(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7546554号
(P7546554)

(45)発行日　令和6年9月6日(2024.9.6)

(24)登録日　令和6年8月29日(2024.8.29)

(51)国際特許分類

		FI		
Ａ６１Ｋ　35/17　(2015.01)		Ａ６１Ｋ	35/17	ＺＮＡ
Ａ６１Ｋ　39/395　(2006.01)		Ａ６１Ｋ	39/395	Ｎ
Ａ６１Ｋ　38/17　(2006.01)		Ａ６１Ｋ	38/17	
Ａ６１Ｐ　35/00　(2006.01)		Ａ６１Ｐ	35/00	
Ａ６１Ｐ　35/02　(2006.01)		Ａ６１Ｐ	35/02	

請求項の数　14　（全101頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-516997(P2021-516997)
(86)(22)出願日　令和1年9月26日(2019.9.26)
(65)公表番号　特表2022-502043(P2022-502043A)
(43)公表日　令和4年1月11日(2022.1.11)
(86)国際出願番号　PCT/US2019/053240
(87)国際公開番号　WO2020/069184
(87)国際公開日　令和2年4月2日(2020.4.2)
審査請求日　令和4年9月21日(2022.9.21)
(31)優先権主張番号　62/736,955
(32)優先日　平成30年9月26日(2018.9.26)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者　517435353
レンティジェン・テクノロジー・インコーポレイテッド
ＬＥＮＴＩＧＥＮ ＴＥＣＨＮＯＬＯＧＹ，ＩＮＣ．
アメリカ合衆国、２０８７８ メリーランド州、ゲイザースバーグ、クロッパー・ロード、１２０１
(74)代理人　110001195
弁理士法人深見特許事務所
(72)発明者　シュナイダー，ディナ
アメリカ合衆国、２０８５４ メリーランド州、ポトマック、インバーネス・リッジ・ロード、７９２３
(72)発明者　オレンタス，リマス・ジェイ
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗ＣＤ１９／ＣＤ２２免疫療法によりがんを処置するための組成物および方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

それを必要とするヒト対象におけるがんを処置するための医薬組成物を製造するための自家Ｔ細胞集団の使用であって、ここにおいて前記自家Ｔ細胞が、ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインを含む細胞外抗原結合性ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞内シグナル伝達ドメインを含むＣＤ１９／ＣＤ２２タンデムキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を含み、前記ＣＤ１９／ＣＤ２２タンデムＣＡＲが、配列番号２を含むアミノ酸配列を含み、それによりヒト対象のがんを処置する、使用。

【請求項２】

前記膜貫通ドメインが、Ｔ細胞受容体のアルファ、ベータもしくはゼータ鎖、ＣＤ８、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、およびＣＤ１５４の膜貫通ドメインを含む、請求項１に記載の使用。

【請求項３】

前記細胞外抗原結合性ドメインが、ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメイン、細胞内シグナル伝達ドメインを含み、ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメイン、細胞内シグナル伝達ドメイン、またはその両方がリンカーまたはスペーサードメインによって膜貫通ドメインに接続されている、請求項１に記載の使用。

【請求項４】

前記リンカーまたはスペーサードメインが、ＣＤ８またはＣＤ２８の細胞外ドメインに

由来し、膜貫通ドメイン連結されている、請求項３に記載の使用。
【請求項５】
前記細胞外抗原結合性ドメインが、ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインを含み、ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインに、リーダーペプチドをコードするリーダーヌクレオチド配列が先行する、請求項１に記載の使用。
【請求項６】
前記細胞内シグナル伝達ドメインが、ＯＸ４０、ＣＤ７０、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ５、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）、ＤＡＰ１０、ＤＡＰ１２、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）およびそれらの組み合わせからなる群から選択されたタンパク質の機能的シグナル伝達ドメインを含む共刺激ドメインを含む、請求項１に記載の使用。
【請求項７】
前記ＣＤ１９／ＣＤ２２タンデムキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする前記核酸配列が、配列番号１を含むヌクレオチド配列、または８５％の同一性を有するその配列によってコードされる、請求項１に記載の使用。
【請求項８】
前記細胞内シグナル伝達ドメインが、共刺激ドメイン、一次シグナル伝達ドメイン、またはそれらの任意の組合せを含む、請求項１に記載の使用。
【請求項９】
前記細胞内シグナル伝達ドメインが、ＣＤ３ゼータ細胞内ドメインを含む、請求項１に記載の使用。
【請求項１０】
前記がんが血液学的がんである、請求項１に記載の使用。
【請求項１１】
前記血液学的がんが、白血病またはリンパ腫である、請求項１０に記載の使用。
【請求項１２】
前記白血病が、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）または慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）である、請求項１１に記載の使用。
【請求項１３】
前記リンパ腫が、マントル細胞リンパ腫、非ホジキンリンパ腫またはホジキンリンパ腫である、請求項１１に記載の使用。
【請求項１４】
前記がんが、口腔および咽頭がん、消化器系がん、呼吸器系がん、骨および関節のがん、軟組織がん、皮膚がん、中枢神経系の腫瘍、乳がん、生殖系がん、泌尿器系がん、眼および眼窩のがん、内分泌系がん、ならびに脳がんからなる群から選択された成人癌である、請求項１に記載の使用。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、米国特許法第１１９条（ｅ）の下で、その全内容が参照により本明細書に組み込まれる、２０１８年９月２６日出願の米国仮特許出願第６２／７３６，９５５号に対する優先権の利益を主張する。
【０００２】
配列表
本出願は、ＡＳＣＩＩ形式で電子的に提出された、その全体にわたって参照により本明細書に組み込まれる配列表を含む。２０１９年９月２５日に作成された前記ＡＳＣＩＩコピーはＳｅｑｕｅｎｃｅ＿Ｌｉｓｔｉｎｇ．ｔｘｔと名付けられ、１９７キロバイトのサイズである。
【０００３】

本開示の分野
本出願は、がんの分野、特に、ＣＡＲｓ ｔａｒｇｅｔｉｎｇ（ＴＲ１２，ｆｗｉｇｕｒｅ１ａ参照）ＣＤ１９およびＣＤ２２Ｂ細胞抗原に対する、同時に、ＣＤ１９／ＣＤ２２を介した抗原標的化ドメイン、およびこのようなＣＤ１９／ＣＤ２２抗原標的化ドメインを含むキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、およびその使用方法に関する。
【背景技術】
【０００４】
背景
がんは、ヒトの健康に対する最も致命的な脅威の１つである。米国だけで、がんは毎年ほぼ１３０万人の新たな患者が罹患し、心血管疾患に次いで２番目に多い死因であり、死亡数の約４分の１を占めている。固形腫瘍が、これらの死亡のほとんどの原因である。ある特定のがんの医学的処置においては顕著な進歩があったものの、全てのがんについての５年全生存率は過去２０年間で約１０％しか改善しなかった。がんまたは悪性腫瘍は、制御されずに迅速に転移および成長し、処置を非常に困難にする。
【０００５】
ＣＤ１９は、８５～９５ｋＤａの膜貫通型細胞表面糖タンパク質受容体である。ＣＤ１９は、タンパク質の免疫グロブリン（Ｉｇ）スーパーファミリーの一員であり、２つの細胞外Ｉｇ様ドメイン、膜貫通、および細胞内シグナル伝達ドメインを含んでいる（Ｔｅｄｄｅｒ ＴＦ、Ｉｓａａｃｓ、ＣＭ、１９８９年、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １４３巻：７１２～１７１頁）。ＣＤ１９は、抗原に対するＢ細胞受容体の誘発閾値を下げながら、Ｂ細胞受容体シグナル伝達を改変し（Ｃａｒｔｅｒ，ＲＨおよびＦｅａｒｏｎ，ＤＴ、１９９２年、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２５６巻：１０５～１０７頁）、ＣＤ８１およびＣＤ２１と協調して、この本質的なＢ細胞シグナル伝達複合体を調節する（Ｂｒａｄｂｕｒｙ，ＬＥ、Ｋａｎｓａｓ ＧＳ、Ｌｅｖｙ Ｓ、Ｅｖａｎｓ ＲＬ、Ｔｅｄｄｅｒ ＴＦ、１９９２年、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ、１４９巻：２８４１～５０頁）。Ｂ細胞個体発生の間、ＣＤ１９は、プロＢ、プレ－プレＢ細胞、プレＢ、初期Ｂ細胞段階において、抗原受容体と無関係にシグナル伝達を行うことができ、Ｓｒｃファミリーのタンパク質チロシンキナーゼと会合し、チロシンリン酸化を受け、細胞内カルシウム動員およびイノシトールリン脂質シグナル伝達の両方を誘導する（Ｕｃｋｕｎ ＦＭ、Ｂｕｒｋｈａｒｄｔ ＡＬ、Ｊａｒｖｉｓ Ｌ、Ｊｕｎ Ｘ、Ｓｔｅａｌｙ Ｂ、Ｄｉｂｉｒｄｉｋ Ｉ、Ｍｙｅｒｓ ＤＥ、Ｔｕｅｌ－Ａｈｌｇｒｅｎ Ｌ、Ｂｏｌｅｎ ＪＢ、１９８３年、Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２６８巻：２１１７２～８４頁）。Ｂ細胞悪性疾患の処置に関係のある重要な点は、ＣＤ１９が、ＩｇＨ遺伝子再構成の段階にある初期前駆Ｂ細胞、成熟Ｂ細胞に限定される厳重に調節された形で正常Ｂ細胞上に発現されるが、造血幹細胞または成熟形質細胞上には発現されないということである（Ａｎｄｅｒｓｏｎ，ＫＣ、Ｂａｔｅｓ，ＭＰ、Ｓｌａｕｇｈｅｎｈｏｕｔ ＢＬ、Ｐｉｎｋｕｓ ＧＳ、Ｓｃｈｌｏｓｓｍａｎ ＳＦ、Ｎａｄｌｅｒ ＬＭ、１９８４年、Ｂｌｏｏｄ ６３巻：１４２４～１４３３頁）。
【０００６】
ＳＩＧＬＥＣ－２（シアル酸結合免疫グロブリン様レクチン２）としても知られるＣＤ２２は、９５ｋＤａの膜貫通型表面糖タンパク質であり、６つのＩｇ様Ｃ２型ドメインおよび１つのＩｇ様Ｖ型ドメインを含んでいる（ｕｎｉｐｒｏｔ．ｏｒｇ／ｕｎｉｐｒｏｔ／Ｐ２０２７３＃ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ、アクセス日０７／１２／２０１７）。Ｂ細胞個体発生の間、ＣＤ２２は、プレＢ細胞段階からＢ細胞表面上に発現され、成熟Ｂ細胞上でも残り続け、形質細胞上で失われる（Ｎｉｔｓｃｈｋｅ Ｌ、２００９年、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ、２３０巻：１２８～１４３頁）。ＣＤ２２は、Ｂ細胞受容体が抗原に関与した後、細胞の活性化を下方調節する働きをする細胞内ＩＴＩＭ（免疫受容体チロシン性抑制モチーフ（ｉｍｍｕｏｒｅｃｅｐｔｏｒ ｔｙｒｏｓｉｎｅ－ｂａｓｅｄ ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎ ｍｏｔｉｆｓ））ドメインを含んでいる。ＣＤ２２の抗体結合は、ＳＨＰ－１、および同じくリン酸化を主体としたシグナル伝達を下方調節する働きをする細胞内ホスファターゼとの共局在を誘導する（Ｌｕｍｂ Ｓ、Ｆｌｅｉｓｈｃｅｒ

