力は同等であった（図３２Ｂ及び３２Ｃ）。レナリドミドの添加後、ＣＡＲＴ１９－ＨｉｌＤの死滅曲線はわずかに移動した（図３２Ｃ）。
【１３３０】
ＣＡＲＴ１９及びＣＡＲＴ１９ ＨｉｌＤは、レナリドミドの非存在下でＣＤ１９陽性細胞に応答して同等レベルのＩＦＮガンマ（図３３Ａ）及びＩＬ２（図３３Ｂ）を分泌した。レナリドミドの存在下において、ＣＡＲＴ１９ ＨｉｌＤ細胞により分泌されるＩＦ

Ｎガンマ及びＩＬ２のレベルは低減した（図３３Ａ及び３３Ｂ）。ＣＡＲＴ１９のサイトカインを分泌する能力は、レナリドミドの添加に対して免疫性であった（図３３Ａ及び３３Ｂ）。

【１３３１】

要約すると、この試験は、ＣＡＲ１９構造に対してＨｉｌＤタグを付加することが、これらのＣＡＲＴの培養液中で増殖する能力に影響を及ぼさないことを実証している。レナリドミドは、用量依存的な様式でＣＡＲ１９－ＨｉｌＤを発現するＴ細胞における表面ＣＡＲ発現の減少をもたらす。

【１３３２】

ＣＡＲＴ１９　ＨｉｌＤの活性は、レナリドミドの非存在下でＣＡＲＴ１９に匹敵する。ＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤ細胞による死滅及びサイトカイン分泌は、標的細胞特異的である。

【１３３３】

本明細書で実施される死滅アッセイにおいて、レナリドミドは、ＣＡＲＴ１９－ＨｉｌＤの標的細胞を死滅させる能力をわずかに減退させる。本明細書で使用される実験条件下で、標的細胞は、ＣＡＲＴが共添加されると直ちに死滅し始める。図３２Ｃにおける細胞死滅のわずかな移動は、おそらくＣＡＲ１９－ＨｉｌＤ分解のキネティクスよりも細胞死滅のキネティクスが速いという事実に起因している可能性がある。

【１３３４】

レナリドミドは、ＣＡＲＴ１９ではなくＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤのサイトカインを分泌する能力を妨害する。

【１３３５】

実施例１３：インビボでのＣＡＲ１９－ＨｉｌＤの評価

この試験は、ＣＡＲ１９－ＨｉｌＤを発現するＴ細胞のインビボ活性及びレナリドミドによるその制御を試験する。

【１３３６】

方法

異種移植マウスモデル

６～８週齢の雌ＮＯＤ．Ｃｇ－Ｐｒｋｄｃ^{ｓｃｉｄ} Ｉｌ２ｒｇ^{ｔｍ１Ｗｊｌ}／ＳｚＪマウス（ＮＳＧ）は、Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓから購入された。動物試験は、ＮＩＢＲの動物実験委員会によって承認されたプロトコルの下で実施された。ＮＳＧマウスに、１．０×１０^{6}個のルシフェラーゼ処理されたＮａｌｍ－６を静脈内接種した。数日後、ＣＡＲ－Ｔ細胞は、担腫瘍マウスに静脈内注入された；別段の指定のない限り、レナリドミドは同時に経口投与された。腫瘍量は、ＩＶＩＳによって測定され、目的の領域（ＲＯＩ）における輝度として定量され、これは一般に１頭のマウスの面積であった。２０％を超える体重の減少又は後肢麻痺の発症時にマウスは安楽死された。移植片対宿主病とは、指定の動物におけるＮａｌｍ－６ルシフェラーゼシグナルに起因しない脱毛、行動変化及び明らかな健康状態の低下と定義された。

【１３３７】

脾細胞のＣＡＲ発現分析

脾臓は、試験の最後に上記のインビボ有効性試験において使用されたマウスから収集された。収集された脾臓は、単一細胞懸濁液にホモジナイズされた（脾臓又は脾臓由来の細胞はプールされなかった）。細胞をＲＰＭＩ培地で洗浄し、１ｍＬの凍結培地中で凍結させた。染色当日に細胞を、１０％血清を含むＲＰＭＩ培地で解凍した。ＣＤ１６／ＣＤ３２受容体を遮断するために、細胞をマウスＦｃブロック（１：１００希釈）と室温で１４分間インキュベートした。細胞を洗浄し、１μｇ／ｍＬの最終濃度の１００μＬのビオチン化タンパク質と４℃で４５分間インキュベートした。ＰＢＳで洗浄した後、細胞を、１：３００希釈のＰＥコンジュゲートストレプトアビジンと４℃で３０分間インキュベートした。次に、細胞をＰＢＳで２回洗浄し、１００μＬの２％パラホルムアルデヒド固定化緩衝液中において室温で１０分間懸濁した。固定された細胞をＰＢＳで洗浄し、１５０μ

ＬのＰＢＳ中で懸濁した。次に、細胞がＦｏｒｔｅｓｓａ機器において得られ、結果をＦｌｏｗ　Ｊｏソフトウェアを用いて分析した。

【１３３８】

以下は、脾臓を収集したマウスの群である。各群は３頭のマウスを有した。

群１．－　ＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤ（５×１０^{6}）

群２．－　ＣＡＲＴ１９－ＨｉｌＤ（５×１０^{6}）＋Ｌｅｎａ　ｑｄ

群３．－　ＣＡＲＴ１９－ＨｉｌＤ（５×１０^{6}）＋Ｌｅｎａ　ｂｉｄ

群４．－　ＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤ（５×１０^{6}）＋Ｌｅｎａ＋５日

【１３３９】

結果

レナリドミドは、インビボでのＮａｌｍ６増殖にほとんど影響を及ぼさなかった（データは示さず）。

【１３４０】

インビボでのＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤの治療有効性を決定するために、担腫瘍マウスを、５．０×１０^{6}、２．５×１０^{6}又は１．０×１０^{6}個ＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤで治療した。５．０×１０^{6}個のＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤは、２．５×１０^{6}個のＣＡＲＴ１９と同等の比率の腫瘍退縮をもたらしたが、２．５×１０^{6}個のＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤは、腫瘍増殖を部分的にのみ制御できた（図３４）。１．０×１０^{6}個のＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤは、有効性を示さなかった（図３４）。４０日間を超えて維持された用量依存的活性に加えて、３０ｍｇ／ｋｇ　ｂｉｄのレナリドミド処理は、ＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤの腫瘍増殖を制御する能力を全体的に消失させることができる（図３４）。このような結果は、図３２Ｃに示される腫瘍細胞溶解アッセイにおいて、インビトロで得られた結果とは対照的である。レナリドミド処理後の末梢血液中のＣＡＲＴ細胞の減少は、フローサイトメトリーによっても確認された（図３５）。

【１３４１】

インビボでの養子移入Ｔ細胞機能の制御は、ＣＡＲＴ療法に関連する潜在的な毒性を予防又は克服するために重要である。したがって、ＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤが腫瘍を制御した後にＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤ活性が消失され得るかどうかがさらに調査された。Ｎａｌｍ６担腫瘍ＮＳＧモデルにおいてレナリドミド用量の時間経過試験を実施した。ＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤ移入直後にレナリドミドを投与されたマウスは、インビボでの腫瘍増殖を制御する能力を失った（図３６）。ＣＡＲＴ１９ＨｉｌＤ細胞の養子移入後５日目にレナリドミドを投与されたマウスは、レナリドミド投与の数日後に腫瘍の再発を示した（図３６）。ＣＡＲＴ１９．ＨｉｌＤの活性は、レナリドミドの非存在下でＣＡＲＴ１９に匹敵した（図３６）。

【１３４２】

マウスの脾細胞に由来するＣＤ３＋細胞におけるＣＡＲ発現が分析された。ＣＡＲ１９又はＣＡＲ１９－ＨｉｌＤを発現するＴ細胞で治療されたマウスに由来するＣＤ３細胞におけるＣＡＲ発現は、同等であった（図３７Ｅ）。ＣＡＲ１９－ＨｉｌＤ及びレナリドミドで治療された全てのマウスは、脾臓に由来するＣＤ３陽性細胞におけるＣＡＲ発現の著しい減少を示した（図３７Ｂ～３７Ｅ）。

【１３４３】

実施例１４：ＣＡＲＢタグ設計

ＣＡＲＢタグは、表２９に開示される化合物Ｉ－１１２とともにデグロンとして利用され得るＩＫＺＦ２由来のヘアピン配列に基づく。

【１３４４】

レナリドミドなどのＩＭｉＤ化合物は、ＩＫＺＦ２ではなくＩＫＺＦ１及び３の分解を誘導できる。化合物Ｉ－１１２は、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３ではなくＩＫＺＦ２を特異的に分解すると同定された。ＨｉｌＤタグはＩＫＺＦ１／ＩＫＺＦ３ヘアピンに基づくため、それはＩＭｉＤによってのみ分解され得る。この試験では、ＩＫＺＦ２に基づくヘアピン（ＣＡＲＢタグ）が、化合物Ｉ－１１２により分解され得るかどうかを調査する。

【１３４５】
方法
設計：初期のＣＡＲＢタグ配列は、ＩＫＺＦ２　ＣＤＳ（ＮＭ＿０１６２６０）に由来した。タグのＮ末端部分は、Ｈ１３０～Ｓ１７４に由来し、Ｃ末端はＡ２３０～Ｄ２４３に由来する。完全なアミノ酸配列は、
【化６３】

HKRSHTGERPFHCNQCGASFTQKGNLLRHIKLHSGEKPFKCPFCSAGQVMSHHVPPMED (配列番号109)

である。上の下線領域は、Ｃ末端部分である。ＨｉｌＤタグのように、ＣＡＲＢタグは、１６ＧＳリンカー（ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＴＧＧＧＧＳＧ（配列番号２８））とともに目的のタンパク質に付加される。１６ＧＳ－ＣＡＲＢタグＤＮＡは、いずれかの端に制限酵素部位を有して設計され、組込みＤＮＡ技術によってｇＢｌｏｃｋとして合成された。ＤＮＡ配列が以下に示される。
【化６４】

CAGTCAGTGGGCCTCGGCGGCCAAGCTTGGCAATCCGGTACTGTTGGTgAAGCCAttCACCatgc
ataaaaggagtcacactggtgaacgccccttccactgtaaccagtgtggagcttcttttactcagaagggcaaccttctgagacacataaagttacactctg
gagagaagccgttcaaatgtcctttctgtagcgctgggcaggtcatgagtcaccatgtacctcctatggaagatggtggtggcgggagcggaggtggag
gcacgggcggtggaggttcggggAacgttATGCTGGAAATGCTAGAATATAA (配列番号110)

上記のＣＡＲＢタグ配列を有する全体のＣＡＲ１９（ＣＴＬ１１９）に関しても、ｇＢｌｏｃｋｓが設計され、合成された。ＤＮＡ配列が以下に示される。
【化６５】

ccatttcaggtgtcgtgagcggccgctctagagccGAattCGgatccatggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacg
ccgctcggcccgaaattgtgatgacccagtcaccctgccactcttagcctttcaccctggtgagcgcgcaaccctgtcttgcagagcctcccaagacatctc
aaaatatccttaattggtatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggctccattctggaatccctgccaggttcagcg
gtagcggatctgggaccgactacaccctcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaagggaacaccctgccctacac
ctttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggaggtggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagccaggtccaactccaagaaa
gcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtgagcggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagcca
ccggggaagggtctggaatggattggagtgatttggggctcAgagactacttactaccaatcatccctcaagtcTcgcgtcaccatctcaaaggacaac
tctaagaatcaggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatg
gattactggggacagggtactctggtcaccgtgtccagcaccactaccccagcaccgaggccacccaccccggctcctaccatcgcctcccagcctctg
tccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgcataccccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttgggcccctctggctg
gtacttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaaccctttcatgaggcctgtg
cagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagat
gctccagcctaccagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaagcggagaggacgg
gacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcga
gattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttca
catgcaggccctgccgcctcggggtggtggcgggagcggaggtggaggcacgggcggtggaggttcggggcataaaaggagtcacactggtgaac
gccccttccactgtaaccagtgtggagcttcttttactcagaagggcaaccttctgagacacataaagttacactctggagagaagccgttcaaatgtcctttt
ctgtagcgctgggcaggtcatgagtcaccatgtacctcctatggaagatTAAgtcgacgcgtAACCCAGCTTTCTTGTACAAAGT
GGTTGATATCCAGCACAGTGGCGGCGCGCCATTCCGCCCCTCTCCCTC (配列番号111)

ＣＡＲ１９－１６ＧＳ－ＣＡＲＢタグの未完成のアミノ酸配列は、配列番号１１２として開示される。

【１３４６】

クローン化：ｇＢｌｏｃｋｓは、ＦＬＡＧタグを有するＭＩＴＦ（ＮＭ＿０００２４８）又はＶ５タグを有するＣＤ１９（ＮＭ＿００１７７０）のいずれかを駆動するＣＭＶプロモーターを有する哺乳動物発現ベクターのように制限酵素で消化されて、これらの最終コンストラクト：ＣＤ１９－１６ＧＳ－ＨｉｌＤ－Ｖ５（実施例５に記載されるコンストラクト）及びＣＡＲＢタグ－１６ＧＳ－ＭＩＴＦ－ＦＬＡＧを生成した。

【１３４７】

ＣＴＬ１１９－１６ＧＳ－ＣＡＲＢタグ ｇＢｌｏｃｋｓも制限酵素で消化されたが、ＥＦ１ａプロモーターを含有するレンチウイルス性哺乳動物発現ベクターにクローン化された。

【１３４８】

実施例１５：ＣＡＲＢタグ 化合物Ｉ－１１２用量反応ウエスタンブロット、フローサイトメトリー及びＪＮＬ ＣＡＲ１９機能性アッセイ

この試験は、化合物Ｉ－１１２の投与後のＣＡＲ１９の分解に対するＣＡＲＢタグの有効性を決定することを目的とする。

【１３４９】

方法

ｐＮＧＸ＿ＬＶ＿Ｖ００２ベクターウイルスの産生：ＨＥＫ２９３Ｔ細胞（ＡＴＣＣ ＣＲＬ－３２１６）を、１０％のＦＢＳを含むＤＭＥＭ中において３７℃及び５％のCO_2で培養した。細胞を、２ｍｌのＤＭＥＭ、１０％ＦＢＳ中において０．７５×１０＾６細胞／ウェルおいてコラーゲンでコーティングされた６ウェルプレートに播種し、一晩インキュベートした。翌日、ｐＮＧＸ＿ＬＶ＿Ｖ００２ベクター（０．２３μｇ）及びレンチウイルスパッケージングミックスＤＮＡ（０．２８μｇ）（Ｃｅｌｌｅｃｔａ ＣＰＣ－Ｋ２Ａ）を５５．１μｌ ＯｐｔｉＭＥＭ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ １１０５８０２１）中の１．５μｌ ＴｒａｎｓＩＴトランスフェクション試薬（Ｍｉｒｕｓ ＭＩＲ２７００）と混合し、蒔かれた細胞に添加し、これを一晩インキュベートした。翌日、培地を細胞から除去し、１ｍｌの新鮮な培地を添加した。細胞を７２時間インキュベートした。ウイルス上清を細胞から収集し、０．４５μＭの酢酸セルロースフィルター（Ｃｏｒｎｉｎｇ ４３０５１６）に通して濾過し、等分し、－８０℃で保管した。

【１３５０】

ウイルス力価：８倍希釈のウイルスを、１：３倍で始めて、ＲＰＭＩ及び１０％ＦＣＳを用いて作製した。１００μＬのＳＵＰＴ１細胞を、２Ｅ５細胞／ｍｌで平底９６ウェルプレートに蒔いた。５０μＬの希釈されたウイルスを、二つ組で細胞に加えた。プレートをCO_2中において３７℃で一晩インキュベートした。１００μＬのＲＰＭＩ培地を各ウェルに加え、プレートをインキュベーターに戻した。形質導入の４日目に、細胞を収集し、プロテインＬについて染色し、ＣＡＲ発現をＦｌｏｗ Ｊｏを用いて分析した。

【１３５１】

細胞処理：ＮＦＡＴルシフェラーゼレポーターを含有するジャーカット細胞は、ＣＡＲ１９又はＣＡＲ１９－ＣＡＲＢタグのいずれかにより４の感染多重度（ＭＯＩ）で感染された。使用前に細胞を１週間増殖させた。細胞は、６ウェルのディッシュにおいて合計３ｍＬ中の０．５×１０＾６個に希釈された。細胞を蒔いた後、試料を１０μＭ、１μＭ、０．１μＭ、０．０１μＭ及び０．００１μＭの化合物Ｉ－１１２及びＤＭＳＯで即座に処理した。ウエスタンブロッティング及びフローサイトメトリー分析のために、全ての細胞を最初の化合物処理の２４時間後に収集した。

【１３５２】

ウエスタンブロット：細胞をペレット化し、ＰＢＳで洗浄し、ペレットを、プロテアーゼ阻害剤（Ｒｏｃｈｅ ０４６９３１２４００１）を含む５０μｌのＲＩＰＡ緩衝液（Ｂｏｓｔｏｎ Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ ＢＰ－１１５Ｄ）で溶解させた。ライセートを遠心

分離し、上清を新しいチューブに移し、タンパク質量をローリーアッセイ（ＢｉｏＲａｄ５０００１１１）によって読み取った。各試料を、４×試料緩衝液（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ ＮＰ０００７）及び１０×還元剤（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ ＮＰ０００９）で２０μＬ体積中において３０μｇの総タンパク質に正規化した。試料を４～１２％のＢｉｓ－Ｔｒｉｓアクリルアミドゲル（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ ＷＧ１４０２ＢＯＸ）上に流した。ゲルは、一方がアクチンに対して、他方がＶ５又はＣＤ３Ｚに対して、二つ組において流された。ゲルをニトロセルロース膜にトランスファーし、膜を次の抗体：１：１００００希釈のマウス抗アクチン（Ｓｉｇｍａ Ａｌｄｒｉｃｈ Ａ５４４１）；及び１：１０００希釈のマウス抗ＣＤ３ｚ（ＢＤ ５５１０３４）の１つとともにＴＢＳ－０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０中の３％ミルク中で一晩インキュベートした。翌日、ブロットを、ＴＢＳ－０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０中で洗浄し、１：１００００ヒツジ抗マウスＨＲＰ二次抗体（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ ＮＡ９３１）を含むＴＢＳ－０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０中の３％ミルク中に室温で１時間置いた後、ブロットを洗浄し、ＥＣＬ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ ３４０７６）で現像した。

【１３５３】

フローサイトメトリー：細胞を、Ｕ底プレート中に収集し、１×ＰＢＳを用いて洗浄した。洗浄した細胞を、１：１０００×で１μｇ／ｍｌに希釈した１００μＬのビオチン化プロテインＬ（Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ Ｍ０００９７）で染色した。一次抗体を４℃で４５分間インキュベートした。インキュベーションの後、細胞を、ＰＢＳを用いて洗浄した。細胞を、１：３００×希釈のＰＥコンジュゲートストレプトアビジン（Ｊａｃｋｓｏｎ Ｌａｂ ０１６－１１０－０８４）と４℃で３０分間インキュベートした。細胞をＰＢＳで２回洗浄し、１００μＬの固定化緩衝液（ＰＢＳ中の２％パラホルムアルデヒド）中において室温で１０分間懸濁した。固定された細胞をＰＢＳで洗浄し、１５０μＬのＰＢＳ中で懸濁した。次に、これらの細胞を、ＢＤ ＬＳＲＦ Ｆｏｒｔｅｓｓａ細胞分析機器を用いて得た。死細胞を、ＦＳＣ及びＳＳＣプロットを用いてサイズに基づいて除外した。生細胞を、それらのＰＥ ＣＡＲ発現について分析した。フローサイトメトリーの結果は、染色されていないＪＮＬ親細胞株を用いてゲーティングされ、各試料について１０ｋイベントが記録された。

【１３５４】

ジャーカットＮＦＡＴルシフェラーゼ（ＪＮＬ）ＣＡＲ機能性アッセイ：ＣＡＲ１９－ＣＡＲＢタグ細胞を、２０ｍｌのＲＰＭＩ １６４０培地（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ １１８７５－０８５）１０％ＦＢＳ １×ｐｅｎ／ｓｔｒｅｐ中において０．５×１０＾６個に希釈した。２０μｌ（０．５×１０＾６個）のこの細胞株を、白色底３８４ウェルプレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ７８９１６３－Ｇ）中に蒔いた。化合物Ｉ－１１２を、１０μＭの最高の最終濃度を有する８点の１／２－対数希釈でＬａｂｃｙｔｅ ＥＣＨＯ超音波ディスペンサーを用いて３８４ウェルプレートに添加した。プレートを、３７℃、５％CO_2で１５時間インキュベートした。Ｋ５６２及びＮａｌｍ６細胞を、０．５×１０＾６細胞／ｍｌで再懸濁した。８点の化合物Ｉ－１１２で処理された細胞の半分が、２０μｌのＫ５６２を受容し、他の半分が２０μｌのＮａｌｍ６細胞を受容した。細胞を３７℃、５％CO_2のインキュベーターで８時間保管した。次に、試料を４０μｌ（１：１）のＢｒｉｇｈｔ Ｇｌｏ（Ｐｒｏｍｅｇａ Ｅ２６２０）で処理し、発光を、Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ’ｓ Ｖｉｅｗｌｕｘを用いて２０秒の露光で読み取った。

【１３５５】

結果

ＣＡＲ１９－ＣＡＲＢタグのタンパク質レベルは、化合物Ｉ－１１２処理の２４時間後に用量依存的な低減を示す（図３８Ａ）。同様に、化合物Ｉ－１１２処理は、ＪＮＬ ＣＡＲ１９－ＣＡＲＢタグ細胞においてＣＡＲの表面発現も減少させた（図３８Ｂ）。上記のＪＮＬ ＣＡＲ機能性アッセイにおいて示されるとおり、ＣＡＲ１９－ＣＡＲＢタグ細胞のみがＣＤ１９＋細胞Ｎａｌｍ６に応答し、この応答は、化合物処理の量が増加するにつれて用量依存的な様式で低減される（図３８Ｃ）。

【１３５６】
実施例１６：タンパク質分解の直交系としてのＣＡＲＢタグ及びＨｉｌＤタグの使用
この試験は、化合物Ｉ－１１２処理時にＣＡＲＢタグ付きタンパク質が細胞において分解され得るかどうかを決定することを目的とする。ＨｉｌＤタグ付きタンパク質及びＣＡＲＢタグ付きタンパク質の両方が共発現されるとき、各タンパク質の発現が、レナリドミド処理（ＨｉｌＤタグ付きタンパク質に関する）又は化合物Ｉ－１１２処理（ＣＡＲＢタグ付きタンパク質に関する）のいずれかにより独立して制御され得るかどうかも試験される。
【１３５７】
方法
細胞性の遺伝子発現及び処理：ＨＥＫ２９３Ｔ（ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－３２１６）細胞を、１０％のＦＢＳ及びｐｅｎ／ｓｔｒｅｐを含むＤＭＥＭ中において３７℃及び５％のCO_2で培養した。細胞は、３：１　ＦｕＧｅｎｅ　ＨＤ対ＤＮＡ比を使用するＦｕＧｅｎｅ　ＨＤ（Ｐｒｏｍｅｇａ　Ｅ２３１１）を用いてＣＡＲＢタグ－１６ＧＳ－ＭＩＴＦ－ＦＬＡＧ又はＣＡＲＢタグ－１６ＧＳ－ＭＩＴＦ－ＦＬＡＧのいずれか及びＣＤ１９－１６ＧＳ－ＨｉｌＤ－Ｖ５によりトランスフェクトされた。トランスフェクトされた細胞を２４時間インキュベートした後、１０μＭの最終濃度で始まる４点の対数希釈においてレナリドミド又は化合物Ｉ－１１２のいずれかの処理を行った。細胞を指定の化合物で２４時間処理し、続いてウエスタンブロットのために調製した。
【１３５８】
ウエスタンブロット：化合物処理の２４時間後、細胞をペレット化し、ＰＢＳで洗浄し、ペレットを、プロテアーゼ阻害剤（Ｒｏｃｈｅ　０４６９３１２４００１）を含む５０μｌのＲＩＰＡ緩衝液（Ｂｏｓｔｏｎ　Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ　ＢＰ－１１５Ｄ）で溶解させた。ライセートを遠心分離し、上清を新しいチューブに移し、タンパク質量をローリーアッセイ（ＢｉｏＲａｄ　５０００１１１）によって読み取った。各試料を、４×試料緩衝液（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　ＮＰ０００７）及び１０×還元剤（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　ＮＰ０００９）で２０μＬ体積中において３０μｇの総タンパク質に正規化した。試料を４～１２％のＢｉｓ－Ｔｒｉｓアクリルアミドゲル（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　ＷＧ１４０２ＢＯＸ）上に流した。ゲルは三つ組で流された（各抗体に対して１つ）。ゲルをニトロセルロース膜にトランスファーし、膜を次の３つの抗体：１：１０００希釈のマウス抗Ｖ５（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　ＭＡ５－１５２５３）；１：１００００希釈のマウス抗アクチン（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ　Ａ５４４１）；及び１：１０００希釈のマウス抗ＦＬＡＧ　Ｍ２（Ｓｉｇｍａ　Ｆ３１６５）の１つとともにＴＢＳ－０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０中の３％ミルク中で一晩インキュベートした。翌日、ブロットを、ＴＢＳ－０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０中で洗浄し、続いて１：１００００ヒツジ抗マウスＨＲＰ二次抗体（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ　ＮＡ９３１）を含むＴＢＳ－０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０中の３％ミルク中に室温で１時間置いた後、ブロットを洗浄し、ＥＣＬ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　３４０７６）で現像した。
【１３５９】
結果
ＣＡＲＢタグ付きＭＩＴＦは、レナリドミドではなく化合物Ｉ－１１２によって効率的に分解された（図３９）。対照的に、ＣＤ１９－ＨｉｌＤタグの発現は、様々な用量の化合物Ｉ－１１２処理の下で一定のままであった（データは示さず）。
【１３６０】
実施例１７：ＢＣＭＡ　ＣＡＲ　ＨｉｌＤタグ融合コンストラクトの特徴付け
この試験は、ＨｉｌＤタグを利用して、他のＣＡＲ、例えば、ＢＣＭＡ　ＣＡＲを分解できるかどうかを決定することを目的とする。ＢＣＭＡ　ＣＡＲ－１６ＧＳリンカー－ＨｉｌＤタグ配列は以下に示される。ＨｉｌＤタグに単線の下線を引く。１６ＧＳリンカーに二重の下線を引く。シグナルペプチをイタリック体で示す。

【化６６】

*MALPVTALLLPLALLLHAARP*EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKG
LEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQG
TTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPG
KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIKT
TTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY
CKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLY
NELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRG
KGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRGGGGSGGGGTGGGGSGMHKRSHTGERPFQCNQC
GASFTQKGNLLRHIKLHTGEKPFKCHLCNTASAEARHIKAEMG (配列番号1450)

【１３６１】

方法

ｐＥＬＰＳベクターウイルスの産生：ＬｅｎｔｉＸ－２９３Ｔ細胞（Ｃｌｏｎｅｔｅｃｈ　６３２１８０）を、１０％のＦＢＳを含むＤＭＥＭ中において３７℃及び５％のCO_2で培養した。細胞を５枚の１５ｃｍ組織培養プレート（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　３５６４５１）において２５ｍｌのＤＭＥＭ、１０％ＦＢＳ中に１プレート当たり１４×１０＾６個で播種し、一晩インキュベートした。翌日、１５μｇのｐＥＬＰｓベクターを、１５ｃｍプレート毎にレンチウイルスパッケージングミックス（１８μｇのｐＲＳＶ．ＲＥＶ、１８μｇのｐＭＤＬｇ／ｐ．ＲＲＥ及び７μｇのｐＶＳＶ－Ｇ）、９０μｌのリポフェクタミン２０００（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　１１６６８－０１９）及び３ｍｌのＯｐｔｉＭＥＭ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　１１０５８０２１）と組み合わせ、蒔かれた細胞に添加した。翌日、培地を除去し、１５ｍｌの新鮮な培地と置き換えた。細胞を３０時間インキュベートした後、ウイルスを収集し、５００ｇで１０分間遠心分離し、０．４５μＭの酢酸セルロースフィルター（Ｃｏｒｎｉｎｇ　４３０３１４）に通して濾過した。ウイルス上清をＬｅｎｔｉ－Ｘ濃縮機（Ｃｌｏｎｅｔｅｃｈ　６１１２３２）を用いて４℃で一晩濃縮し、１５００ｇおいて４℃で４５分間ペレット化した後、上清の吸引を行い、ＤＭＥＭ、１０％ＦＢＳ中において初期体積の１／１００で再懸濁した。ウイルスを等分し、－８０℃で保管した。

【１３６２】

ウイルス力価：８倍希釈のウイルスを、１：３倍で始めて、ＲＰＭＩ及び１０％ＦＣＳを用いて作製した。１００μＬのＳＵＰＴ１細胞を、２Ｅ５細胞／ｍｌで平底９６ウェルプレートに蒔いた。５０μＬの希釈されたウイルスを、二つ組で細胞に加えた。プレートをCO_2中において３７℃で一晩インキュベートした。１００μＬのＲＰＭＩ培地を各ウェルに加え、プレートをインキュベーターに戻した。形質導入の４日目に、細胞を収集し、ＣＡＲ発現について染色し、Ｆｌｏｗ　Ｊｏを用いて分析した。

【１３６３】

細胞処理：ＮＦＡＴルシフェラーゼレポーターを含有するジャーカット細胞は、ＢＣＭＡＣＡＲ－ＨｉｌＤタグにより４の感染多重度（ＭＯＩ）で感染された。使用前に細胞を１週間増殖させた。ＢＣＭＡＣＡＲ－ＨｉｌＤタグＪＮＬ細胞ではＣＡＲ細胞は、６ウェルのディッシュにおいて合計３ｍＬ中の０．５×１０＾６個に希釈された。細胞を蒔いた後、試料を１０μＭ、１μＭ、０．１μＭ、０．０１μＭ及び０．００１μＭのレナリドミド及びＤＭＳＯで即座に処理した。フローサイトメトリー分析のために、全ての細胞を最初のレナリドミド処理の２４時間後に収集した。

【１３６４】

フローサイトメトリー：細胞を、Ｕ底プレート中に収集し、１×ＰＢＳを用いて洗浄した。洗浄された細胞を、１：３００Ｘで希釈された抗ＢＣＭＡＣＡＲ　Ａｌｅｘａ　ｆｌｏ

ｕｒ　６４７コンジュゲート抗体（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ　＃９４５８１）で染色した。一次抗体を４℃で４５分間インキュベートした。インキュベートした後、細胞をＰＢＳで２回洗浄し、１００μＬの固定化緩衝液２％パラホルムアルデヒド中において室温で１０分間懸濁した。固定された細胞をＰＢＳで洗浄し、１５０μＬのＰＢＳ中で懸濁した。次に、これらの細胞を、Ｆｏｒｔｅｓｓａ分析機器を用いて得た。死細胞を、ＦＳＣ及びＳＳＣプロットを用いてサイズに基づいて除外した。生細胞を、それらのＡＰＣ　ＣＡＲ発現について分析した。フローサイトメトリーの結果は、染色されていないＪＮＬ親細胞株を用いてゲーティングされ、各試料について１０ｋイベントが記録された。

【１３６５】

ジャーカットＮＦＡＴルシフェラーゼ（ＪＮＬ）ＣＡＲ機能性アッセイ：ＢＣＭＡＣＡＲ　ＨｉｌＤタグ細胞を、２０ｍｌのＲＰＭＩ　１６４０培地（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　１１８７５－０８５）１０％ＦＢＳ　１×ｐｅｎ／ｓｔｒｅｐ中において０．５×１０＾６個に希釈した。２０μｌ（０．５×１０＾６個）のこの細胞株を、白色底３８４ウェルプレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ７８９１６３－Ｇ）中に蒔いた。レナリドミドを、１０μＭの最高の最終濃度を有する８点の１／２－対数希釈でＬａｂｃｙｔｅ　ＥＣＨＯ超音波ディスペンサーを用いて３８４ウェルプレートに添加した。プレートを、３７℃、５％CO_2で１５時間インキュベートした。ＫＭＳ１１細胞を、０．５×１０＾６細胞／ｍｌで再懸濁した。２０μｌのＫＭＳ１１細胞をＪＮＬ細胞に添加し、３７℃、５％CO_2のインキュベーターで８時間保管した。次に、試料を４０μｌ（１：１）のＢｒｉｇｈｔ　Ｇｌｏ（Ｐｒｏｍｅｇａ　Ｅ２６２０）で処理し、発光を、Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ　Ｖｉｅｗｌｕｘを用いて２０秒の露光で読み取った。

【１３６６】

結果

図４０Ａに示されるとおり、レナリドミドによる処理は、ＢＣＭＡＣＡＲ　ＨｉｌＤタグの表面発現の用量依存的な減少をもたらす。ＢＣＭＡＣＡＲ　ＨｉｌＤタグを発現するジャーカットＮＦＡＴルシフェラーゼ細胞は、ルシフェラーゼ活性の増加によって証明されるとおり、ＢＣＭＡ発現ＫＭＳ１１細胞に応答し、これは、レナリドミド処理の量が増加するにつれて用量依存的な様式で阻害され得る（図４０Ｂ）。

【１３６７】

実施例１８：例示的な化合物の合成

本開示の化合物は、有機合成の当業者によく知られるいくつかの方法で調製され得る。一例として、本開示の化合物は、合成有機化学の技術分野で知られる合成方法又は当業者に理解されるとおりのその変形形態とともに、下記の方法を用いて合成され得る。好ましい方法としては、下記の方法が挙げられるが、これらに限定されない。

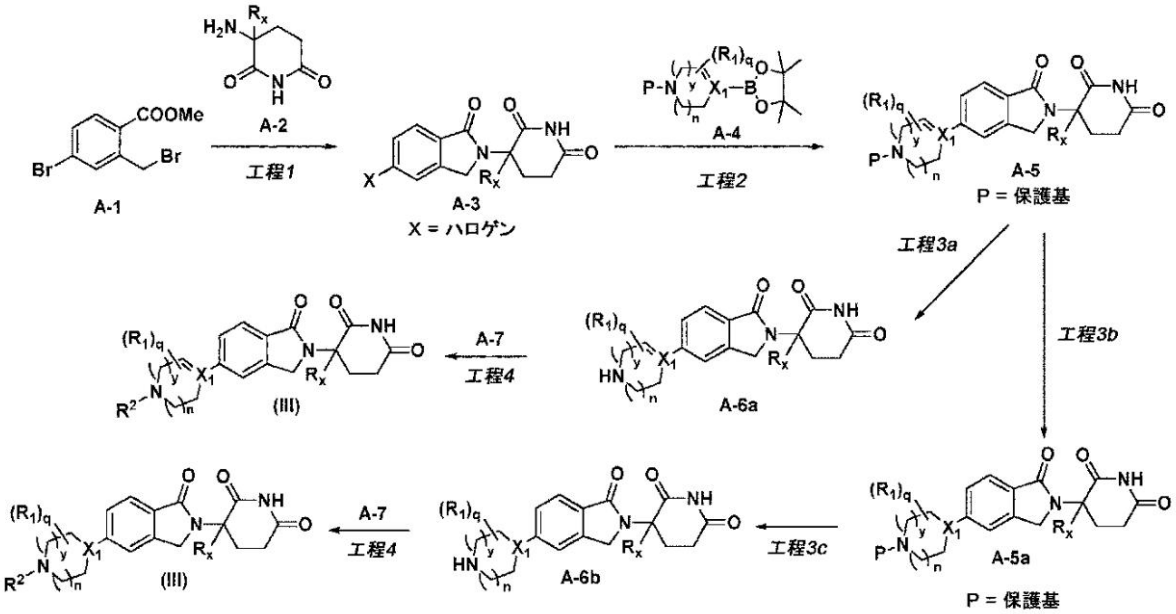
【１３６８】

本開示の化合物は、中間体Ａ－１、Ａ－２、Ａ－３、Ａ－４、Ａ－５、Ａ－５ａ、Ａ－６ａ、Ａ－６ｂ及びＡ－７を構築する異なる順序を含むスキームＩに概説される工程に従うことによって合成され得る。出発材料は、市販されているか又は報告された文献中の若しくは説明されるとおりの既知の手順によって作製される。スキーム１は、本発明の化合物の選択の調製に関連して一般的な手引きを提供するためのものである。当業者は、スキームに示された工程が、本発明の様々な化合物を調製するために、有機化学の一般的な知識を用いて改変又は最適化され得ることを理解するであろう。