ＳＪ、Ｗｉｅｄｅｍａｎｎ Ａ、Ｄａｒｉｄｏｎ Ｃ、Ｍａｌｏｎｅｙ Ａ、Ｓｈｏｃｋ Ａ、Ｄｏｒｎｅｒ Ｔ、２０１６年、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｅｌｌ Ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ、１０巻：１４３～１５１頁）。Ｂ細胞悪性疾患の処置に関係のある重要な点は、ＣＤ２２が、厳重に調節された形で正常Ｂ細胞上に発現されるが、造血幹細胞または成熟形質細胞上には発現されず、このため、Ｂ細胞白血病に適する標的抗原になるということである。ＣＤ２２は、成人および小児両方の（ｐｒｅ－Ｂ－ＡＬＬ）Ｂ細胞悪性腫瘍上に発現されるため、この標的は、抗体およびキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）両方のＴ細胞療法に活かされてきた（Ｈａｓｏ Ｗ、Ｌｅｅ ＤＷ、Ｓｈａｈ ＮＮ、Ｓｔｅｔｌｅｒ－Ｓｔｅｖｅｎｓｏｎ Ｍ、Ｙｕａｎ ＣＭ、Ｐａｓｔａｎ ＩＨ、Ｄｉｍｉｔｒｏｖ ＤＳ、Ｍｏｒｇａｎ ＲＡ、ＦｉｔｚＧｅｒｌａｄ ＤＪ、Ｂａｒｒｅｔｔ ＤＭ、Ｗａｙｎｅ ＡＳ、Ｍａｃｋａｌｌ ＣＬ、Ｏｒｅｎｔａｓ ＲＪ、２０１３年、Ｂｌｏｏｄ、１２１巻：１１６５～１１７４頁）（Ｗａｙｎｅ ＡＳ、Ｋｒｅｉｔｍａｎ ＲＪ、Ｆｉｎｄｌｅｙ ＨＷ、Ｌｅｗ Ｇ、Ｄｅｌｂｒｏｏｋ Ｃ、Ｓｔｅｉｎｂｅｒｇ ＳＭ、Ｓｔｅｔｌｅｒ－Ｓｔｅｖｅｎｓｏｎ Ｍ、ＦｉｔｚＧｅｒａｌｄ ＤＪ、Ｐａｓｔａｎ Ｉ、２０１０年、Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ、１６巻：１８９４～１９０３頁）。

【０００７】

細菌毒素または化学療法剤に連結された抗ＣＤ２２抗体を含む、Ｂ細胞白血病およびリンパ腫処置のためのいくつかの新しい手法が開発されている（Ｗａｙｎｅ ＡＳ、ＦｉｔｚＧｅｒａｌｄ ＤＪ、Ｋｒｅｉｔｍａｎ ＲＪ、Ｐａｓｔａｎ Ｉ、２０１４年、Ｉｍｍｕｎｏｔｏｘｉｎｓ ｆｏｒ ｌｅｕｋｅｍｉａ、Ｂｌｏｏｄ、１２３巻：２４７０～２４７７頁）。イノツズマブオゾガマイシン（ＣＭＣ－５４４、ネズミモノクローナル抗体Ｇ５／４４のヒト化版）は、抗体薬物コンジュゲートであり、現在、臨床試験において、単剤として、または化学療法と組み合わされて、評価がなされている（ＮＣＴ０１６６４９１０、スポンサー：Ｍ．Ｄ．Ａｎｄｅｒｓｏｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｃｅｎｔｅｒ）（ＤｉＪｏｓｅｐｈ ＪＦら、２００４年、Ｂｌｏｏｄ、１０３巻：１８０７～１８１４頁）。単剤としては、重大な肝臓毒性が指摘されたとはいえ、標準療法で認められたものより大きい成果があった（Ｋａｎｔａｒｊｉａｎ Ｈら、２０１６年、Ｉｎｏｔｕｚｕｍｂ ｏｚｏｇａｍｉｃｉｎ ｖｅｒｓｕｓ ｓｔａｎｄａｒｄ ｔｈｅｒａｐｙ ｆｏｒ ａｃｕｔｅ ｌｙｍｐｈｏｂｌａｓｔｉｃ ｌｅｕｋｅｍｉａ、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ、３７５巻：７４０～７５３頁）。未改変のＣＤ２２治療用抗体であるエプラツズマブも、化学療法と組み合わせて試験されている（ＮＣＴ０１２１９８１６、スポンサー：Ｎａｎｔｅｓ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｈｏｓｐｉｔａｌ）。エプラツズマブは、ヒト抗体フレームワークにグラフトされたネズミＣＤＲで構成されたキメラタンパク質である。モキセツモマブパスードトクス（Ｍｏｘｅｔｕｍｏｍａｂ ｐａｓｕｄｏｔｏｘ）は、いくつかの白血病において有効であるものの、抗体を融合させる細菌毒素の免疫原性、および控えめでしかないまたは他の薬剤と同等のレベルの活性の問題のために、広範な臨床開発には入っていない（ＮＣＴ０１８２９７１１を参照されたい、スポンサー：ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ，ＬＬＣ）。これまで、ＣＡＲコンストラクトに用いられるＣＤ２２の結合性モチーフの多くは、こうしたネズミ抗体由来のドメインを利用しており、このＣＤ２２ドメインを標的化するＴ細胞を有効に活性化しない（たとえば、モキセツモマブパスードトクスのベースとして使用されるＨＡ２２抗ＣＤ２２バインダー、Ｊａｍｅｓ ＳＥ、Ｇｒｅｅｎｂｅｒｇ ＰＤ、Ｊｅｎｓｅｎ ＭＣ、Ｌｉｎ Ｙ、Ｗａｎｇ Ｊ、Ｔｉｌｌ ＢＧ、Ｒａｕｂｉｔｓｃｈｅｋ ＡＡ、Ｆｏｒｍａｎ ＳＪ、Ｐｒｅｓｓ ＯＷ、２００８年、Ｊｏｕｎｒａｌ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １８０巻：７０２８～７０３８頁を参照されたい）。抗ＣＤ２２ＣＡＲとして有効である抗ＣＤ２２バインダーの１つが、結果は公開されていないものの、現在、米国国立保健研究所（ＮＩＨ）において臨床試験に入っている（ＣｌｉｎｉｃａｌＴｒｉａｌｓ．ｇｏｖ Ｉｄｅｎｔｉｆｉｅｒ：ＮＣＴ０２３１５６１２、Ａｎｔｉ－ＣＤ２２ Ｃｈｉｍｅｒｉｃ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ Ｔ Ｃｅｌｌｓ ｉｎ Ｐｅｄｉａｔｒｉｃ ａｎｄ Ｙｏｕｎｇ Ａｄｕｌｔｓ ｗｉｔｈ Ｒ

ｅｃｕｒｒｅｎｔ ｏｒ Ｒｅｆｒａｃｔｏｒｙ ＣＤ２２－ｅｘｐｒｅｓｓｉｎｇ Ｂ Ｃｅｌｌ Ｍａｌｉｇｎａｎｃｉｅｓ、スポンサー：ＮＣＩ）。このバインダーは、本出願における発明者の一人であるＤｒ．Ｄｉｍｉｔｅｒ Ｄｉｍｉｔｒｏｖの研究室において開発されたｍ９７１完全ヒト抗体を主体とする（Ｘｉａｏ Ｘ、Ｈｏ Ｍ、Ｚｈｕ Ｚ、Ｐａｓｔａｎ Ｉ、Ｄｉｍｉｔｒｏｖ Ｄ、２００９年、Ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ ａｎｄ ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ ｆｕｌｌｙ ｈｕｍａｎ ａｎｔｉ－ＣＤ２２ ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ、ＭＡＢＳ、１巻：２９７～３０３頁）。ｍ９７１ドメインは、本出願における別の発明者の一人であるＤｒ．Ｒｉｍａｓ Ｏｒｅｎｔａｓが監督した研究において、ＣＡＲとして有効であることが証明された（Ｈａｓｏ Ｗら、２０１３年、Ａｎｔｉ－ＣＤ２２－ｃｈｉｍｅｒｉｃ ａｎｔｉｇｅｎ ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ ｔａｒｇｅｔｉｎｇ Ｂ－ｃｅｌｌ ｐｒｅｃｕｒｓｏｒ ａｃｕｔｅ ｌｙｍｐｈｏｂｌａｓｔｉｃ ｌｅｕｋｅｍｉａ、Ｂｌｏｏｄ、１２１巻：１１６５～１１７４頁）。

【０００８】

Ｂ系統白血病およびリンパ腫の伝統的な処置手法は、化学療法、放射線療法、および幹細胞移植を含む場合がある（ｍａｙｃｌｉｎｉｃ．ｏｒｇのワールドワイドウェブを参照されたい）。 こうした処置に伴う高い毒性、ならびに再発、続発性悪性疾患、ＧＶＨＤなどの合併症のリスクは、よりよい治療選択肢を求める動機付けとなっている。ＣＤ１９は、成人および小児両方の（ｐｒｅ－Ｂ－ＡＬＬ）Ｂ細胞悪性腫瘍上に発現されるため、この標的は、抗体およびキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）両方のＴ細胞療法に活かされてきた（Ｋｏｃｈｅｎｄｅｒｆｅｒ ＪＮ、Ｗｉｌｓｏｎ ＷＨ、Ｊａｎｉｋ ＪＥ、Ｄｕｄｌｅｙ ＭＥ、Ｓｔｅｔｌｅｒ－Ｓｔｅｖｅｎｓｏｎ Ｍ、Ｆｅｌｄｍａｎ ＳＡ、Ｍａｒｉｃ Ｉ、Ｒａｆｆｅｌｄ Ｍ、Ｎａｔｈａｎ ＤＡ、Ｌａｎｉｅｒ ＢＪ、Ｍｏｒｇａｎ ＲＡ、Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ ＳＡ、２０１０年、Ｂｌｏｏｄ １１６巻：４０９９～１０２頁；Ｌｅｅ ＤＷ、Ｋｏｃｈｅｎｄｅｒｆｅｒ ＪＮ、Ｓｔｅｔｌｅｒ－Ｓｔｅｖｅｎｓｏｎ Ｍ、Ｃｕｉ ＹＫ、Ｄｅｌｂｒｏｏｋ Ｃ、Ｆｅｌｄｍａｎ ＳＡ、Ｏｒｅｎｔａｓ Ｒ、Ｓａｂａｔｉｎｏ Ｍ、Ｓｈａｈ ＮＮ、Ｓｔｅｉｎｂｅｒｇ ＳＭ、Ｓｔｒｏｎｃｅｋ Ｄ、Ｔｓｃｈｅｒｎｉａ Ｎ、Ｙｕａｎ Ｃ、Ｚｈａｎｇ Ｈ、Ｚｈａｎｇ Ｌ、Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ ＳＡ、Ｗａｙｎｅ ＡＳ、Ｍａｃｋａｌｌ ＣＬ、２０１５年、Ｌａｎｃｅｔ ３８５巻：５１７～２８頁）。 さらに、ＣＤ２２抗原も、リンパ腫（ＤＬＢＣＬ、ＦＬ）および白血病（ＣＬＬ）において存在するため、効率的に腫瘍を除去し、腫瘍抗原逃避を防ぐための魅力的な追加標的となっている。