【１３６９】

【化６７】

スキーム1:



式中、Ｐは、アミン保護基（例えば、ｔｅｒｔ－ブチルオキシカルボニル（Ｂｏｃ））であり、X_1、R_1、R_2、R_x、ｎ及びｙは、式（ＩＩＩ）において上に定義されるとおりである。

【１３７０】

式（ＩＩＩ）の化合物を調製する一般的な方法であって、

【化６８】

が二重結合であり、R_3が存在せず、且つ

【化６９】

が単結合であり、R_3が水素であり、中間体Ａ－１、Ａ－２、Ａ－３、Ａ－４、Ａ－５、Ａ－５ａ、Ａ－６ａ、Ａ－６ｂ及びＡ－７を使用する方法が、スキーム１において概説される。Ａ－１は、米国特許出願公開第２００９／０１４２２９７号明細書に報告されるとおりに調製され得る。溶媒（例えば、ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ））中における穏和な塩基（例えば、炭酸カリウム（K_2CO_3）、炭酸セシウム（Cs_2CO_3）など）の存在下及び任意選択により高温でのＡ－１及び３－アミノピペリジン－２，６－ジオン－ＨＣｌ（Ａ－２）の環化は、工程１に示されるとおりのＡ－３をもたらす。高温での溶媒（例えば、Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ））中において触媒（例えば、Ｐｄ（ｄｐｐｆ）Cl_2・ＤＣＭ）及び塩基（例えば、炭酸セシウム（Cs_2CO_3））を用いるボロン酸エステルＡ－４のカップリングは、Ａ－５をもたらす。任意選択により高温での溶媒（例えば、テトラヒドロフラン（ＴＨＦ）、１，２－ジクロロエタン、ジオキサン又はジクロロメタン（ＤＣＭ））中におけるトリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）又は塩酸（ＨＣｌ）などの強酸を用いるＡ－５の脱保護により、Ａ－６ａをもたらす。アルデヒド又はケトンＡ－７によるＡ－６ａの還元的アミノ化は、式（ＩＩＩ）の化合物をもたらし、式中、

【化７０】

は二重結合であり、且つＲ３は存在しない。代わりに、式（ＩＩＩ）の化合物であって、式中、

【化７１】

が二重結合であり、且つＲ３が存在しない式（ＩＩＩ）の化合物は、溶媒（例えば、ＤＣＭ、ＤＭＦなど）中において、塩基（例えば、ＮＥｔ３、Ｃｓ２ＣＯ３など）の存在下及び任意選択により高温でハロゲン化アルキルＡ－７によるＡ－６ａのアルキル化によって得ることができる。

【１３７１】

溶媒（例えば、ＤＭＦ）中における好適な触媒（例えば、Ｐｄ／Ｃ又はＰｔＯ２）の存在下及び水素ガスの雰囲気下でのＡ－５の水素化は、Ａ－５ａをもたらす。任意選択により高温での溶媒（例えば、テトラヒドロフラン（ＴＨＦ）、１，２－ジクロロエタン、ジオキサン又はジクロロメタン（ＤＣＭ））中におけるトリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）又は塩酸（ＨＣｌ）などの強酸を用いるＡ－５ａの脱保護により、Ａ－６ｂをもたらす。アルデヒド又はケトンＡ－７によるＡ－６ｂの還元的アミノ化は、式（ＩＩＩ）の化合物をもたらし、式中、

【化７２】

は二重結合であり、且つＲ３は水素である。代わりに、式（ＩＩＩ）の化合物であって、式中、

【化７３】

が単結合であり、且つＲ３が水素である式（ＩＩＩ）の化合物は、溶媒（例えば、ＤＣＭ、ＤＭＦなど）中において、塩基（例えば、ＮＥｔ３、Ｃｓ２ＣＯ３など）の存在下及び任意選択により高温でハロゲン化アルキルＡ－７によるＡ－６ｂのアルキル化によって得ることができる。

【１３７２】

上記の工程から得られるエナンチオマー、ジアステレオマー及びｃｉｓ／ｔｒａｎｓ異性体の混合物は、分離の性質に応じて、キラル塩技術、順相、逆相又はキラルカラムを用いるクロマトグラフィーにより、それらの単一成分に分離され得る。

【１３７３】

本開示の化合物又は中間体の得られる任意のラセミ体は、既知の方法により、例えば、光学的に活性な酸又は塩基により得たそれらのジアステレオマー塩を分離し、光学的に活性な酸性又は塩基性化合物を遊離させることにより、光学的対掌体に分割され得る。特に、このように塩基性部分を用いて、光学的に活性な酸、例えば、酒石酸、ジベンゾイル酒石酸、ジアセチル酒石酸、ジ－Ｏ，Ｏ’－ｐ－トルオイル酒石酸、マンデル酸、リンゴ酸又

はカンファー－１０－スルホン酸により形成された塩の例えば分別再結晶により、本開示の化合物をそれらの光学的対掌体に分割し得る。本開示のラセミ化合物又はラセミ中間体は、キラル吸着剤を用いるキラルクロマトグラフィー、例えば、高圧液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）によっても分割され得る。

【１３７４】

立体異性体の得られる任意の混合物は、例えば、クロマトグラフィー及び／又は分別再結晶により、構成成分の物理化学的な差に基づいて、純粋又は実質的に純粋な幾何又は光学異性体、ジアステレオマー、ラセミ体に分離され得る。

【１３７５】

上に示される説明及び式において、様々な基X_1、R_1、R_2、R_x、ｎ及びｙ並びに他の可変要素は、別段の指示がある場合を除いて、上で定義されたとおりであることが理解されるべきである。さらに、合成のために、スキーム１の化合物は、本明細書で定義されるとおりの式（ＩＩＩ）の化合物の一般的な合成方法を例示するために、選択された基を有する代表的なものにすぎない。

【１３７６】

分析方法、材料及び計測手段

特記しない限り、試薬及び溶媒は、市販の供給業者から受け取ったものが使用された。プロトン核磁気共鳴（ＮＭＲ）スペクトルは、特記しない限り、Ｂｒｕｋｅｒ　Ａｖａｎｃｅ分光計又はＶａｒｉａｎ　Ｏｘｆｏｒｄ　４００ＭＨｚ分光計のいずれかで得られた。スペクトルはｐｐｍ（δ）で与えられ、カップリング定数Ｊはヘルツで報告される。テトラメチルシラン（ＴＭＳ）が、内部標準として使用された。化学シフトは、ＮＭＲスペクトルデータに示されるとおり、ジメチルスルホキシド（δ２．５０）、メタノール（δ３．３１）、クロロホルム（δ７．２６）又は他の溶媒に対するｐｐｍで報告される。少量の乾燥試料（２～５ｍｇ）が、適切な重水素化溶媒（１ｍＬ）中で溶解される。化学名は、ＣａｍｂｒｉｄｇｅＳｏｆｔのＣｈｅｍＢｉｏＤｒａｗ　Ｕｌｔｒａ　ｖ１２を用いて生成された。

【１３７７】

質量スペクトル（ＥＳＩ－ＭＳ）は、Ｗａｔｅｒｓシステム（Ａｃｑｕｉｔｙ　ＵＰＬＣ及びＭｉｃｒｏｍａｓｓ　ＺＱ質量分析計）又はＡｇｉｌｅｎｔ－１２６０　Ｉｎｆｉｎｉｔｙ（６１２０　四重極）を使用して収集された；報告される全ての質量は、特に記録がない限り、プロトン化された親イオンのｍ／ｚである。試料は、ＮｅＣＮ、ＤＭＳＯ又はＭｅＯＨなどの好適な溶媒中で溶解され、自動試料ハンドラーを用いてカラムに直接的に注入された。分析は、Ｗａｔｅｒｓ　Ａｃｑｕｉｔｙ　ＵＰＬＣシステム（カラム：Ｗａｔｅｒｓ　Ａｃｑｕｉｔｙ　ＵＰＬＣ　ＢＥＨ　Ｃ１８　１．７μｍ、２．１×３０ｍｍ；流速：１ｍＬ／分；５５℃（カラム温度）；溶媒Ａ：水中の０．０５％ギ酸、溶媒Ｂ：ＭｅＯＨ中の０．０４％；勾配　９５％溶媒Ａ　０～０．１０分；９５％溶媒Ａ～２０％溶媒Ａ　０．１０～０．５０分；２０％溶媒Ａ～５％溶媒Ａ　０．５０～０．６０分；５％溶媒Ａで保持　０．６分～０．８分；５％溶媒Ａ～９６％溶媒Ａ　０．８０～０．９０分；及び９５％溶媒Ａで保持　０．９０～１．１５分）上で実施される。

【１３７８】

以下の実施例及び本明細書の他の箇所で使用される略称は下のとおりである。

【１３７９】

【表１６６】

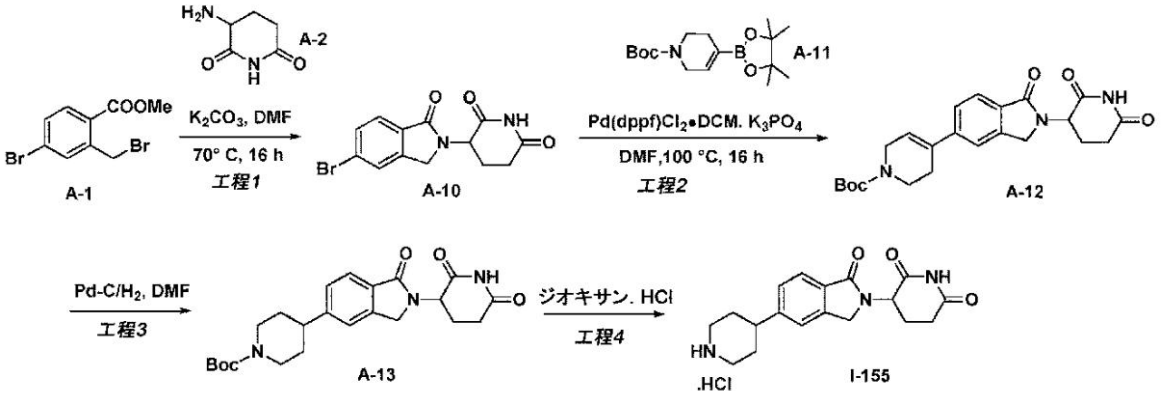
br	ブロード
d	二重線
dd	二重線の二重線
ddd	二重線の二重線の二重線
dtd	二重線の三重線の二重線
Cs_2CO_3	炭酸セシウム
DCM	ジクロロメタン
DMA	*N,N*-ジメチルアセトアミド
DMAP	4-ジメチルアミノピリジン
DME	1,2-ジメトキシエタン
DMF	*N,N*-ジメチルホルムアミド
DMSO	ジメチルスルホキシド
EC_{50}	50%効果濃度
Et_2O	ジエチルエーテル
EtOAc	酢酸エチル
4-Et-Py	4-エチルピリジン
HCl	塩化水素
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
h or hr	時間
g	グラム
IC_{50}	50%阻害濃度
K_2CO_3	炭酸カリウム
KI	ヨウ化カリウム
K_3PO_4	リン酸三カリウム
KOAc	酢酸カリウム
m	多重線
MeCN	アセトニトリル
MeOH	メタノール
mg	ミリグラム
MHz	メガヘルツ

min	分
mL	ミリリットル
mmol	ミリモル
M	モル濃度
MS	質量分析
$NaHCO_3$	炭酸水素ナトリウム
Na_2SO_4	硫酸ナトリウム
NEt_3	トリエチルアミン
NH_4OAc	酢酸アンモニウム
$NiBr_2(DME)$	臭化ニッケル (II) エチレングリコールジメチルエーテル錯体
NMR	核磁気共鳴
$PdCl_2(dppf)_2$	[1,1'-ビス (ジフェニルホスフィノ) フェロセン]パラジウム (II) ジクロリド
$PdCl_2(dppf)$ •DCM	[1,1'-ビス (ジフェニルホスフィノ) フェロセン] ジクロロパラジウム(II), ジクロロメタンとの錯体
q	四重線
qd	二重線の四重線
rt	室温
Rt	保持時間
s	一重線
t	三重線
THF	テトラヒドロフラン
TsCl	4-トルエンスルホニルクロリド
tt	三重線の三重線
UPLC	超高速液体クロマトグラフィー

【１３８０】

実施例１８－１：３－（１－オキソ－５－（ピペリジン－４－イル）イソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオン（Ｉ－１５５）

【化７４】



ＤＭＦ（１５０ｍＬ）中の４－ブロモ－２－（ブロモメチル）安息香酸メチル（Ａ－１、１５ｇ、４８．７ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、３－アミノピペリジン－２，６－ジオン－ＨＣｌ（Ａ－２、６．９ｇ、５３．６ｍｍｏｌ）及びK_2CO_3（２０．２ｇ、１４６．

１ｍｍｏｌ）を加えた。得られた混合物を７０℃で１６時間加熱した後、反応混合物を室温に冷却し、続いて濃縮乾固させた。次に、水を加え、混合物を室温で３０分間撹拌した。得られた固体を濾過し、エーテル及び酢酸エチルで洗浄し、真空濾過で乾燥させてＡ－１０を得た（１０．６ｇ、３２．９ｍｍｏｌ、収率６７％）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$＝３２３．０．^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）δ １０．９９（ｓ，１Ｈ），７．９１－７．８８（ｍ，１Ｈ），７．７２（ｄｄ，Ｊ＝８．１，１．６Ｈｚ，１Ｈ），７．６７（ｄ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，１Ｈ），５．１１（ｄｄ，Ｊ＝１３．３，５．１Ｈｚ，１Ｈ），４．４７（ｄ，Ｊ＝１７．７Ｈｚ，１Ｈ），４．３４（ｄ，Ｊ＝１７．７Ｈｚ，１Ｈ），２．９８－２．８３（ｍ，１Ｈ），２．６５－２．５５（ｍ，１Ｈ），２．４５－２．２９（ｍ，１Ｈ），２．０１（ｄｔｄ，Ｊ＝１２．７，５．３，２．３Ｈｚ，１Ｈ）．

【１３８１】

工程２．ｔｅｒｔ－ブチル－４－（２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－５－イル）－３，６－ジヒドロピリジン－１（２Ｈ）－カルボキシラート（Ａ－１２）

密閉チューブ中におけるＤＭＦ（１０ｍＬ）中のＡ－１０（１．８ｇ、５．６ｍｍｏｌ）の溶液をアルゴンで５分間パージした後、３，６－ジヒドロ－２Ｈ－ピリジン－１－ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル－４－ボロン酸ピナコールエステル（Ａ－１１、２．２ｇ、７．２ｍｍｏｌ）、Ｋ$_{3}$ＰＯ$_{4}$（１．４２ｇ、６．７ｍｍｏｌ）及びＰｄ（ｄｐｐｆ）Ｃｌ$_{2}$・ＤＣＭ（２２７ｍｇ、０．２８ｍｍｏｌ）を加えた。反応混合物を再度アルゴンで５分間パージし、続いて９０℃で１６時間加熱した。この後、反応混合物を室温に冷却し、続いて減圧下で濃縮した。水を残渣に加え、続いてこれをＥｔＯＡｃで抽出した。有機層を塩水で洗浄し、Ｎａ$_{2}$ＳＯ$_{4}$で乾燥させ、濾過し、続いて減圧下で濃縮した。粗化合物を、ヘキサン中の７０～８０％のＥｔＯＡｃで溶出するシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、固体としてＡ－１２を得た（１．０ｇ、２．４ｍｍｏｌ、収率４２％）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$＝４２６．３．

【１３８２】

工程３．４－（２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－５－イル）ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチル（Ａ－１３）

ＤＭＦ（２０ｍＬ）中のＡ－１２（１．０ｇ、２．３５ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、１０％Ｐｄ／Ｃ（１５０ｍｇ）を加え、混合物を水素雰囲気下（バルーン）おいて室温で６時間撹拌した。次に、反応混合物をＣｅｌｉｔｅ（登録商標）濾過助剤のベッドに通して濾過した。濾液を減圧下で濃縮して、固体としてＡ－１２を得た（０．８５ｇ、１．９７ｍｍｏｌ、収率８４％）。ＭＳ［Ｍ－ｔＢｕ］$^{+}$＝３７２．３．^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）δ ８．４０（ｓ，１Ｈ），７．８１（ｄ，Ｊ＝７．９Ｈｚ，１Ｈ），７．３２（ｄ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，１Ｈ），７．２９（ｓ，１Ｈ），５．２２（ｄｄ，Ｊ＝１３．３，５．１Ｈｚ，１Ｈ），４．４６（ｄ，Ｊ＝１６．０Ｈｚ，１Ｈ），４．３１（ｄ，Ｊ＝１６．１Ｈｚ，１Ｈ），４．２７（ｄ，Ｊ＝１６．２Ｈｚ，２Ｈ），２．９７－２．６７（ｍ，５Ｈ），２．４１－２．２６（ｍ，１Ｈ），２．２３－２．１３（ｍ，１Ｈ），１．８３（ｄ，Ｊ＝１２．６Ｈｚ，２Ｈ），１．７１－１．５５（ｍ，２Ｈ），１．４８（ｓ，９Ｈ）．

【１３８３】

工程４．３－（１－オキソ－５－（ピペリジン－４－イル）イソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオン塩酸塩（Ｉ－１５５）：

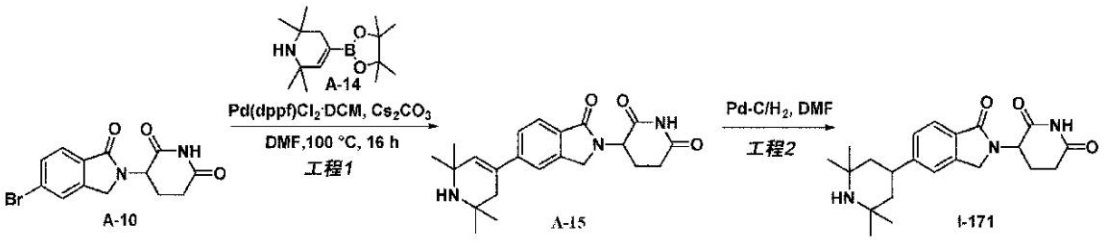
ジオキサン（１０ｍＬ）中におけるＡ－１２（０．８５ｇ、２．０ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、ジオキサン（５．０ｍＬ）中の４Ｎ ＨＣｌを加えた。次に、反応混合物を室温で２時間撹拌した。反応塊を減圧下で濃縮して、固体として所望の化合物Ｉ－１５５のＨＣｌ塩を得た（０．６５ｇ、１．８ｍｍｏｌ、収率９０％、塩酸塩）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$＝３２８．３．^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）：δ １０．９９（ｓ，１Ｈ），９．２８（ｓ，１Ｈ），７．７０（ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ，１Ｈ），７．４６（ｓ，１Ｈ），７．３９（ｄ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，１Ｈ），５．７４（ｓ，１Ｈ），５．１１（ｄｄ

，Ｊ＝１３．３，５．２Ｈｚ，１Ｈ），４．４６（ｄ，Ｊ＝１７．３Ｈｚ，１Ｈ），４．３２（ｄ，Ｊ＝１７．３Ｈｚ，１Ｈ），３．３６（ｄ，Ｊ＝１１．５Ｈｚ，２Ｈ），３．１０－２．８６（ｍ，４Ｈ），２．６１（ｄ，Ｊ＝１４．８Ｈｚ，１Ｈ），２．３９（ｑｄ，Ｊ＝１３．２，４．３Ｈｚ，１Ｈ），２．１４－１．７９（ｍ，５Ｈ）．

【１３８４】

実施例１８－２：３－（１－オキソ－５－（２，２，６，６－テトラメチルピペリジン－４－イル）イソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオン（Ｉ－１７１）

【化７５】



【１３８５】

工程１：３－（１－オキソ－５－（２，２，６，６－テトラメチル－１，２，３，６－テトラヒドロピリジン－４－イル）イソインドリン－２－イル）－ピペリジン－２，６－ジオン（Ａ－１５）

密閉チューブ中におけるＤＭＦ（５ｍＬ）中のＡ－１０（１５０ｍｇ、０．４６ｍｍｏｌ）の撹拌溶液を、アルゴンで５分間パージした後、２，２，６，６－テトラメチル－４－（４，４，５，５－テトラメチル－１，３，２－ジオキサボロラン－２－イル）ピペリジン（Ａ－１４、１８５ｍｇ、０．６９ｍｍｏｌ）、Cs_2CO_3（３００ｍｇ、０．９２ｍｍｏｌ）及びＰｄ（ｄｐｐｆ）Cl_2・ＤＣＭ（１９ｍｇ、０．０２ｍｍｏｌ）を加え、得られた混合物を再度アルゴンで５分間パージした。次に、反応混合物を９０℃で５時間加熱した後、反応混合物を室温に冷却し、水を加え、混合物をＥｔＯＡｃで抽出した。有機層を塩水で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥させ、濾過し、続いて減圧下で濃縮した。粗製の材料を、シリカゲルクロマトグラフィー（１５％ＭｅＯＨ／ＤＣＭで溶出する）により精製して、固体としてＡ－１５を得た（３５ｍｇ、０．０９２ｍｍｏｌ、収率２０％）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^+$＝３８２．３．

【１３８６】

工程２．３－（１－オキソ－５－（２，２，６，６－テトラメチルピペリジン－４－イル）イソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオン（Ｉ－１７１）

ＤＭＦ（２ｍＬ）中の３－（１－オキソ－５－（２，２，６，６－テトラメチル－１，２，３，６－テトラヒドロピリジン－４－イル）イソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオン（Ａ－１５、２５ｍｇ、０．０７ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、Ｐｄ／Ｃ（５ｍｇ）を加えた。得られた混合物を、水素雰囲気下（バルーン）おいて室温で５時間撹拌した。次に、反応混合物を、Ｃｅｌｉｔｅ（登録商標）濾過助剤パッドに通して濾過し、濾液を濃縮乾固させた。粗製の材料を、逆相ＨＰＬＣ（ＭｅＣＮ／０．０５％ギ酸を含むH_2O）により精製して、固体としてＩ－１７１を得た（１１ｍｇ、０．０３ｍｍｏｌ、収率４４％）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^+$＝３８４．４．^{1}Ｈ ＮＭＲ（６００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6）：δ １１．０（ｓ，１Ｈ），８．３３－８．３２（ｍ，１Ｈ），７．６８（ｄ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，１Ｈ），７．５（ｓ，１Ｈ），７．４３（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ），５．１２（ｄｄ，Ｊ＝１３．２，４．８Ｈｚ，１Ｈ），４．３６（ｄ，Ｊ＝１７．４Ｈｚ，１Ｈ），４．３１（ｄ，Ｊ＝１７．４Ｈｚ，１Ｈ），２．９５－２．９０（ｍ，１Ｈ），２．４３－２．３９（ｍ，２Ｈ），２．００－１．９９（ｍ，２Ｈ），１．５４－１．５０（ｍ，２Ｈ），１．５２－１．５０（ｍ，２Ｈ），１．２６（ｓ，６Ｈ），１．２３（ｓ，６Ｈ）．

【１３８７】

以下の化合物は、スキーム１及び上に提供される実施例において提示される一般的なプロトコルに従って調製された。

【１３８８】

【表１６７】

化合物番号	MS $[M+1]^+$	化合物番号	MS $[M+1]^+$	化合物番号	MS $[M+1]^+$
I-1	356.1	I-62	432.3	I-88	490.2
I-3	382.2	I-63	450.2	I-89	488.3
I-4	384.1	I-64	454.2	I-90	494.1
I-10	459.1	I-65	445.2	I-91	484.2
I-11	424.6	I-66	446.5	I-93	484.2
I-13	426.2	I-67	448.2	I-95	420.2
I-14	432.1	I-68	450.2	I-97	452.4
I-24	454.2	I-69	450.2	I-101	454.2
I-26	454.1	I-70	468.2	I-104	458.2
I-29	454.2	I-71	460.8	I-106	486.2
I-31	443.1	I-72	461.9	I-107	474.3
I-32	448.2	I-73	468.2	I-108	476.3
I-36	443.2	I-74	462.2	I-110	486.3
I-38	443.2	I-75	460.3	I-112	436.4
I-39	448.4	I-76	486.2	I-113	486.1
I-42	446.2	I-77	484.2	I-114	469.2
I-43	458.2	I-78	487.2	I-115	422.2
I-45	460.5	I-79	484.2	I-116	408.2
I-51	502.1	I-80	484.2	I-117	422.2
I-54	502.1	I-81	472.3	I-118	408.1
I-56	486.2	I-82	476.2	I-119	407.2
I-57	418.2	I-83	476.2	I-120	408.2
I-58	419.2	I-84	474.4	I-121	436.2
I-59	419.2	I-86	475.2	I-122	435.2
I-60	419.2	I-87	498.2	I-123	434.2

【１３８９】

【表１６８】

化合物番号	MS $[M+1]^+$
I-124	437.2
I-125	478.2
I-126	459.2
I-127	459.2
I-128	458.2
I-129	436.2
I-130	475.2
I-131	459.2
I-132	459.2
I-134	463.2
I-135	462.2
I-136	457.2
I-137	458.2
I-139	461.2
I-140	458.2
I-141	491.2
I-142	489.3
I-143	481.2
I-145	507.2
I-146	448.2
I-147	505.3
I-148	484.2
I-149	471.2
I-151	485.2
I-152	484.2
I-154	484.2
I-155	328.3
I-156	470.3
I-157	432.5
I-158	432.5
I-159	446.1
I-160	432.3
I-162	432.2
I-163	340.3
I-164	472.4
I-168	472.4
I-169	400.3

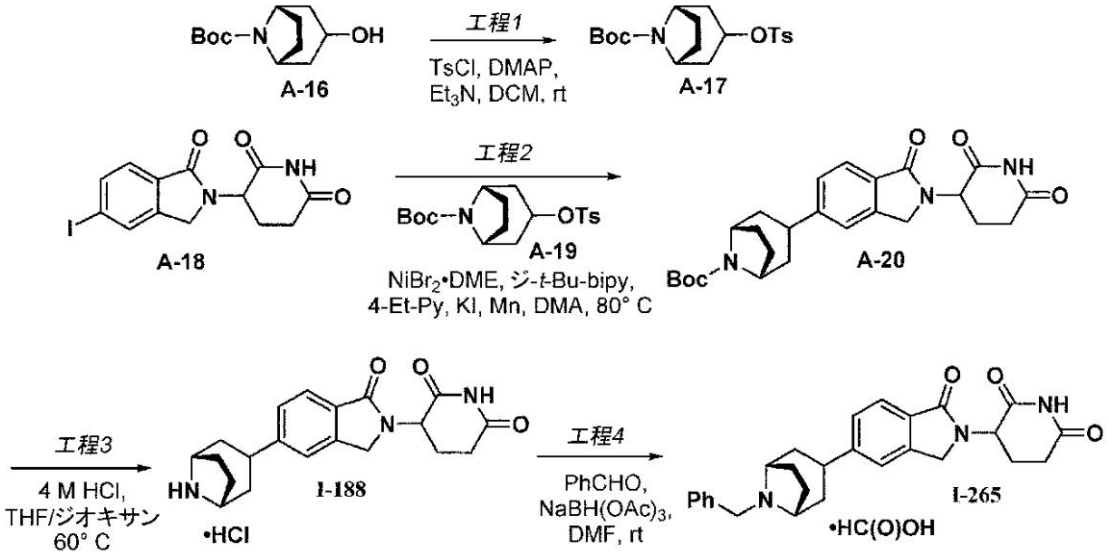
化合物番号	MS $[M+1]^+$
I-170	404.5
I-171	384.4.
I-172	416.4
I-173	432.6
I-174	446.1
I-175	472.4
I-176	414.2
I-177	442.2
I-178	386.2
I-179	424.2
I-180	461.2
I-181	388.0
I-183	342.0
I-185	446.1
I-187	432.1
I-189	448.4
I-191	384.4
I-198	500.2
I-199	486.2
I-200	475.2
I-201	485.2
I-202	448.4
I-203	472.2
I-204	410.2
I-205	546.3
I-207	533.2
I-208	489.2
I-209	468.4
I-210	426.3
I-211	501.2
I-212	450.2
I-213	492.2
I-214	469.2
I-216	525.2
I-217	444.2
I-219	458.2
I-221	500.2

化合物番号	MS $[M+1]^+$
I-224	486.2
I-225	565.2
I-226	469.2
I-227	531.3
I-228	492.2
I-229	608.2
I-230	432.2
I-231	476.2
I-232	487.2
I-233	567.2
I-234	508.2
I-235	453.2
I-236	567.2
I-237	525.2
I-238	425.2
I-239	470.2
I-240	517.2
I-241	500.2
I-243	554.2
I-244	542.2
I-245	423.2
I-246	409.2
I-247	432.2
I-248	462.2
I-249	448.4
I-251	499.2
I-252	532.2
I-253	410.0
I-254	467.2
I-255	525.3
I-257	499.2
I-258	491.3
I-259	474.2
I-266	492.1
I-276	492.2
I-300	542.3
I-303	454.2

【１３９０】

実施例１８－３：３－（５－（８－ベンジル－８－アザビシクロ［３．２．１］オクタン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオンＨＣ（Ｏ）ＯＨ塩（Ｉ－２６５）

【化７６】



【１３９１】

工程１．３－（トシルオキシ）－８－アザビシクロ［３．２．１］オクタン－８－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチル（Ａ－１７）

ＤＣＭ（５ｍＬ）中の３－ヒドロキシ－８－アザビシクロ［３．２．１］オクタン－８－カルボキシラート（Ａ－１６、５７０ｍｇ、２．５１ｍｍｏｌ）、Et_3N（０．５２ｍＬ、３．８ｍｍｏｌ）及びＤＭＡＰ（６１ｍｇ、０．５０ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、ＴｓＣｌ（５７４ｍｇ、３．０１ｍｍｏｌ）を加え、得られた混合物を室温で一晩撹拌した。次に、反応混合物を、$NaHCO_3$飽和水溶液でクエンチし、ＤＣＭ（３×）で抽出した。合わせた有機相を、Na_2SO_4で乾燥させ、濾過し、濃縮し、粗製の材料を、ヘプタン中の０％～４０％ＥｔＯＡｃで溶出するシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、固体としてＡ－１７を得た（９１ｍｇ、０．２２ｍｍｏｌ、収率９％）。^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，クロロホルム－ｄ）δ ７．７９（ｄ，Ｊ＝８．３Ｈｚ，２Ｈ），７．３６（ｄ，Ｊ＝８．５Ｈｚ，２Ｈ），４．８３（ｔ，Ｊ＝５．０Ｈｚ，１Ｈ），４．１６（ｓ，２Ｈ），２．４７（ｓ，３Ｈ），２．１２－２．０２（ｍ，４Ｈ），２．００－１．９０（ｍ，２Ｈ），１．８４（ｄ，Ｊ＝１５．３Ｈｚ，２Ｈ），１．４５（ｓ，９Ｈ）．

【１３９２】

工程２．３－（２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－５－イル）－８－アザビシクロ［３．２．１］－オクタン－８－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチル（Ａ－２０）

ＤＭＡ（０．７ｍＬ）中の窒素雰囲気下でのＡ－１８（５６ｍｇ、０．１５ｍｍｏｌ）、５６ｂ（６９ｍｇ、０．１８ｍｍｏｌ）、$NiBr_2$（ＤＭＥ）（４．７ｍｇ、０．０１５ｍｍｏｌ）、４，４’－ジ－ｔｅｒｔ－ブチル－２，２’－ジピリジル（４．１ｍｇ、０．０１５ｍｍｏｌ）、ＫＩ（２５ｍｇ、０．１５ｍｍｏｌ）及びマンガン粉末（１７ｍｇ、０．３０ｍｍｏｌ）の撹拌懸濁液に、４－エチルピリジン（０．０１７ｍＬ、０．１５ｍｍｏｌ）を加え、得られた混合物を、８０℃で４時間激しく撹拌した。次に、反応混合物をＭｅＣＮで希釈し、ＭｅＣＮで溶出するＣｅｌｉｔｅ（登録商標）濾過助剤のパッドに通して濾過した。濾液を、ヘプタンとの共沸によって濃縮乾固させた。粗製の材料を、ＤＣＭ中の０％～５％ＭｅＯＨで溶出するシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、固体としてＡ－２０を得た（３８．４ｍｇ、０．０８５ｍｍｏｌ、収率５６％）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^+$＝４５４．５．^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，クロロホルム－ｄ）δ ８．５８（ｓ，１Ｈ），７．８０（ｄｄ，Ｊ＝７．９，０．６Ｈｚ，１Ｈ），７．３２（ｄｄ

，Ｊ＝７．９，１．４Ｈｚ，１Ｈ），７．２９（ｓ，１Ｈ），５．２３（ｄｄ，Ｊ＝１３．３，５．１Ｈｚ，１Ｈ），４．４６（ｄ，Ｊ＝１６．０Ｈｚ，１Ｈ），４．３９－４．２４（ｍ，３Ｈ），３．２０（ｔｔ，Ｊ＝１１．８，５．２Ｈｚ，１Ｈ），２．９４－２．７４（ｍ，２Ｈ），２．３４（ｑｄ，Ｊ＝１２．８，５．６Ｈｚ，１Ｈ），２．２３－２．１３（ｍ，１Ｈ），２．０９－２．０２（ｍ，２Ｈ），１．９０（ｔ，Ｊ＝１２．９Ｈｚ，２Ｈ），１．８０（ｑ，Ｊ＝８．０，６．６，６．２Ｈｚ，２Ｈ），１．７６－１．６９（ｍ，２Ｈ），１．５１（ｓ，９Ｈ）．

【１３９３】

工程３．３－（５－（８－アザビシクロ［３．２．１］オクタン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオン塩酸塩（Ｉ－１８８）