【０００９】

Ｂ系統白血病の現在の標準治療は、高い用量または線量の化学療法または放射線による寛解導入処置に続く強化からなる場合があり、必要に応じて、幹細胞移植および追加の化学療法クールが取り上げられる場合もある（ｃａｎｃｅｒ．ｇｏｖのワールドワイドウェブを参照されたい）。こうした処置に伴う高い毒性、ならびに再発、続発性悪性疾患、ＧＶＨＤなどの合併症のリスクは、よりよい治療選択肢を求める動機付けとなっている。ＣＤ１９は、成人および小児両方の（ｐｒｅ－Ｂ－ＡＬＬ）Ｂ細胞悪性腫瘍上に発現されるため、このターゲットは、抗体およびキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）両方のＴ細胞療法に活かされてきた（Ｋｏｃｈｅｎｄｅｒｆｅｒ ＪＮ、Ｗｉｌｓｏｎ ＷＨ、Ｊａｎｉｋ ＪＥ、Ｄｕｄｌｅｙ ＭＥ、Ｓｔｅｔｌｅｒ－Ｓｔｅｖｅｎｓｏｎ Ｍ、Ｆｅｌｄｍａｎ ＳＡ、Ｍａｒｉｃ Ｉ、Ｒａｆｆｅｌｄ Ｍ、Ｎａｔｈａｎ ＤＡ、Ｌａｎｉｅｒ ＢＪ、Ｍｏｒｇａｎ ＲＡ、Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ ＳＡ、２０１０年、Ｂｌｏｏｄ １１６巻：４０９９～１０２頁；Ｌｅｅ ＤＷ、Ｋｏｃｈｅｎｄｅｒｆｅｒ ＪＮ、Ｓｔｅｔｌｅｒ－Ｓｔｅｖｅｎｓｏｎ Ｍ、Ｃｕｉ ＹＫ、Ｄｅｌｂｒｏｏｋ Ｃ、Ｆｅｌｄｍａｎ ＳＡ、Ｏｒｅｎｔａｓ Ｒ、Ｓａｂａｔｉｎｏ Ｍ、Ｓｈａｈ ＮＮ、Ｓｔｅｉｎｂｅｒｇ ＳＭ、Ｓｔｒｏｎｃｅｋ Ｄ、Ｔｓｃｈｅｒｎｉａ Ｎ、Ｙｕａｎ Ｃ、Ｚｈａｎｇ Ｈ、Ｚｈａｎｇ Ｌ、Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ ＳＡ、Ｗａｙｎｅ ＡＳ、Ｍａｃｋａｌｌ ＣＬ、２０１５年、Ｌａｎｃｅｔ ３８５巻：５１７～２８頁）。

【００１０】
抗ＣＤ１９または抗ＣＤ２２結合性モチーフをＴ細胞結合性モチーフに結び付ける二重特異的抗体（即ち、フィラデルフィア染色体陰性再発または抗療性前駆Ｂ細胞急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）の処置に必要が示されたブリナツモマブ、Ｂｌｉｎｃｙｔｏ（登録商標））を含む、Ｂ細胞白血病およびリンパ腫処置のためのいくつかの新しい手法が開発されている。これまで、ＣＡＲコンストラクトに用いられるＣＤ１９またはＣＤ２２に対する結合性部分の多くには、ネズミ抗体由来のドメインが利用されている。そうした製品のいくつかは、ＮｏｖａｒｔｉｓおよびＫｉｔｅ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓが開発したものを含めて、現在、承認が検討されている。Ｎｏｖａｒｔｉｓは、２０１７年の４月に、２回以上の以前の治療が不成功に終わっている、抗療性または再発性（ｒ／ｒ）ＤＬＢＣＬ（びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫）を有する成人患者の処置について、ＦＤＡ画期的治療指定（ｂｒｅａｋｔｈｒｏｕｇｈ　ｄｅｓｉｇｎａｔｉｏｎ）を受けたＣＴＬ０１９（チサゲンレクリューセル）を発表し、この指定を、ｒ／ｒＢ細胞急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）についての指定に加えている。これらの適応症は、それぞれ、フェーズＩＩ　ＪＵＬＩＥＴ研究（ＮＣＴ０２４４５２４８）およびＥＬＩＡＮＡ研究（ＮＣＴ０２４３５８４９）を根拠としている。ＪＵＬＩＥＴ治験では、３か月の時点で、４５％の全奏効率（ＯＲＲ）が示され、完全寛解（ＣＲ）が３７％、部分寛解（ＰＲ）が８％であった。ＥＬＩＡＮＡ研究では、製品の注入を受けた患者の８２％が、ＣＲ、または不完全なカウント回復を含むＣＲを実現し、６か月の時点での無再発生存率は、６０％であった。Ｋｉｔｅ　ＰｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓのＣＡＲ－Ｔ製品（ＫＴＥ－Ｃ１９、アキシカブタゲンシロロイセル）は、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＬＣ）、形質転換濾胞性リンパ腫（ＴＦＬ）、および原発性縦隔Ｂ細胞リンパ腫（ＰＭＢＣＬ）について、画期的治療指定が与えられている。ｒ／ｒＡＬＬにおけるＫＴＥ－Ｃ１９のＫｉｔｅ　ＺＵＭＡ－３フェーズＩＩ治験では、（２か月またはより長期の時点で）７３％のＣＲが報告された。ＣＡＲ－Ｔ療法の抗体が利用されているか否かに関わりなく、こうした療法によって助けられていない患者が依然としてかなりの数で存在し、治療手法には少なからず改善の余地がある。

【００１１】
キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）は、３つの本質的な単位を含むハイブリッド分子である：（１）細胞外抗原結合性モチーフ、（２）連結／膜貫通モチーフ、および（３）細胞内Ｔ細胞シグナル伝達モチーフ（Ｌｏｎｇ　ＡＨ、Ｈａｓｏ　ＷＭ、Ｏｒｅｎｔａｓ　ＲＪ．Ｌｅｓｓｏｎｓ　ｌｅａｒｎｅｄ　ｆｒｏｍ　ａ　ｈｉｇｈｌｙ－ａｃｔｉｖｅ　ＣＤ２－ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ｃｈｉｍｅｒｉｃ　ａｎｔｉｇｅｎ　ｒｅｃｅｐｔｏｒ．Ｏｎｃｏｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ．２０１３年；２巻（４号）：ｅ２３６２１頁）。ＣＡＲの抗原結合性モチーフは一般に、免疫グロブリン（Ｉｇ）分子の最小の結合性ドメインである単鎖断片可変（ｓｃＦｖ）を基にして作られる。代替の抗原結合性モチーフとして、例えば、受容体リガンド（即ち、ＩＬ－１３は、腫瘍が発現するＩＬ－１３受容体に結合するように操作されている）、インタクトな免疫受容体、ライブラリー由来ペプチド、および自然免疫系エフェクター分子（例えば、ＮＫＧ２Ｄ）も操作されている。ＣＡＲ発現のための代替の細胞標的（例えば、ＮＫまたはガンマ－デルタＴ細胞）も開発中である（Ｂｒｏｗｎ　ＣＥら　Ｃｌｉｎ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．２０１２年；１８巻（８号）：２１９９～２０９頁；Ｌｅｈｎｅｒ　Ｍら　ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ．２０１２年；７巻（２号）：ｅ３１２１０頁）。ＣＡＲベクターを形質導入するための最も活性なＴ細胞集団を定義すること、最適な培養および増殖の技術を決定すること、ならびにＣＡＲタンパク質構造自体の分子的詳細を定義することに関して、いまだにかなりのなすべきことが残っている。

【００１２】
ＣＡＲの連結モチーフは、ＩｇＧの定常ドメインなどの比較的安定な構造ドメインとするか、または伸長された可撓性リンカーとなるように設計することができる。ＩｇＧの定常ドメインに由来するものなどの構造モチーフを使用して、ｓｃＦｖ結合性ドメインをＴ細胞原形質膜表面から離れて延在させることができる。これは、結合性ドメインが腫瘍細

胞表面膜に特に近い一部の腫瘍標的にとって重要であり得る（例えば、ジシアロガングリオシドＧＤ２にとって；Ｏｒｅｎｔａｓら、未公開の観察）。今日まで、ＣＡＲにおいて使用されるシグナル伝達モチーフは常にＣＤ３－ζ鎖を含んでいるが、それは、このコアモチーフが、Ｔ細胞活性化のための重要なシグナルであるからである。最初に報告された第２世代ＣＡＲは、ＣＤ２８シグナル伝達ドメインおよびＣＤ２８膜貫通配列を特徴としていた。このモチーフは、ＣＤ１３７（４－１ＢＢ）シグナル伝達モチーフを含有する第３世代ＣＡＲでも同様に使用された（Ｚｈａｏ Ｙら Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２００９年；１８３巻（９号）：５５６３～７４頁）。新たなテクノロジーの進歩に伴い、抗ＣＤ３および抗ＣＤ２８抗体に連結されたビーズによるＴ細胞の活性化、ならびにＣＤ２８由来のカノニカルな「シグナル２」の存在がＣＡＲ自体によってコードされる必要はもはやなくなった。ビーズ活性化を使用して、第３世代ベクターは、ｉｎ ｖｉｔｒｏアッセイにおいて第２世代ベクターよりも優れているわけではないことが見出され、また、白血病のマウスモデルにおいては第２世代ベクターを超える明らかな利益は得られなかった（Ｈａｓｏ Ｗ、Ｌｅｅ ＤＷ、Ｓｈａｈ ＮＮ、Ｓｔｅｔｌｅｒ－Ｓｔｅｖｅｎｓｏｎ Ｍ、Ｙｕａｎ ＣＭ、Ｐａｓｔａｎ ＩＨ、Ｄｉｍｉｔｒｏｖ ＤＳ、Ｍｏｒｇａｎ ＲＡ、ＦｉｔｚＧｅｒａｌｄ ＤＪ、Ｂａｒｒｅｔｔ ＤＭ、Ｗａｙｎｅ ＡＳ、Ｍａｃｋａｌｌ ＣＬ、Ｏｒｅｎｔａｓ ＲＪ．Ａｎｔｉ－ＣＤ２２－ｃｈｉｍｅｒｉｃ ａｎｔｉｇｅｎ ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ ｔａｒｇｅｔｉｎｇ Ｂ ｃｅｌｌ ｐｒｅｃｕｒｓｏｒ ａｃｕｔｅ ｌｙｍｐｈｏｂｌａｓｔｉｃ ｌｅｕｋｅｍｉａ，Ｂｌｏｏｄ．２０１３年；１２１巻（７号）：１１６５～７４頁；Ｋｏｃｈｅｎｄｅｒｆｅｒ ＪＮら Ｂｌｏｏｄ．２０１２年；１１９巻（１２号）：２７０９～２０頁）。これは、第２世代ＣＤ２８／ＣＤ３－ζ（Ｌｅｅ ＤＷら Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｓｏｃｉｅｔｙ ｏｆ Ｈｅｍａｔｏｌｏｇｙ Ａｎｎｕａｌ Ｍｅｅｔｉｎｇ．Ｎｅｗ Ｏｒｌｅａｎｓ、ＬＡ；１２月７～１０日、２０１３年）およびＣＤ１３７／ＣＤ３－ζシグナル伝達形式（Ｐｏｒｔｅｒ ＤＬら Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ．２０１１年；３６５巻（８号）：７２５～３３頁）のＣＤ１９特異的ＣＡＲの臨床的成功によって裏付けられている。ＣＤ１３７に加えて、ＯＸ４０などの他の腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバーも、ＣＡＲが形質導入されたＴ細胞において重要な持続シグナルを提供することができる（Ｙｖｏｎ Ｅら Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２００９年；１５巻（１８号）：５８５２～６０頁）。ＣＡＲ Ｔ細胞集団が培養された培養条件、例えば、サイトカインＩＬ－２、ＩＬ－７、および／またはＩＬ－１５が含められていたことも、等しく重要である（Ｋａｉｓｅｒ ＡＤら、Ｃａｎｃｅｒ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．２０１５年；２２巻（２）：７２～７８頁）。

【００１３】

がんに対するＣＡＲ療法のより広範で有効な適応における現在の課題は、説得力のある標的の不足に関する。細胞表面抗原への結合因子を創出することは、現在容易に達成可能であるが、正常組織を見逃しながら腫瘍に対して特異的な細胞表面抗原を発見することは、依然として厄介な課題である。ＣＡＲ発現Ｔ細胞により高い標的細胞特異性を与えるための１つの潜在的な方法は、コンビナトリアルＣＡＲアプローチを使用することである。１つのシステムでは、ＣＤ３－ζとＣＤ２８シグナル単位が、同じ細胞において発現される２つの異なるＣＡＲコンストラクト間で分割される；別のシステムでは、２つのＣＡＲが、同じＴ細胞において発現されるが、一方はより低い親和性を有し、したがって第２のＣＡＲの完全な活性のために代替的ＣＡＲが最初に結合されることを必要とする（Ｌａｎｉｔｉｓ Ｅら Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｒｅｓ．２０１３年；１巻（１号）：４３～５３頁；Ｋｌｏｓｓ ＣＣら Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２０１３年；３１巻（１号）：７１～５頁）。免疫療法剤としての単一のｓｃＦｖベースのＣＡＲの生成のための第２の課題は、腫瘍細胞の不均一性である。少なくとも１つのグループは、標的抗原陰性集団の成長を回避することを期待して、エフェクター細胞集団が複数の抗原（ＨＥＲ２、ＩＬ－１３Ｒａ、ＥｐｈＡ２）を同時に標的化する、神経膠芽腫のためのＣＡＲ戦略を開発している（Ｈｅｇｄｅ Ｍら Ｍｏｌ Ｔｈｅｒ．２０１３年；２１巻（１１号）：２０８７～１０１頁）。

【００１４】
Ｔ細胞ベースの免疫療法は、合成生物学における新たな領域になっている；複数のプロモーターおよび遺伝子産物は、これらの高度に強力な細胞を腫瘍微小環境に導くことが想定され、ここで、Ｔ細胞は、負の調節シグナルを免れることができ、かつ有効な腫瘍死滅を媒介できる。ＡＰ１９０３などの化学系二量体化剤による誘導性カスパーゼ９コンストラクトの薬物誘導性二量体化を介した望ましくないＴ細胞の排除は、Ｔ細胞集団を制御できる強力なスイッチが薬理学的に始動され得る１つの手段を実証している（Ｄｉ Ｓｔａｓｉ Ａら、Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ．２０１１年；３６５巻（１８）：１６７３～８３頁）。デコイ受容体の発現によるトランスフォーミング成長因子－βの負の調節効果に対して免疫性であるエフェクターＴ細胞集団の創出は、エフェクターＴ細胞が最適な抗腫瘍活性のために操作され得る程度をさらに実証している（Ｆｏｓｔｅｒ ＡＥら Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ．２００８年；３１巻（５号）：５００～５頁）。したがって、ＣＡＲは、内因性Ｔ細胞受容体と類似した様式でＴ細胞活性化を誘発できるようであるが、今日までのこのテクノロジーの臨床適用に対する主要な障害は、ＣＡＲ＋Ｔ細胞の限定的なｉｎｖｉｖｏ増殖、注入後の細胞の迅速な消失、および期待外れの臨床活性である。これは、用いられるＣＡＲ配列の一部がネズミ起源であることに部分的に起因し得る。

【００１５】
ブリナツモマブ（二重特異的抗ＣＤ１９および抗ＣＤ３抗体）の使用は、この療法を受けた、病状の重い患者について見事な結果を示した。それでも、長期寛解率は４０％未満であり、造血幹細胞移植（ＨＳＣＴ）へと引き上げることができるのは、応答者のせいぜい５０％だけである（Ｂｅｎｊａｍｉｎ，ＪＥ、Ｓｔｅｉｎ ＡＳ、２０１６年、Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ｈｅｍａｔｏｌｏｇｙ ７巻：１４２～１５６頁にまとめられているＧｏｒｅら、２０１４年、ＮＣＴ０１４７１７８２、およびＶｏｎ Ｓｔａｃｋｅｌｂｅｒｇら、２０１４年、ＮＣＴ０１４７１７８２を参照されたい）。二重特異的抗体またはＣＡＲ－Ｔ療法のいずれかを受けた患者が、長期応答を維持するために、その後ＨＳＣＴを受けるための要件については、依然として活発な議論が交わされる領域である。ＣＤ１９ ＣＡＲ－Ｔ治験については、９０％を超えることさえある高い応答が報告されているとはいえ、治験が「ｉｎｔｅｎｔ ｔｏ ｔｒｅａｔ」治験として計算し直されれば、数字が７０％に近付く場合もある（Ｄａｖｉｓ ＫＬ、ＭａｃｋａｌｌＣＬ、２０１６年、Ｂｌｏｏｄ Ａｄｖａｎｃｅｓ １巻：２６５～２６８頁）。報告された、ＣＡＲ１９処置後１２か月の時点での最良の結果は、ペンシルベニア大学でＴ細胞製品を受け入れることのできた患者において、５５％のＲＦＳおよび７９％のＯＳを示している（Ｍａｕｄｅ ＳＬ、Ｔｅａｃｈｅｙ ＤＴ、Ｒｈｅｉｎｇｏｌｄ ＳＲ、Ｓｈａｗ ＰＡ、Ａｐｌｅｎｃ Ｒ、Ｂａｒｒｅｔｔ ＤＭ、Ｂａｒｋｅｒ ＣＳ、ＣａｌｌａｈａｎＣ、Ｆｒｅｙ ＮＶ、Ｆａｒｚａｎａ Ｎ、Ｌａｃｅｙ ＳＦ、Ｚｈｅｎｇ Ａ、Ｌｅｖｉｎｅ Ｂ、Ｍｅｌｅｎｈｏｒｓｔ ＪＪ、Ｍｏｔｌｅｙ Ｌ、Ｐｒｔｅｒ ＤＬ、ＪｕｎｅＣＨ、Ｇｒｕｐｐ ＳＡ、２０１６年、Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ ３４巻、増刊１５号（２０１６年５月）３０１１～３０１１頁）。

【００１６】
したがって、上述の欠点なしに特異的かつ効果的な抗腫瘍効果を示し得る手法を使用してＢ－ＡＬＬならびに他のＣＤ１９および／またはＣＤ２２発現Ｂ細胞悪性疾患の処置のための新規の組成物および方法を発見する、当該分野における緊急かつ長年にわたる要求が存在する。

【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１７】
本発明は、ＣＡＲ組成物、ならびにがんならびに他の疾患および／または状態を処置するために使用され得る治療的方法を提供することによって、これらの要求に対処する。特に、本明細書に開示および記載される本発明は、ＣＤ１９および／またはＣＤ２２の発現調節不全と関連する疾患、障害、または状態の処置に使用可能なＣＡＲを提供し、ここで

ＣＡＲは、形質導入Ｔ細胞において高い表面発現を示し、ＣＤ１９発現細胞の高度の細胞溶解ならびに形質導入Ｔ細胞のｉｎ　ｖｉｖｏでの増殖および持続を示すタンデムＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインを含む。

【課題を解決するための手段】

【００１８】

概要

アミノ酸配列においてＣＤ１９標的化部分がＣＤ２２標的化部分の前または後のいずれかに配置されている新規のタンデムＣＤ１９およびＣＤ２２標的化抗体またはその抗原結合性ドメイン（以下では「ＣＤ１９／ＣＤ２２」と呼ぶ）、およびそのようなＣＤ１９および／またはＣＤ２２抗原結合性ドメインを含んでいるキメラ抗原受容体（タンデムＣＡＲ）、ならびに受容体を発現する宿主細胞（例えば、Ｔ細胞）、および受容体をコードする核酸分子が本明細書で提供される。ＣＡＲは、形質導入Ｔ細胞での高い表面発現、高度の細胞溶解ならびに形質導入Ｔ細胞のｉｎ　ｖｉｖｏでの増殖および持続を示す。例えば対象におけるがんを処置するための、開示されるＣＡＲ、宿主細胞、および核酸分子を使用する方法も提供される。

【００１９】

一態様では、Ｎ末端からＣ末端へ、少なくとも１つのＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメイン、少なくとも１つの膜貫通ドメイン、および少なくとも１つの細胞内シグナル伝達ドメインを含むタンデムＣＤ１９／ＣＤ２２キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする、単離された核酸分子が提供され、タンデムＣＤ１９／ＣＤ２２　ＣＡＲは、配列番号１、３、６０、６２、６４、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８、８０、および８２からなる群から選択される核酸配列を含む。