ＴＨＦ（１ｍＬ）中のＡ－２０（３８ｍｇ、０．０８４ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、ジオキサン中の４Ｍ　ＨＣｌ（０．７ｍＬ、２．８ｍｍｏｌ）を加え、得られた混合物を６０℃で３時間撹拌した。白色沈殿物の形成が観察された。次に、反応混合物をEt_2Oで希釈し、濾過した。沈殿物をEt_2Oで洗浄し、続いて乾燥させて、固体としてＩ－１８８の塩酸塩を得た（３１．９ｍｇ、０．０８２ｍｍｏｌ、９８％）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^+$＝３５４．３．^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6）δ　１０．９８（ｓ，１Ｈ），９．１８（ｓ，１Ｈ），７．６９（ｄｄ，Ｊ＝７．８，２．３Ｈｚ，１Ｈ），７．５６（ｓ，１Ｈ），７．５０（ｄ，Ｊ＝７．９Ｈｚ，１Ｈ），５．１０（ｄｄｄ，Ｊ＝１３．２，５．２，２．１Ｈｚ，１Ｈ），４．４５（ｄ，Ｊ＝１８．１Ｈｚ，１Ｈ），４．３０（ｄｄ，Ｊ＝１７．３，２．２Ｈｚ，１Ｈ），４．０３（ｓ，２Ｈ），３．２６－３．２１（ｍ，１Ｈ），２．９２（ｔｔ，Ｊ＝１４．０，５．２Ｈｚ，１Ｈ），２．６７－２．５４（ｍ，１Ｈ），２．４５－２．３１（ｍ，１Ｈ），２．１７（ｔ，Ｊ＝１３．１Ｈｚ，２Ｈ），２．０９－１．９２（ｍ，５Ｈ），１．８９－１．７３（ｍ，２Ｈ）．

【１３９４】

工程４．３－（５－（８－ベンジル－８－アザビシクロ［３．２．１］オクタン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオンＨＣ（Ｏ）ＯＨ塩（Ｉ－２６５）

ＤＭＦ（１ｍＬ）中のＩ－１８８（２０ｍｇ、０．０５１ｍｍｏｌ）及びベンズアルデヒド（０．０１６ｍＬ、０．１５４ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、ナトリウムトリアセトキシボロヒドリド（３３ｍｇ、０．１５ｍｍｏｌ）を一度に加え、得られた混合物を、室温で一晩激しく撹拌した。次に、１滴のＨＣＯＯＨを加え、反応混合物を減圧下で濃縮した。粗製の材料を、逆相ＨＰＬＣ（ＭｅＣＮ／０．１％ギ酸を含むH_2Oで溶出する）により精製し、生成物を凍結乾燥させて、固体としてＩ－２６５のギ酸塩を得た（１５．０ｍｇ、０．０３１ｍｍｏｌ、収率６０％）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^+$＝４４４．３．^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6）δ　１０．９８（ｓ，１Ｈ），８．２５（ｓ，１Ｈ），７．６４（ｄ，Ｊ＝７．９Ｈｚ，１Ｈ），７．５２（ｓ，１Ｈ），７．４２（ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ，３Ｈ），７．３５－７．３１（ｍ，２Ｈ），７．２４（ｔ，Ｊ＝７．３Ｈｚ，１Ｈ），５．１０（ｄｄ，Ｊ＝１３．０，５．０Ｈｚ，１Ｈ），４．４２（ｄ，Ｊ＝１７．２Ｈｚ，１Ｈ），４．２９（ｄ，Ｊ＝１７．１Ｈｚ，１Ｈ），３．６１（ｓ，２Ｈ），３．２５（ｓ，２Ｈ），３．１３－３．０１（ｍ，１Ｈ），２．９１（ｄｄｄ，Ｊ＝１７．９，１３．２，５．３Ｈｚ，１Ｈ），２．５９（ｄ，Ｊ＝１７．０Ｈｚ，１Ｈ），２．４６－２．３１（ｍ，１Ｈ），２．１４－１．９４（ｍ，３Ｈ），１．８５（ｔ，Ｊ＝１２．４Ｈｚ，２Ｈ），１．７６（ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ，２Ｈ），１．６３（ｄ，Ｊ＝１２．７Ｈｚ，２Ｈ）．

【１３９５】

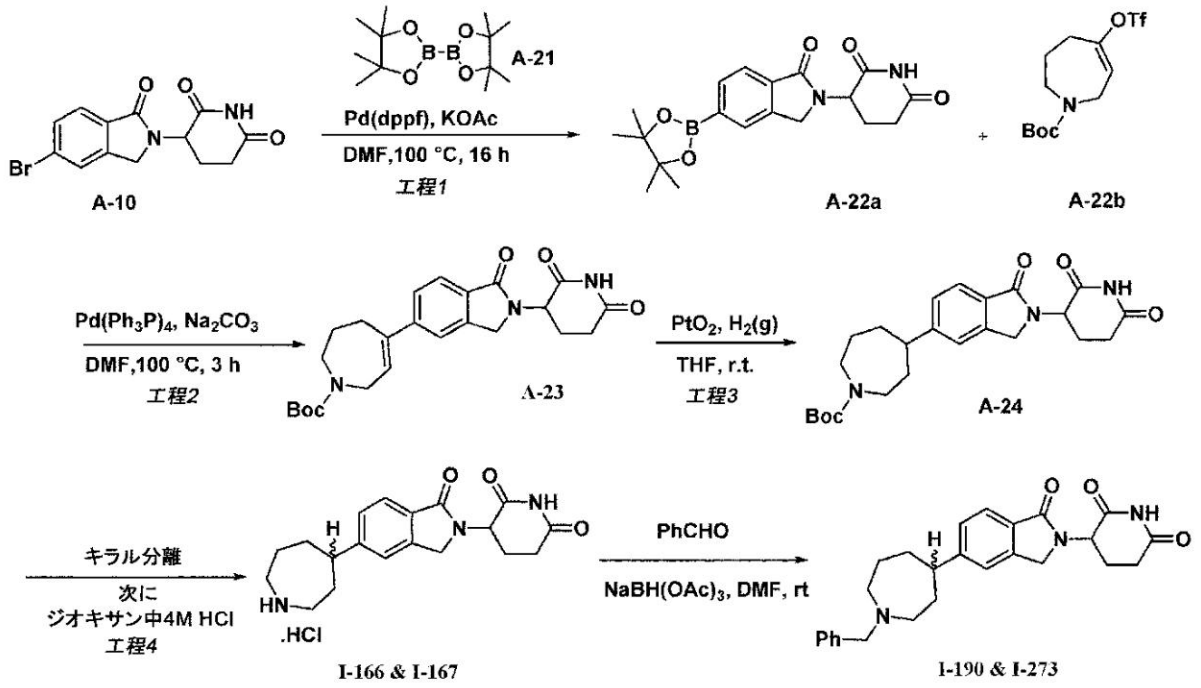
化合物Ｉ－２６０は、実施例１８－３に記載される経路に従って合成された（ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^+$＝４０４．２）。

【１３９６】

実施例１８－４：３－（５－（１－ベンジルアゼパン－４－イル）－１－オキソイソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオン（Ｉ－１９０）及び（Ｉ－２７３）のジ

アステレオマー

【化７７】



【１３９７】

工程１：３－（１－オキソ－５－（４，４，５，５－テトラメチル－１，３，２－ジオキサボロラン－２－イル）イソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオン（Ａ－２２ａ）

密閉チューブ中におけるＤＭＦ（２０ｍＬ）中のＡ－１０（３．０ｇ、９．２８ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、ビス（ピナコラト）ジボロン（Ａ－２１、２．６ｇ、１０．２ｍｍｏｌ）、ＫＯＡｃ（２．３７ｇ、２７．９ｍｍｏｌ）及び$PdCl_2(dppf)_2$（０．２２ｇ、０．２８ｍｍｏｌ）を加えた。反応混合物をアルゴンで５分間パージし、密閉し、続いて１００℃で１６時間加熱した。水を反応混合物に加え、室温で１５分間撹拌した。固体を沈殿させ、濾過し、真空下で乾燥させて、固体としてＡ－２２ａを得た（２．３ｇ、６．２ｍｍｏｌ、収率６６％）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^+$＝３７１．０．

【１３９８】

工程２：５－（２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－５－イル）－２，３，４，７－テトラヒドロ－１Ｈ－アゼピン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチル（Ａ－２３）

ｔｅｒｔ－ブチル－５－（（（トリフルオロメチル）スルホニル）オキシ）－２，３，４，７－テトラヒドロ－１Ｈ－アゼピン－１－カルボキシラートＡ－２２ｂは、ＰＣＴ出願公開国際公開第２００７／１１１９０４号パンフレットにおいて報告されるとおりに調製された。

【１３９９】

密閉チューブ中におけるＤＭＦ（１０．０ｍＬ）中のＡ－２２ａ（１．０ｇ、２．７０ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、５－（（（トリフルオロメチル）スルホニル）オキシ）－２，３，４，７－テトラヒドロ－１Ｈ－アゼピン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチル（Ａ－２２ｂ、１．１９ｇ、３．２４ｍｍｏｌ）、$Pd(PPh_3)_4$（０．１６ｇ、０．１３ｍｍｏｌ）及びNa_2CO_3（０．８５ｇ、８．１０ｍｍｏｌ）を加えた。混合物をアルゴンで５分間パージし、続いて密閉し、１００℃で３時間加熱した。この後、反応物を冷却し、水を加えた後にＥｔＯＡｃで抽出した。有機層をNa_2SO_4で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー（６０～７０％ＥｔＯＡｃ／ヘキサンで溶出する）により精製して、固体としてＡ－２３を得た（３５０ｍｇ、０．７９６ｍｍｏ

ｌ、収率２９％）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$＝４４０．０．
【１４００】
工程３：４－（２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－５－イル）アゼパン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチル（Ａ－２４）
ＴＨＦ（１０ｍＬ）中のＡ－２３（０．３５ｇ、０．８０ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、PtO_2（１００ｍｇ）を加えた。混合物を水素バルーン下で５時間撹拌した。次に、反応混合物をＣｅｌｉｔｅ（登録商標）濾過助剤のベッド上で濾過し、続いて減圧下で濃縮した。得られた残渣を、シリカゲルクロマトグラフィー（４０～５０％ＥｔＯＡｃ／ヘキサンで溶出する）により精製して、ジアステレオマーの混合物からなる固体としてＡ－２４を得た（０．３１ｇ、０．７０ｍｍｏｌ、収率８８％）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$＝４４２．０．
【１４０１】
工程４ａ：４－（２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－５－イル）アゼパン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチル（Ａ－２４）のキラル分離
Ａ－２４（３５０ｍｇ）のキラル分離は、Ｋｉｎｅｔｅｘ（１５０ｍｍ×２１ｍｍ）、５．０μカラムを使用し、移動相Ａ＝水中の０．０５％ＴＦＡ；移動相Ｂ＝アセトニトリルからなる溶離液で、２０ｍＬ／分の流速、２５℃で２０～７０％移動相Ｂ：移動相Ａにより２０分間かけて実施された。これらの条件下で、２つの化合物Ａ－２４（ピーク１）Ｒｔ＝１１．６４分及びＡ－２４（ピーク２）Ｒｔ＝１７．４１分が単離された。ピーク１及びピーク２に相当する画分が収集され、減圧下で濃縮され、続いて$NaHCO_3$飽和水溶液で中和された後、ＤＣＭで抽出された。有機層を合わせ、Na_2SO_4で乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させて、白色固体としてピーク１（５０ｍｇ）及びピーク２（４５ｍｇ）を得た。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$＝４４２．０．
【１４０２】
工程４ｂ：３－（５－（アゼパン－４－イル）－１－オキソイソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオン（Ｉ－１６６及びＩ－１６７）
ジオキサン（２．０ｍＬ）中のＡ－２４（ピーク１）（５０ｍｇ、０．１１３ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、ジオキサン（０．５ｍＬ）中の４Ｍ　ＨＣｌを０℃で加えた。次に、反応物を撹拌し、２時間にわたって室温に温めた。次に、反応混合物を減圧下で濃縮して、ジアステレオマーＡを得た（４０ｍｇ、０．１０６ｍｍｏｌ、９４％、塩酸塩）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$＝３４２．３．^{1}Ｈ　ＮＭＲ（CD_3OD，３００ＭＨｚ）：δ７．７４（ｄ，Ｊ＝８．１Ｈｚ，１Ｈ），７．４９（１Ｈ，ｓ），７．４３（ｄ，Ｊ＝８．４Ｈｚ，１Ｈ），５．１４（ｄｄ，Ｊ＝１３．５，５．１Ｈｚ，１Ｈ），４．４８－４．４６（ｍ，２Ｈ），３．７４－３．７１（ｍ，１Ｈ），３．６８－３．６３（ｍ，２Ｈ），３．５９－３．５５（ｍ，１Ｈ），３．４４－３．３７（ｍ，２Ｈ），３．０２（ｍ，１Ｈ），２．９０－２．７８（ｍ，２Ｈ），２．５１－２．４７（ｍ，１Ｈ），２．１６－２．０８（ｍ，５Ｈ），２．００－１．８０（ｍ，２Ｈ）．
【１４０３】
ジオキサン（２．０ｍＬ）中のＡ－２４（ピーク２）（４０ｍｇ、０．０９１ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、ジオキサン中の４Ｍ　ＨＣｌ（０．５ｍＬ）を０℃で加えた。次に、反応物を撹拌し、２時間にわたって室温に温めた。次に、反応混合物を減圧下で濃縮して、ジアステレオマーＢを得た（３０ｍｇ、０．０７９ｍｍｏｌ、収率８７％、塩酸塩）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$＝３４２．４．^{1}Ｈ　ＮＭＲ（CD_3OD，３００ＭＨｚ）：δ７．７４（ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ，１Ｈ），７．４９（ｓ，１Ｈ），７．４２（ｄ，Ｊ＝７．８Ｈｚ，１Ｈ），５．１５（ｄｄ，Ｊ＝１３．５，５．１Ｈｚ，１Ｈ），４．４７－４．４５（ｄ，２Ｈ），３．７４－３．７１（ｍ，１Ｈ），３．６７－３．６２（ｍ，３Ｈ），３．５８－３．５５（ｍ，１Ｈ），３．４３－３．３８（ｍ，２Ｈ），３．０２（ｍ，１Ｈ），２．９０－２．７８（ｍ，２Ｈ），２．５１－２．４８（ｍ，１Ｈ），２．１７－２．０８（ｍ，５Ｈ），２．０９－１．８７（ｍ，１Ｈ）．
【１４０４】
工程５．３－（５－（１－ベンジルアゼパン－４－イル）－１－オキソイソインドリン－

２－イル）ピペリジン－２，６－ジオン（Ｉ－１９０及びＩ－２７３）のジアステレオマー
化合物Ｉ－１９０は、還元的アミノ化によりＩ－１６６（８０ｍｇ、０．２１ｍｍｏｌ）及びベンズアルデヒド（２７ｍｇ、０．２５ｍｍｏｌ）から調製された。出発材料の消費が完了した後、粗反応混合物を減圧下で濃縮し、$NaHCO_3$飽和水溶液を加えた。得られた混合物をＤＣＭで抽出し、有機層をNa_2SO_4で乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させた。得られた固体をエーテル（５ｍＬ）及びＥｔＯＡｃ（０．１ｍＬ）で洗浄して、固体としてＩ－１９０を得た（５５ｍｇ、０．１３ｍｍｏｌ、収率６０％）。絶対立体化学は知られず、任意に割り当てられた。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^+$＝４３９．１．^{1}Ｈ ＮＭＲ（CD_3OD，６００ＭＨｚ）：δ７．６９（ｄ，Ｊ＝５．２Ｈｚ，１Ｈ），７．４４（ｓ，１Ｈ），７．３９－７．３６（ｍ，３Ｈ），７．３２－７．３０（ｍ，２Ｈ），７．２６－７．２４（ｍ，１Ｈ），５．１２（ｄｄ，Ｊ＝８．８，３．２Ｈｚ，１Ｈ），４．４７（ｄ，Ｊ＝１１．６Ｈｚ，１Ｈ），４．４１（ｄ，Ｊ＝１１．２Ｈｚ，１Ｈ），３．７１（２Ｈ，ｓ），２．９８－２．９７（ｍ，１Ｈ），２．９２－２．８６（ｍ，２Ｈ），２．８０－２．７４（ｍ，４Ｈ），２．４７－２．４５（ｍ，１Ｈ），２．１６－２．１４（ｍ，１Ｈ），１．９４－１．８４（ｍ，１Ｈ），１．８０（ｍ，１Ｈ）．

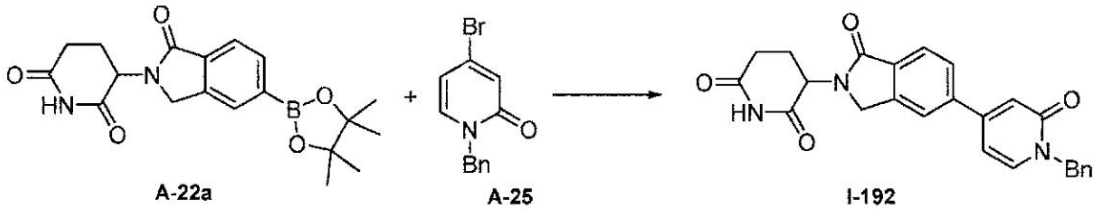
【１４０５】

化合物Ｉ－２７３は、Ｉ－１９０に関して上記と同様の方法においてＩ－１６７（８０ｍｇ、０．２１ｍｍｏｌ）及びベンズアルデヒド（２７ｍｇ、０．２５ｍｍｏｌ）から調製された。Ｉ－２７３は、固体として単離された（５５ｍｇ、０．１３ｍｍｏｌ、収率６０％）。絶対立体化学は知られず、任意に割り当てられた。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^+$＝４３９．１．^{1}Ｈ ＮＭＲ（ＤＭＳＯ－d_6，４００ＭＨｚ）：δ１１．０（１Ｈ，ｓ），７．６２（ｄ，Ｊ＝５．２Ｈｚ，１Ｈ），７．４６（ｓ，１Ｈ），７．３８－７．３２（ｍ，５Ｈ），７．２４－７．２３（ｍ，１Ｈ），５．０９（ｄｄ，Ｊ＝８．８，３．６Ｈｚ，１Ｈ），４．３１（ｄ，Ｊ＝１１．６Ｈｚ，１Ｈ），４．２８（ｄ，Ｊ＝１１．６Ｈｚ，１Ｈ），３．６５（ｄ，Ｊ＝９．１Ｈｚ，１Ｈ），３．６３（ｄ，Ｊ＝９．２Ｈｚ，１Ｈ），２．９６－２．８８（ｍ，２Ｈ），２．７６－２．６９（ｍ，１Ｈ），２．６７－２．６２（ｍ，３Ｈ），２．６１－２．５０（ｍ，２Ｈ），２．４６－２．３６（ｍ，３Ｈ），１．９９（ｍ，２Ｈ），１．８２（ｍ，２Ｈ）．

【１４０６】

実施例１８－５：３－（５－（１－ベンジル－２－オキソ－１，２－ジヒドロピリジン－４－イル）－１－オキソイソインドリン－２－イル）－ピペリジン－２，６－ジオン（Ｉ－１９２）

【化７８】



ＤＭＦ（５ｍＬ）中のＡ－２２ａ（５００ｍｇ、１．３５ｍｍｏｌ）、Ａ－２５（４２８ｍｇ、１．６２ｍｍｏｌ）及びK_2CO_3の撹拌溶液に、$PdCl_2$（ｄｐｐｆ）・ＤＣＭ（５５ｍｇ、０．０７ｍｍｏｌ）を加え、得られた混合物を、アルゴンで１０分間パージし、続いて１３０℃で９０分間撹拌した。出発材料の完全な消費の後、反応混合物を氷冷水でクエンチし、ＥｔＯＡｃ（３×５０ｍＬ）で抽出した。合わせた有機抽出物を塩水で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗製の材料を、ＤＣＭ中の５％ＭｅＯＨで溶出するシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、固体としてＩ－１９２を得た（２０ｍｇ、０．４６ｍｍｏｌ、収率３５％）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^+$＝４２７．８．^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6）：δ １０．９８（ｓ，１Ｈ），７．９４（ｓ，１Ｈ），７．９０（ｄ，Ｊ＝７．６Ｈｚ，１Ｈ），７．８０－７．７６（ｍ，２

Ｈ），７．３３－７．２５（ｍ，５Ｈ），６．７６（ｄ，Ｊ＝２．０Ｈｚ，１Ｈ），６．６４（ｄｄ，Ｊ＝７．２，２．０Ｈｚ，１Ｈ），５．１２（ｓ，２Ｈ），５．１２－５．０８（ｍ，１Ｈ），４．４８（ｄ，Ｊ＝１７．２Ｈｚ，１Ｈ），４．３６（ｄ，Ｊ＝１７．２Ｈｚ，１Ｈ），２．８０－２．７５（ｍ，１Ｈ），２．６０－２．５３（ｍ，１Ｈ），２．４５－２．３８（ｍ，１Ｈ），２．０２－１．９７（ｍ，１Ｈ）．

【１４０７】

以下の化合物は、実施例１８－５に記載されるプロトコルに従って合成された。

Ｉ－１８４：ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$＝３５６．１。

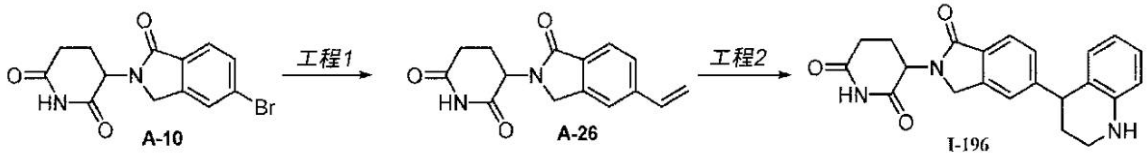
Ｉ－１８６：ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$＝３４２．１。

Ｉ－１９２：ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$＝４２７．８。

【１４０８】

実施例１８－６：３－（１－オキソ－５－（１，２，３，４－テトラヒドロキノリン－４－イル）イソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオン（Ｉ－１９６）

【化７９】



【１４０９】

工程１：３－（１－オキソ－５－ビニルイソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオン（Ａ－２６）

ジオキサン（１５ｍＬ）中のＡ－１０（１．５ｇ、４．６ｍｍｏｌ）及びトリブチル（ビニル）スタンナン（２．０４ｍＬ、６．９５ｍｍｏｌ）の溶液に、$PdCl_2(PPh_3)_2$（１６２ｍｇ、０．２３ｍｍｏｌ）を加え、得られた混合物をアルゴンで１０分間パージし、続いてマイクロ波中において１１０℃で１時間撹拌した。出発材料の完全な消費の後、反応混合物を水でクエンチし、ＥｔＯＡｃで抽出した（２×５０ｍＬ）。合わせた有機抽出物を塩水で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥させ、減圧下で濃縮した。得られた粗製の材料は、ヘキサン中の９０％ＥｔＯＡｃで溶出するシリカゲルクロマトグラフィーにより精製した。純粋な画分を収集し、減圧下で蒸発させて、固体としてＡ－２６を得た（５００ｍｇ、１．８５ｍｍｏｌ、収率４０％）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$＝２７１．２．

【１４１０】

工程２：３－（１－オキソ－５－（１，２，３，４－テトラヒドロキノリン－４－イル）イソインドリン－２－イル）ピペリジン－２，６－ジオン（Ｉ－１９６）

ＤＣＭ（４ｍＬ）中のＡ－２６（２００ｇ、０．７４ｍｍｏｌ）及び（アジドメチル）ベンゼン（１１８ｍｇ、０．８９ｍｍｏｌ）の溶液に、トリフリン酸（０．０８ｍＬ、０．８９ｍｍｏｌ）を加え、得られた混合物を室温で２時間撹拌した。出発材料の完全な消費の後、反応混合物を水でクエンチし、ＥｔＯＡｃ（２×５０ｍＬ）で抽出した。合わせた有機抽出物を塩水で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥させ、減圧下で濃縮した。得られた粗製の材料を、逆相ＨＰＬＣ（ＭｅＣＮ中の０．０１％NH_4OAcで溶出する）により精製して、固体としてＩ－９６を得た（１５ｍｇ、０．０４ｍｍｏｌ、収率６％）。ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$＝３７６．２．^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6）：δ １０．９６（ｓ，１Ｈ），７．６６（ｄ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，１Ｈ），７．３２－７．２３（ｍ，２Ｈ），６．９２（ｔ，Ｊ＝７．６Ｈｚ，１Ｈ），６．５９－６．５５（ｍ，２Ｈ），６．４１（ｔ，Ｊ＝７．２Ｈｚ，１Ｈ），５．０８（ｄｄ，Ｊ＝１３．２，５．２Ｈｚ，１Ｈ），４．４４－４．２３（ｍ，３Ｈ），３．２４－３．１８（ｍ，１Ｈ），３．１０－３．０５（ｍ，１Ｈ），２．９５－２．８６（ｍ，１Ｈ），２．６６－２．５０（ｍ，２Ｈ），２．４２－２．３１（ｍ，１Ｈ），２．１０－１．９８（ｍ，３Ｈ）．

【１４１１】

化合物Ｉ－１９７は、実施例１８－６において上で記載される同じ方法において合成された。Ｉ－１９７：ＭＳ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$＝４６６．２．

【１４１２】

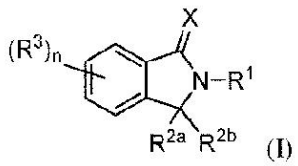
均等物

本明細書で引用した各々の及び全ての特許、特許出願及び刊行物の開示は、それらの全体を参照することにより本明細書に組み込まれる。本発明は、特定の態様を参照して開示されているが、本発明の真の趣旨及び範囲から逸脱することなく、他の当業者によって本発明の他の態様及び変形形態が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、全てのそのような態様及び均等な変形形態を含むと解釈されることが意図される。

さらに、本発明は次の態様を包含する。

１．式（Ｉ）の化合物（ＣＯＦ１）／ＣＲＢＮ（セレブロン）結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド、例えば異種哺乳動物、細菌又はウイルスポリペプチドを含む融合ポリペプチドであって、式（Ｉ）の前記化合物は、

【化８０】



(I)

（式中、

Ｘは、Ｏ又はＳであり；

R^{1}は、C_{1}～C_{6}アルキル、C_{2}～C_{6}アルケニル、C_{2}～C_{6}アルキニル、C_{1}～C_{6}ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、１つ以上のR^{4}によって独立して且つ任意選択により置換され；

R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素又はC_{1}～C_{6}アルキルであるか；又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；

R^{3}の各々は、独立して、C_{1}～C_{6}アルキル、C_{2}～C_{6}アルケニル、C_{2}～C_{6}アルキニル、C_{1}～C_{6}ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）R^{A}、－Ｃ（Ｏ）OR^{B}、－OR^{B}、－Ｎ（R^{C}）（R^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^{C}）（R^{D}）、－Ｎ（R^{C}）Ｃ（Ｏ）R^{A}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}R^{E}$、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（R^{C}）（R^{D}）又は－Ｎ（R^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}R^{E}$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{6}で置換され；

各R^{4}は、独立して、C_{1}～C_{6}アルキル、C_{2}～C_{6}アルケニル、C_{2}～C_{6}アルキニル、C_{1}～C_{6}ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－Ｃ（Ｏ）R^{A}、－Ｃ（Ｏ）OR^{B}、－OR^{B}、－Ｎ（R^{C}）（R^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^{C}）（R^{D}）、－Ｎ（R^{C}）Ｃ（Ｏ）R^{A}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}R^{E}$、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（R^{C}）（R^{D}）、－Ｎ（R^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}R^{E}$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{7}で置換され；

R^{A}、R^{B}、R^{C}、R^{D}及びR^{E}の各々は、独立して、水素又はC_{1}～C_{6}アルキルであり；

各R^{6}は、独立して、C_{1}～C_{6}アルキル、オキソ、シアノ、－OR^{B}、－Ｎ（R^{C}）（R^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^{C}）（R^{D}）、－Ｎ（R^{C}）Ｃ（Ｏ）R^{A}、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{8}で置換され；

各R^{7}は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－OR^{B}、－Ｎ（R^{C}）（R^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^{C}）（R^{D}）又は－Ｎ（R^{C}）Ｃ（Ｏ）R^{A}であり；

各R^{8}は、独立して、C_{1}～C_{6}アルキル、シアノ、－OR^{B}、－Ｎ（R^{C}）（R^{D}）、－

Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}であり；
ｎは、０、１、２、３又は４であり；及び
ｘは、０、１又は２である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、溶媒和物若しくは互変異性体である、融合ポリペプチド。
２．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、前記異種ポリペプチドに融合される、項１に記載の融合ポリペプチド。
３．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び前記異種ポリペプチドは、ペプチド結合によって連結される、項１又は２に記載の融合ポリペプチド。
４．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び前記異種ポリペプチドは、ペプチド結合以外の結合によって連結される、項１又は２に記載の融合ポリペプチド。
５．前記異種ポリペプチドは、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドに直接的に連結される、項１～４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
６．前記異種ポリペプチドは、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドに間接的に連結される、項１～４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
７．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び前記異種ポリペプチドは、リンカー、例えばグリシン－セリンリンカー、例えば配列番号２８のアミノ酸配列を含むリンカーを介して作動可能に連結される、項１～６のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
８．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、前記異種ポリペプチドのＣ末端又はＮ末端に連結される、項１～７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
９．ＣＯＦ１の非存在下での前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとセレブロン（ＣＲＢＮ）との会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下である、項１～８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１０．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＣＯＦ１の非存在下でＣＲＢＮに結合しない、項１～９のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１１．ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下である、項１～１０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１２．ＣＯＦ１の非存在下でＣＲＢＮに結合しない、項１～１１のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１３．ＣＯＦ１の非存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、項１～１２のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１４．ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、項１～１３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１５．前記異種ポリペプチド又は前記融合ポリペプチドは、ＣＯＦ１の存在下おいて１つ以上のリジン又はメチオニン残基でユビキチン化される、項１３又は１４に記載の融合ポリペプチド。
１６．ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドの分解は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって

測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、項１～１５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１７．前記融合ポリペプチドの分解は、ＣＯＦ１の存在下でユビキチン化によって媒介される、項１６に記載の融合ポリペプチド。
１８．前記会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項９～１７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１９．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、１０～９５のアミノ酸残基長、１５～９０のアミノ酸残基長、２０～８５のアミノ酸残基長、２５～８０のアミノ酸残基長、３０～７５のアミノ酸残基長、３５～７０のアミノ酸残基長、４０～６５のアミノ酸残基長、４５～６０のアミノ酸残基長、５０～６５のアミノ酸残基長又は５５～６５のアミノ酸残基長である、項１～１８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
２０．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βターンを含む、項１～１９のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
２１．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βヘアピンを含む、項１～２０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
２２．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βストランドを含む、項１～２１のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
２３．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、αヘリックスを含む、項１～２２のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
２４．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド及び第１のαヘリックスを含む、項１～２３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
２５．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド、第１のαヘリックス及び第２のαヘリックスを含む、項１～２４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
２６．前記βヘアピン及び前記第２のαヘリックスは、６０、５０、４０又は３０個以下のアミノ酸残基によって隔てられている、項２５に記載の融合ポリペプチド。
２７．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、天然に存在するポリペプチド又はそのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合変異体、例えば天然に存在するＩＫＺＦポリペプチド又はそのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合変異体、例えば天然に存在するＩＫＺＦ１、ＩＫＺＦ２、ＩＫＺＦ３、ＩＫＺＦ４、ＩＫＺＦ５又はそのＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合変異体に由来するＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合配列を含む、項１～２６のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
２８．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合配列は、前記天然に存在するポリペプチド、例えば天然に存在するＩＫＺＦポリペプチド、例えば天然に存在するＩＫＺＦ１、ＩＫＺＦ２、ＩＫＺＦ３、ＩＫＺＦ４又はＩＫＺＦ５に由来する２つ以上の非連続的な配列を含む、項２７に記載の融合ポリペプチド。
２９．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦポリペプチド又はその構造モチーフを含む、項１～２８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３０．前記ＩＫＺＦポリペプチドは、ＩＫＺＦ１ポリペプチド、ＩＫＺＦ３ポリペプチド、Ｈ１４１Ｑ置換（配列番号２１に従って番号付けされる）を有するＩＫＺＦ２ポリペプチド、又はＨ１８８Ｑ置換（配列番号２２に従って番号付けされる）を有するＩＫＺＦ４ポリペプチドである、項２９に記載の融合ポリペプチド。
３１．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、
ｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本

明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ（例えば、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフを含む、項１～３０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３２．前記会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項３１に記載の融合ポリペプチド。
３３．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３の約１０～約９５個のアミノ酸残基、約１５～約９０個のアミノ酸残基、約２０～約８５個のアミノ酸残基、約２５～約８０個のアミノ酸残基、約３０～約７５個のアミノ酸残基、約３５～約７０個のアミノ酸残基、約４０～約６５個のアミノ酸残基、約４５～約６５個のアミノ酸残基、約５０～約６５個のアミノ酸残基又は約５５～約６５個のアミノ酸残基を含む、項１～３２のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３４．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、
ｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）に由

来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む、項１～３３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３５．前記会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項３４に記載の融合ポリペプチド。
３６．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）（例えば、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を含む）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）は１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列）（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０から１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸置換を有する配列）を含む、項１～３５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３７．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、
ｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１７０に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む、項１～３３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３８．前記会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項３７に記載の融合ポリペプチド。
３９．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）（例えば、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号６のアミノ酸配列を含む）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５又は３０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１７０と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５又は３０個以

下のアミノ酸残基だけ異なる配列）（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１７０から１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５又は３０個以下のアミノ酸置換を有する配列）を含む、項１～３３、３７又は３８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
４０．以下のアミノ酸残基：配列番号１９に従って番号付けされる１４７位のグルタミン、１４８位のシステイン、１５０位のグルタミン、１５２位のグリシン、１６１位のロイシン又は１６２位のロイシンの１つ、２つ、３つ又は全ては、不変のままである、項３６～３９のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
４１．配列番号１９に従って番号付けされる１４７位のグルタミンは、不変のままである、項４０に記載の融合ポリペプチド。
４２．配列番号１９に従って番号付けされる１４８位のシステインは、不変のままである、項４０に記載の融合ポリペプチド。
４３．配列番号１９に従って番号付けされる１５２位のグリシンは、不変のままである、項４０に記載の融合ポリペプチド。
４４．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１３９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含み、例えば、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４０のアミノ酸配列を含む、項１～４３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
４５．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含み、例えば、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号５又は７７のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項１～４４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
４６．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含み、例えば、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号６又は７８のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項１～４４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
４７．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、
ｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残

基２３６～２４９に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む、項１～４６のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
４８．前記会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項４７に記載の融合ポリペプチド。
４９．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）（例えば、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１のアミノ酸配列を含む）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列）（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９から１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸置換を有する配列）を含む、項１～４８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
５０．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含み、例えば、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１のアミノ酸配列を含む、項１～４９のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
５１．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＭＡＬＥＫＭＡＬＥＫＭＡＬＥのアミノ酸配列（配列番号９１）を含む、項１～４９のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
５２．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、
ｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ１の非存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１の存在下での前記融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０及び２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０及び２３６～２４９に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む、項１～５１のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
５３．前記会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項５２に記載の融合ポリペプチド。
５４．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～

１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第１の配列（例えば、配列番号５のアミノ酸配列を含む第１の配列）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる第１の配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる第１の配列）；及びＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第２の配列（例えば、配列番号１１のアミノ酸配列を含む第２の配列）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基だけ異なる第２の配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基だけ異なる第２の配列）を含む、項１～５３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

５５．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０及び２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含み、例えば、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１又は３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項１～５４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

５６．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１又は３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項１～５５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

５７．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第１の配列及びＭＡＬＥＫＭＡＬＥＫＭＡＬＥのアミノ酸配列（配列番号９１）を含む第２の配列を含み、例えば、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１４又は８５のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項１～５６のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

５８．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第１の配列及びＭＡＬＥＫＭＡＬＥＫＭＡＬＥのアミノ酸配列（配列番号９１）を含む第２の配列を含み、例えば、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１５又は８６のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項１～５６のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

５９．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、対応する天然配列よりも少なくとも１つ少ないリジンを含む、項１～５８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

６０．前記対応する天然配列中の１つ以上のリジン残基は、異なるアミノ酸、例えばアルギニンによって置き換えられる、項５９に記載の融合ポリペプチド。

６１．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、１、２、３、４又は５個未満のリジン残基を含む、項５９又は６０に記載の融合ポリペプチド。

６２．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、リジン残基を含まない、項６１に記載の融合ポリペプチド。

６３．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、ＣＯＦ１の存在下において、例えば本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ユビキチン化されず、任意選択により、ユビキチン化は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項１～６２のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

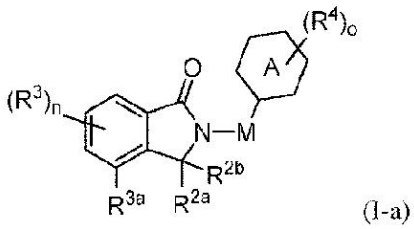
６４．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４、４１、４２及び４３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項１～６３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

６５．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号２又は４のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項１～６３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

６６．前記ＣＯＦ１は、免疫調節性イミド薬剤（ＩＭｉＤ）又はその薬学的に許容される塩である、項１～６５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

６７．前記ＣＯＦ１は、式（Ｉ－ａ）：

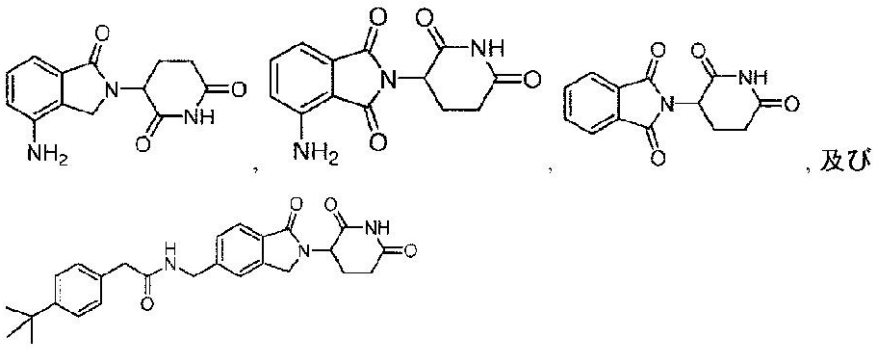
【化８１】



(I-a)

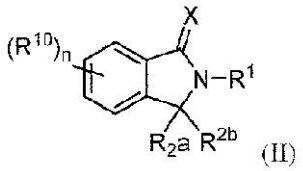
（式中、
環Ａは、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{4}で置換され；
Ｍは、存在しないか、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキルであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{4}で置換され；
Ｒ^{2a}及びＲ^{2b}の各々は、独立して、水素又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルであるか；又はＲ^{2a}及びＲ^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；
Ｒ^{3a}は、水素、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{6}で置換され；
Ｒ^{3}の各々は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{6}で置換され；
各Ｒ^{4}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{7}で置換され；
Ｒ^{A}、Ｒ^{B}、Ｒ^{C}、Ｒ^{D}及びＲ^{E}の各々は、独立して、水素又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルであり；
各Ｒ^{6}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、オキソ、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{8}で置換され；
各Ｒ^{7}は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}であり；
各Ｒ^{8}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}であり；
ｎは、０、１、２又は３であり；
ｏは、０、１、２、３、４又は５であり；及び
ｘは、０、１又は２である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物若しくは互変異性体の構造を有する、

項１～６５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
６８．Ｘは、Ｏである、項６７に記載の融合ポリペプチド。
６９．Ｍは、存在しない、項６７又は６８に記載の融合ポリペプチド。
７０．環Ａは、ヘテロシクリル（例えば、窒素含有ヘテロシクリル、例えば２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）イソインドリン－１，３－ジオン）である、項６７～６９のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
７１．R^4は、オキソ又はOR^B（例えば、－ＯＣＨ$_3$又は－ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_3$）であり、且つｏは、０、１又は２である、項６７～７０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
７２．R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素であるか、又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基を形成する、項６７～７１のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
７３．R^{3a}は、ヘテロアルキル（例えば、－ＣＨ$_2$ＮＨＣ（Ｏ）ＣＨ$_2$）、－Ｎ（R^C）（R^D）（例えば、－ＮＨ$_2$）又は－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A（例えば、－ＮＨＣ（Ｏ）ＣＨ$_3$）である、項６７～７２のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
７４．ｎは、０である、項６７～７３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
７５．前記ＣＯＦ１は、サリドマイド又はその類似体若しくは薬学的に許容される塩である、項１～７４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
７６．前記ＣＯＦ１は、レナリドミド、ポマリドミド、サリドマイド及び２－（４－（ｔｅｒｔ－ブチル）フェニル）－Ｎ－（（２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－５－イル）メチル）アセトアミド又はその薬学的に許容される塩からなる群から選択される、項１～７４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
７７．前記ＣＯＦ１は、
【化８２】



又はその薬学的に許容される塩からなる群から選択される、項１～７４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
７８．前記ＣＯＦ１は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩である、項１～７４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
７９．前記ＣＯＦ１は、レナリドミド又はその類似体若しくは薬学的に許容される塩である、項１～７４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
８０．分解ドメインをさらに含み、前記分解ドメインは、異種プロテアーゼ切断部位によって前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び前記異種ポリペプチドから隔てられている、項１～７９のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
８１．Ｎ末端からＣ末端までに、
ｉ）前記分解ドメイン、前記異種プロテアーゼ切断部位、前記異種ポリペプチド及び前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド；
ｉｉ）前記分解ドメイン、前記異種プロテアーゼ切断部位、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び前記異種ポリペプチド；
ｉｉｉ）前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、前記異種ポリペプチド、前記異種プロテアーゼ切断部位及び前記分解ドメイン；又は

ｉｖ）前記異種ポリペプチド及び前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、前記異種プロテアーゼ切断部位及び前記分解ドメイン
を含む、項８０に記載の融合ポリペプチド。
８２．Ｎ末端からＣ末端までに、前記分解ドメイン、前記異種プロテアーゼ切断部位、前記異種ポリペプチド及び前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含む、項８０に記載の融合ポリペプチド。
８３．異種プロテアーゼ切断部位によって隔てられた第１のドメイン及び第２のドメインを含む融合ポリペプチドであって、前記第１のドメインは、分解ドメインを含み、及び前記第２のドメインは、式（ＩＩ）の化合物（ＣＯＦ２）／ＣＲＢＮ（セレブロン）結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド、例えば異種哺乳動物、細菌又はウイルスポリペプチドを含み、式（ＩＩ）の前記化合物は、
【化８３】



（式中、
Ｘは、Ｏ又はＳであり；
R^1は、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、１つ以上のR^4によって独立して且つ任意選択により置換され；
R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであるか；又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；
R^{10}の各々は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）ＯR^B、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（$R^C$）（$R^D$）若しくは－Ｎ（$R^C$）Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$又はＬ－タグであり；各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{11}で置換され；
各R^4は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）ＯR^B、ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（$R^C$）（$R^D$）、－Ｎ（$R^C$）Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^7で置換され；
R^A、R^B、R^C、R^D及びR^Eの各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであり；
各R^{11}は、独立して、C_1～C_6アルキル、ハロ、オキソ、シアノ、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^8で置換され；
各R^7は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）又は－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^Aであり；
各R^8は、独立して、C_1～C_6アルキル、ハロ、シアノ、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）又は－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^Aであり；
各Ｌは、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、

C_1～C_6ヘテロアルキル、－Ｃ（Ｏ）R^{A1}、－Ｃ（Ｏ）OR^{B1}、－OR^{B1}、－Ｎ（R^{C1}）（R^{D1}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^{C1}）（R^{D1}）、－Ｎ（R^{C1}）Ｃ（Ｏ）R^{A1}、－Ｓ（Ｏ）$_x R^{E1}$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（R^{C1}）（R^{D1}）又は－Ｎ（R^{C1}）Ｓ（Ｏ）$_x R^{E1}$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{12}で置換され；
各タグは、標的タンパク質に結合可能な標的化部分であり；
R^{A1}、R^{B1}、R^{C1}、R^{D1}及びR^{E1}の各々は、独立して、水素、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^{12}で置換され；
各R^{12}は、独立して、C_1～C_6アルキル、ハロ、シアノ、カルボシクリル又はヘテロシクリルであり；
ｎは、０、１、２、３又は４であり；及び
ｘは、０、１又は２である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、互変異性体若しくはプロドラッグである、融合ポリペプチド。
８４．前記分解ドメインは、前記融合ポリペプチドの発現の第１のレベルと関連する第１の状態及び前記融合ポリペプチドの発現の第２のレベルと関連する第２の状態を有し、前記第２のレベルは、例えば、安定化化合物の存在下で前記第１のレベルの少なくとも２、３、４、５、１０、２０又は３０倍増大される、項８０～８３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
８５．前記安定化化合物の非存在下において、細胞の分解経路によって分解され、例えば本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、例えば、前記融合ポリペプチドの少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％以上は、分解される、項８４に記載の融合ポリペプチド。
８６．前記発現のレベル及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項８４又は８５に記載の融合ポリペプチド。
８７．前記安定化化合物の存在下において、
ｉ）前記分解ドメインは、前記安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、細胞性分解に対してより耐性のある立体構造をとるか；又は
ｉｉ）前記融合ポリペプチドの前記立体構造は、前記安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、前記異種プロテアーゼ切断部位での切断により許容的である、項８４～８６のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
８８．前記分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメイン、ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメイン又はジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメインから選択される、項８０～８７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
８９．前記分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメインである、項８８に記載の融合ポリペプチド。
９０．前記分解ドメインは、配列番号４６又は４８と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む、項８９に記載の融合ポリペプチド。
９１．前記分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む、項９０に記載の融合ポリペプチド。
９２．前記安定化化合物は、バゼドキシフェン若しくは４－ヒドロキシタモキシフェン（４－ＯＨＴ）又はその薬学的に許容される塩である、項８９～９１のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
９３．前記分解ドメインは、ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメインである、項８８に記載の融合ポリペプチド。
９４．前記分解ドメインは、配列番号５０と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む、項９３に記載の融合ポリペプチド。

９５．前記安定化化合物は、Ｓｈｉｅｌｄ－１又はその薬学的に許容される塩である、項９３又は９４に記載の融合ポリペプチド。
９６．前記分解ドメインは、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメインである、項８８に記載の融合ポリペプチド。
９７．前記分解ドメインは、配列番号５１と少なくとも９０、９５、９７、９８、９９又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む、項９６に記載の融合ポリペプチド。
９８．前記安定化化合物は、トリメトプリム又はその薬学的に許容される塩である、項９６又は９７に記載の融合ポリペプチド。
９９．前記異種プロテアーゼ切断部位は、哺乳動物の細胞内プロテアーゼによって切断される、項８０～９８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１００．前記異種プロテアーゼ切断部位は、フューリン、ＰＣＳＫ１、ＰＣＳＫ５、ＰＣＳＫ６、ＰＣＳＫ７、カテプシンＢ、グランザイムＢ、因子ＸＡ、エンテロキナーゼ、ｇｅｎｅｎａｓｅ、ソルターゼ、ｐｒｅｃｉｓｓｉｏｎプロテアーゼ、トロンビン、ＴＥＶプロテアーゼ，及びエラスターゼ１からなる群から選択されるプロテアーゼによって切断される、項９９に記載の融合ポリペプチド。
１０１．前記異種プロテアーゼ切断部位は、ＲＸ（Ｋ／Ｒ）Ｒコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号５２）、ＲＸＸＸ［ＫＲ］Ｒコンセンサスモチーフ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号５３）、ＲＲＸコンセンサスモチーフ（配列番号５４）、Ｉ－Ｅ－Ｐ－Ｄ－Ｘコンセンサスモチーフ（配列番号５５）、Ｉｌｅ－Ｇｌｕ／Ａｓｐ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ（配列番号５６）、Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ｌｙｓ（配列番号５７）、Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－Ａｌａ－Ａｌａ－Ｈｉｓ－Ｔｙｒ（配列番号５８）、ＬＰＸＴＧ／Ａコンセンサスモチーフ（配列番号５９）、Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｖａｌ－Ｐｈｅ－Ｇｌｎ－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ（配列番号６０）、Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｐｒｏ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ（配列番号６１）、Ｅ－Ｎ－Ｌ－Ｙ－Ｆ－Ｑ－Ｇ（配列番号６２）及び［ＡＧＳＶ］－Ｘ（Ｘは、いずれのアミノ酸でもあり得る；配列番号６３）からなる群から選択される切断モチーフを有する配列を含む、項９９又は１００に記載の融合ポリペプチド。
１０２．前記異種プロテアーゼ切断部位は、フューリンによって切断される、項９９に記載の融合ポリペプチド。
１０３．前記異種プロテアーゼ切断部位は、ＲＴＫＲ（配列番号１２３）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＤＶＧ（配列番号１２５）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲ（配列番号１２７）；ＬＱＷＬＥＱＱＶＡＫＲＲＴＫＲ（配列番号１２９）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＧ（配列番号１３１）；ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧ（配列番号１３３）；ＳＬＮＬＴＥＳＨＮＳＲＫＫＲ（配列番号１３５）；ＣＫＩＮＧＹＰＫＲＧＲＫＲＲ（配列番号１３７）；及びＳＡＲＮＲＱＫＲ（配列番号３４）からなる群から選択されるフューリン切断部位を含む、項１０２に記載の融合ポリペプチド。
１０４．前記異種プロテアーゼ切断部位は、ＧＴＧＡＥＤＰＲＰＳＲＫＲＲＳＬＧＤＶＧ（配列番号１２５）のフューリン切断部位を含む、項１０２に記載の融合ポリペプチド。
１０５．前記異種プロテアーゼ切断部位は、哺乳動物の細胞外プロテアーゼによって切断される、項８０～９８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１０６．前記哺乳動物の細胞外プロテアーゼは、因子ＸＡ、エンテロキナーゼ、ｇｅｎｅｎａｓｅ、ソルターゼ、ｐｒｅｃｉｓｓｉｏｎプロテアーゼ、トロンビン、ＴＥＶプロテアーゼ，及びエラスターゼ１からなる群から選択される、項１０５に記載の融合ポリペプチド。
１０７．前記異種プロテアーゼ切断部位は、Ｉｌｅ－Ｇｌｕ／Ａｓｐ－Ｇｌｙ－Ａｒｇ（配列番号５６）、Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ａｓｐ－Ｌｙｓ（配列番号５７）、Ｐｒｏ－Ｇｌｙ－Ａｌａ－Ａｌａ－Ｈｉｓ－Ｔｙｒ（配列番号５８）、ＬＰＸＴＧ／Ａコンセンサスモチーフ（配列番号５９）、Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｖａｌ－Ｐｈｅ－Ｇｌｎ－Ｇｌｙ－Ｐｒｏ（配列番号６０）、Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｐｒｏ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ（配列番号６１）、Ｅ－Ｎ－Ｌ－Ｙ－Ｆ－Ｑ－Ｇ（配列番号６２）及び［ＡＧＳＶ］－Ｘ（Ｘは、いずれ

のアミノ酸でもあり得る；配列番号６３）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項１０６に記載の融合ポリペプチド。
１０８．前記分解ドメインは、前記異種プロテアーゼ切断部位に融合され、前記異種プロテアーゼ切断部位は、前記第２のドメインにさらに融合される、項８３～１０７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１０９．Ｎ末端からＣ末端までに、
ｉ）前記分解ドメイン、前記異種プロテアーゼ切断部位、前記異種ポリペプチド及び前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド；
ｉｉ）前記分解ドメイン、前記異種プロテアーゼ切断部位、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び前記異種ポリペプチド；
ｉｉｉ）前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、前記異種ポリペプチド、前記異種プロテアーゼ切断部位及び前記分解ドメイン；又は
ｉｖ）前記異種ポリペプチド及び前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、前記異種プロテアーゼ切断部位及び前記分解ドメイン
を含む、項８３～１０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１１０．Ｎ末端からＣ末端までに、前記分解ドメイン、前記異種プロテアーゼ切断部位、前記異種ポリペプチド及び前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドを含む、項８３～１０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１１１．ＣＯＦ２の非存在下での前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとセレブロン（ＣＲＢＮ）との会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下である、項８３～１１０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１１２．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＣＯＦ２の非存在下でＣＲＢＮに結合しない、項８３～１１１のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１１３．ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下である、項８３～１１２のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１１４．ＣＯＦ２の非存在下でＣＲＢＮに結合しない、項８３～１１３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１１５．ＣＯＦ２の非存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、項８３～１１４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１１６．ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、項８３～１１５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１１７．前記異種ポリペプチド又は前記融合ポリペプチドは、ＣＯＦ２の存在下おいて１つ以上のリジン又はメチオニン残基でユビキチン化される、項１１５又は１１６に記載の融合ポリペプチド。
１１８．ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドの分解は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５

０％、６０％又は７０％以下である、項８３～１１７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１１９．前記融合ポリペプチドの分解は、ＣＯＦ２の存在下でユビキチン化によって媒介される、項１１８に記載の融合ポリペプチド。
１２０．前記会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項１１１～１１９のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１２１．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、１０～９５のアミノ酸残基長、１５～９０のアミノ酸残基長、２０～８５のアミノ酸残基長、２５～８０のアミノ酸残基長、３０～７５のアミノ酸残基長、３５～７０のアミノ酸残基長、４０～６５のアミノ酸残基長、４５～６０のアミノ酸残基長、５０～６５のアミノ酸残基長又は５５～６５のアミノ酸残基長である、項８３～１２０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１２２．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βターンを含む、項８３～１２１のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１２３．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βヘアピンを含む、項８３～１２２のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１２４．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βストランドを含む、項８３～１２３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１２５．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、αヘリックスを含む、項８３～１２４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１２６．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド及び第１のαヘリックスを含む、項８３～１２５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１２７．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド、第１のαヘリックス及び第２のαヘリックスを含む、項８３～１２６のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１２８．前記βヘアピン及び前記第２のαヘリックスは、６０、５０、４０又は３０個以下のアミノ酸残基によって隔てられている、項１２７に記載の融合ポリペプチド。
１２９．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、天然に存在するポリペプチド又はそのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合変異体、例えば天然に存在するＩＫＺＦポリペプチド又はそのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合変異体、例えば天然に存在するＩＫＺＦ１、ＩＫＺＦ２、ＩＫＺＦ３、ＩＫＺＦ４又はＩＫＺＦ５、そのＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合変異体に由来するＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合配列を含む、項８３～１２８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１３０．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合配列は、前記天然に存在するポリペプチド、例えば天然に存在するＩＫＺＦポリペプチド、例えば天然に存在するＩＫＺＦ１、ＩＫＺＦ２、ＩＫＺＦ３、ＩＫＺＦ４又はＩＫＺＦ５に由来する２つ以上の非連続的な配列を含む、項１２９に記載の融合ポリペプチド。
１３１．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦポリペプチド又はその構造モチーフを含む、項８３～１３０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１３２．前記ＩＫＺＦポリペプチドは、ＩＫＺＦ１ポリペプチド、ＩＫＺＦ３ポリペプチド、Ｈ１４１Ｑ置換（配列番号２１に従って番号付けされる）を有するＩＫＺＦ２ポリペプチド、又はＨ１８８Ｑ置換（配列番号２２に従って番号付けされる）を有するＩＫＺＦ４ポリペプチドである、項１３１に記載の融合ポリペプチド。
１３３．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、
ｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；

ｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、
ＩＫＺＦ（例えば、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフを含む、項８３～１３２のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１３４．前記会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項１３３に記載の融合ポリペプチド。
１３５．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ１又はＩＫＺＦ３の約１０～約９５個のアミノ酸残基、約１５～約９０個のアミノ酸残基、約２０～約８５個のアミノ酸残基、約２５～約８０個のアミノ酸残基、約３０～約７５個のアミノ酸残基、約３５～約７０個のアミノ酸残基、約４０～約６５個のアミノ酸残基、約４５～約６５個のアミノ酸残基、約５０～約６５個のアミノ酸残基又は約５５～約６５個のアミノ酸残基を含む、項８３～１３４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１３６．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、
ｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；
ｉｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；
ｉｖ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は
ｖ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、

ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む、項８３～１３５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１３７．前記会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項１３６に記載の融合ポリペプチド。

１３８．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）（例えば、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列を含む）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列）（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０から１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸置換を有する配列）を含む、項８３～１３７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１３９．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、

ｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；

ｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；

ｉｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；

ｉｖ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は

ｖ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、

ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１７０に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む、項８３～１３７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１４０．前記会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項１３９に記載の融合ポリペプチド。

１４１．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）（例えば、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号６のアミノ酸配列を含む）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５又は３０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列（例えば、配列番号１９の

アミノ酸残基１３６～１７０と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５又は３０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列）（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１７０から１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５又は３０個以下のアミノ酸置換を有する配列）を含む、項８３～１３７、１３９又は１４０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１４２．以下のアミノ酸残基：配列番号１９に従って番号付けされる１４７位のグルタミン、１４８位のシステイン、１５０位のグルタミン、１５２位のグリシン、１６１位のロイシン又は１６２位のロイシンの１つ、２つ、３つ又は全ては、不変のままである、項１３８～１４１のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１４３．配列番号１９に従って番号付けされる１４７位のグルタミンは、不変のままである、項１４２に記載の融合ポリペプチド。

１４４．配列番号１９に従って番号付けされる１４８位のシステインは、不変のままである、項１４２に記載の融合ポリペプチド。

１４５．配列番号１９に従って番号付けされる１５２位のグリシンは、不変のままである、項１４２に記載の融合ポリペプチド。

１４６．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１３９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含み、例えば、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４０のアミノ酸配列を含む、項８３～１４５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１４７．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含み、例えば、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号５又は７７のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項８３～１４６のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１４８．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含み、例えば、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号６又は７８のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項８３～１４６のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１４９．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、

ｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；

ｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；

ｉｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；

ｉｖ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は

ｖ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、

ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む、項８３～１４８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１５０．前記会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項１４９に記載の融合ポリペプチド。

１５１．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）（例えば、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１のアミノ酸配列を含む）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列）（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９から１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸置換を有する配列）を含む、項８３～１５０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１５２．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含み、例えば、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１のアミノ酸配列を含む、項８３～１５１のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１５３．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＭＡＬＥＫＭＡＬＥＫＭＡＬＥのアミノ酸配列（配列番号９１）を含む、項８３～１５２のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１５４．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、

ｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；

ｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であるか；

ｉｉｉ）ＣＯＦ２の非存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記異種ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；

ｉｖ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化が、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であるか；又は

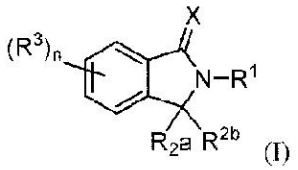
ｖ）ＣＯＦ２の非存在下での前記融合ポリペプチドの分解が、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ２、例えば過剰量のＣＯＦ２の存在下での前記融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、

ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０及び２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０及び２３６～２４９に由来する十分なアミノ酸配列及び／又は構造モチーフ）を含む、項８３～１５３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１５５．前記会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項１５４に記載の融合ポリペプチド。
１５６．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第１の配列（例えば、配列番号５のアミノ酸配列を含む第１の配列）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる第１の配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基１３６～１８０と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる第１の配列）；及びＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第２の配列（例えば、配列番号１１のアミノ酸配列を含む第２の配列）又はＩＫＺＦ３のアミノ酸残基２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基だけ異なる第２の配列（例えば、配列番号１９のアミノ酸残基２３６～２４９と１、２、３、４、５、６又は７個以下のアミノ酸残基だけ異なる第２の配列）を含む、項８３～１５５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１５７．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０及び２３６～２４９（配列番号１９に従って番号付けされる）を含み、例えば、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１又は３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項８３～１５６のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１５８．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１又は３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項８３～１５７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１５９．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１８０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第１の配列及びＭＡＬＥＫＭＡＬＥＫＭＡＬＥのアミノ酸配列（配列番号９１）を含む第２の配列を含み、例えば、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１４又は８５のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項８３～１５８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１６０．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ３のアミノ酸残基１３６～１７０（配列番号１９に従って番号付けされる）を含む第１の配列及びＭＡＬＥＫＭＡＬＥＫＭＡＬＥのアミノ酸配列（配列番号９１）を含む第２の配列を含み、例えば、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１５又は８６のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項８３～１５９のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１６１．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、対応する天然配列よりも少なくとも１つ少ないリジンを含む、項８３～１６０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１６２．前記対応する天然配列中の１つ以上のリジン残基は、異なるアミノ酸、例えばアルギニンによって置き換えられる、項１６１に記載の融合ポリペプチド。
１６３．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、１、２、３、４又は５個未満のリジン残基を含む、項１６１又は１６２に記載の融合ポリペプチド。
１６４．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、リジン残基を含まない、項１６３に記載の融合ポリペプチド。
１６５．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、例えば、ＣＯＦ２の存在下において、例えば本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ユビキチン化されず、任意選択により、ユビキチン化は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項８３～１６４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１６６．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号４、４１、４２及び４３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、項８３～１６５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１６７．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号２又は４のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項８３～１６５のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１６８．前記ＣＯＦ２は、免疫調節性イミド薬剤（ＩＭｉＤ）又はその薬学的に許容される塩である、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１６９．前記ＣＯＦ２は、式（Ｉ）：

【化８４】



（式中、

Ｘは、Ｏ又はＳであり；

Ｒ^{1}は、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、１つ以上のＲ^{4}によって独立して且つ任意選択により置換され；

Ｒ^{2a}及びＲ^{2b}の各々は、独立して、水素又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルであるか；又はＲ^{2a}及びＲ^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；

Ｒ^{3}の各々は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{6}で置換され；

各Ｒ^{4}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{7}で置換され；

Ｒ^{A}、Ｒ^{B}、Ｒ^{C}、Ｒ^{D}及びＲ^{E}の各々は、独立して、水素又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルであり；

各Ｒ^{6}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、オキソ、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{8}で置換され；

各Ｒ^{7}は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}であり；

各Ｒ^{8}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}であり；

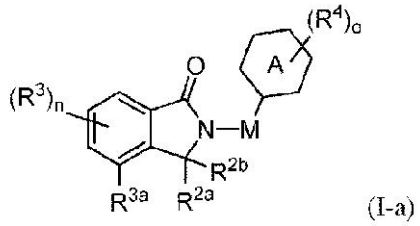
ｎは、０、１、２、３又は４であり；及び

ｘは、０、１又は２である）

又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、溶媒和物若しくは互変異性体の構造を有する、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１７０．前記ＣＯＦ２は、式（Ｉ－ａ）：

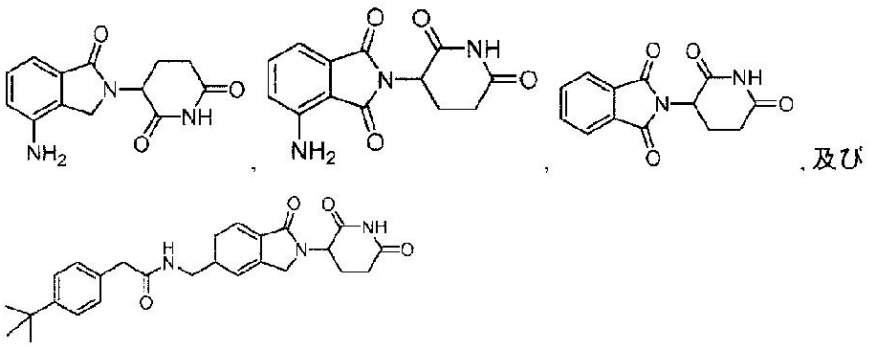
【化８５】



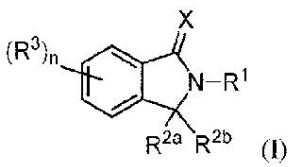
(I-a)

（式中、
環Ａは、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{4}で置換され；
Ｍは、存在しないか、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキルであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{4}で置換され；
Ｒ^{2a}及びＲ^{2b}の各々は、独立して、水素又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルであるか；又はＲ^{2a}及びＲ^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；
Ｒ^{3a}は、水素、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{6}で置換され；
Ｒ^{3}の各々は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{6}で置換され；
各Ｒ^{4}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルケニル、Ｃ$_{2}$～Ｃ$_{6}$アルキニル、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ^{B}、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、－Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｓ（Ｏ）$_{x}$Ｒ^{E}、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{7}で置換され；
Ｒ^{A}、Ｒ^{B}、Ｒ^{C}、Ｒ^{D}及びＲ^{E}の各々は、独立して、水素又はＣ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルであり；
各Ｒ^{6}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、オキソ、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のＲ^{8}で置換され；
各Ｒ^{7}は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}であり；
各Ｒ^{8}は、独立して、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキル、シアノ、－ＯＲ^{B}、－Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ^{C}）（Ｒ^{D}）又は－Ｎ（Ｒ^{C}）Ｃ（Ｏ）Ｒ^{A}であり；
ｎは、０、１、２又は３であり；
ｏは、０、１、２、３、４又は５であり；及び
ｘは、０、１又は２である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物若しくは互変異性体の構造を有する、

項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１７１．前記ＣＯＦ２は、サリドマイド又はその類似体若しくは薬学的に許容される塩である、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１７２．前記ＣＯＦ２は、レナリドミド、ポマリドミド、サリドマイド及び２－（４－（ｔｅｒｔ－ブチル）フェニル）－Ｎ－（（２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－５－イル）メチル）アセトアミド又はその薬学的に許容される塩からなる群から選択される、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１７３．前記ＣＯＦ２は、
【化８６】



又はその薬学的に許容される塩からなる群から選択される、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１７４．前記ＣＯＦ２は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩である、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１７５．前記ＣＯＦ２は、レナリドミド又はその類似体若しくは薬学的に許容される塩である、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１７６．前記ＣＯＦ２は、式（Ｉ）：
【化８７】



（式中、
Ｘは、Ｏ又はＳであり；
R^1は、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、１つ以上のR^4によって独立して且つ任意選択により置換され；
R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであるか；又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；
R^3の各々は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）OR^B、－OR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（$R^C$）（$R^D$）又は－Ｎ（$R^C$）Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^6で置換され；
各R^4は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル

、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）OR^B、－OR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｓ（Ｏ）$_x R^E$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^7で置換され；

R^A、R^B、R^C、R^D及びR^Eの各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであり；

各R^6は、独立して、C_1～C_6アルキル、オキソ、シアノ、－OR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^8で置換され；

各R^7は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－OR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）又は－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^Aであり；

各R^8は、独立して、C_1～C_6アルキル、シアノ、－OR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）又は－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^Aであり；

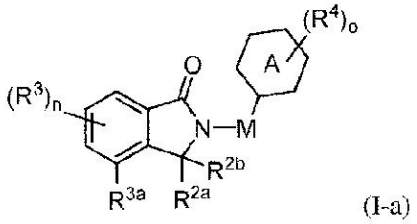
ｎは、０、１、２、３又は４であり；及び

ｘは、０、１又は２である）

又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、溶媒和物若しくは互変異性体の構造を有する、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１７７．前記ＣＯＦ２は、式（Ｉ－ａ）：

【化８８】



(I-a)

（式中、

環Ａは、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^4で置換され；

Ｍは、存在しないか、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル又はC_1～C_6ヘテロアルキルであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、任意選択により１つ以上のR^4で置換され；

R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであるか；又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；

R^{3a}は、水素、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）OR^B、－OR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（R^C）（R^D）又は－Ｎ（R^C）Ｓ（Ｏ）$_x R^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^6で置換され；

R^3の各々は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）OR^B、－OR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（R^C）（R^D）又は－Ｎ（R^C）Ｓ（Ｏ）$_x R^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^6で置換され；

各R^4は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）ＯR^B、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（$R^C$）（$R^D$）、－Ｎ（$R^C$）Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^7で置換され；

R^A、R^B、R^C、R^D及びR^Eの各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであり；

各R^6は、独立して、C_1～C_6アルキル、オキソ、シアノ、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^8で置換され；

各R^7は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）又は－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^Aであり；

各R^8は、独立して、C_1～C_6アルキル、シアノ、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）又は－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^Aであり；

ｎは、０、１、２又は３であり；

ｏは、０、１、２、３、４又は５であり；及び

ｘは、０、１又は２である）

又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物若しくは互変異性体の構造を有する、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

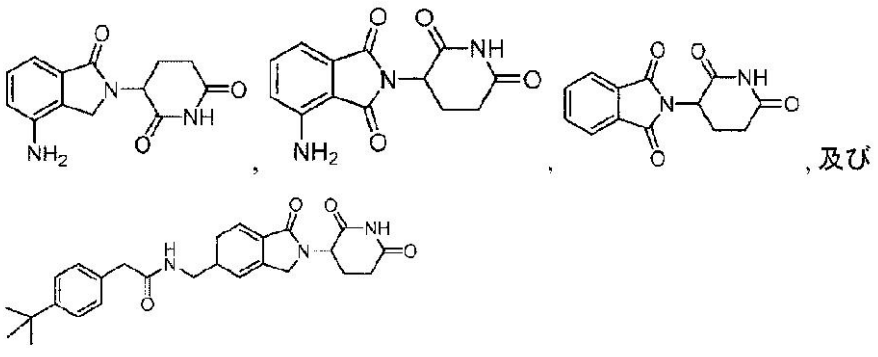
１７８．前記ＣＯＦ２は、免疫調節性イミド薬剤（ＩＭｉＤ）又はその薬学的に許容される塩を含む、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１７９．前記ＣＯＦ２は、サリドマイド又はその類似体若しくは薬学的に許容される塩を含む、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１８０．前記ＣＯＦ２は、レナリドミド、ポマリドミド、サリドマイド及び２－（４－（ｔｅｒｔ－ブチル）フェニル）－Ｎ－（（２－（２，６－ジオキソピペリジン－３－イル）－１－オキソイソインドリン－５－イル）メチル）アセトアミド又はその薬学的に許容される塩を含む、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１８１．前記ＣＯＦ２は、

【化８９】



，及び

又はその薬学的に許容される塩からなる群から選択される化合物を含む、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１８２．前記ＣＯＦ２は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩を含む、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１８３．前記ＣＯＦ２は、レナリドミド又はその類似体若しくは薬学的に許容される塩を含む、項８３～１６７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