【００２０】

一態様では、Ｎ末端からＣ末端へ、少なくとも１つのＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメイン、少なくとも１つの膜貫通ドメイン、および少なくとも１つの細胞内シグナル伝達ドメインを含むタンデムＣＤ１９／ＣＤ２２キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする、単離された核酸分子が提供され、配列番号１、３、６０、６２、６４、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８、８０、および８２からなる群から選択される核酸配列によってコードされるタンデムＣＤ１９／ＣＤ２２ＣＡＲは、配列番号２、４、６１、６３、６５、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１、および８３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むタンデムＣＤ１９／ＣＤ２２ＣＡＲをコードする。

【００２１】

一実施形態では、コードされる細胞外ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインが、ＣＤ１９／ＣＤ２２に結合する抗体の少なくとも１つの単鎖可変断片を含む、ＣＡＲをコードする単離された核酸分子が提供される。

【００２２】

別の実施形態では、コードされる細胞外ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインが、ＣＤ１９／ＣＤ２２に結合する抗体の少なくとも１つの重鎖可変領域を含む、ＣＡＲをコードする単離された核酸分子が提供される。

【００２３】

さらに別の実施形態では、コードされるＣＡＲ細胞外ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインが、ＣＤ１９／ＣＤ２２に結合する少なくとも１つのリポカリンベースの抗原結合性抗原（アンチカリン）をさらに含む、ＣＡＲをコードする単離された核酸分子が提供される。

【００２４】

一実施形態では、コードされる細胞外ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインが、リンカードメインによって膜貫通ドメインに接続される、単離された核酸分子が提供される。

【００２５】

別の実施形態では、コードされるＣＤ１９／ＣＤ２２細胞外抗原結合性ドメインに、リーダーまたはシグナルペプチドをコードする配列が先行する、ＣＡＲをコードする単離さ

れた核酸分子が提供される。

【００２６】

さらに別の実施形態では、配列番号１、３、６０、６２、６４、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８、８０、および８２内に含まれるＣＤ１９／ＣＤ２２ヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列によってそれぞれコードされる少なくとも１つのＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインを含むＣＡＲをコードする、単離された核酸分子が提供され、ＣＡＲは、ＣＤ２２、ＲＯＲ１、メソセリン、ＣＤ３３、ＣＤ３８、ＣＤ１２３（ＩＬ３ＲＡ）、ＣＤ１３８、ＢＣＭＡ（ＣＤ２６９）、ＧＰＣ２、ＧＰＣ３、ＦＧＦＲ４、ｃ－Ｍｅｔ、ＰＳＭＡ、糖脂質Ｆ７７、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ－２、ＴＳＬＰＲ、ＮＹ－ＥＳＯ－１　ＴＣＲ、ＭＡＧＥ　Ａ３　ＴＣＲ、またはこれらの任意の組合せを含むがこれに限定されない抗原を標的化する細胞外抗原結合性ドメインをさらにコードする。

【００２７】

一実施形態では、ＣＡＲコンストラクトは、同じ細胞において２Ａリボソームスキップエレメントを介して同時発現される２つのＣＡＲ鎖で構成され、１つのＣＡＲ鎖は、ＣＤ１９抗原に方向付けられた標的化ドメインを含み、もう１つのＣＡＲ鎖は、ＣＤ２２抗原に方向付けられたＣＡＲ標的化ドメインを含む。各鎖は、インフレームで標的化ドメインに融合された、ヒンジ／リンカー／スペーサードメイン、膜貫通ドメイン、およびＣＤ３ｚ活性化ドメインを含む。各ＣＡＲ鎖には、１つまたは複数の共刺激ドメインがインフレームで含まれていなくてもよい。

【００２８】

一実施形態では、ＣＡＲ鎖は、続けて連結された２つの共刺激ドメインを含む（第３世代ＣＡＲ）。

【００２９】

ある特定の実施形態では、さらにコードされる細胞外抗原結合性ドメインが、抗ＣＤ２２　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＲＯＲ１　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗メソセリンｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＣＤ３３　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＣＤ３８　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＣＤ１２３（ＩＬ３ＲＡ）ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＣＤ１３８　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＢＣＭＡ（ＣＤ２６９）ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＧＰＣ２　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＧＰＣ３　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＦＧＦＲ４　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＴＳＬＰＲ　ＳｃＦｖ抗原結合性ドメイン、抗ｃ－Ｍｅｔ　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＰＭＳＡ　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗糖脂質Ｆ７７　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＥＧＦＲｖＩＩＩ　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＧＤ－２　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＮＹ－ＥＳＯ－１　ＴＣＲ　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＭＡＧＥ　Ａ３　ＴＣＲ　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するそのアミノ酸配列、あるいはそれらの任意の組合せを含む、ＣＡＲをコードする単離された核酸分子が提供される。

【００３０】

一態様では、本明細書で提供されるＣＡＲはリンカーまたはスペーサードメインをさらに含む。

【００３１】

一実施形態では、細胞外ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメイン、細胞内シグナル伝達ドメイン、またはその両方が、リンカーまたはスペーサードメインによって膜貫通ドメインに接続される、ＣＡＲをコードする単離された核酸分子が提供される。

【００３２】

一実施形態では、コードされるリンカードメインが、ＣＤ８またはＣＤ２８の細胞外ドメインに由来し、膜貫通ドメインに連結される、ＣＡＲをコードする単離された核酸分子が提供される。

【００３３】

別の実施形態では、コードされるＣＡＲが、Ｔ細胞受容体のアルファ、ベータもしくは

ゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８３、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、およびＣＤ１５４、またはそれらの組合せからなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む膜貫通ドメインをさらに含む、ＣＡＲをコードする単離された核酸分子が提供される。

【００３４】

さらに別の実施形態では、コードされる細胞内シグナル伝達ドメインが、ＣＤ３ゼータ細胞内ドメインをさらに含む、ＣＡＲをコードする単離された核酸分子が提供される。

【００３５】

一実施形態では、コードされる細胞内シグナル伝達ドメインが、ＣＤ３ゼータ細胞内ドメインに対してＣ末端側に配置される、ＣＡＲをコードする単離された核酸分子が提供される。

【００３６】

別の実施形態では、コードされる少なくとも１つの細胞内シグナル伝達ドメインが、共刺激ドメイン、一次シグナル伝達ドメイン、またはそれらの組合せを含む、ＣＡＲをコードする単離された核酸分子が提供される。

【００３７】

さらなる実施形態では、コードされる少なくとも１つの共刺激ドメインが、ＯＸ４０、ＣＤ７０、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ５、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）、ＤＡＰ１０、ＤＡＰ１２および４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）の機能的シグナル伝達ドメイン、またはそれらの組合せを含む、ＣＡＲをコードする単離された核酸分子が提供される。

【００３８】

一実施形態では、リーダー配列またはシグナルペプチドをさらに含み、リーダーまたはシグナルペプチドのヌクレオチド配列が配列番号１１のヌクレオチド配列を含む、ＣＡＲをコードする単離された核酸分子が提供される。

【００３９】

さらに別の実施形態では、コードされるリーダー配列が配列番号１２のアミノ酸配列を含む、ＣＡＲをコードする単離された核酸分子が提供される。

【００４０】

一態様では、Ｎ末端からＣ末端へ、少なくとも１つの細胞外ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメイン、少なくとも１つの膜貫通ドメイン、および少なくとも１つ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）が本明細書で提供される。

【００４１】

一実施形態では、細胞外ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインが、抗原に結合する抗体の少なくとも１つの単鎖可変断片、または抗原に結合する抗体の少なくとも１つの重鎖可変領域、またはそれらの組合せを含む、ＣＡＲが提供される。

【００４２】

別の実施形態において、少なくとも１つの膜貫通ドメインが、Ｔ細胞受容体のアルファ、ベータもしくはゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４、ＴＮＦＲＳＦ１９、またはそれらの組合せからなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む、ＣＡＲが提供される。

【００４３】

一部の実施形態において、ＣＡＲが、ＣＤ２２、ＲＯＲ１、メソセリン、ＣＤ３３、ＣＤ３８、ＣＤ１２３（ＩＬ３ＲＡ）、ＣＤ１３８、ＢＣＭＡ（ＣＤ２６９）、ＧＰＣ２、ＧＰＣ３、ＦＧＦＲ４、ＴＳＬＰＲ、ｃ－Ｍｅｔ、ＰＳＭＡ、糖脂質Ｆ７７、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ－２、ＴＳＬＰＲ、ＮＹ－ＥＳＯ－１　ＴＣＲ、ＭＡＧＥ　Ａ３　ＴＣＲ、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するそのアミノ酸配列、またはそれらの任意の組合せを含む細胞外抗原結合性ドメインをさら

にコードする、ＣＡＲが提供される。
【００４４】
一実施形態では、細胞外抗原結合性ドメインが、抗ＣＤ２２　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＲＯＲ１　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗メソセリン　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＣＤ３３　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＣＤ３８　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＣＤ１２３（ＩＬ３ＲＡ）ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＣＤ１３８　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＢＣＭＡ（ＣＤ２６９）ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＧＰＣ２　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＧＰＣ３　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＦＧＦＲ４　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＴＳＬＰＲ　ＳｃＦｖ抗原結合性ドメイン、抗ｃ－Ｍｅｔ　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＰＭＳＡ　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗糖脂質Ｆ７７　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＥＧＦＲｖＩＩＩ　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＧＤ－２　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＮＹ－ＥＳＯ－１　ＴＣＲ　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、抗ＭＡＧＥ　Ａ３　ＴＣＲ　ｓｃＦＶ抗原結合性ドメイン、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するそのアミノ酸配列、またはそれらの任意の組合せを含む、ＣＡＲが提供される。
【００４５】
別の実施形態では、少なくとも１つの細胞内シグナル伝達ドメインが共刺激ドメインおよび一次シグナル伝達ドメインを含む、ＣＡＲが提供される。
【００４６】
さらに別の実施形態では、少なくとも１つの細胞内シグナル伝達ドメインが、ＯＸ４０、ＣＤ７０、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ５、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）、ＤＡＰ１０、ＤＡＰ１２、および４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、またはそれらの組合せからなる群から選択されるタンパク質の機能的シグナル伝達ドメインを含む共刺激ドメインを含む、ＣＡＲが提供される。
【００４７】
一実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は配列番号１の核酸配列を含む。
【００４８】
一実施形態では、核酸配列は配列番号２のアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【００４９】
別の実施形態において、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号３の核酸配列を含む。
【００５０】
一実施形態では、核酸配列は、配列番号４のアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【００５１】
一実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号６０の核酸配列を含む。
【００５２】
一実施形態において、核酸配列は、配列番号６１のアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【００５３】
一実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号６２の核酸配列を含む。
【００５４】
一実施形態では、核酸配列は、配列番号６３のアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【００５５】
一実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号６４の核酸配列を含む。
【００５６】
一実施形態では、核酸配列は、配列番号６５のアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【００５７】
一実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号６６の核酸配列を含む。
【００５８】
一実施形態では、核酸配列は、配列番号６７のアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【００５９】