１８４．前記ＣＯＦ２は、リガンド（例えば、式（ＩＩ）のR^{10}は、Ｌ－タグである）を

さらに含む、項１７６～１８３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１８５．式（ＩＩ）のR^{10}は、Ｌ－タグであり、Ｌは、国際公開第２０１７／０２４３１８号パンフレット（例えば、図２８～３１）において開示されるリンカーから選択されるリンカーであり、且つタグは、国際公開第２０１７／０２４３１８号パンフレット（例えば、表Ｔ、１１９～１２９頁）において開示されるｄＴＡＧ標的化リガンドから選択される、項１７６～１８４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１８６．前記ＣＯＦ２は、ＩＭｉＤ（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）及びリガンドを含み、前記ＩＭｉＤ（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）は、例えば、リンカーを介してリガンドに連結される、項８３～１８４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１８７．前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、リガンドに結合し、前記リガンドの非存在下での前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＩＭｉＤ（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）との間の結合は、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドと前記リガンドとの間の結合の０．０００１、０．００１、０．０１、０．１、１又は１０％以下であり、例えば、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＭｉＤ（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）に結合せず、任意選択により、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、国際公開第２０１７／０２４３１８号パンフレット（例えば、３６～６５頁）において開示されるｄＴＡＧから選択される、項１８４～１８６のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１８８．前記異種ポリペプチドは、細胞質内及び／若しくは核ポリペプチド又は膜貫通ポリペプチド、例えば表２における異種ポリペプチドから選択される、項１～１８７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
１８９．前記細胞質内及び／又は核ポリペプチドは、アポトーシス経路の構成要素（例えば、カスパーゼ９）、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓシステムの構成要素（例えば、Ｃａｓ９）、転写因子（例えば、ＭＩＴＦ、ｃ－Ｍｙｃ、ＳＴＡＴ３、ＳＴＡＴ５、ＮＦ－カッパＢ、ベーターカテニン、ノッチ、ＧＬＩ又はｃ－ＪＵＮ）、Ｔｅｔメチルシトシンジオキシゲナーゼ２（ＴＥＴ２）、ＦＫＢＰ及びタウからなる群から選択される、項１８８に記載の融合ポリペプチド。
１９０．前記膜貫通ポリペプチドは、ＣＤ６２Ｌ、ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ５、ＣＣＲ７、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ６、ＣＴＬＡ４、ＰＤ１、ＢＴＬＡ、ＶＩＳＴＡ、ＣＤ１３７Ｌ、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＴＩＧＩＴ、ＣＤ３、ＣＤ８、ＣＤ１９、ＣＤ２２、ＣＤ２０、ＢＣＭＡ，及びキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）からなる群から選択される、項１８８に記載の融合ポリペプチド。
１９１．前記異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓシステムの構成要素（例えば、Ｃａｓ９）、ＣＤ８、ＣＤ１９及びＣＤ２２からなる群から選択される、項１８８に記載の融合ポリペプチド。
１９２．前記異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）である、項１９１に記載の融合ポリペプチド。
１９３．前記ＣＡＲは、Ｎ末端からＣ末端方向において、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含む、項１９２に記載の融合ポリペプチド。
１９４．前記細胞内シグナル伝達ドメインは、１つ以上の一次シグナル伝達ドメインを含む、項１９３に記載の融合ポリペプチド。
１９５．前記細胞内シグナル伝達ドメインは、１つ以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含む、項１９３又は１９４に記載の融合ポリペプチド。
１９６．前記１つ以上の一次シグナル伝達ドメインの１つは、ＣＤ３－ゼータ刺激ドメインを含む、項１９４に記載の融合ポリペプチド。
１９７．前記共刺激シグナル伝達ドメインの１つ以上は、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に特異的に結合するリガンドからなる群から選択される共刺激タンパク質に由来する細胞内ドメインである、項１９５に記載の融合ポリペプチド。

１９８．前記共刺激シグナル伝達ドメインの前記１つ以上は、４－１ＢＢ共刺激ドメインを含む、項１９７に記載の融合ポリペプチド。

１９９．前記共刺激シグナル伝達ドメインの前記１つ以上は、ＣＤ２８共刺激ドメインを含む、項１９７又は１９８に記載の融合ポリペプチド。

２００．前記抗原結合ドメインは、ｓｃＦｖである、項１９３～１９９のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

２０１．前記抗原結合ドメインは、ＣＤ１９；ＣＤ１２３；ＣＤ２２；ＣＤ３０；ＣＤ１７１；ＣＳ－１；Ｃ型レクチン様分子－１、ＣＤ３３；上皮増殖因子受容体バリアントＩＩＩ（ＥＧＦＲｖＩＩＩ）；ガングリオシドＧ２（ＧＤ２）；ガングリオシドＧＤ３；ＴＮＦ受容体ファミリーメンバー；Ｂ細胞成熟抗原；Ｔｎ抗原（（Ｔｎ　Ａｇ）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アルファ－２；メソセリン；インターロイキン１１受容体アルファ（ＩＬ－１１Ｒａ）；前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）；プロテアーゼセリン２１；血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）；ルイス（Ｙ）抗原；ＣＤ２４；血小板由来増殖因子受容体ベータ（ＰＤＧＦＲ－ベータ）；ステージ特異的胎児抗原－４（ＳＳＥＡ－４）；ＣＤ２０；葉酸受容体アルファ；受容体チロシン－タンパク質キナーゼＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）；ムチン１、細胞表面関連（ＭＵＣ１）；上皮増殖因子受容体（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）；変異した伸張因子２（ＥＬＦ２Ｍ）；エフリンＢ２；線維芽細胞活性化タンパク質アルファ（ＦＡＰ）；インスリン様増殖因子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、マクロペイン）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癌遺伝子ホモログ１（Ａｂｌ）（ｂｃｒ－ａｂｌ）からなる癌遺伝子融合タンパク質；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；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）；葉酸受容体ベータ；腫瘍内皮細胞マーカー１（ＴＥＭ１／ＣＤ２４８）；腫瘍内皮細胞マーカー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）；染色体Ｘオープンリーティングフレーム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）；ｇｌｏｂｏＨグリコセラミド（ＧｌｏｂｏＨ）のヘキササッカリド部分；哺乳動物腺分化抗原（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）；アドレナリン受容体ベータ３（ＡＤＲＢ３）；パネキシン３（ＰＡＮＸ３）；Ｇタンパク質共役型受容体２０（ＧＰＲ２０）；リンパ球抗原６複合体、座位Ｋ９（ＬＹ６Ｋ）；嗅覚受容体５１Ｅ２（ＯＲ５１Ｅ２）；ＴＣＲガンマ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）；染色体１２ｐに位置するＥＴＳ転座バリアント遺伝子６（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）；アンジ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変異体；プロステイン；生存；テロメラーゼ；前立腺癌腫瘍抗原－１、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原１；ラット肉腫（Ｒａｓ）変異体；ヒトテロメラーゼ逆転写酵素（ｈＴＥＲＴ）；肉腫転移ブレークポイント；アポトーシスの黒色腫抑制分子（ＭＬ－ＩＡＰ）；ＥＲＧ（膜貫通プロテアーゼ、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トリ骨髄細胞腫症ウイルス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）；チトクロムＰ４５０　１Ｂ１（ＣＹＰ１Ｂ１）；ＣＣＣＴＣ結合因子（ジンクフィンガータンパク質）様、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）；リンパ球特異的タンパク質チロシンキナーゼ（ＬＣＫ）；Ａキナーゼアンカータンパク質４（ＡＫＡＰ－４）；滑膜肉腫、Ｘブレークポイント２（ＳＳＸ２）；終末糖化産物のための受容体（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）；腸管カルボキシルエステラーゼ；変異熱ショックタンパク質７０－２（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断片（ＦＣＡＲ又はＣＤ８９）；白血病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）；及び免疫グロブリンラムダ様ポリペプチド１（ＩＧＬＬ１）からなる群から選択される抗原に結合する、項１９３～２００のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

２０２．前記抗原は、ＣＤ１９、ＣＤ２２、ＢＣＭＡ、ＣＤ２０、ＣＤ１２３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ又はメソセリンから選択される、項１９３～２００のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

２０３．前記抗原は、ＣＤ１９である、項１９３～２００のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

２０４．前記抗原は、ＣＤ２２である、項１９３～２００のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

２０５．前記抗原は、ＢＣＭＡである、項１９３～２００のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

２０６．前記抗原は、ＣＤ２０である、項１９３～２００のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

２０７．前記抗原は、ＣＤ１２３である、項１９３～２００のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

２０８．前記抗原は、ＥＧＦＲｖＩＩＩである、項１９３～２００のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

２０９．項１～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドをコードする核酸分子。

２１０．項２０９に記載の核酸分子を含むベクター。

２１１．ウイルスベクターである、項２１０に記載のベクター。

２１２．レンチウイルスベクターである、項２１０に記載のベクター。

２１３．項２１０～２１２のいずれか一項に記載のベクターを含むウイルス粒子。

２１４．項１～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド、項２０９に記載の核酸分子又は項２１０～２１２のいずれか一項に記載のベクターを含む細胞、例えば宿主細胞。

２１５．前記細胞、例えば宿主細胞は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞、例えばヒトエフ

ェクター細胞、例えばヒトＴ細胞又はヒトＮＫ細胞である、項２１４に記載の細胞。
２１６．前記細胞、例えば宿主細胞は、ＣＡＲ発現細胞、例えばＣＡＲ－Ｔ細胞である、項２１４又は２１５に記載の細胞。
２１７．前記細胞、例えば宿主細胞は、ＣＲＩＳＰＲ／ＣＡＳシステムの構成要素を含む、項２１４又は２１５に記載の細胞。
２１８．前記細胞、例えば宿主細胞は、ヒト癌細胞、例えばヒト腫瘍細胞である、項２１４～２１７のいずれか一項に記載の細胞。
２１９．前記細胞、例えば宿主細胞は、ユビキチンリガーゼ複合体、例えばＥ３ユビキチンリガーゼ複合体を含み、前記ユビキチンリガーゼ複合体は、ＣＲＢＮを含む、項２１４～２１８のいずれか一項に記載の細胞。
２２０．項１～７９若しくは１８８～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含むか、又は項１～７９若しくは１８８～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドをコードする核酸分子を含み、前記細胞がＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１と接触されるとき、
ｉ）前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ１と接触されていない場合の前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合と比較して少なくとも例えば１０、５０、１００、１０００又は１００００倍増大されるか；
ｉｉ）前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ１と接触されていない場合の前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合と比較して少なくとも例えば１０、５０、１００、１０００又は１００００倍増大されるか；
ｉｉｉ）前記異種ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ１と接触されていない場合の前記異種ポリペプチドのユビキチン化と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；
ｉｖ）前記融合ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ１と接触されていない場合の前記融合ポリペプチドのユビキチン化と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；
ｖ）前記融合ポリペプチドの分解は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ１と接触されていない場合の前記融合ポリペプチドの分解と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；又は
ｖｉ）前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ１と接触されていない場合の前記融合ポリペプチドの発現レベルと比較して例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、項２１４～２１９のいずれか一項に記載の細胞。
２２１．ＣＯＦ１、例えばレナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩をさらに含む、項２１４～２２０のいずれか一項に記載の細胞。
２２２．項８０～８２、８４～１０７若しくは１８８～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含むか、又は項８０～８２、８４～１０７若しくは１８８～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドをコードする核酸分子を含み、安定化化合物の非存在下において、前記融合ポリペプチドは、細胞の分解経路によって分解され、例えば本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、例えば、前記融合ポリペプチドの少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％以上は、分解される、項２１４～２１９のいずれか一項に記載の細胞。

２２３．項８３～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含むか、又は項８３～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドをコードする核酸分子を含み、安定化化合物の非存在下において、前記融合ポリペプチドは、細胞の分解経路によって分解され、例えば本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、例えば、前記融合ポリペプチドの少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％以上は、分解される、項２１４～２１９のいずれか一項に記載の細胞。

２２４．前記異種プロテアーゼ切断部位を切断できるプロテアーゼをさらに含む、項２２２又は２２３に記載の細胞。

２２５．前記細胞が安定化化合物、例えば過剰量の安定化化合物と接触されるとき、

ｉ）前記分解ドメインは、前記安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、細胞性分解に対してより耐性のある立体構造をとるか；

ｉｉ）前記融合ポリペプチドの前記立体構造は、前記安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、前記異種プロテアーゼ切断部位での切断により許容的であるか；又は

ｉｉｉ）前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、前記細胞が前記安定化化合物と接触されていない場合の前記融合ポリペプチドの発現レベルと比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大される、項２２２～２２４のいずれか一項に記載の細胞。

２２６．安定化化合物をさらに含む、項２２２～２２５のいずれか一項に記載の細胞。

２２７．前記安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、前記分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む、項２２２～２２６のいずれか一項に記載の細胞。

２２８．前記細胞が安定化化合物、例えば過剰量の安定化化合物及びＣＯＦ１、例えば過剰量のＣＯＦ１と接触されるとき、

ｉ）前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ１ではなく前記安定化化合物とのみ接触される場合の前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合と比較して少なくとも例えば１０、５０、１００、１０００又は１００００倍増大されるか；

ｉｉ）前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ１ではなく前記安定化化合物のみと接触される場合の前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合と比較して少なくとも例えば１０、５０、１００、１０００又は１００００倍増大されるか；

ｉｉｉ）前記異種ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ１ではなく前記安定化化合物のみと接触される場合の前記異種ポリペプチドのユビキチン化と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；

ｉｖ）前記融合ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ１ではなく前記安定化化合物のみと接触される場合の前記融合ポリペプチドのユビキチン化と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；

ｖ）前記融合ポリペプチドの分解は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ１ではなく前記安定化化合物のみと接触される場合の前記融合ポリペプチドの分解と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；又は

ｖｉ）前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ１ではなく前記安定化化合物のみと接触される場合の前記融合ポリペ

プチドの発現レベルと比較して例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、項２２２又は２２４～２２７のいずれか一項に記載の細胞。
２２９．ＣＯＦ１、例えばレナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩をさらに含む、項２２２又は２２４～２２８のいずれか一項に記載の細胞。
２３０．前記細胞が安定化化合物、例えば過剰量の安定化化合物及びＣＯＦ２、例えば、過剰量のＣＯＦ２と接触されるとき、
ｉ）前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ２ではなく前記安定化化合物とのみ接触される場合の前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合と比較して少なくとも例えば１０、５０、１００、１０００又は１００００倍増大されるか；
ｉｉ）前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ２ではなく前記安定化化合物のみと接触される場合の前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合と比較して少なくとも例えば１０、５０、１００、１０００又は１００００倍増大されるか；
ｉｉｉ）前記異種ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ２ではなく前記安定化化合物のみと接触される場合の前記異種ポリペプチドのユビキチン化と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；
ｉｖ）前記融合ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ２ではなく前記安定化化合物のみと接触される場合の前記融合ポリペプチドのユビキチン化と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；
ｖ）前記融合ポリペプチドの分解は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ２ではなく前記安定化化合物のみと接触される場合の前記融合ポリペプチドの分解と比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大されるか；又は
ｖｉ）前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、前記細胞がＣＯＦ２ではなく前記安定化化合物のみと接触される場合の前記融合ポリペプチドの発現レベルと比較して例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下である、項２２３～２２９のいずれか一項に記載の細胞。
２３１．ＣＯＦ２、例えばレナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩をさらに含む、項２２３～２３０のいずれか一項に記載の細胞。
２３２．前記異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）であり、任意選択により、前記ＣＡＲは、Ｎ末端からＣ末端方向において、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含む、項２１４～２３１のいずれか一項に記載の細胞。
２３３．項１～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド又は項２１４～２３２のいずれか一項に記載の細胞及び薬学的に許容される担体、賦形剤又は安定剤を含む医薬組成物。
２３４．項２１４～２３２のいずれか一項に記載の細胞を作製する方法であって、細胞、例えば免疫エフェクター細胞を、項２０９に記載の核酸分子、項２１０～２１２のいずれか一項に記載のベクター又は項２１３に記載のウイルスベクターによってもたらすことを含む、方法。
２３５．項１～７９若しくは１８８～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド又は前記融合ポリペプチドを含む細胞をＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリド

ミド又はその薬学的に許容される塩）と接触させることを含む、融合ポリペプチドを分解する方法であって、任意選択により、ＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）の存在下において、前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント実質的に減少される、方法。

２３６．前記融合ポリペプチド又は前記細胞は、エクスビボでＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）と接触される、項２３５に記載の方法。

２３７．前記融合ポリペプチド又は前記細胞は、インビボでＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）と接触される、項２３５に記載の方法。

２３８．融合ポリペプチドの発現を制御する方法であって、

ｉ）項８０～８２、８４～１０７若しくは１８８～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド又は前記融合ポリペプチドを含む細胞を安定化化合物と接触させる工程であって、任意選択により前記安定化化合物の存在下において、

ａ）前記分解ドメインは、前記安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、細胞性分解に対してより耐性のある立体構造をとるか；

ｂ）前記融合ポリペプチドの前記立体構造は、前記安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、前記異種プロテアーゼ切断部位での切断により許容的であるか；又は

ｃ）前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、前記安定化化合物の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルと比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大される、工程を含む、方法。

２３９．工程ｉ）後、

ｉｉ）項８３～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド又は前記融合ポリペプチドを含む細胞をＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）と接触させる工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）の存在下において、前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント実質的に減少される、工程

をさらに含む、項２３８に記載の方法。

２４０．前記安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、前記分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む、項２３８又は２３９に記載の方法。

２４１．前記融合ポリペプチド又は前記細胞は、エクスビボでＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）及び／又は前記安定化化合物と接触される、項２３８～２４０のいずれか一項に記載の方法。

２４２．前記融合ポリペプチド又は前記細胞は、インビボでＣＯＦ１（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）及び／又は前記安定化化合物と接触される、項２３８～２４０のいずれか一項に記載の方法。

２４３．融合ポリペプチドの発現を制御する方法であって、

ｉ）項８３～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド又は前記融合ポリペプチド

を含む細胞を安定化化合物と接触させる工程であって、任意選択により前記安定化化合物の存在下において、
ａ）前記分解ドメインは、前記安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、細胞性分解に対してより耐性のある立体構造をとるか；
ｂ）前記融合ポリペプチドの前記立体構造は、前記安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、前記異種プロテアーゼ切断部位での切断により許容的であるか；又は
ｃ）前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、前記安定化化合物の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルと比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大される、工程
を含む、方法。

２４４．工程ｉ）後、
ｉｉ）項８３～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド又は前記融合ポリペプチドを含む細胞をＣＯＦ２（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）と接触させる工程であって、任意選択により、ＣＯＦ２（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）の存在下において、前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント実質的に減少される、工程
をさらに含む、項２４３に記載の方法。

２４５．前記安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、前記分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む、項２４３又は２４４に記載の方法。

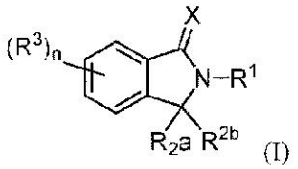
２４６．前記融合ポリペプチド又は前記細胞は、エクスビボでＣＯＦ２（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）及び／又は前記安定化化合物と接触される、項２４３～２４５のいずれか一項に記載の方法。

２４７．前記融合ポリペプチド又は前記細胞は、インビボでＣＯＦ２（例えば、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩）及び／又は前記安定化化合物と接触される、項２４３～２４５のいずれか一項に記載の方法。

２４８．前記異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）であり、任意選択により、前記ＣＡＲは、Ｎ末端からＣ末端方向において、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含む、項２３４～２４７のいずれか一項に記載の方法。

２４９．細胞を作製する方法であって、
ｉ）式１の化合物（ＣＯＦ１）／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及びキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を含む融合ポリペプチドをコードする核酸分子を含む細胞をもたらす工程であって、任意選択により、前記ＣＡＲは、Ｎ末端からＣ末端方向において、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含む、工程；及び
ｉｉ）前記細胞をエクスビボでＣＯＦ１と接触させる工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１の存在下において、前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ１の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント実質的に減少される、工程
を含み、式（Ｉ）の前記化合物は、

【化９０】



（式中、
Ｘは、Ｏ又はＳであり；
R^1は、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、それらの各々は、１つ以上のR^4によって独立して且つ任意選択により置換され；
R^{2a}及びR^{2b}の各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであるか；又はR^{2a}及びR^{2b}は、それらが結合される炭素原子と合わせて、カルボニル基又はチオカルボニル基を形成し；
R^3の各々は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）ＯR^B、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（$R^C$）（$R^D$）又は－Ｎ（$R^C$）Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$であり、各アルキル、アルケニル、アルキニル及びヘテロアルキルは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^6で置換され；
各R^4は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6ヘテロアルキル、ハロ、シアノ、オキソ、－Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｃ（Ｏ）ＯR^B、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、－Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、－Ｓ（Ｏ）$_x$Ｎ（$R^C$）（$R^D$）、－Ｎ（$R^C$）Ｓ（Ｏ）$_x$$R^E$、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール又はヘテロアリールであり、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^7で置換され；
R^A、R^B、R^C、R^D及びR^Eの各々は、独立して、水素又はC_1～C_6アルキルであり；
各R^6は、独立して、C_1～C_6アルキル、オキソ、シアノ、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^A、アリール又はヘテロアリールであり、各アリール及びヘテロアリールは、独立して且つ任意選択により１つ以上のR^8で置換され；
各R^7は、独立して、ハロ、オキソ、シアノ、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）又は－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^Aであり；
各R^8は、独立して、C_1～C_6アルキル、シアノ、－ＯR^B、－Ｎ（R^C）（R^D）、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（R^C）（R^D）又は－Ｎ（R^C）Ｃ（Ｏ）R^Aであり；
ｎは、０、１、２、３又は４であり；及び
ｘは、０、１又は２である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、溶媒和物若しくは互変異性体である、方法。
２５０．前記細胞がエクスビボでＣＯＦ１と接触された後、前記細胞の増殖は、ＣＯＦ１との前記接触前の前記細胞の増殖に対して少なくとも例えば１．２、１．５、２、５又は１０倍増大される、項２４９に記載の方法。
２５１．ＣＯＦ１は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩である、項２５０に記載の方法。
２５２．前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１～６、１１～１５、４０、４１～４３、７７、７８、８４～８６及び１００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる（例えば、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、

配列番号３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる）、項２４９又は２５０に記載の方法。
２５３．腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）エクスビボで、項１～７９又は１８８～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含む細胞をＣＯＦ１と接触させる工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１の存在下において、前記融合ポリペプチドの発現レベルは、前記細胞がエクスビボでＣＯＦ１と接触される前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少される、工程、及び
ｉｉ）有効量の前記細胞を前記対象に投与する工程
を含み、任意選択により、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前に、
前記細胞に例えば前記細胞の内部及び／又は周囲で接触するＣＯＦ１の量を減少させ、それによって前記疾患を治療する工程
をさらに含む、方法。
２５４．工程ｉｉ）後、
ｉｉｉ）有効量のＣＯＦ１を前記対象に投与する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１の投与は、工程ｉｉ）後及び工程ｉｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させ、任意選択により、
ａ）前記対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ１の投与は、前記対象における有害反応の発生に応答するか、又は前記対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ１の投与は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む、項２５３に記載の方法。
２５５．工程ｉｉｉ）後、
ｉｖ）ＣＯＦ１の投与を中断する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１の投与の中断は、工程ｉｉｉ）後及び工程ｉｖ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ（例えば、ＣＯＦ１の投与の中断は、工程ｉｉ）後及び工程ｉｉｉ）前の発現レベルに前記融合ポリペプチドの発現レベルを回復させる）、任意選択により、
ａ）前記対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ１の投与の中断は、前記対象における腫瘍再発に応答するか、又は前記対象における再発の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ１の投与の中断は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む、項２５４に記載の方法。
２５６．工程ｉｖ）後、
ｖ）工程ｉｉｉ）及び／又はｉｖ）を繰り返し、それによって前記疾患を治療する工程
をさらに含む、項２５５に記載の方法。
２５７．腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）有効量の、項１～７９又は１８８～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含む細胞を前記対象に投与する工程であって、任意選択により、前記細胞は、投与前にエクスビボでＣＯＦ１と接触され、任意選択により、ＣＯＦ１の存在下において、前記融合ポリペプチドの発現レベルは、前記細胞がエクスビボでＣＯＦ１と接触される前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少され、任意選択により、前記細胞がエクスビボでＣＯＦ１と接触された後及び前記細胞が前記対象に投与される前に、前記細胞に例えば前記細胞の内部及び／又は周囲で接触するＣＯＦ１の量は、減少され、それによって前記疾患を治療する、工程

を含む、方法。
２５８．前記細胞は、投与前にエクスビボでＣＯＦ１と接触されない、項２５７に記載の方法。
２５９．工程ｉ）後、
ｉｉ）有効量のＣＯＦ１を前記対象に投与する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１の投与は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させ、任意選択により、
ａ）前記対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ１の投与は、前記対象における有害反応の発生に応答するか、又は前記対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ１の投与は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む、項２５７又は２５８に記載の方法。
２６０．工程ｉｉ）後、
ｉｉｉ）ＣＯＦ１の投与を中断する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１の投与の中断は、工程ｉｉ）後及び工程ｉｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ（例えば、ＣＯＦ１の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の発現レベルに前記融合ポリペプチドの発現レベルを回復させる）、任意選択により、
ａ）前記対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ１の投与の中断は、前記対象における腫瘍再発に応答するか、又は前記対象における再発の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ１の投与の中断は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む、項２５９に記載の方法。
２６１．工程ｉｉｉ）後、
ｉｖ）工程ｉｉ）及び／又はｉｉｉ）を繰り返し、それによって前記疾患を治療する工程
をさらに含む、項２６０に記載の方法。
２６２．腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）有効量のＣＯＦ１を前記対象に投与する工程であって、前記対象は、項１～７９又は１８８～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含む細胞を含み、任意選択により、ＣＯＦ１の投与は、ＣＯＦ１の投与前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させ、任意選択により、
ａ）前記対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ１の投与は、前記対象における有害反応の発生に応答するか、又は前記対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ１の投与は、有害作用を低減又は予防する、工程
を含む、方法。
２６３．工程ｉ）後、
ｉｉ）ＣＯＦ１の投与を中断する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ１の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ（例えば、ＣＯＦ１の投与の中断は、ＣＯＦ１の投与前の発現レベルに前記融合ポリペプチドの発現レベルを回復させる）、任意選択により、
ａ）前記対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ１の投与の中断は、前記対象における腫瘍再発に応答するか、又は前記対象における再発の予測に応答し、且つ／又は

ｃ）ＣＯＦ１の投与の中断は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む、項２６２に記載の方法。
２６４．工程ｉｉ）後、
ｉｉｉ）工程ｉ）及び／又はｉｉ）を繰り返し、それによって前記疾患を治療する工程
をさらに含む、項２６３に記載の方法。
２６５．ＣＯＦ１は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１～６、１１～１５、４０、４１～４３、７７、７８、８４～８６及び１００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる（例えば、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる）、項２５３～２６４のいずれか一項に記載の方法。
２６６．ＣＯＦ１は、レナリドミド又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、レナリドミド又はその薬学的に許容される塩は、例えば、１日当たり２．５ｍｇ、５ｍｇ、１０ｍｇ、１５ｍｇ又は２５ｍｇで投与される、項２５９～２６５のいずれか一項に記載の方法。
２６７．腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）前記対象に、
（１）安定化化合物、及び
（２）有効量の、項８０～８２、８４～１０７又は１８８～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含む細胞又は有効量の、項８３～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含む細胞
を投与する工程であって、任意選択により、前記安定化化合物の存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルは、前記安定化化合物の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルより例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍高く、それによって前記疾患を治療する、工程
を含む、方法。
２６８．工程ｉ）後、
ｉｉ）前記安定化化合物の投与を中断する工程であって、任意選択により、前記安定化化合物の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現に対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍減少させ、任意選択により、
ａ）前記対象は、工程ｉ）の治療に応答し（例えば、前記対象は、工程ｉ）の治療に対して完全奏功を有するか、前記対象は、腫瘍塊における縮小を示すか、前記対象は、腫瘍細胞の減少を示すか、又は工程ｉ）の治療は、前記対象において有効である）、且つ／又はｂ）前記安定化化合物の投与の中断は、工程ｉ）の治療に対する前記対象の応答に対して応答する（例えば、前記対象は、工程ｉ）の治療に対して完全奏功を有するか、前記対象は、腫瘍塊における縮小を示すか、前記対象は、腫瘍細胞の減少を示すか、又は工程ｉ）の治療は、前記対象において有効である）、工程
をさらに含む、項２６７に記載の方法。
２６９．工程ｉ）後、
ｉｉｉ）前記安定化化合物の投与を中断する工程であって、任意選択により、前記安定化化合物の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現に対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍減少させ、任意選択により、
ａ）前記対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）前記安定化化合物の投与の中断は、前記対象における有害反応の発生に応答するか、又は前記対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）前記安定化化合物の投与の中断は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む、項２６７に記載の方法。
２７０．工程ｉ）後、

ｉｖ）前記安定化化合物の投与を中断し、且つ有効量のＣＯＦ１又はＣＯＦ２を前記対象に投与する工程であって、任意選択により、工程ｉｖ）は、工程ｉ）後及び工程ｉｖ）前の前記融合ポリペプチドの発現に対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍減少させ、任意選択により、
ａ）前記対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）工程ｉｖ）は、前記対象における有害反応の発生に応答するか、又は前記対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）工程ｉｖ）は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む、項２６７に記載の方法。
２７１．前記有害作用は、急性毒性である、項２７０に記載の方法。
２７２．工程ｉｖ）後、
ｖ）例えば、表面に前記融合ポリペプチドを発現する細胞の量が既定値より小さくなった後、例えば１日、５日、１０日又は１５日間にわたり、ＣＯＦ１又はＣＯＦ２の投与を中断する工程
をさらに含む、項２７０又は２７１に記載の方法。
２７３．工程ｉｉ）、ｉｉｉ）、ｉｖ）又はｖ）後、
ｖｉ）有効量の安定化化合物を投与する工程であって、任意選択により、前記安定化化合物の投与は、工程ｉｉ）、ｉｉｉ）、ｉｖ）又はｖ）後及び工程ｖｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ、任意選択により、
ａ）前記対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）前記安定化化合物の投与は、前記対象における腫瘍再発に応答するか、又は前記対象における再発の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）前記安定化化合物の投与は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む、項２６８～２７２のいずれか一項に記載の方法。
２７４．工程ｖｉ）後、
ｖｉｉ）工程ｉｉｉ）、ｉｖ）、ｖ）又はｖｉ）を繰り返し、それによって前記疾患を治療する工程
をさらに含む、項２７３に記載の方法。
２７５．工程ｉ）前に、
ｖｉｉｉ）エクスビボで前記細胞を安定化化合物と接触させる工程であって、任意選択により、前記安定化化合物の存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルは、前記安定化化合物の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルより例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍高い、工程
をさらに含む、項２６７～２７４のいずれか一項に記載の方法。
２７６．前記細胞は、投与前にエクスビボで前記安定化化合物と接触されない、項２６７～２７４のいずれか一項に記載の方法。
２７７．前記細胞は、投与前にエクスビボで前記安定化化合物、ＣＯＦ１又はＣＯＦ２のいずれとも接触されない、項２７６に記載の方法。
２７８．前記安定化化合物は、バゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、前記分解ドメインは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む、項２６７～２７７のいずれか一項に記載の方法。
２７９．ＣＯＦ１は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１～６、１１～１５、４０、４１～４３、７７、７８、８４～８６及び１００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる（例えば、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる）、項２７０～２７８のいずれか一項に記載の方法。
２８０．ＣＯＦ２は、レナリドミド若しくはポマリドミド又はその薬学的に許容される塩

であり、任意選択により、前記ＣＯＦ２／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１～６、１１～１５、４０、４１～４３、７７、７８、８４～８６及び１００からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる（例えば、前記ＣＯＦ１／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる）、項２７０～２７８のいずれか一項に記載の方法。

２８１．ＣＯＦ１又はＣＯＦ２は、レナリドミド又はその薬学的に許容される塩であり、任意選択により、レナリドミド又はその薬学的に許容される塩は、例えば、１日当たり２．５ｍｇ、５ｍｇ、１０ｍｇ、１５ｍｇ又は２５ｍｇで投与される、項２７０～２８０のいずれか一項に記載の方法。

２８２．前記融合ポリペプチドの前記異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）であり、任意選択により、前記ＣＡＲは、Ｎ末端からＣ末端方向において、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び１つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含む、項２５３～２８１のいずれか一項に記載の方法。

２８３．医薬としての使用のための、項１～２３３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド、核酸分子、ベクター、ウイルス粒子、細胞又は医薬組成物。

２８４．腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象の治療における使用のための、例えば項２５３～２８２のいずれか一項に記載の方法における使用のための、項１～２３３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド、核酸分子、ベクター、ウイルス粒子、細胞又は医薬組成物。

２８５．腫瘍抗原の発現を伴う前記疾患は、癌である、項２５３～２８４のいずれか一項に記載の使用のための方法又は組成物。

２８６．前記癌は、例えば、少なくとも１つの事前の標準的治療に対して進行してきた対象における中皮腫（例えば、悪性胸膜中皮腫）；肺癌（例えば、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、扁平細胞肺癌又は肺大細胞癌）；膵臓癌（例えば、少なくとも１つの事前の標準的治療に対して進行してきた対象における例えば膵管腺癌又は転移性膵管腺癌（ＰＤＡ））；食道腺癌、卵巣癌（例えば、少なくとも１つの事前の標準的治療のレジメン後に進行してきた対象における例えば漿液性卵巣上皮癌）、乳癌、結腸直腸癌、膀胱癌又はその任意の組合せである、項２８５に記載の使用のための方法又は組成物。

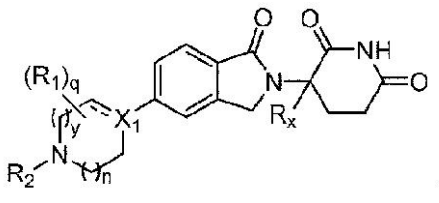
２８７．腫瘍抗原の発現を伴う前記疾患は、血液癌、例えば白血病又はリンパ腫から選択される血液癌である、項２５３～２８４のいずれか一項に記載の使用のための方法又は組成物。

２８８．前記癌は、慢性リンパ球性白血病（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細胞前リンパ性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞性リンパ腫（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、ヘアリーセル白血病、小細胞型若しくは大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫（粘膜関連リンパ組織型節外性辺縁帯リンパ腫）、辺縁帯リンパ腫、脊髄形成異常、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腫瘍、ワルデンス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／脾性白血病、びまん性赤脾髄小細胞型Ｂ細胞リンパ腫、ヘアリーセル白血病－バリアント、リンパ形質細胞性リンパ腫、重鎖病、形質細胞性骨髄腫、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の際に生じる大細胞型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）又は分類不能リンパ腫から選択される、項２８７に記載の使用のための方法又は組成物。