一実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号６８の核酸配列を含む。
【００６０】
一実施形態では、核酸配列は、配列番号６９のアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【００６１】
一実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号７０の核酸配列を含む。
【００６２】
一実施形態では、核酸配列は、配列番号７１のアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【００６３】
一実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号７２の核酸配列を含む。
【００６４】
一実施形態では、核酸配列は、配列番号７３のアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【００６５】
一実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号７４の核酸配列を含む。
【００６６】
一実施形態では、核酸配列は、配列番号７５のアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【００６７】
一実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号７６の核酸配列を含む。
【００６８】
一実施形態では、核酸配列は、配列番号７７のアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【００６９】
一実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号７８の核酸配列を含む。
【００７０】
一実施形態では、核酸配列は、配列番号７９のアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【００７１】
一実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号８０の核酸配列を含む。
【００７２】
一実施形態では、核酸配列は、配列番号８１のアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【００７３】
一実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号８２の核酸配列を含む。
【００７４】
一実施形態では、核酸配列は、配列番号８３のアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【００７５】
一態様では、本明細書で開示されるＣＡＲは、診断、がん患者の無増悪生存期間などの処置転帰のモニタリングおよび／もしくは予測における使用のため、またはかかる処置の進行をモニタリングするために、検出可能なマーカーを発現または含有するように改変される。
【００７６】
一実施形態では、開示されたＣＡＲをコードする核酸分子は、ウイルスベクターなどのベクター中に含有され得る。ベクターは、ＤＮＡベクター、ＲＮＡベクター、プラスミドベクター、コスミドベクター、ヘルペスウイルスベクター、麻疹ウイルスベクター、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクター、もしくはレトロウイルスベクター、またはそれらの組合せである。
【００７７】
ある特定の実施形態では、ベクターは、誘導性プロモーター、組織特異的プロモーター、構成的プロモーター、自殺プロモーターまたはそれらの任意の組合せであるプロモーターをさらに含む。
【００７８】
さらに別の実施形態では、ＣＡＲを発現するベクターは、自殺スイッチによって、ＣＡＲ　Ｔ細胞の発現を制御するため、またはＣＡＲ－Ｔ細胞を排除するために、１または複数の作動可能なエレメントを含むようにさらに改変され得る。自殺スイッチには、例えば

、アポトーシス誘導性シグナル伝達カスケード、または細胞死を誘導する薬物が含まれ得る。好ましい実施形態では、ＣＡＲを発現するベクターは、チミジンキナーゼ（ＴＫ）またはシトシンデアミナーゼ（ＣＤ）などの酵素を発現するようにさらに改変され得る。

【００７９】

別の態様では、ＣＡＲをコードする核酸分子を含む宿主細胞もまた提供される。一部の実施形態では、宿主細胞は、Ｔ細胞、例えば、対象から得られた初代Ｔ細胞である。一実施形態では、宿主細胞はＣＤ８＋Ｔ細胞である。

【００８０】

さらに別の態様では、抗腫瘍有効量のヒトＴ細胞集団を含む医薬組成物であって、Ｔ細胞が、配列番号２、４、６１、６３、６５、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１、および８３のアミノ酸配列を含むキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする核酸配列を含み、ＣＡＲが、ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインを含む少なくとも１つの細胞外抗原結合性ドメイン、少なくとも１つのリンカードメイン、少なくとも１つの膜貫通ドメイン、および少なくとも１つの細胞内シグナル伝達ドメインを含み、Ｔ細胞ががんを有するヒトのＴ細胞である、医薬組成物が提供される。がんは、とりわけ血液学的がん、例えば、白血病（例えば、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）もしくは慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ））、リンパ腫（例えば、マントル細胞リンパ腫、非ホジキンリンパ腫またはホジキンリンパ腫）または多発性骨髄腫、あるいはそれらの組合せを含む。

【００８１】

一実施形態において、ＣＡＲの少なくとも１つの膜貫通ドメインが、Ｔ細胞受容体のアルファ、ベータもしくはゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、メソセリン、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８３、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４、ＴＮＦＲＳＦ１９、またはそれらの組合せからなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む、医薬組成物が提供される。

【００８２】

別の実施形態では、ヒトのがんは、口腔および咽頭がん（舌、口、咽頭、頭頸部）、消化器系がん（食道、胃、小腸、結腸、直腸、肛門、肝臓、肝内胆管、胆嚢、膵臓）、呼吸器系がん（喉頭、肺および気管支）、骨および関節のがん、軟組織がん、皮膚がん（黒色腫、基底細胞癌および扁平上皮癌）、小児腫瘍（神経芽細胞腫、横紋筋肉腫、骨肉腫、ユーイング肉腫）、中枢神経系の腫瘍（脳腫瘍、星状細胞腫、神経膠芽腫、神経膠腫）、ならびに乳房、生殖系（子宮頸部、子宮体、卵巣、外陰部、腟、前立腺、精巣、陰茎、子宮内膜）、泌尿器系（膀胱、腎臓および腎盂、尿管）、眼および眼窩、内分泌系（甲状腺）ならびに脳および他の神経系のがん、またはそれらの任意の組合せを含む成人癌を含む、医薬組成物が提供される。

【００８３】

さらに別の実施形態では、がんを有するヒトのヒトＴ細胞の集団の抗腫瘍有効量を含む医薬組成物であって、がんが、１または複数の化学療法剤に対して非応答性の難治性がんである、医薬組成物が提供される。がんは、造血がん、骨髄異形成症候群、膵がん、頭頸部がん、皮膚腫瘍、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）における微小残存病変（ＭＲＤ）、ＣＬＬ（慢性リンパ性白血病）、ＣＭＬ（慢性骨髄性白血病）、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）を含む成人Ｂ細胞悪性疾患、小児Ｂ細胞悪性疾患（Ｂ細胞系譜ＡＬＬ（急性リンパ性白血病）を含む）、多発性骨髄腫、肺がん、乳房がん、卵巣がん、前立腺がん、結腸がん、黒色腫もしくは他の血液学的がんおよび固形腫瘍、またはそれらの任意の組合せを含む。

【００８４】

別の態様では、ＣＡＲ含有Ｔ細胞（以下「ＣＡＲ　Ｔ細胞」）を作製する方法が提供される。この方法は、ＣＤ１９および／またはＣＤ２２に特異的に結合する開示されるＣＡＲをコードするベクターまたは核酸分子をＴ細胞に形質導入し、それによって、ＣＡＲ

Ｔ細胞を作製することを含む。
【００８５】
さらに別の態様では、ＲＮＡ操作された細胞の集団を生成する方法であって、開示されるＣＡＲをコードする核酸分子のｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写されたＲＮＡまたは合成ＲＮＡを対象の細胞中に導入し、ＣＡＲ細胞を生成することを含む方法が提供される。
【００８６】
一実施形態において、ＣＤ１９発現と関連する疾患、障害または状態は、造血がん、骨髄異形成症候群、膵がん、頭頸部がん、皮膚腫瘍、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）における微小残存病変（ＭＲＤ）、ＣＬＬ（慢性リンパ性白血病）、ＣＭＬ（慢性骨髄性白血病）、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）を含む成人Ｂ細胞悪性疾患、小児Ｂ細胞悪性疾患（Ｂ細胞系譜ＡＬＬ（急性リンパ性白血病）を含む）、多発性骨髄腫、肺がん、乳房がん、卵巣がん、前立腺がん、結腸がん、黒色腫もしくはその他の血液学的がんおよび固形腫瘍、またはそれらの任意の組合せを含むがんである。
【００８７】
別の実施形態において、ＣＤ１９および／またはＣＤ２２を発現する細胞により媒介されるＴ細胞阻害を遮断し、哺乳動物における腫瘍増殖を阻害するように腫瘍微小環境を変化させる方法であって、ＣＡＲを含む有効量の組成物を哺乳動物に投与するステップであって、ＣＡＲが、配列番号２、４、６１、６３、６５、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１および８３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、ステップを含む方法が提供される。一実施形態において、細胞は、ＣＤ１９および／またはＣＤ２２を発現する腫瘍細胞、腫瘍関連マクロファージ、およびそれらの任意の組合せからなる群から選択される。
【００８８】
別の実施形態において、哺乳動物における抗腫瘍または抗がん免疫応答の免疫抑制を阻害、抑制または防止する方法であって、ＣＡＲを含む有効量の組成物を哺乳動物に投与するステップであって、ＣＡＲが、配列番号２、４、６１、６３、６５、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１および８３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、ステップを含む方法が提供される。一実施形態において、ＣＡＲは、第１の細胞とＴ細胞の間の相互作用を阻害し、第１の細胞は、ＣＤ１９および／またはＣＤ２２を発現する腫瘍細胞、腫瘍関連マクロファージ、およびそれらの任意の組合せからなる群から選択される。
【００８９】
別の態様では、哺乳動物において抗腫瘍免疫を誘導する方法であって、開示されるＣＡＲをコードするベクターまたは核酸分子が形質導入された治療有効量のＴ細胞を哺乳動物に投与するステップを含む、方法が提供される。
【００９０】
別の実施形態では、哺乳動物においてがんを処置または予防する方法であって、１つまたは複数の開示されるＣＡＲを、哺乳動物におけるがんを処置または予防するのに有効な量で哺乳動物に投与するステップを含む、方法が提供される。方法は、対象において、ＣＡＲの抗原結合性ドメインと、ＣＤ１９および／またはＣＤ２２および／または１つまたは複数の上述の抗原の細胞外ドメインとの免疫複合体を形成するのに十分な条件下で、ＣＤ１９および／またはＣＤ２２および／または１つまたは複数の上述の抗原に特異的に結合する開示されるＣＡＲを発現する治療有効量の宿主細胞を対象に投与するステップを含む。
【００９１】
さらに別の実施形態では、腫瘍抗原の上昇した発現と関連する疾患、障害または状態を有する哺乳動物を処置する方法であって、抗腫瘍有効量のＴ細胞集団を含む医薬組成物を対象に投与するステップを含み、Ｔ細胞がキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする核酸配列を含み、ＣＡＲが、少なくとも１つの細胞外ＣＤ１９および／またはＣＤ２２抗原結合性ドメイン、またはそれらの任意の組合せ、少なくとも１つのリンカーまたはスペーサ

ードメイン、少なくとも１つの膜貫通ドメイン、少なくとも１つの細胞内シグナル伝達ドメインを含み、Ｔ細胞ががんを有する対象のＴ細胞である、方法が提供される。

【００９２】

さらに別の実施形態では、それを必要とする対象におけるがんを処置する方法であって、抗腫瘍有効量のＴ細胞集団を含む医薬組成物を対象に投与するステップを含み、Ｔ細胞がキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする核酸配列を含み、ＣＡＲが配列番号２、４、６１、６３、６５、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１および８３のアミノ酸配列、またはそれらの任意の組合せを含み、Ｔ細胞ががんを有する対象のＴ細胞である、方法が提供される。上述の方法の一部の実施形態では、少なくとも１つの膜貫通ドメインが、Ｔ細胞受容体の膜貫通アルファ、ベータもしくはゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ１９、ＣＤ２２、メソセリン、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８３、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４、ＴＮＦＲＳＦ１６、ＴＮＦＲＳＦ１９、またはそれらの組合せを含む。