２８９．前記癌は、ＭＣＬ、ＣＬＬ、ＡＬＬ、ホジキンリンパ腫、ＡＭＬ又は多発性骨髄

腫から選択される、項２８７に記載の使用のための方法又は組成物。
２９０．前記細胞は、前記対象に対して自己由来である、項２５３～２８９のいずれか一項に記載の使用のための方法又は組成物。
２９１．前記細胞は、前記対象に対して同種異系である、項２５３～２８９のいずれか一項に記載の使用のための方法又は組成物。
２９２．前記細胞は、ＣＡＲ発現細胞、例えばＣＡＲＴ細胞である、項２５３～２９１のいずれか一項に記載の使用のための方法又は組成物。
２９３．前記対象は、ＣＯＦ１又はＣＯＦ２の投与前に、項１～２０８のいずれか一項に記載の少なくとも１つの融合ポリペプチドを発現する細胞を投与されている、項２５３～２９２のいずれか一項に記載の使用のための方法又は組成物。
２９４．特定の生物学的表現型と関連する遺伝因子、例えば癌の発症及び／又は進行と関連する遺伝因子を同定する方法であって、
ｉ）前記細胞をＣＯＦ１、例えばレナリドミド又はその薬学的に許容される塩に暴露することにより、細胞において、項１～７９又は１８８～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドの発現を調節する工程、
（ｉｉ）目的の表現型、例えば癌の発症及び／又は進行と関連する表現型を有する細胞を選択する工程、及び
（ｉｉｉ）目的の前記表現型を誘導する前記融合ポリペプチドを同定する工程
を含み、
ＣＯＦ１、例えばレナリドミド又はその薬学的に許容される塩に対する前記細胞の暴露は、ＣＯＦ１、例えばレナリドミド又はその薬学的に許容される塩に対する暴露前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させる、方法。
２９５．特定の生物学的表現型と関連する遺伝因子、例えば癌の発症及び／又は進行と関連する遺伝因子を同定する方法であって、
ｉ）前記細胞を安定化化合物、例えばバゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩及び続いてＣＯＦ１又はＣＯＦ２、例えばレナリドミド又はその薬学的に許容される塩に暴露することにより、細胞において、項８０～８２、８４～１０７若しくは１８８～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドの発現又は項８３～２０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドの発現を調節する工程、
（ｉｉ）目的の表現型、例えば癌の発症及び／又は進行と関連する表現型を有する細胞を選択する工程、及び
（ｉｉｉ）目的の前記表現型を誘導する前記融合ポリペプチドを同定する工程
を含み、
前記安定化化合物、例えばバゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩に対する前記細胞の暴露は、前記安定化化合物、例えばバゼドキシフェン又はその薬学的に許容される塩に対する暴露前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ、ＣＯＦ１又はＣＯＦ２、例えばレナリドミド又はその薬学的に許容される塩に対する前記細胞の暴露は、前記安定化化合物に対する暴露後及びＣＯＦ１又はＣＯＦ２、例えばレナリドミド又はその薬学的に許容される塩に対する暴露前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させる、方法。
２９６．式（ＩＩＩ）の化合物（ＣＯＦ３）／ＣＲＢＮ（セレブロン）結合ポリペプチド及び異種ポリペプチド、例えば異種哺乳動物、細菌又はウイルスポリペプチドを含む融合ポリペプチドであって、式（ＩＩＩ）の前記化合物は、

【化９１】



(III)

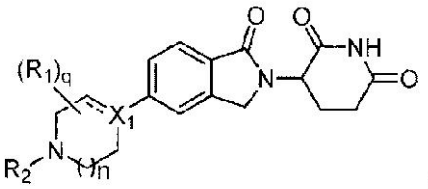
（式中、
X_1は、CR_3であり；
【化９２】

は、X_1がCR_3であり且つR_3が存在しない場合、任意選択により二重結合であり；
各R_1は、独立して、C_1～C_6アルキル、C_1～C_6ハロアルキル、C_1～C_6ヒドロキシアルキル又はハロであるか、又は
２つのR_1は、それらが結合される炭素原子とともに５員又は６員ヘテロシクリル環を形成するか、又は
２つのR_1は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにC_6～C_{10}アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員若しくは６員ヘテロアリール環を形成し；
R_2は、水素、C_1～C_6アルキル、－Ｃ（Ｏ）C_1～C_6アルキル、－Ｃ（Ｏ）（CH_2）$_{0～3}$－C_6～C_{10}アリール、－Ｃ（Ｏ）Ｏ（CH_2）$_{0～3}$－C_6～C_{10}アリール、C_6～C_{10}アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員若しくは６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７－ヘテロシクリルであり、前記アルキルは、任意選択により１つ以上のR_4で置換され；及び前記アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリルは、任意選択により１つ以上のR_5で置換されるか、又は
R_1及びR_2は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともに５員又は６員ヘテロシクリル環を形成し；
R_3は、水素であるか、又は
【化９３】

が二重結合であるとき、R_3は、存在せず；
各R_4は、－Ｃ（Ｏ）ＯR_6、－Ｃ（Ｏ）ＮR_6R_6、－ＮR_6Ｃ（Ｏ）R_6、ハロ、－ＯＨ、－NH_2、シアノ、C_6～C_{10}アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～４個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリール、C_3～C_8カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリル環から独立して選択され、前記アリール、ヘテロアリール、カルボシクリル及びヘテロシクリルは、任意選択により１つ以上のR_7で置換され；
各R_5は、C_1～C_6アルキル、C_2～C_6アルケニル、C_2～C_6アルキニル、C_1～C_6アルコキシ、C_1～C_6ハロアルキル、C_1～C_6ハロアルコキシ、C_1～C_6ヒドロキシアルキル、ハロ、－ＯＨ、－NH_2、シアノ、C_3～C_7カルボシクリル、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリル、C_6～C_{10}アリール並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員又は６員ヘテロアリールから独立して選択されるか、又は

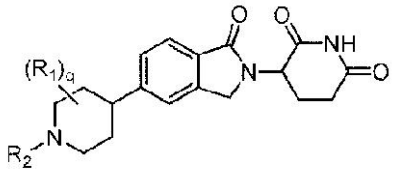
２つのＲ$_5$は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにＣ$_6$～Ｃ$_{10}$アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員若しくは６員ヘテロアリールを形成し、任意選択により１つ以上のＲ$_{10}$で置換されるか、又は
２つのＲ$_5$は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにＣ$_5$～Ｃ$_7$カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルを形成し、任意選択により１つ以上のＲ$_{10}$で置換され；
Ｒ$_6$及びＲ$_6$は、それぞれ独立して、水素、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル又はＣ$_6$～Ｃ$_{10}$アリールであり；
各Ｒ$_7$は、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル、Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルケニル、Ｃ$_2$～Ｃ$_6$アルキニル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルコキシ、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$ハロアルキル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$ハロアルコキシ、－Ｃ（Ｏ）Ｒ$_8$、－（ＣＨ$_2$）$_{0～3}$Ｃ（Ｏ）ＯＲ$_8$、－Ｃ（Ｏ）ＮＲ$_8$Ｒ$_9$、－ＮＲ$_8$Ｃ（Ｏ）Ｒ$_9$、－ＮＲ$_8$Ｃ（Ｏ）ＯＲ$_9$、－Ｓ（Ｏ）$_p$ＮＲ$_8$Ｒ$_9$、－Ｓ（Ｏ）$_p$Ｒ$_{12}$、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）ヒドロキシアルキル、ハロ、－ＯＨ、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_{1～3}$ＣＮ、－ＮＨ$_2$、シアノ、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_{0～3}$－Ｃ$_6$～Ｃ$_{10}$アリール、アダマンチル、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_{0～3}$－５員又は６員ヘテロアリール、Ｃ$_6$～Ｃ$_{10}$アリール、Ｏ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む単環式又は二環式５～１０員ヘテロアリール、Ｃ$_3$～Ｃ$_7$カルボシクリル並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから独立して選択され、前記アルキルは、任意選択により１つ以上のＲ$_{11}$で置換され、且つ前記アリール、ヘテロアリール及びヘテロシクリルは、任意選択により、ハロゲン、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$ハロアルキル及びＣ$_1$～Ｃ$_6$アルコキシからそれぞれ独立して選択される１つ以上の置換基で置換されるか、又は
２つのＲ$_7$は、それらが結合される炭素原子とともにａ＝（Ｏ）を形成するか、又は
２つのＲ$_7$は、隣接する原子上にある場合、それらが結合される原子とともにＣ$_6$～Ｃ$_{10}$アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５員若しくは６員ヘテロアリールを形成し、任意選択により１つ以上のＲ$_{10}$で置換されるか、又は
２つのＲ$_7$は、それらが結合される原子とともにＣ$_5$～Ｃ$_7$カルボシクリル又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルを形成し、任意選択により１つ以上のＲ$_{10}$で置換され；
Ｒ$_8$及びＲ$_9$は、それぞれ独立して、水素又はＣ$_1$～Ｃ$_6$アルキルであり；
各Ｒ$_{10}$は、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルコキシ、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$ハロアルキル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$ハロアルコキシ、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$ヒドロキシアルキル、ハロ、－ＯＨ、－ＮＨ$_2$及びシアノから独立して選択されるか、又は
２つのＲ$_{10}$は、それらが結合される炭素原子とともにａ＝（Ｏ）を形成し；
各Ｒ$_{11}$は、シアノ、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルコキシ、Ｃ$_6$～Ｃ$_{10}$アリール並びにＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルから独立して選択され、各アリール及びヘテロシクリルは、任意選択により、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルコキシ、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$ハロアルキル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$ハロアルコキシ、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$ヒドロキシアルキル、ハロ、－ＯＨ、－ＮＨ$_2$及びシアノからそれぞれ独立して選択される１つ以上の置換基で置換され；
Ｒ$_{12}$は、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$ハロアルキル、Ｃ$_6$～Ｃ$_{10}$アリール又はＯ、Ｎ及びＳから選択される１～３個のヘテロ原子を含む５～７員ヘテロシクリルであり；
Ｒ$_x$は、水素又は重水素であり；
ｐは、０、１又は２であり；
ｎは、０、１又は２であり；
ｙは、１又は２であり、ここで、ｎ＋ｙ≦３であり；及び
ｑは、０、１、２、３又は４である）
又はその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、溶媒和物若しくは互変異性体である、融合ポリペプチド。
２９７．式（ＩＩＩ）の前記化合物は、式（ＩＩＩ－ｂ）：

【化９４】



(III-b)

（式中、X_1、R_1、R_2、ｎ、ｑ及びその下位の変数は、項２９６に記載の式（ＩＩＩ）について記載されるとおりに定義される）
の化合物又はその薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、プロドラッグ、立体異性体及び互変異性体である、項２９６に記載の融合ポリペプチド。
２９８．式（ＩＩＩ）の前記化合物は、式（ＩＩＩ－ｄ）：
【化９５】



(III-d)

（式中、R_1、R_2、ｑ及びその下位の変数は、項２９６に記載の式（ＩＩＩ）について記載されるとおりに定義される）
の化合物又はその薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、プロドラッグ、立体異性体及び互変異性体である、項２９６又は２９７に記載の融合ポリペプチド。
２９９．（ｉ）前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、前記異種ポリペプチドに融合されるか、
（ｉｉ）前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び前記異種ポリペプチドは、ペプチド結合によって連結されるか、
（ｉｉｉ）前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び前記異種ポリペプチドは、ペプチド結合以外の結合によって連結されるか、
（ｉｖ）前記異種ポリペプチドは、前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドに直接的に連結されるか、
（ｖ）前記異種ポリペプチドは、前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドに間接的に連結されるか、
（ｖｉ）前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び前記異種ポリペプチドは、リンカー、例えばグリシン－セリンリンカー、例えば配列番号２８のアミノ酸配列を含むリンカーを介して作動可能に連結されるか、又は
（ｖｉｉ）前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、前記異種ポリペプチドのＣ末端又はＮ末端に連結される、項２９６～２９８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３００．（ｉ）ＣＯＦ３の非存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えば免疫沈降によって測定されるとおり、ＣＯＦ３、例えば過剰量のＣＯＦ３の存在下での前記融合ポリペプチドとＣＲＢＮとの会合の例えば０．０１％、０．１％、１％、５％、１０％、１５％又は２０％以下であり、任意選択により、前記融合ポリペプチドは、ＣＯＦ３の非存在下でＣＲＢＮに結合しないか；
（ｉｉ）ＣＯＦ３の非存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化は、例えば、本明細書に記載されるアッセイによって測定されるとおり、ＣＯＦ３、例えば過剰量のＣＯＦ３の存在下での前記融合ポリペプチドのユビキチン化の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であり、任意選択により、前記融合ポリペプチドは、ＣＯＦ３の存在下で１つ以上のリジン又はメチオニン残基でユビキチン化されるか；又は

（ｉｉｉ）ＣＯＦ３の非存在下での前記融合ポリペプチドの分解は、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ３、例えば過剰量のＣＯＦ３の存在下での前記融合ポリペプチドの分解の例えば０．０１％、０．１％、１％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％又は７０％以下であり、任意選択により、前記融合ポリペプチドの分解は、ＣＯＦ３の存在下でユビキチン化によって媒介され；
任意選択により、前記会合、ユビキチン化及び／又は分解は、哺乳動物細胞、例えばヒト細胞において測定されるとおりである、項２９６～２９９のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３０１．前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、１０～９５のアミノ酸残基長、１５～９０のアミノ酸残基長、２０～８５のアミノ酸残基長、２５～８０のアミノ酸残基長、３０～７５のアミノ酸残基長、３５～７０のアミノ酸残基長、４０～６５のアミノ酸残基長、４５～６０のアミノ酸残基長、５０～６５のアミノ酸残基長又は５５～６５のアミノ酸残基長である、項２９６～３００のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３０２．前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、βターン、βヘアピン、βストランド又はαヘリックスを含み、任意選択により、前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド及び第１のαヘリックスを含み、任意選択により、前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端までに、第１のβストランド、βヘアピン、第２のβストランド、第１のαヘリックス及び第２のαヘリックスを含み、任意選択により、前記βヘアピン及び前記第２のαヘリックスは、６０、５０、４０又は３０個以下のアミノ酸残基によって隔てられている、項２９６～３０１のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３０３．前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、天然に存在するポリペプチド又はそのＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合変異体、例えば天然に存在するＩＫＺＦポリペプチド又はそのＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合変異体、例えば天然に存在するＩＫＺＦ２又はそのＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合変異体に由来するＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合配列を含み、任意選択により、前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、天然に存在するＩＫＺＦポリペプチド、例えば天然に存在するＩＫＺＦ２に由来する２つ以上の非連続的な配列を含む、項２９６～３０２のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３０４．前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２のアミノ酸残基１３０～１７４（配列番号２１に従って番号付けされる）（例えば、前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１３のアミノ酸配列を含む）又はＩＫＺＦ２のアミノ酸残基１３０～１７４（配列番号２１に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列（例えば、配列番号２１のアミノ酸残基１３０～１７４と１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列）（例えば、配列番号２１のアミノ酸残基１３０～１７４から１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５又は４０個以下のアミノ酸置換を有する配列）を含む、項２９６～３０３のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３０５．前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２のアミノ酸残基２３０～２４３（配列番号２１に従って番号付けされる）（例えば、前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１４のアミノ酸配列を含む）又はＩＫＺＦ２のアミノ酸残基２３０～２４３（配列番号２１に従って番号付けされる）と１、２、３、４、５又は１０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列（例えば、配列番号２１のアミノ酸残基２３０～２４３と１、２、３、４、５又は１０個以下のアミノ酸残基だけ異なる配列）（例えば、配列番号２１のアミノ酸残基２３０～２４３から１、２、３、４、５又は１０個以下のアミノ酸置換を有する配列）を含む、項２９６～３０４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３０６．配列番号２１に従って番号付けされる１４１位のヒスチジンは、不変のままである、項３０４又は３０５に記載の融合ポリペプチド。

３０７．（ｉ）前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２のアミノ酸残基１３０～１７４（配列番号２１に従って番号付けされる）を含み、例えば、前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１３のアミノ酸配列を含み；及び／又は
（ｉｉ）前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、ＩＫＺＦ２のアミノ酸残基２３０～２４３（配列番号２１に従って番号付けされる）を含み、例えば、前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１１４のアミノ酸配列を含む、項２９６～３０６のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３０８．前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチドは、配列番号１０９のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる、項２９６～３０７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３０９．前記異種ポリペプチドは、細胞質内及び／若しくは核ポリペプチド又は膜貫通ポリペプチド、例えば表２における異種ポリペプチドから選択される、項２９６～３０８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３１０．前記細胞質内及び／又は核ポリペプチドは、アポトーシス経路の構成要素（例えば、カスパーゼ９）、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓシステムの構成要素（例えば、Ｃａｓ９）、転写因子（例えば、ＭＩＴＦ、ｃ－Ｍｙｃ、ＳＴＡＴ３、ＳＴＡＴ５、ＮＦ－カッパＢ、ベーターカテニン、ノッチ、ＧＬＩ又はｃ－ＪＵＮ）、Ｔｅｔメチルシトシンジオキシゲナーゼ２（ＴＥＴ２）、ＦＫＢＰ及びタウからなる群から選択される、項３０９に記載の融合ポリペプチド。
３１１．前記膜貫通ポリペプチドは、ＣＤ６２Ｌ、ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ５、ＣＣＲ７、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ６、ＣＴＬＡ４、ＰＤ１、ＢＴＬＡ、ＶＩＳＴＡ、ＣＤ１３７Ｌ、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＴＩＧＩＴ、ＣＤ３、ＣＤ８、ＣＤ１９、ＣＤ２２、ＣＤ２０、ＢＣＭＡ，及びキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）からなる群から選択される、項３０９に記載の融合ポリペプチド。
３１２．前記異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、ＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓシステムの構成要素（例えば、Ｃａｓ９）、ＣＤ８、ＣＤ１９及びＣＤ２２からなる群から選択され、任意選択により、前記異種ポリペプチドは、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）である、項３０９に記載の融合ポリペプチド。
３１３．前記ＣＡＲは、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、一次シグナル伝達ドメイン又は共刺激シグナル伝達ドメイン）を含み、任意選択により、前記一次シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３－ゼータ刺激ドメインを含み、且つ／又は前記共刺激シグナル伝達ドメインは、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に特異的に結合するリガンドからなる群から選択される共刺激タンパク質に由来する細胞内ドメインを含む、項３１２に記載の融合ポリペプチド。
３１４．前記抗原結合ドメインは、ＣＤ１９；ＣＤ１２３；ＣＤ２２；ＣＤ３０；ＣＤ１７１；ＣＳ－１；Ｃ型レクチン様分子－１、ＣＤ３３；上皮増殖因子受容体バリアントＩＩＩ（ＥＧＦＲｖＩＩＩ）；ガングリオシドＧ２（ＧＤ２）；ガングリオシドＧＤ３；ＴＮＦ受容体ファミリーメンバー；Ｂ細胞成熟抗原；Ｔｎ抗原（（Ｔｎ　Ａｇ）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アルファ－２；メソセリン；インターロイキン１１受容体アルファ（ＩＬ－１１Ｒａ）；前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）；プロテアーゼセリン２１；血管内皮増殖因子受容体２（ＶＥＧＦＲ２）；ルイス（Ｙ）抗原；ＣＤ２４；血小板由来増殖因子受容体ベータ（ＰＤＧＦＲ－ベータ）；ステージ特異的胎児抗原－４（ＳＳＥＡ－４）；ＣＤ２０；葉酸受容体アルファ；受容体チロシン－タンパク

質キナーゼＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）；ムチン１、細胞表面関連（ＭＵＣ１）；上皮増殖因子受容体（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）；変異した伸張因子２（ＥＬＦ２Ｍ）；エフリンＢ２；線維芽細胞活性化タンパク質アルファ（ＦＡＰ）；インスリン様増殖因子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、マクロペイン）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癌遺伝子ホモログ１（Ａｂｌ）（ｂｃｒ－ａｂｌ）からなる癌遺伝子融合タンパク質；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；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）；葉酸受容体ベータ；腫瘍内皮細胞マーカー１（ＴＥＭ１／ＣＤ２４８）；腫瘍内皮細胞マーカー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）；染色体Ｘオープンリーティングフレーム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）；ｇｌｏｂｏＨグリコセラミド（ＧｌｏｂｏＨ）のヘキササッカリド部分；哺乳動物腺分化抗原（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）；アドレナリン受容体ベータ３（ＡＤＲＢ３）；パネキシン３（ＰＡＮＸ３）；Ｇタンパク質共役型受容体２０（ＧＰＲ２０）；リンパ球抗原６複合体、座位Ｋ９（ＬＹ６Ｋ）；嗅覚受容体５１Ｅ２（ＯＲ５１Ｅ２）；ＴＣＲガンマ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）；染色体１２ｐに位置するＥＴＳ転座バリアント遺伝子６（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）；アンジ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変異体；プロステイン；生存；テロメラーゼ；前立腺癌腫瘍抗原－１、Ｔ細胞によって認識される黒色腫抗原１；ラット肉腫（Ｒａｓ）変異体；ヒトテロメラーゼ逆転写酵素（ｈＴＥＲＴ）；肉腫転移ブレークポイント；アポトーシスの黒色腫抑制分子（ＭＬ－ＩＡＰ）；ＥＲＧ（膜貫通プロテアーゼ、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トリ骨髄細胞腫症ウイルス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）；チトクロムＰ４５０　１Ｂ１（ＣＹＰ１Ｂ１）；ＣＣＣＴＣ結合因子（ジンクフィンガータンパク質）様、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）；リンパ球特異的タンパク質チロシンキナーゼ（ＬＣＫ）；Ａキナーゼアンカータンパク質４（ＡＫＡＰ－４）；滑膜肉腫、Ｘブレークポイント２（ＳＳＸ２）；終末糖化産物のための受容体（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）；腸管カルボキシルエステラーゼ；変異熱ショックタンパク質７０－２（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断片（ＦＣＡＲ又はＣＤ８９）；白血病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）；Ｆ

ｃ受容体様５（ＦＣＲＬ５）；及び免疫グロブリンラムダ様ポリペプチド１（ＩＧＬＬ１）からなる群から選択される抗原に結合し、任意選択により、前記抗原結合ドメインは、ＣＤ１９、ＣＤ２２、ＢＣＭＡ、ＣＤ２０、ＣＤ１２３、ＥＧＦＲｖＩＩＩ又はメソセリンから選択される抗原に結合する、項３１２に記載の融合ポリペプチド。
３１５．分解ドメインをさらに含み、前記分解ドメインは、異種プロテアーゼ切断部位によって前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び前記異種ポリペプチドから隔てられている、項２９６～３１４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３１６．Ｎ末端からＣ末端までに、
ｉ）前記分解ドメイン、前記異種プロテアーゼ切断部位、前記異種ポリペプチド及び前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド；
ｉｉ）前記分解ドメイン、前記異種プロテアーゼ切断部位、前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド及び前記異種ポリペプチド；
ｉｉｉ）前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、前記異種ポリペプチド、前記異種プロテアーゼ切断部位及び前記分解ドメイン；又は
ｉｖ）前記異種ポリペプチド及び前記ＣＯＦ３／ＣＲＢＮ結合ポリペプチド、前記異種プロテアーゼ切断部位及び前記分解ドメイン
を含む、項３１５に記載の融合ポリペプチド。
３１７．前記分解ドメインは、前記融合ポリペプチドの発現の第１のレベルと関連する第１の状態及び前記融合ポリペプチドの発現の第２のレベルと関連する第２の状態を有し、前記第２のレベルは、例えば、安定化化合物の存在下で前記第１のレベルの少なくとも２、３、４、５、１０、２０又は３０倍増大され、任意選択により、前記安定化化合物の非存在下において、前記融合ポリペプチドは、細胞の分解経路によって分解され、例えば本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、例えば、前記融合ポリペプチドの少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％以上は、分解されるか；又は
前記安定化化合物の存在下において、
ｉ）前記分解ドメインは、前記安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、細胞性分解に対してより耐性のある立体構造をとるか；又は
ｉｉ）前記融合ポリペプチドの前記立体構造は、前記安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、前記異種プロテアーゼ切断部位での切断により許容的である、項３１５又は３１６に記載の融合ポリペプチド。
３１８．前記分解ドメインは、エストロゲン受容体（ＥＲ）ドメイン、ＦＫＢタンパク質（ＦＫＢＰ）ドメイン又はジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）ドメインから選択される、項３１５～３１７のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３１９．前記異種プロテアーゼ切断部位は、フューリン、ＰＣＳＫ１、ＰＣＳＫ５、ＰＣＳＫ６、ＰＣＳＫ７、カテプシンＢ、グランザイムＢ、因子ＸＡ、エンテロキナーゼ、ｇｅｎｅｎａｓｅ、ソルターゼ、ｐｒｅｃｉｓｓｉｏｎプロテアーゼ、トロンビン、ＴＥＶプロテアーゼ，及びエラスターゼ１からなる群から選択される哺乳動物の細胞内プロテアーゼによって切断される、項３１５～３１８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３２０．前記異種プロテアーゼ切断部位は、因子ＸＡ、エンテロキナーゼ、ｇｅｎｅｎａｓｅ、ソルターゼ、ｐｒｅｃｉｓｓｉｏｎプロテアーゼ、トロンビン、ＴＥＶプロテアーゼ，及びエラスターゼ１からなる群から選択される哺乳動物の細胞外プロテアーゼによって切断される、項３１５～３１８のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。
３２１．項２９６～３２０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドをコードする核酸分子。
３２２．任意選択により、ウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター又はアデノウイルスベクターである、項３２１に記載の核酸分子を含むベクター。
３２３．項２９６～３２０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド、項３２１に記載の核酸分子又は項３２２に記載のベクターを含む細胞、例えば宿主細胞であって、任意選択

により、Ｔ細胞、ＮＫ細胞又は腫瘍細胞である、細胞、例えば宿主細胞。
３２４．項２９６～３２０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド又は項３２３に記載の細胞及び薬学的に許容される担体、賦形剤又は安定剤を含む医薬組成物。
３２５．項３２３に記載の細胞を作製する方法であって、細胞、例えば免疫エフェクター細胞を、項３２１に記載の核酸分子又は項３２２に記載のベクターによってもたらすことを含む、方法。
３２６．項２９６～３２０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド又は前記融合ポリペプチドを含む細胞をＣＯＦ３と接触させることを含む、融合ポリペプチドを分解する方法であって、任意選択により、ＣＯＦ３の存在下において、前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ３の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント実質的に減少され、任意選択により、
前記融合ポリペプチド又は前記細胞は、エクスビボでＣＯＦ３と接触されるか、又は
前記融合ポリペプチド又は前記細胞は、インビボでＣＯＦと接触される、方法。
３２７．融合ポリペプチドの発現を制御する方法であって、
ｉ）項３１５～３２０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド又は前記融合ポリペプチドを含む細胞を安定化化合物と接触させる工程であって、任意選択により前記安定化化合物の存在下において、
ａ）前記分解ドメインは、前記安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、細胞性分解に対してより耐性のある立体構造をとるか；
ｂ）前記融合ポリペプチドの前記立体構造は、前記安定化化合物が存在しない場合の立体構造に対して、前記異種プロテアーゼ切断部位での切断により許容的であるか；又は
ｃ）前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、前記安定化化合物の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルと比較して少なくとも例えば１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大される、工程であって、任意選択により、前記融合ポリペプチド又は前記細胞は、エクスビボ又はインビボで前記安定化化合物と接触される、工程
を含む、方法。
３２８．工程ｉ）後、
ｉｉ）項３１５～３２０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド又は前記融合ポリペプチドを含む細胞をＣＯＦ３と接触させる工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の存在下において、前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント実質的に減少される、工程であって、任意選択により、前記融合ポリペプチド又は前記細胞は、エクスビボ又はインビボでＣＯＦ３と接触される、工程
をさらに含む、項３２７に記載の方法。
３２９．細胞を作製する方法であって、
ｉ）細胞、例えば免疫エフェクター細胞を、項２９６～３２０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドをコードする核酸分子によってもたらす工程；及び
ｉｉ）前記細胞をエクスビボでＣＯＦ３と接触させる工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の存在下において、前記融合ポリペプチドの発現レベルは、例えば、本明細書に記載されるアッセイ、例えばウエスタンブロット分析又はフローサイトメトリー分析によって測定されるとおり、ＣＯＦ３の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、

５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント実質的に減少される、工程
を含む、方法。
３３０．腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）エクスビボで、項２９６～３１４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含む細胞をＣＯＦ３と接触させる工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の存在下において、前記融合ポリペプチドの発現レベルは、前記細胞がエクスビボでＣＯＦ３と接触される前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少される、工程、及び
ｉｉ）有効量の前記細胞を前記対象に投与する工程
を含み、任意選択により、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前に、
前記細胞に例えば前記細胞の内部及び／又は周囲で接触するＣＯＦ３の量を減少させ、それによって前記疾患を治療する工程
をさらに含む、方法。
３３１．工程ｉｉ）後、
ｉｉｉ）有効量のＣＯＦ３を前記対象に投与する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の投与は、工程ｉｉ）後及び工程ｉｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させ、任意選択により、
ａ）前記対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ３の投与は、前記対象における有害反応の発生に応答するか、又は前記対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ３の投与は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む、項３３０に記載の方法。
３３２．工程ｉｉｉ）後、
ｉｖ）ＣＯＦ３の投与を中断する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の投与の中断は、工程ｉｉｉ）後及び工程ｉｖ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ（例えば、ＣＯＦ３の投与の中断は、工程ｉｉ）後及び工程ｉｉｉ）前の発現レベルに前記融合ポリペプチドの発現レベルを回復させる）、任意選択により、
ａ）前記対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ３の投与の中断は、前記対象における腫瘍再発に応答するか、又は前記対象における再発の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ３の投与の中断は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む、項３３１に記載の方法。
３３３．工程ｉｖ）後、
ｖ）工程ｉｉｉ）及び／又はｉｖ）を繰り返し、それによって前記疾患を治療する工程
をさらに含む、項３３２に記載の方法。
３３４．腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）有効量の、項２９６～３１４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含む細胞を前記対象に投与する工程であって、任意選択により、前記細胞は、投与前にエクスビボでＣＯＦ３と接触され、任意選択により、ＣＯＦ３の存在下において、前記融合ポリペプチドの発現レベルは、前記細胞がエクスビボでＣＯＦ３と接触される前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少され、任意選択により、前記細胞がエクスビボでＣＯＦ３と接触された後及び前記細胞が前記対象に投与される前に、前記細胞に例えば前記細胞の内部及び／又は周囲で接触するＣＯＦ３の量は、減少され、それによって前記疾患を治療する、工程

を含む、方法。
３３５．前記細胞は、投与前にエクスビボでＣＯＦ３と接触されない、項３３４に記載の方法。
３３６．工程ｉ）後、
ｉｉ）有効量のＣＯＦ３を前記対象に投与する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の投与は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させ、任意選択により、
ａ）前記対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ３の投与は、前記対象における有害反応の発生に応答するか、又は前記対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ３の投与は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む、項３３４又は３３５に記載の方法。
３３７．工程ｉｉ）後、
ｉｉｉ）ＣＯＦ３の投与を中断する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の投与の中断は、工程ｉｉ）後及び工程ｉｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ（例えば、ＣＯＦ３の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の発現レベルに前記融合ポリペプチドの発現レベルを回復させる）、任意選択により、
ａ）前記対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ３の投与の中断は、前記対象における腫瘍再発に応答するか、又は前記対象における再発の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ３の投与の中断は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む、項３３６に記載の方法。
３３８．工程ｉｉｉ）後、
ｉｖ）工程ｉｉ）及び／又はｉｉｉ）を繰り返し、それによって前記疾患を治療する工程
をさらに含む、項３３７に記載の方法。
３３９．腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）有効量のＣＯＦ３を前記対象に投与する工程であって、前記対象は、項２９６～３１４のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含む細胞を含み、任意選択により、ＣＯＦ３の投与は、ＣＯＦ３の投与前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００パーセント減少させ、任意選択により、
ａ）前記対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ３の投与は、前記対象における有害反応の発生に応答するか、又は前記対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）ＣＯＦ３の投与は、有害作用を低減又は予防する、工程
を含む、方法。
３４０．工程ｉ）後、
ｉｉ）ＣＯＦ３の投与を中断する工程であって、任意選択により、ＣＯＦ３の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ（例えば、ＣＯＦ３の投与の中断は、ＣＯＦ３の投与前の発現レベルに前記融合ポリペプチドの発現レベルを回復させる）、任意選択により、
ａ）前記対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）ＣＯＦ３の投与の中断は、前記対象における腫瘍再発に応答するか、又は前記対象における再発の予測に応答し、且つ／又は

ｃ）ＣＯＦ３の投与の中断は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む、項３３９に記載の方法。
３４１．工程ｉｉ）後、
ｉｉｉ）工程ｉ）及び／又はｉｉ）を繰り返し、それによって前記疾患を治療する工程
をさらに含む、項３４０に記載の方法。
３４２．腫瘍抗原の発現を伴う疾患を有する対象を治療する方法であって、
ｉ）前記対象に、
（１）安定化化合物、及び
（２）有効量の、項３１５～３２０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含む細胞又は有効量の、項３１５～３２０のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドを含む細胞を投与する工程であって、任意選択により、前記安定化化合物の存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルは、前記安定化化合物の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルより例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍高く、それによって前記疾患を治療する、工程
を含む、方法。
３４３．工程ｉ）後、
ｉｉ）前記安定化化合物の投与を中断する工程であって、任意選択により、前記安定化化合物の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現に対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍減少させ、任意選択により、
ａ）前記対象は、工程ｉ）の治療に応答し（例えば、前記対象は、工程ｉ）の治療に対して完全奏功を有するか、前記対象は、腫瘍塊における縮小を示すか、前記対象は、腫瘍細胞の減少を示すか、又は工程ｉ）の治療は、前記対象において有効である）、且つ／又は
ｂ）前記安定化化合物の投与の中断は、工程ｉ）の治療に対する前記対象の応答に対して応答する（例えば、前記対象は、工程ｉ）の治療に対して完全奏功を有するか、前記対象は、腫瘍塊における縮小を示すか、前記対象は、腫瘍細胞の減少を示すか、又は工程ｉ）の治療は、前記対象において有効である）、工程
をさらに含む、項３４２に記載の方法。
３４４．工程ｉ）後、
ｉｉｉ）前記安定化化合物の投与を中断する工程であって、任意選択により、前記安定化化合物の投与の中断は、工程ｉ）後及び工程ｉｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現に対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍減少させ、任意選択により、
ａ）前記対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）前記安定化化合物の投与の中断は、前記対象における有害反応の発生に応答するか、又は前記対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）前記安定化化合物の投与の中断は、有害作用を低減又は予防する、工程
をさらに含む、項３４２に記載の方法。
３４５．工程ｉ）後、
ｉｖ）前記安定化化合物の投与を中断し、且つ有効量のＣＯＦ３を前記対象に投与する工程であって、任意選択により、工程ｉｖ）は、工程ｉ）後及び工程ｉｖ）前の前記融合ポリペプチドの発現に対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍減少させ、任意選択により、
ａ）前記対象は、有害反応を発症したか、発症しているか又は発症することが予測され、
ｂ）工程ｉｖ）は、前記対象における有害反応の発生に応答するか、又は前記対象における有害反応の発生の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）工程ｉｖ）は、有害作用を低減又は予防する、工程であって、
任意選択により、前記有害作用は、急性毒性である、工程
をさらに含む、項３４２に記載の方法。
３４６．工程ｉｖ）後、

ｖ）例えば、表面に前記融合ポリペプチドを発現する細胞の量が既定値より小さくなった後、例えば１日、５日、１０日又は１５日間にわたり、ＣＯＦ３の投与を中断する工程
をさらに含む、項３４５に記載の方法。
３４７．工程ｉｉ）、ｉｉｉ）、ｉｖ）又はｖ）後、
ｖｉ）有効量の安定化化合物を投与する工程であって、任意選択により、前記安定化化合物の投与は、工程ｉｉ）、ｉｉｉ）、ｉｖ）又はｖ）後及び工程ｖｉ）前の前記融合ポリペプチドの発現レベルに対して前記融合ポリペプチドの発現レベルを例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍増大させ、任意選択により、
ａ）前記対象は、再発したか、再発しているか又は再発することが予測され、
ｂ）前記安定化化合物の投与は、前記対象における腫瘍再発に応答するか、又は前記対象における再発の予測に応答し、且つ／又は
ｃ）前記安定化化合物の投与は、腫瘍再発を治療又は予防する、工程
をさらに含む、項３４３～３４６のいずれか一項に記載の方法。
３４８．工程ｖｉ）後、
ｖｉｉ）工程ｉｉｉ）、ｉｖ）、ｖ）又はｖｉ）を繰り返し、それによって前記疾患を治療する工程
をさらに含む、項３４７に記載の方法。
３４９．工程ｉ）前に、
ｖｉｉｉ）エクスビボで前記細胞を安定化化合物と接触させる工程であって、任意選択により、前記安定化化合物の存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルは、前記安定化化合物の非存在下での前記融合ポリペプチドの発現レベルより例えば少なくとも約１．５、２、３、４、５、１０、２０、３０、４０又は５０倍高い、工程
をさらに含む、項３４２～３４８のいずれか一項に記載の方法。
３５０．前記細胞は、投与前にエクスビボで前記安定化化合物と接触されない、項３４２～３４８のいずれか一項に記載の方法。
３５１．腫瘍抗原の発現を伴う前記疾患は、癌である、項３３０～３５０のいずれか一項に記載の方法。
３５２．前記癌は、例えば、少なくとも１つの事前の標準的治療に対して進行してきた対象における中皮腫（例えば、悪性胸膜中皮腫）；肺癌（例えば、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、扁平細胞肺癌又は肺大細胞癌）；膵臓癌（例えば、少なくとも１つの事前の標準的治療に対して進行してきた対象における例えば膵管腺癌又は転移性膵管腺癌（ＰＤＡ））；食道腺癌、卵巣癌（例えば、少なくとも１つの事前の標準的治療のレジメン後に進行してきた対象における例えば漿液性卵巣上皮癌）、乳癌、結腸直腸癌、膀胱癌又はその任意の組合せである、項３５１に記載の方法。
３５３．前記癌は、慢性リンパ球性白血病（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細胞前リンパ性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞性リンパ腫（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、ヘアリーセル白血病、小細胞型若しくは大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫（粘膜関連リンパ組織型節外性辺縁帯リンパ腫）、辺縁帯リンパ腫、脊髄形成異常、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腫瘍、ワルデンス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／脾性白血病、びまん性赤脾髄小細胞型Ｂ細胞リンパ腫、ヘアリーセル白血病－バリアント、リンパ形質細胞性リンパ腫、重鎖病、形質細胞性骨髄腫、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の際に生じる大細胞型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）又は分類不能リンパ腫から選択される血液癌である、項３５１に記載の方法。

【図面】

【図１】

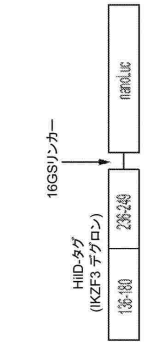


図1A

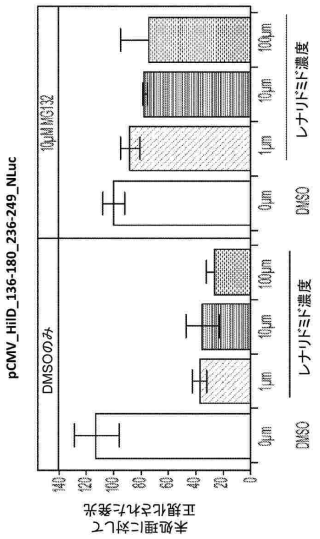


図1B

【図２】

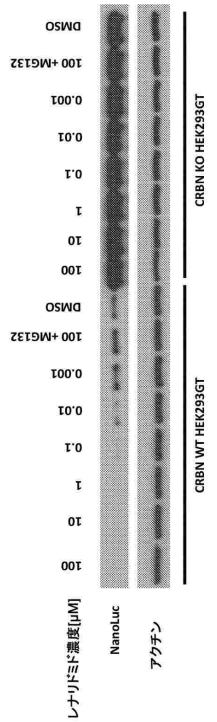


図２

【図３】

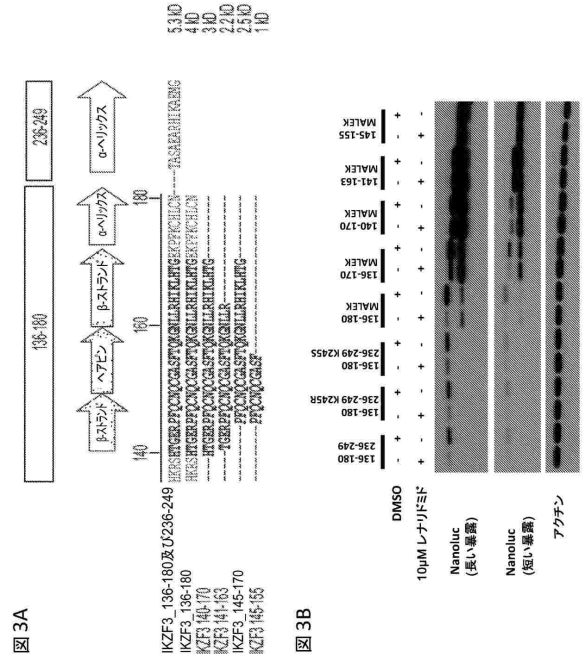


図3A

図3B

【図４】

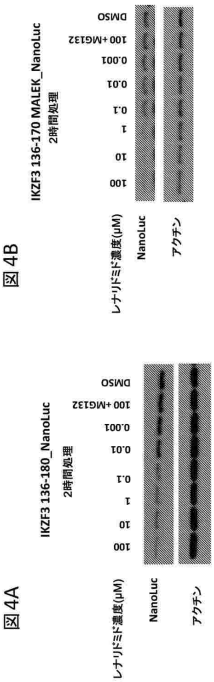


図4B

図4A

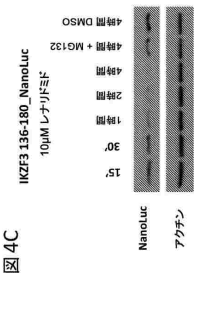


図4C

【図５】

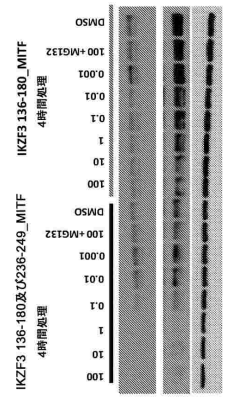


図5A

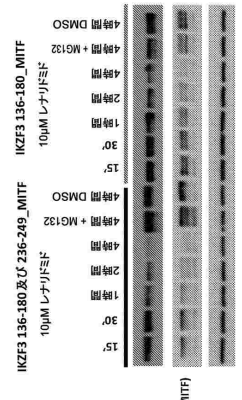


図5B

【図６】

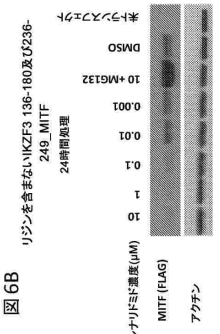


図6B

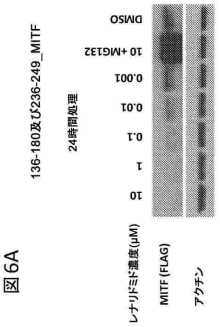


図6A

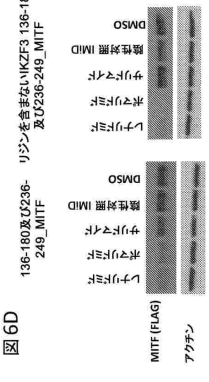


図6D

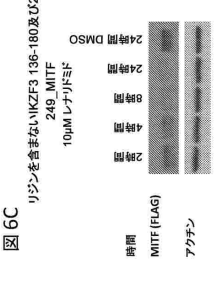


図6C

【図７】

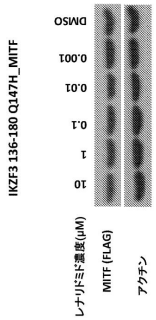


図７

【図８】

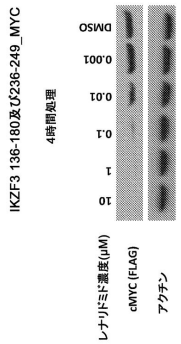
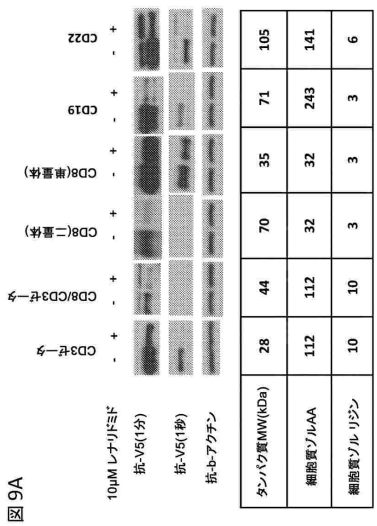


図８

【図９－１】



タンパク質MW(kDa)	28	44	70	35	71	105
細胞質ソルAA	112	112	32	32	243	141
細胞質ソル リジン	10	10	3	3	3	6

図9A

【図９－２】

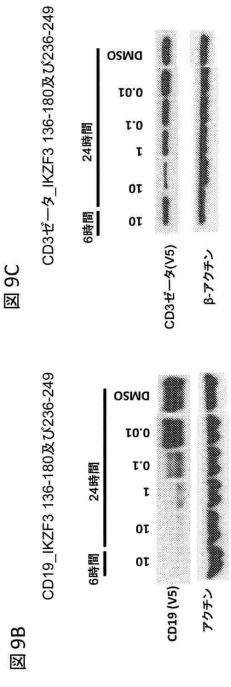


図9B

図9C

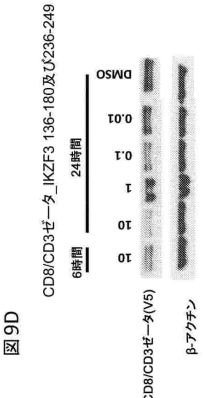
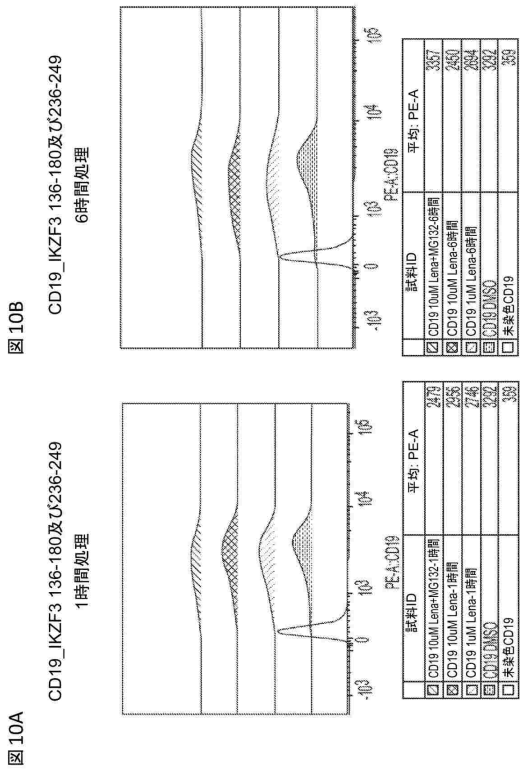
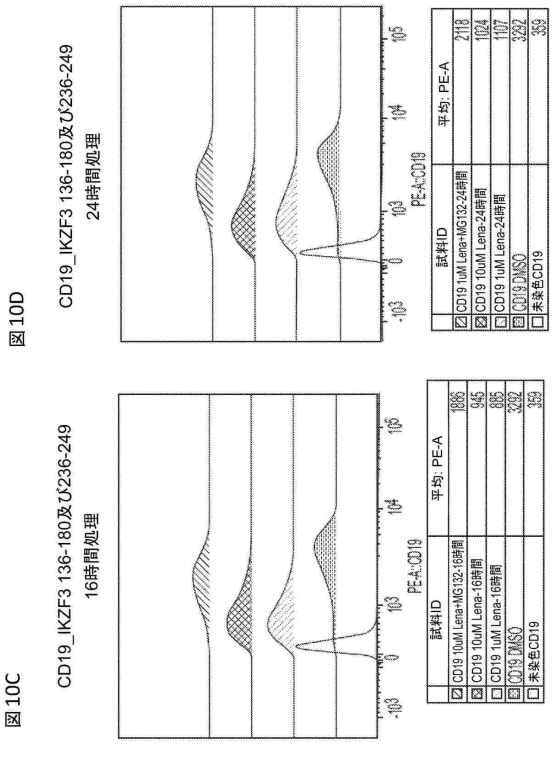


図9D

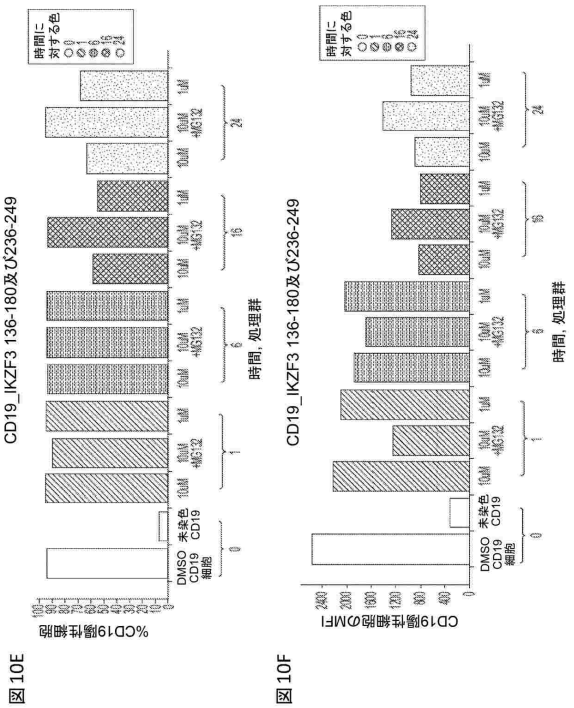
【図１０－１】



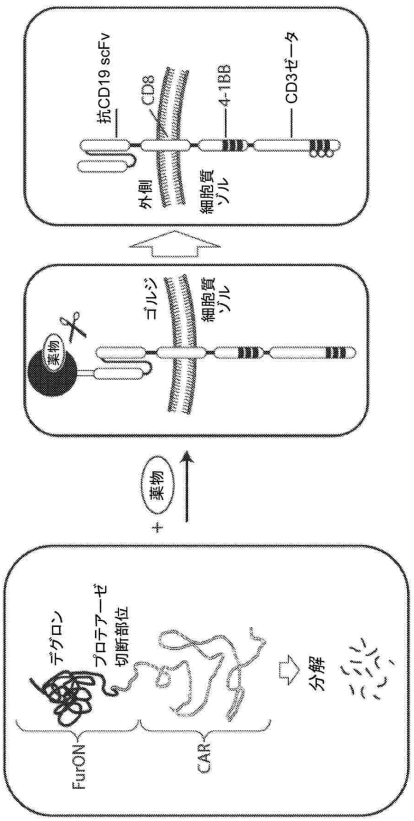
【図１０－２】



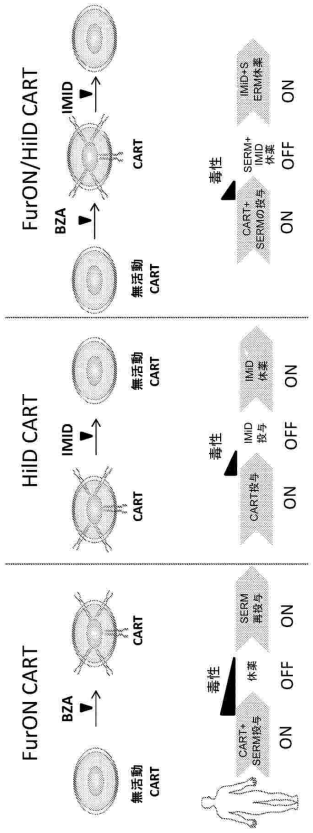
【図１０－３】



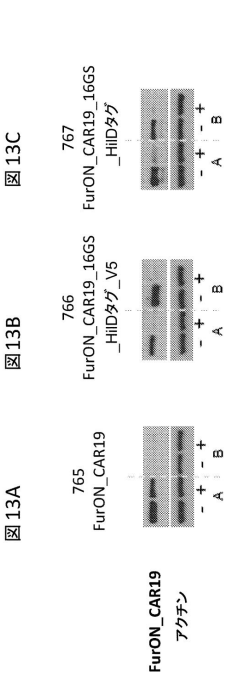
【図１１】



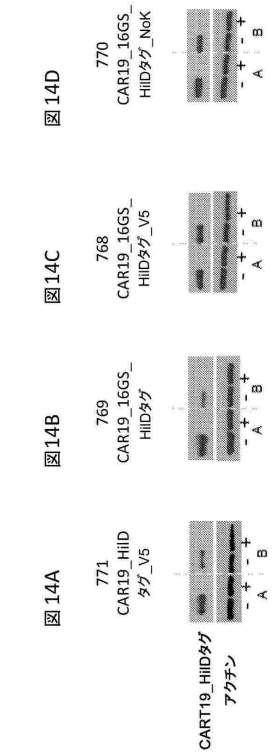
【図１２】



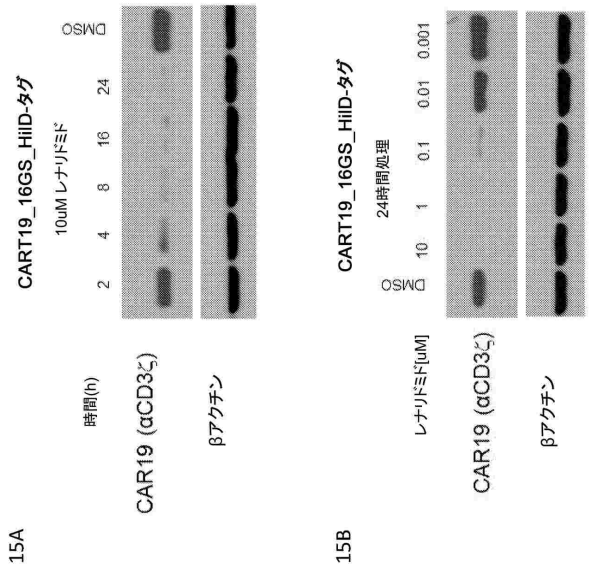
【図１３】



【図１４】



【図１５】



【図１６－１】

図16B
771(CAR19_HilDタグ_V5)

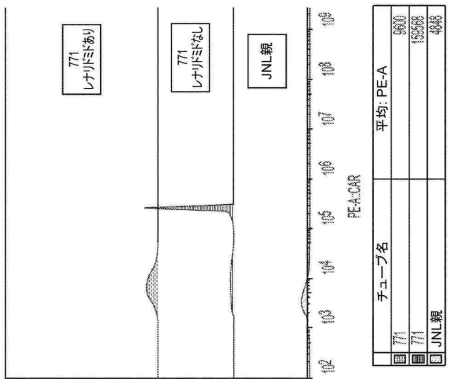
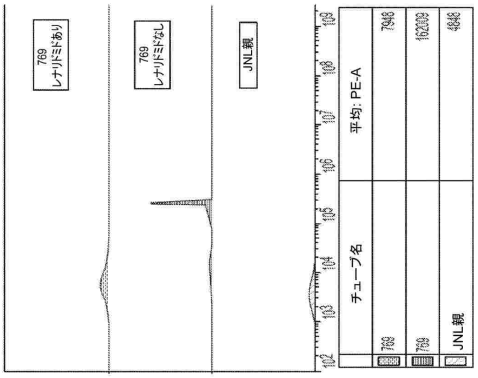


図16A
769(CAR19_16GS_HilDタグ)



【図１６－２】

図16D
768(CAR19_16GS_HilDタグ_V5)

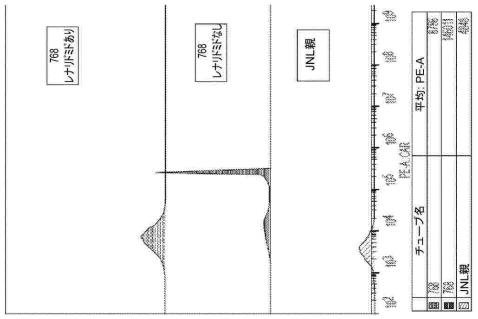
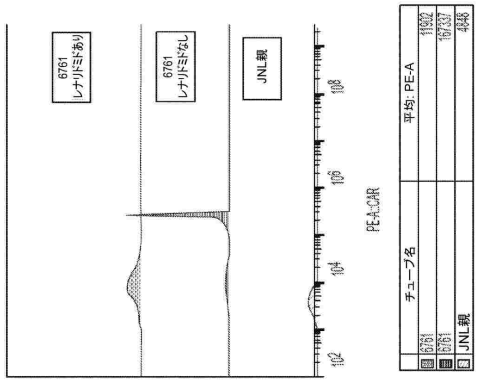


図16C
6761(CAR19_16KGS_HilDタグ_V5)



【図１６－３】

図16F
773(HilDタグ_CAR19_modSigPep)

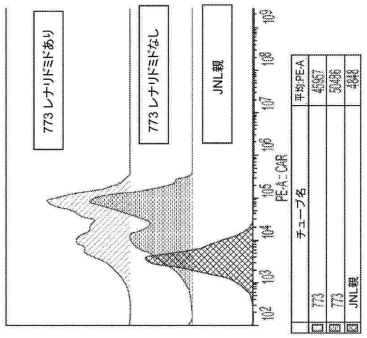
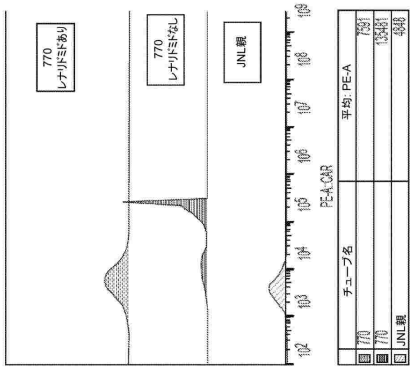
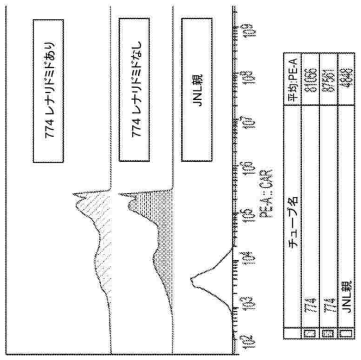


図16E
770(CAR19_16GS_HilDタグ_NoK)



【図１６－４】

図16G
774(HilDタグ_CAR19)



【図１７Ａ】

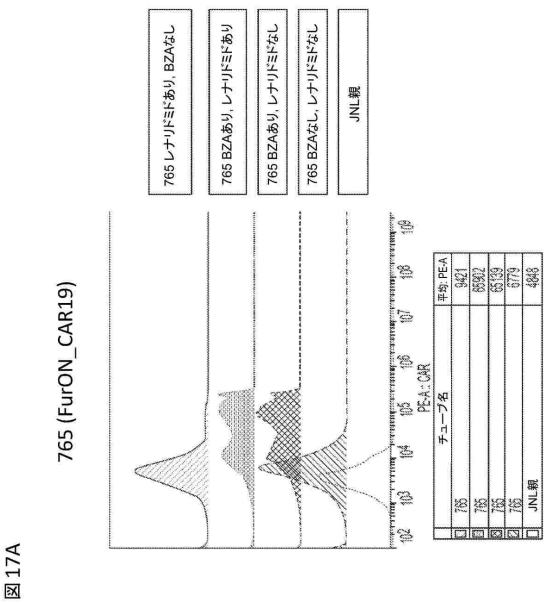


図17A

【図１７Ｂ】

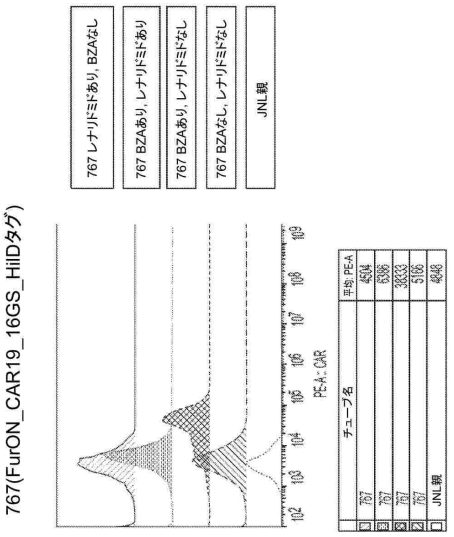


図17B

【図１７Ｃ】

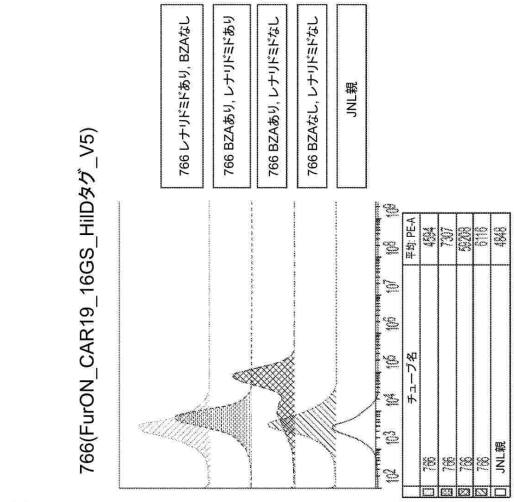


図17C

【図１８Ａ】

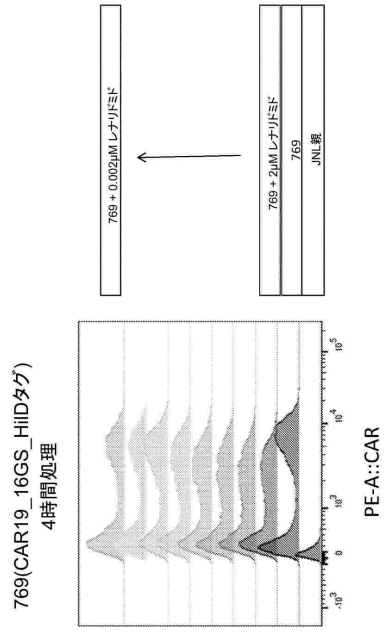


図18A

【図１８Ｂ】

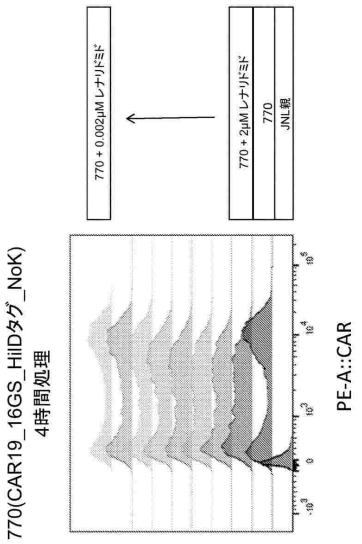


図18B

【図１８Ｃ】

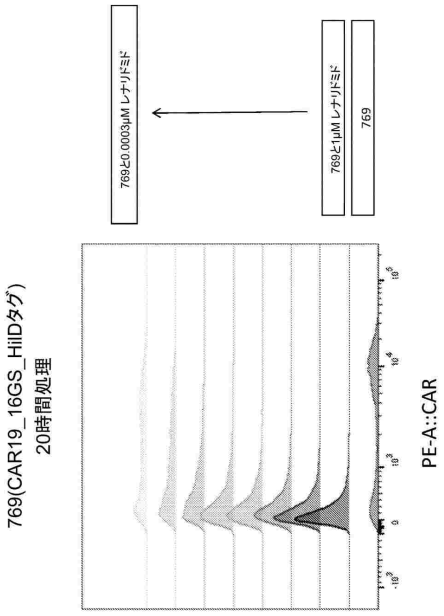


図18C

【図１８Ｄ】

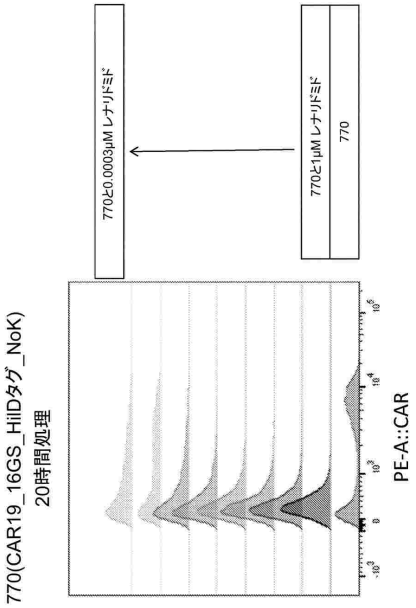


図18D

【図１８Ｅ】

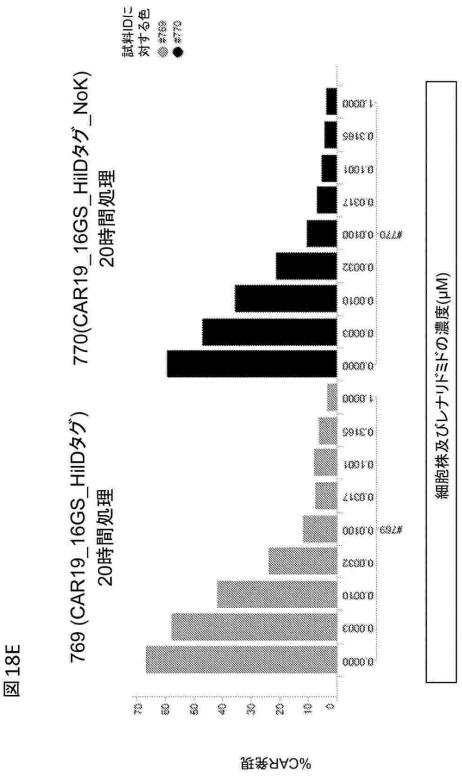


図18E

【図１８Ｆ】

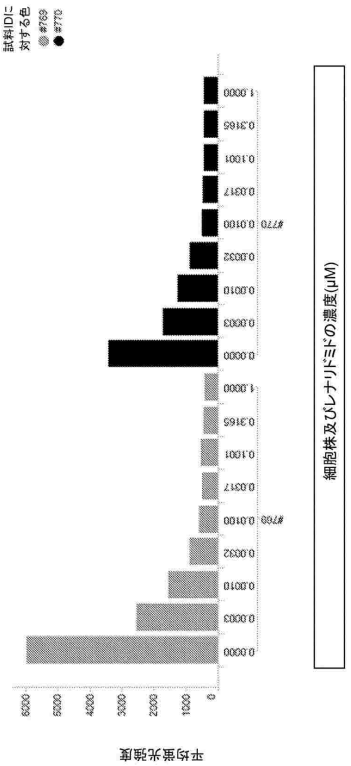


図18F

【図１９Ａ】

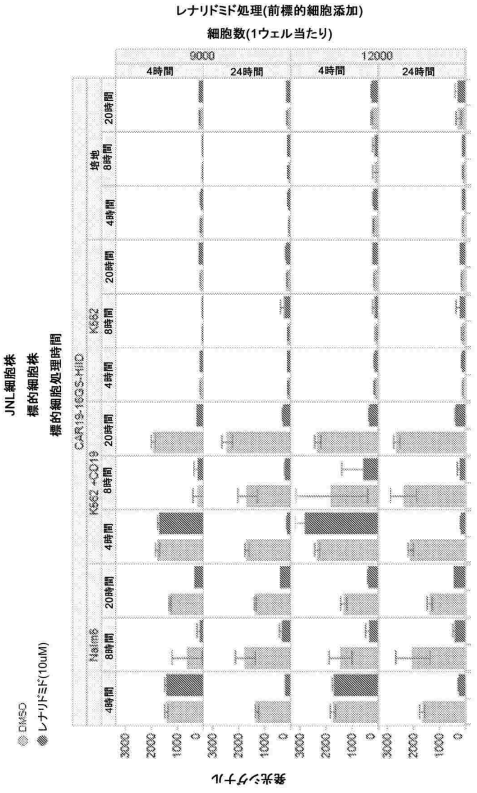


図19A

【図１９Ｂ】

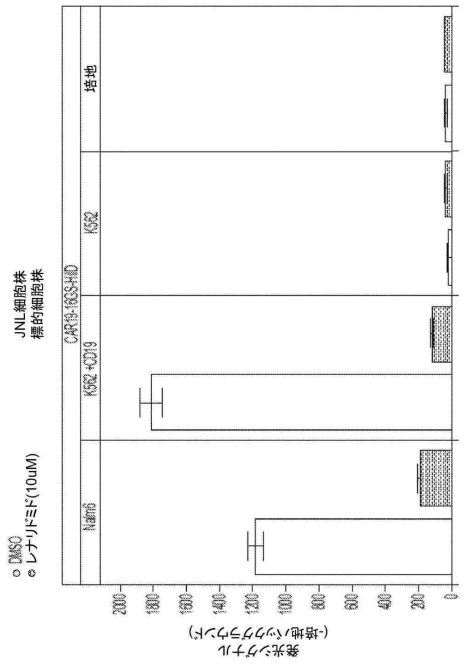


図19B

【図２０Ａ】

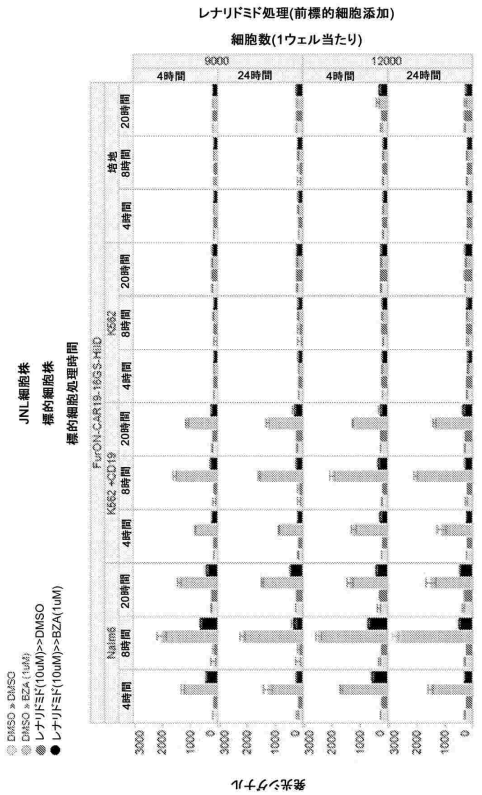


図20A

【図２０Ｂ】

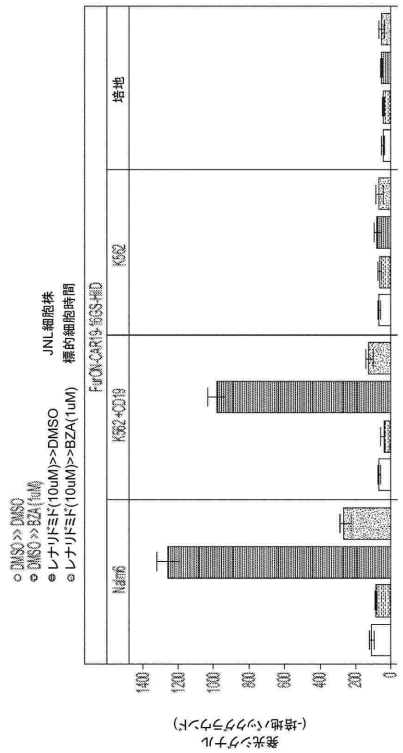


図 20B

【図２１－１】

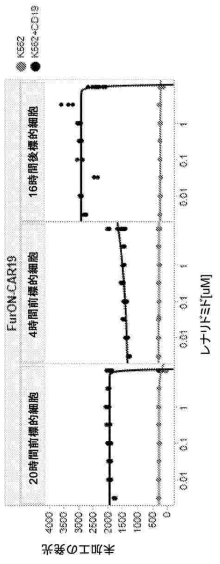


図 21A

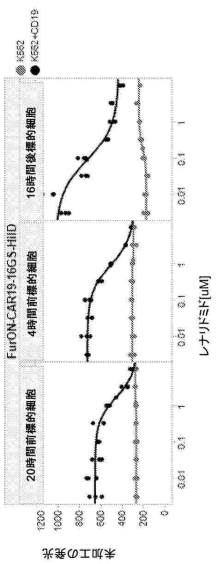


図 21B

【図２１－２】

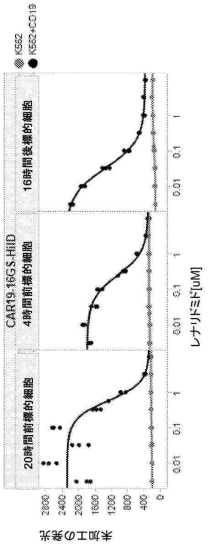


図 21C

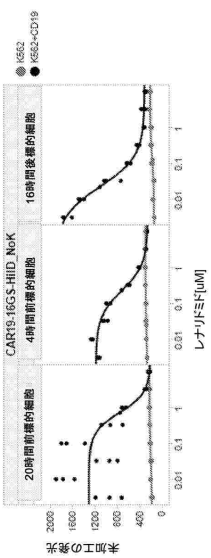


図 21D

【図２２－１】

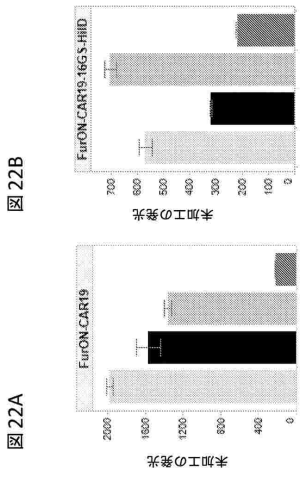
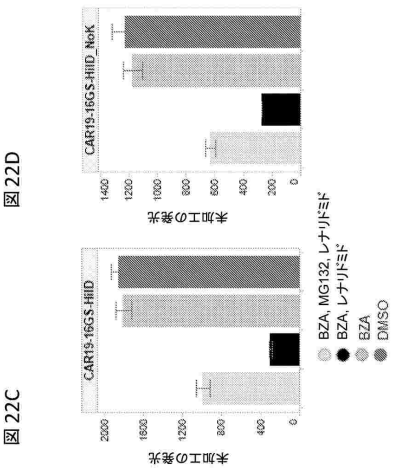