【００９３】

さらに別の実施形態では、がんと診断されたヒトにおいて、遺伝子操作されたＴ細胞の持続性の集団を生成するための方法が提供される。一実施形態では、方法は、ＣＡＲを発現するように遺伝子操作されたＴ細胞をヒトに投与するステップであって、ＣＡＲが配列番号２、４、６１、６３、６５、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９、８１および８３のアミノ酸配列、またはそれらの任意の組合せ、少なくとも１つの膜貫通ドメイン、および少なくとも１つの細胞内シグナル伝達ドメインを含み、遺伝子操作されたＴ細胞の持続性の集団、またはＴ細胞の子孫の集団が、投与の後少なくとも１カ月、２カ月、３カ月、４カ月、５カ月、６カ月、７カ月、８カ月、９カ月、１０カ月、１１カ月、１２カ月、２年または３年にわたって、ヒトにおいて持続する、ステップを含む。

【００９４】

一実施形態では、ヒト中の子孫Ｔ細胞は、メモリーＴ細胞を含む。別の実施形態では、Ｔ細胞は自家Ｔ細胞である。

【００９５】

本明細書に記載される方法の態様および実施形態の全てにおいて、腫瘍抗原の上昇した発現と関連する上述のがん、疾患、障害または状態のいずれかは、本明細書に開示されるＣＡＲのうち１または複数を使用して、処置または予防または寛解され得る。

【００９６】

さらに別の態様では、上記キメラ抗原受容体Ｔ細胞を作製するためのキット、または上記対象において、腫瘍抗原の上昇した発現と関連するがん、疾患、障害もしくは状態のいずれかを予防、処置もしくは寛解するためのキットであって、上に開示された核酸分子、ベクター、宿主細胞もしくは組成物のいずれか１つまたはそれらの任意の組合せを含むコンテナ、およびキットを使用するための指示書を含むキットが提供される。

【００９７】

ＣＡＲ、宿主細胞、核酸ならびに方法は、本明細書に詳細に記載される具体的な態様および実施形態を超えて有用であることが理解される。本開示の前述の特色および利点は、添付の図面を参照して進む以下の詳細な説明からより明らかになる。

【図面の簡単な説明】

【００９８】

【図１Ａ】ＣＤ２２およびＣＤ１９を標的化するタンデムＣＡＲのコンストラクトを示す図である。図１Ａ：抗ＣＤ２２および抗ＣＤ１９二重標的化ＣＡＲコンストラクト（ＣＡＲ２２－１９）は、ＣＤ２２抗原を標的化する単鎖断片可変配列膜遠位ドメインを、可動性グリシン－セリンリンカーを介して、ＣＤ１９抗原を標的化する単鎖断片可変配列（膜近位）に連結することにより作製した。次いで、得られるＣＤ２２－ＣＤ１９二重標的化ドメインを、ＣＤ８ヒンジおよび膜貫通ドメイン、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）シグナル伝達ドメイン、およびＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメインに、インフレームで接続した。

【図１Ｂ】ＣＤ２２およびＣＤ１９を標的化するタンデムＣＡＲのコンストラクトを示す図である。図１Ｂ：タンデム標的化コンストラクトＣＡＲ１９－２２は、ＣＤ１９の単鎖断片可変領域（細胞膜に対して遠位）を、グリシンセリン可動性リンカーを介して、ＣＤ２２標的化配列の単鎖可変領域（膜近位）に連結した後、ＣＤ８、４－１ＢＢ、およびＣＤ３ゼータドメインに連結したことを除き、同様にして作製した。各ＣＡＲ　Ｔコンストラクトは、ＣＤ１９もしくはＣＤ２２いずれかの腫瘍抗原または両方に結合することにより、活性化し得る。

【図２】タンデムＣＡＲ　ＴコンストラクトであるＬＴＧ２６８１（ＣＡＲ２２－１９）およびＬＴＧ２７９１（ＣＡＲ１９－２２）のヒト初代Ｔ細胞における表面発現を示すグラフである。ＣＡＲ　Ｔ発現は、フローサイトメトリーにより決定した。材料および方法において記載されるように、Ｔ細胞を、ＩＬ－２存在下においてＭｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ　ＴｒａｎｓＡｃｔ（商標）ＣＤ３　ＣＤ２８試薬で活性化し、ＬＶを形質導入した。培養８日目に、３つの染色方法、即ち、ＣＤ１９　Ｆｃに続いて抗Ｆｃ－ＡＦ６４７（上のパネル）、またはＣＤ２２－ｈｉｓ試薬に続いて抗ｈｉｓ－ＰＥ染色（下のパネル）の１つを使用して、ＣＡＲ表面発現について生存形質導入Ｔ細胞（７－ＡＡＤ陰性）を検定した。形質導入において使用したＬＶを、各縦列の上部に示す。ＣＡＲ　Ｔ陽性集団の非形質導入Ｔ細胞対照（ＵＴＤ）に対してのパーセンテージを、各ヒストグラムの上に示す。３人の別個のドナーを代表するデータを示す。

【図３】ｉｎ　ｖｉｔｒｏでのＣＡＲ　Ｔ細胞傷害性について示すグラフである。ルシフェラーゼが安定に形質導入されたＲａｊｉ　ＣＤ１９＋ＣＤ２２＋、ＲＥＨ　ＣＤ１９＋ＣＤ２２＋、またはＣＤ１９－ＣＤ２２－細胞株２９３Ｔを使用して、ルシフェラーゼ系細胞傷害性アッセイを行った。抗原標的化ドメインの順序だけが異なるＣＡＲ　２２－１９（ＬＴＧ２６８１）とＣＡＲ１９－２２（ＬＴＧ２７１９）の比較。比較対照である単一標的化ＣＡＲ１９（ｐＬＴＧ１５３８）およびＣＡＲ２２（ｐＬＴＧ２２００）、ならびに陰性対照である非形質導入Ｔ細胞を含めた。ＣＡＲ　Ｔ細胞と標的腫瘍細胞を、記載するエフェクター対標的（Ｅ：Ｔ）比（ｘ軸）で一晩共インキュベートした。エラーバーは、３回の技術反復実験からの平均値を表す。３人のドナーからのＴ細胞における３つの単独実験を代表する１つの実験を示す。

【図４Ａ】ＣＤ２２　ＣＤ１９標的化ＣＡＲ　Ｔ細胞の各バインダードメインの特異性を確認するために、１つの標的抗原だけを過剰発現するように形質導入された腫瘍株Ａ４３１または２９３Ｔに対するｉｎ　ｖｉｔｒｏでのＣＡＲ　Ｔ細胞傷害性を示すグラフである。ルシフェラーゼが安定に形質導入された、２９３Ｔ細胞、２９３Ｔ　ＣＤ１９＋、２９３Ｔ　ＣＤ２０＋、もしくは２９３Ｔ　ＣＤ２２＋細胞株（図４Ａ）、またはＡ４３１、Ａ４３１　ＣＤ１９＋、Ａ４３１　ＣＤ２２＋、Ａ４３１　ＣＤ２０＋細胞株（図４Ｂ）を使用して、ルシフェラーゼ系細胞傷害性アッセイを行った。データ点は、３人の別個のドナーからのＣＡＲ　Ｔ細胞を用いて行った３つの独立した実験を代表する１つの実験からの３通りの定量の平均値を表す。

【図４Ｂ】ＣＤ２２　ＣＤ１９標的化ＣＡＲ　Ｔ細胞の各バインダードメインの特異性を確認するために、１つの標的抗原だけを過剰発現するように形質導入された腫瘍株Ａ４３１または２９３Ｔに対するｉｎ　ｖｉｔｒｏでのＣＡＲ　Ｔ細胞傷害性を示すグラフである。ルシフェラーゼが安定に形質導入された、２９３Ｔ細胞、２９３Ｔ　ＣＤ１９＋、２９３Ｔ　ＣＤ２０＋、もしくは２９３Ｔ　ＣＤ２２＋細胞株（図４Ａ）、またはＡ４３１、Ａ４３１　ＣＤ１９＋、Ａ４３１　ＣＤ２２＋、Ａ４３１　ＣＤ２０＋細胞株（図４Ｂ）を使用して、ルシフェラーゼ系細胞傷害性アッセイを行った。データ点は、３人の別個のドナーからのＣＡＲ　Ｔ細胞を用いて行った３つの独立した実験を代表する１つの実験からの３通りの定量の平均値を表す。

【図５】白血病細胞株に反応したＣＡＲ　Ｔサイトカイン放出を示すグラフである。ｘ軸に記載するＣＡＲ－Ｔによる、Ｒａｊｉ白血病株と１０：１のＥ：Ｔ比で一晩共培養後のサイトカイン産生を、ＥＬＩＳＡを使用して測定した。バーは、３つの反復実験試料の平均＋ＳＤを表す。データは、３人の別個のドナーからのＣＡＲ　Ｔ細胞を用いて行った３