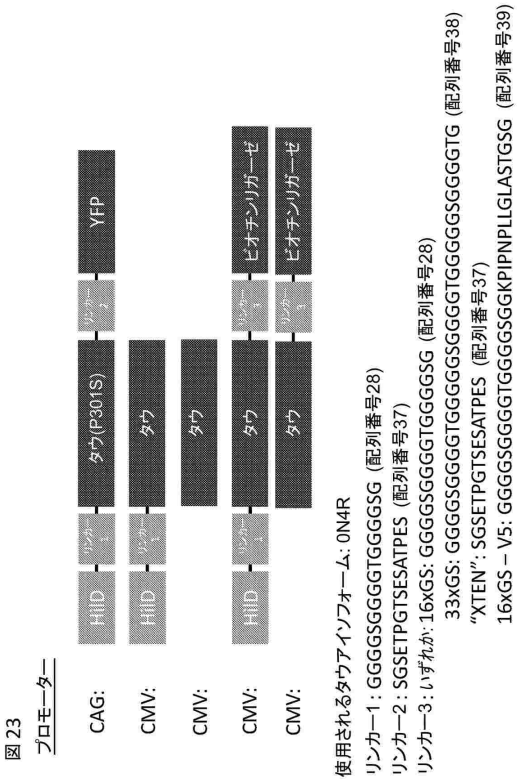
図 22A

図 22B

【図２２－２】

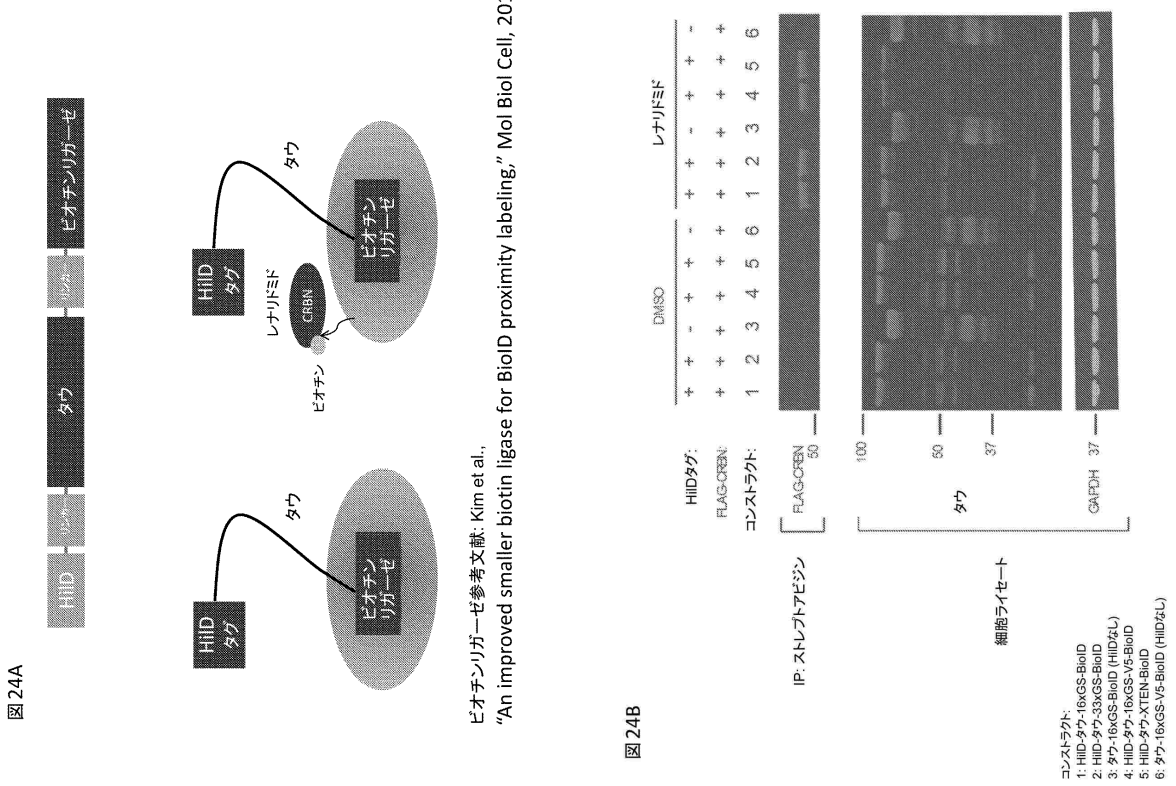


【図２３】

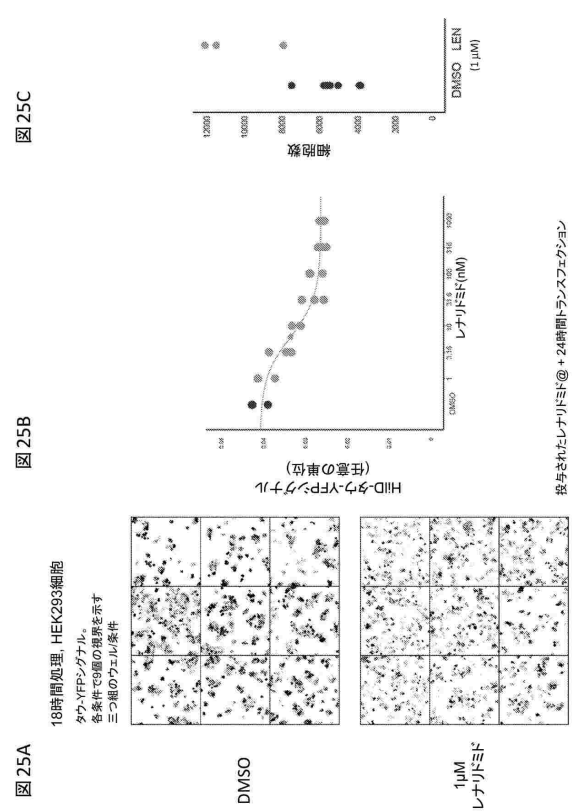


【図２４Ａ】

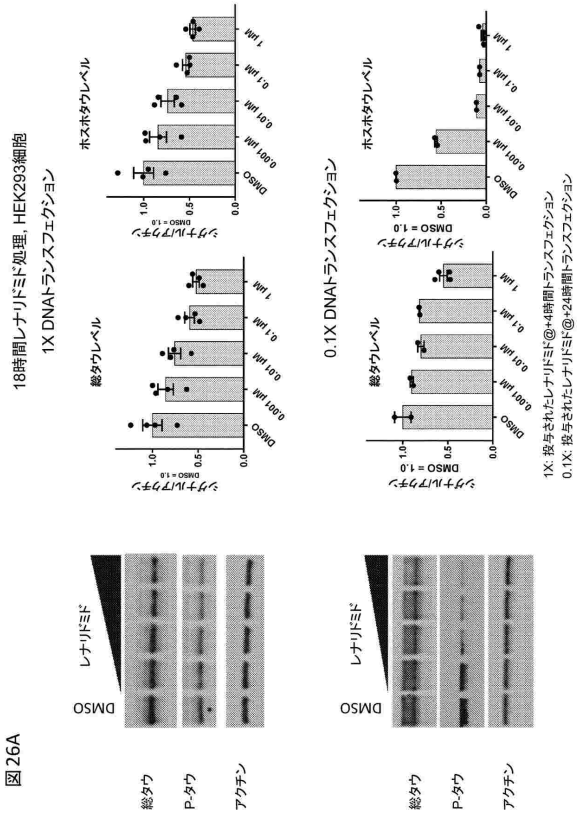
【図２４Ｂ】



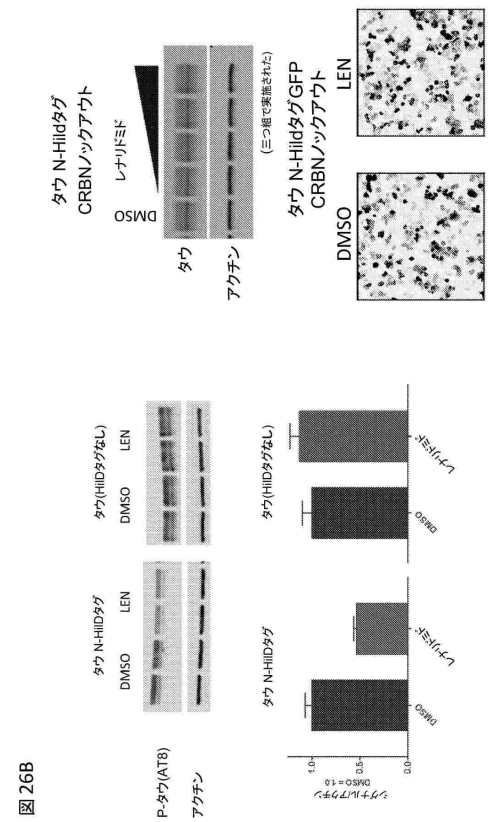
【図２５】



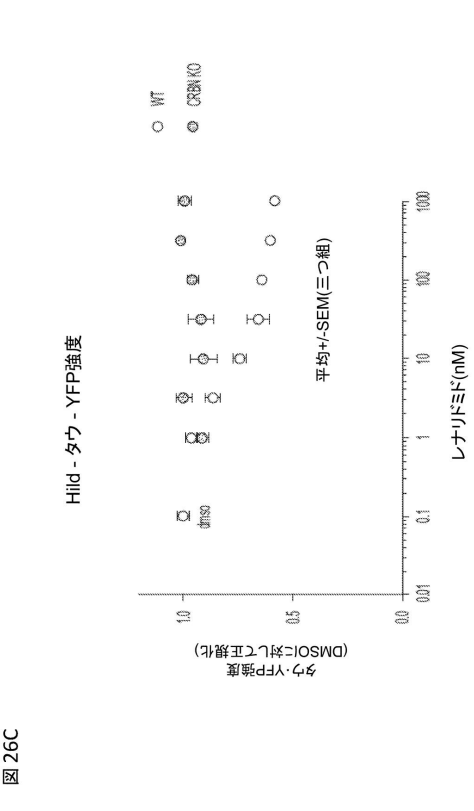
【図２６Ａ】



【図２６Ｂ】



【図２６Ｃ】



【図２６Ｄ】

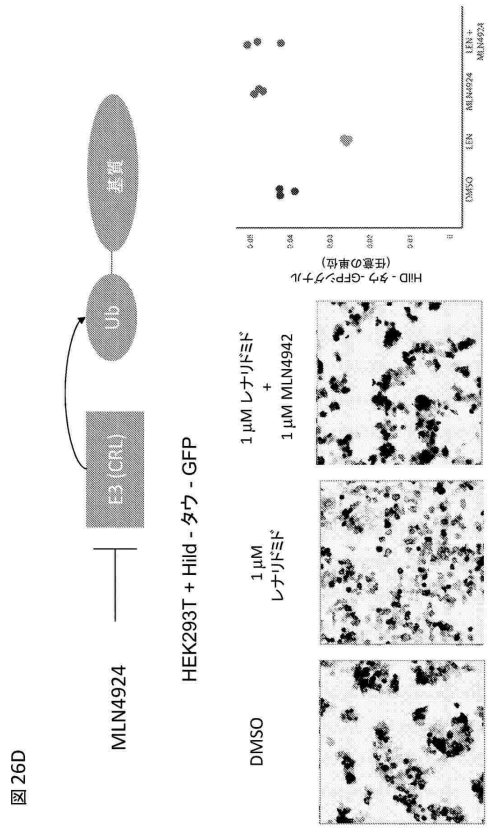


図 26D

【図２７】

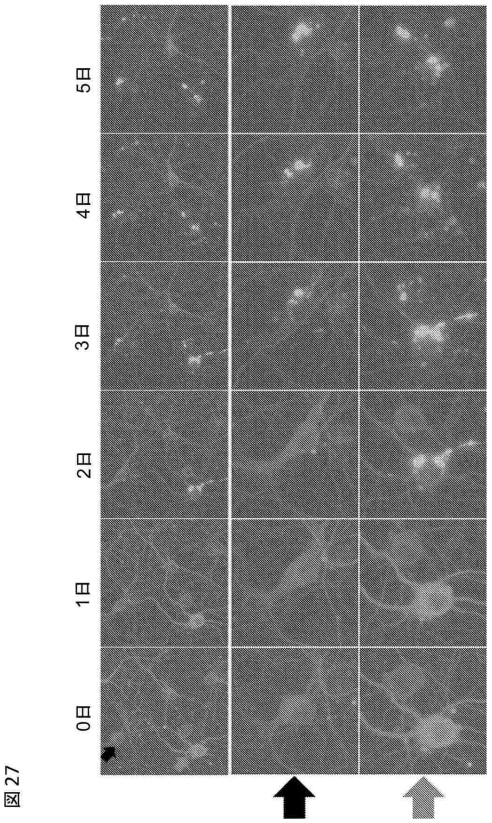


図 27

【図２８】

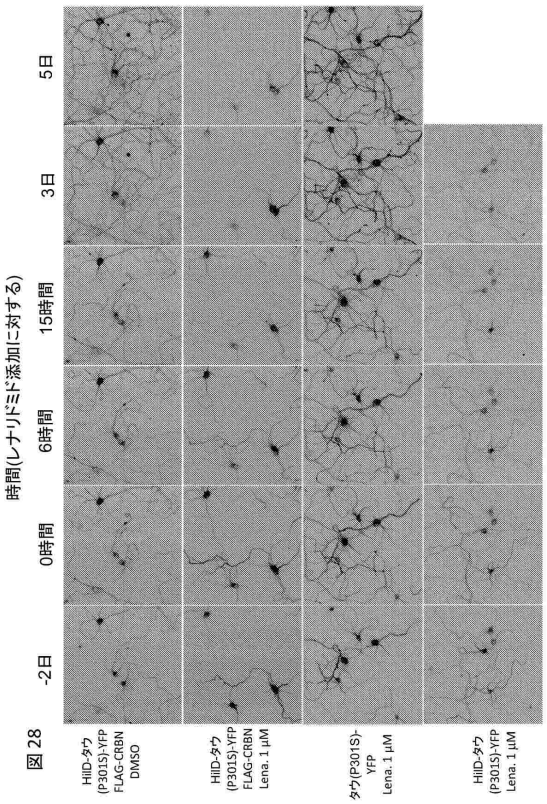


図 28

【図２９】

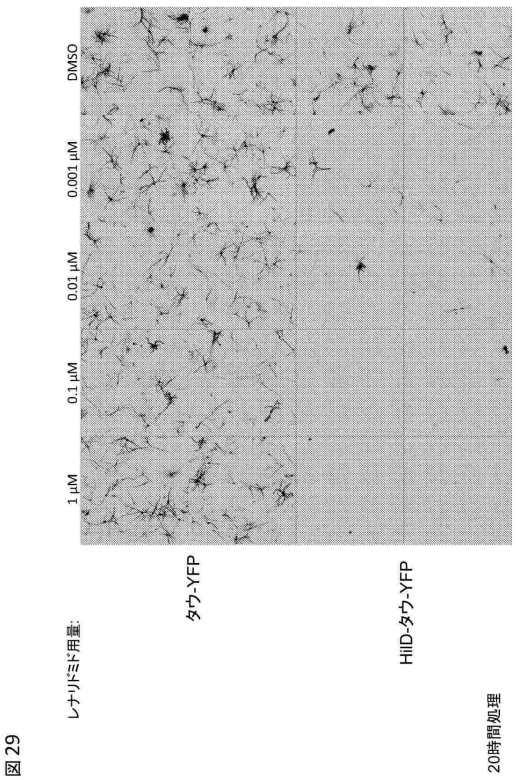


図 29

【図３０】

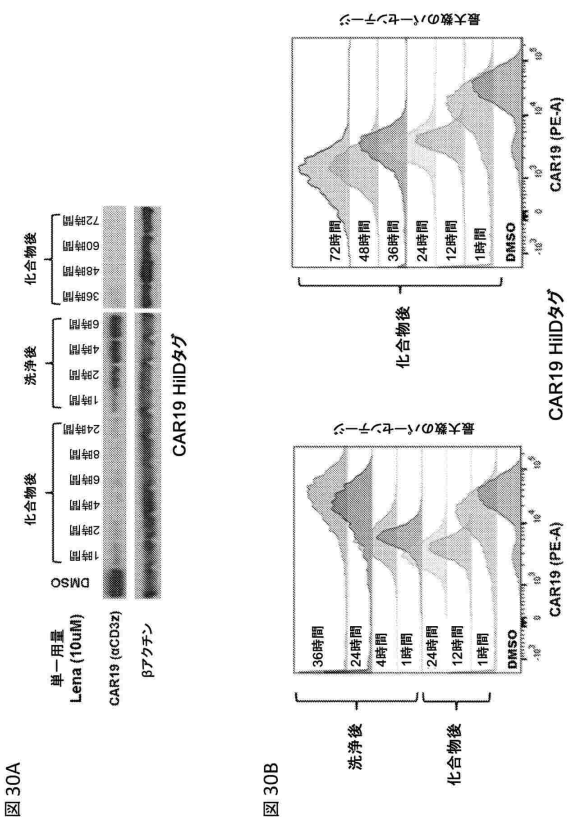
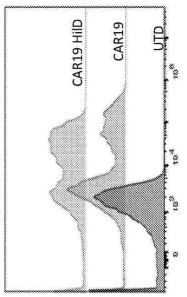


図30A

図30B

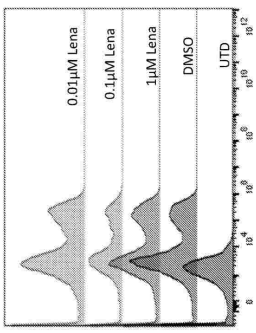
【図３１Ａ】



試料ID	% CD3 CAR	CD3 CAR MFI	増殖率
UTD	0.93	1888	238
CAR 19	37.9	39034	288
CAR 19 HILD	50.1	21318	288

図31A

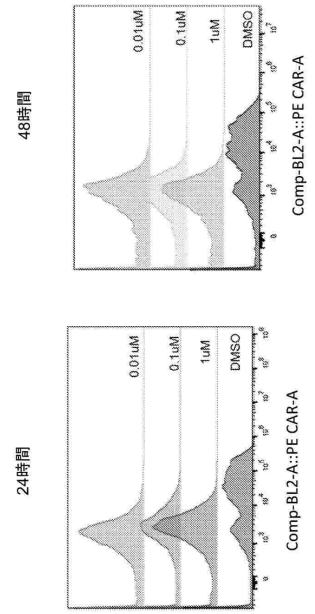
【図３１Ｂ】



試料ID	CAR+
CAR19 1pM + 0.01uM	68999
CAR19 1pM + 0.1uM	68607
CAR19 1pM + 1uM	69872
CAR19 1pM DMSO	67172
UTD	8141

図31B

【図３１Ｃ】



uM単位の レナリドミドの 濃度	24時間		48時間	
	%CAR	MFI	%CAR	MFI
0.01	14.2	10260	1.46	1267
0.1	14.6	10134	1.33	1271
1	11	4971	1.02	1129
DMSO	57	50823	45.8	20914

図31C

【図３２－１】

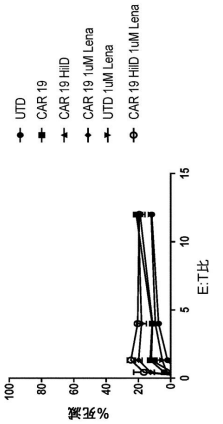


図 32A

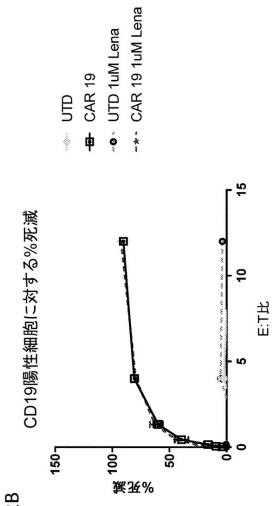


図 32B

【図３２－２】

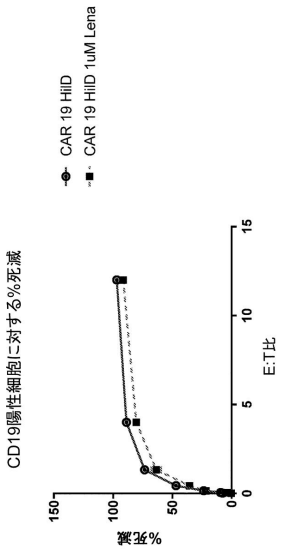


図 32C

【図３３】

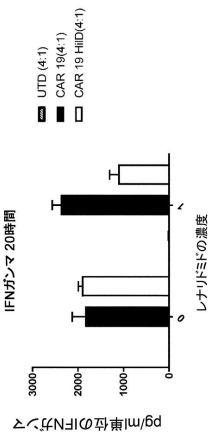


図 33A

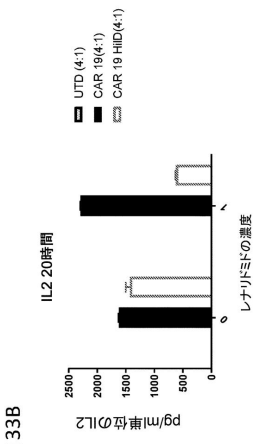


図 33B

【図３４】

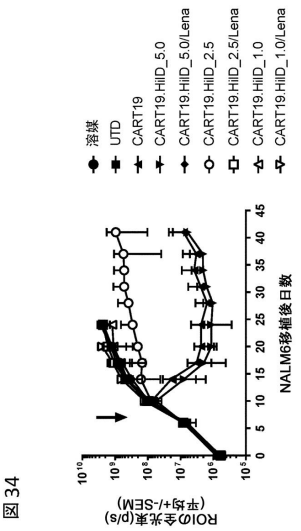


図 34

【図３５】

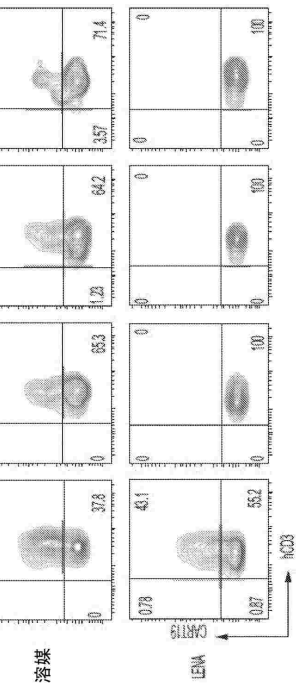


図35

【図３６】

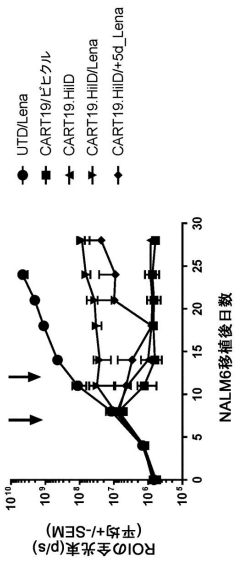


図36

【図３７－１】

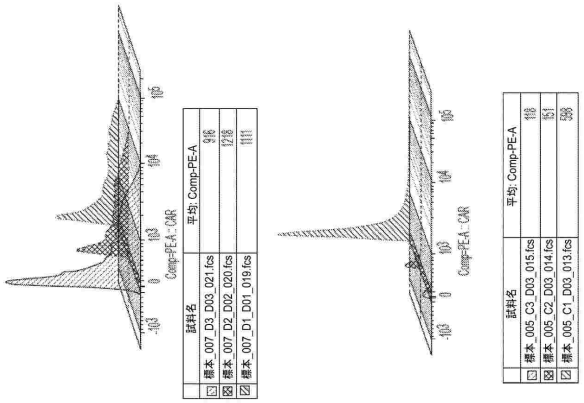


図37A

図37B

【図３７－２】

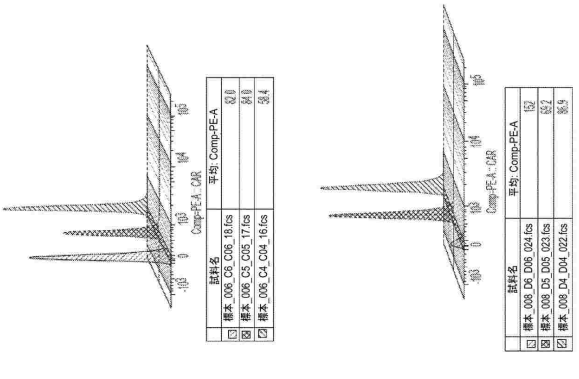


図37C

図37D

【図３７－３】

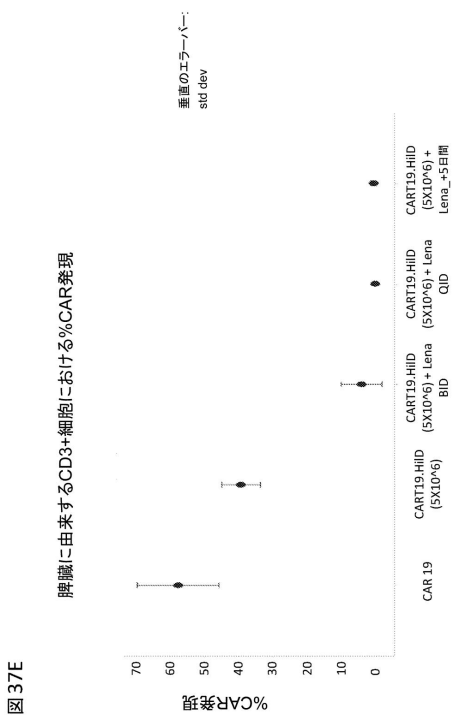


図 37E

【図３８－１】

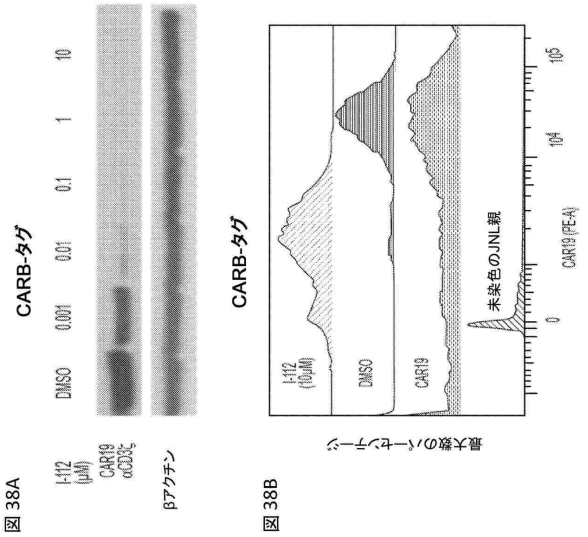


図 38A

図 38B

【図３８－２】

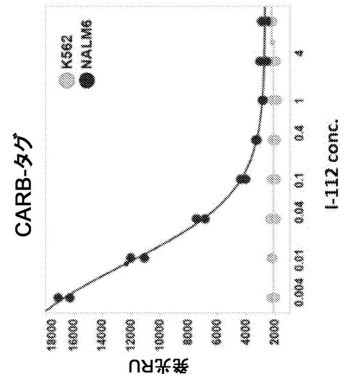


図 38C

【図３９】

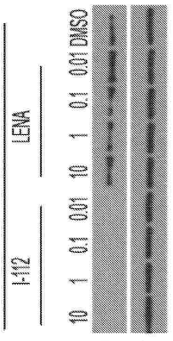


図 39

【図４０Ａ】

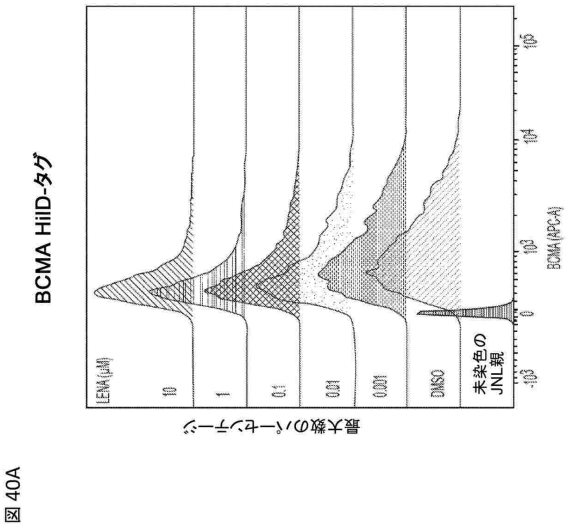


図 40A

【図４０Ｂ】

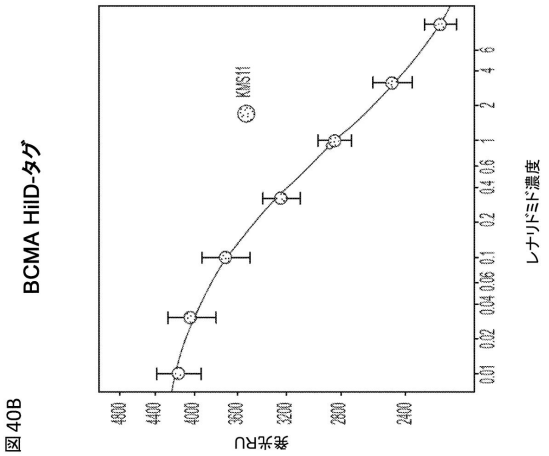


図 40B

【配列表】

0007585034000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		
C12N 7/01 (2006.01)		C12N	7/01	
C07K 16/18 (2006.01)		C07K	16/18	
C12N 5/10 (2006.01)		C12N	5/10	
C12N 15/13 (2006.01)		C12N	15/13	
C12N 15/12 (2006.01)		C12N	15/12	
C12N 15/31 (2006.01)		C12N	15/31	
C12N 15/33 (2006.01)		C12N	15/33	
C12N 15/63 (2006.01)		C12N	15/63	Z
A61P 35/02 (2006.01)		A61P	35/02	
A61P 35/00 (2006.01)		A61P	35/00	
A61K 48/00 (2006.01)		A61K	48/00	
A61K 35/17 (2015.01)		A61K	35/17	
A61K 47/65 (2017.01)		A61K	47/65	
A61K 31/4545(2006.01)		A61K	31/4545	
A61K 38/16 (2006.01)		A61K	38/16	
A61K 31/7088(2006.01)		A61K	31/7088	

(72)発明者 アンドレイ・ゴロソフ
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番、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 カールトン・プロクター・グールド
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番、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 カール・パトリシア・ピント・ギマラエス
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番、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 マーク・ホースト・ピーター・ヒルド
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番、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 グレゴリー・モッツ
アメリカ合衆国０２１７０マサチューセッツ州クインシー、グリーン・ストリート８３番
(72)発明者 ネイサン・トーマス・ロス
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番、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 ジョナサン・エム・ソロモン
アメリカ合衆国０２１４４マサチューセッツ州サマービル、ウィンスロウ・アベニュー４７番
(72)発明者 ローハン・エリック・ジョン・ベックウィズ
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番、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 セス・カーボノー
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番、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

審査官 松田 芳子
(56)参考文献 国際公開第２０１７／０２４３１８（WO，A１）

国際公開第２０１７／０４４８０１（WO，Ａ２）
米国特許出願公開第２００９／０２１５１６９（ＵＳ，Ａ１）
国際公開第２０１６／１０６２４４（WO，Ａ１）
特表２００２－５３５９５９（ＪＰ，Ａ）
特表２０１７－５１３８６２（ＪＰ，Ａ）
米国特許出願公開第２０１４／００９０１１１（ＵＳ，Ａ１）
特開２０１４－０２５７６４（ＪＰ，Ａ）
Lu G. et.al.，The melanoma drug lenalidomide promtes the cereblon-dependent destruction of Ikaros proteins，Scienece，2014年，vol.343, no.6168，p.305-309

(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)

Ｃ１２Ｎ　１５／０９
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）