つの独立した実験を代表するものである。
【図６Ａ】異なる共刺激ドメインを有する種々の抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲ設計の略図である。第２世代ＣＡＲ（Ａ）、第３世代ＣＡＲ（Ｂ）、または、同じ細胞において同時発現される、ＣＤ１９抗原を標的化する１つの第２世代ＣＡＲ鎖と、ＣＤ２２抗原を標的化するもう１つの第１世代ＣＡＲ鎖とを兼備する２シストロン性ＣＡＲ（Ｃ）もしくは２つの第２世代ＣＡＲ鎖（Ｄ）を示す。略語：ＣＤ１９抗原を認識するｓｃＦｖ　ＣＡＲ標的化ドメイン、ａ－ＣＤ２２　－　ＣＤ２２抗原を認識するｓｃＦｖ　ＣＡＲ標的化ドメイン、Ｈ　－ヒンジ／リンカードメイン、ＴＭ　－膜貫通ドメイン、Ｃｏ－ｓｔｉｍ　－共刺激ドメイン、ＣＤ３ｚ　－　ＣＤ３ゼータ由来ＣＡＲ活性化ドメイン、２Ａ　－　２シストロン性ＣＡＲ発現用のリボソームスキップエレメント。
【図６Ｂ】異なる共刺激ドメインを有する種々の抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲ設計の略図である。第２世代ＣＡＲ（Ａ）、第３世代ＣＡＲ（Ｂ）、または、同じ細胞において同時発現される、ＣＤ１９抗原を標的化する１つの第２世代ＣＡＲ鎖と、ＣＤ２２抗原を標的化するもう１つの第１世代ＣＡＲ鎖とを兼備する２シストロン性ＣＡＲ（Ｃ）もしくは２つの第２世代ＣＡＲ鎖（Ｄ）を示す。略語：ＣＤ１９抗原を認識するｓｃＦｖ　ＣＡＲ標的化ドメイン、ａ－ＣＤ２２　－　ＣＤ２２抗原を認識するｓｃＦｖ　ＣＡＲ標的化ドメイン、Ｈ　－ヒンジ／リンカードメイン、ＴＭ　－膜貫通ドメイン、Ｃｏ－ｓｔｉｍ　－共刺激ドメイン、ＣＤ３ｚ　－　ＣＤ３ゼータ由来ＣＡＲ活性化ドメイン、２Ａ　－　２シストロン性ＣＡＲ発現用のリボソームスキップエレメント。
【図６Ｃ】異なる共刺激ドメインを有する種々の抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲ設計の略図である。第２世代ＣＡＲ（Ａ）、第３世代ＣＡＲ（Ｂ）、または、同じ細胞において同時発現される、ＣＤ１９抗原を標的化する１つの第２世代ＣＡＲ鎖と、ＣＤ２２抗原を標的化するもう１つの第１世代ＣＡＲ鎖とを兼備する２シストロン性ＣＡＲ（Ｃ）もしくは２つの第２世代ＣＡＲ鎖（Ｄ）を示す。略語：ＣＤ１９抗原を認識するｓｃＦｖ　ＣＡＲ標的化ドメイン、ａ－ＣＤ２２　－　ＣＤ２２抗原を認識するｓｃＦｖ　ＣＡＲ標的化ドメイン、Ｈ　－ヒンジ／リンカードメイン、ＴＭ　－膜貫通ドメイン、Ｃｏ－ｓｔｉｍ　－共刺激ドメイン、ＣＤ３ｚ　－　ＣＤ３ゼータ由来ＣＡＲ活性化ドメイン、２Ａ　－　２シストロン性ＣＡＲ発現用のリボソームスキップエレメント。
【図６Ｄ】異なる共刺激ドメインを有する種々の抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲ設計の略図である。第２世代ＣＡＲ（Ａ）、第３世代ＣＡＲ（Ｂ）、または、同じ細胞において同時発現される、ＣＤ１９抗原を標的化する１つの第２世代ＣＡＲ鎖と、ＣＤ２２抗原を標的化するもう１つの第１世代ＣＡＲ鎖とを兼備する２シストロン性ＣＡＲ（Ｃ）もしくは２つの第２世代ＣＡＲ鎖（Ｄ）を示す。略語：ＣＤ１９抗原を認識するｓｃＦｖ　ＣＡＲ標的化ドメイン、ａ－ＣＤ２２　－　ＣＤ２２抗原を認識するｓｃＦｖ　ＣＡＲ標的化ドメイン、Ｈ　－ヒンジ／リンカードメイン、ＴＭ　－膜貫通ドメイン、Ｃｏ－ｓｔｉｍ　－共刺激ドメイン、ＣＤ３ｚ　－　ＣＤ３ゼータ由来ＣＡＲ活性化ドメイン、２Ａ　－　２シストロン性ＣＡＲ発現用のリボソームスキップエレメント。
【図７】フローサイトメトリーによって検出された、異なる膜貫通および共刺激ドメインを有する抗ＣＤ２２－１９　ＣＡＲの発現を示すグラフである。ＣＡＲ　Ｔ細胞を、ＣＤ１９　ｓｃＦｖおよびＣＤ２２　ｓｃＦｖの発現ついて同時に染色している。コンストラクト番号ならびに膜貫通および共刺激ドメイン配置を、各フロー図の上に示す。データは、異なる健康なドナーからのＴ細胞における３つの形質導入実験を代表するものである。
【図８】Ｒａｊｉ標的細胞をＣＡＲ　Ｔ細胞と１８時間共インキュベートした後の、異なる共刺激ドメインが組み込まれている抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲの、エフェクター対標的（ＥＴ）比１０、５、および２．５での細胞溶解機能を示すグラフである。特異的標的溶解の百分率をｙ軸に示し、ＣＡＲコンストラクト呼称をｘ軸に示す。Ｎ＝３技術反復実験±ＳＥＭ。データは、別個の健康なドナーからのＴ細胞における３つの実験を代表する１つの実験からのものである。
【図９Ａ】異なる共刺激ドメイン配置を有する抗ＣＤ２２－１９　ＣＡＲそれぞれについてのＲａｊｉ標的に対するサイトカイン応答を示すグラフである。エフェクターおよび標

的細胞を、Ｅ：Ｔ比１０で１８時間共培養し、上清を、ＥＬＩＳＡによってＩＬ－２、ＴＮＦα、およびＩＦＮγについて分析した。Ｎ＝３技術反復実験±ＳＥＭ。データは、別個の健康なドナーからのＴ細胞における３つの実験を代表する１つの実験からのものである。
【図９Ｂ】異なる共刺激ドメイン配置を有する抗ＣＤ２２－１９　ＣＡＲそれぞれについてのＲａｊｉ標的に対するサイトカイン応答を示すグラフである。エフェクターおよび標的細胞を、Ｅ：Ｔ比１０で１８時間共培養し、上清を、ＥＬＩＳＡによってＩＬ－２、ＴＮＦα、およびＩＦＮγについて分析した。Ｎ＝３技術反復実験±ＳＥＭ。データは、別個の健康なドナーからのＴ細胞における３つの実験を代表する１つの実験からのものである。
【図９Ｃ】異なる共刺激ドメイン配置を有する抗ＣＤ２２－１９　ＣＡＲそれぞれについてのＲａｊｉ標的に対するサイトカイン応答を示すグラフである。エフェクターおよび標的細胞を、Ｅ：Ｔ比１０で１８時間共培養し、上清を、ＥＬＩＳＡによってＩＬ－２、ＴＮＦα、およびＩＦＮγについて分析した。Ｎ＝３技術反復実験±ＳＥＭ。データは、別個の健康なドナーからのＴ細胞における３つの実験を代表する１つの実験からのものである。
【図９Ｄ】異なる共刺激ドメイン配置を有する抗ＣＤ２２－１９　ＣＡＲそれぞれについてのＲａｊｉ標的に対するサイトカイン応答を示すグラフである。エフェクターおよび標的細胞を、Ｅ：Ｔ比１０で１８時間共培養し、上清を、ＥＬＩＳＡによってＩＬ－２、ＴＮＦα、およびＩＦＮγについて分析した。Ｎ＝３技術反復実験±ＳＥＭ。データは、別個の健康なドナーからのＴ細胞における３つの実験を代表する１つの実験からのものである。
【発明を実施するための形態】
【００９９】
詳細な説明
定義
本明細書で使用する場合、単数形「１つの（ａ）」、「１つの（ａｎ）」および「この（ｔｈｅ）」とは、文脈が明らかに他を示さない限り、単数形および複数形の両方を指す。例えば、用語「１つの抗原」は、単数または複数の抗原を含み、語句「少なくとも１つの抗原」と等価とみなされ得る。本明細書で使用する場合、用語「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」とは、「含む（ｉｎｃｌｕｄｅｓ）」を意味する。したがって、「１つの抗原を含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」とは、他の要素を排除することなく、「１つの抗原を含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」を意味する。語句「および／または」とは、「および」または「または」を意味する。核酸またはポリペプチドについて与えられた任意のおよび全ての塩基サイズまたはアミノ酸サイズ、ならびに全ての分子量または分子質量値は、特記しない限り、おおよそであり、便宜的に提供されていることをさらに理解すべきである。本明細書に記載されるものと類似または等価な多くの方法および材料が使用され得るが、特に適切な方法および材料が以下に記載される。矛盾する場合、用語の説明を含む本明細書が支配する。さらに、材料、方法および実施例は、例示にすぎず、限定を意図しない。種々の実施形態の再検討を容易にするために、以下の用語の説明が提供される。
【０１００】
用語「約」とは、測定可能な値、例えば、量、時間的持続期間などに言及する場合、特定された値から±２０％、または一部の例では±１０％、または一部の例では±５％、または一部の例では±１％、または一部の例では±０．１％の変動を包含することを意味し、かかる変動は、開示される方法を実施するために適切である。
【０１０１】
特記しない限り、本明細書の技術用語は、従来の用法に従って使用される。分子生物学における一般的用語の定義は、Ｏｘｆｏｒｄ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｐｒｅｓｓによって刊行されたＢｅｎｊａｍｉｎ　Ｌｅｗｉｎ、Ｇｅｎｅｓ　ＶＩＩ、１９９９年；Ｂｌａｃｋｗｅｌｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　Ｌｔｄ．によって刊行されたＫｅｎｄｒｅｗら（編）、Ｔｈｅ

Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ ｏｆ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、１９９４年；およびＶＣＨ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ，Ｉｎｃ．によって刊行されたＲｏｂｅｒｔ Ａ．Ｍｅｙｅｒｓ（編）、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ：ａ Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｄｅｓｋ Ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ、１９９５年；および他の類似の参考文献中に見出すことができる。

【０１０２】

本開示は、ＣＤ１９／ＣＤ２２抗体またはその断片、およびこのようなＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインを有するキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を提供する。ＣＡＲの機能的活性の増強は、ＣＡＲを発現するＴ細胞の機能的活性の増強に直接関連する。これらの１つまたは複数の改変の結果として、ＣＡＲは、形質導入されたＣＡＲ発現Ｔ細胞のｉｎ ｖｉｖｏでのＴ細胞増殖および持続レベルの増大と共に、高度のサイトカイン誘導性細胞溶解および形質導入Ｔ細胞での細胞表面発現の両方を示す。本開示のＣＡＲは、１つのＣＡＲＴレンチウイルス産物を利用して、複数の患者集団（即ち、ＣＤ１９＋、ＣＤ２２＋、または二重ＣＤ１９＋ＣＤ２２＋がん患者）を処置することができ、これにより、資源が限られる状況において融通がきくという点で有利である。

【０１０３】

様々なタンパク質ドメインに由来する機能性部分を組み合わせる独自の能力が、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）の重要かつ革新的な特色である。これらのタンパク質ドメイン各々の選択は、これらの具体的な組合せ方と同様に、重要な設計特色である。各設計ドメインは、様々なＣＡＲプラットフォームでリンパ球の機能を操作するのに使用可能な必須の構成要素である。例えば、細胞外結合性ドメインの選択によって、それ以外の場合では無効のＣＡＲを有効にすることができる。

【０１０４】

ＣＡＲの細胞外抗原結合性ドメインを作り出すのに使用される、免疫グロブリン由来のタンパク質配列の非可変フレームワーク構成要素は、完全に中立であるか、自己会合してＴ細胞を代謝疲弊の状態にすることがあり、そのためこのＣＡＲを発現する治療的Ｔ細胞が極度に無効となる。このことは、このＣＡＲドメインの抗原結合機能とは無関係に起こる。さらに、細胞内シグナル伝達ドメイン（複数可）の選択によっても、免疫療法に使用される治療的リンパ球集団の活性および耐久性が決定され得る。これらの細胞外および細胞内ドメインによって、標的抗原と結合する能力および活性化シグナルをＴ細胞に伝達する能力がそれぞれ、ＣＡＲ設計の重要な側面である一方で、細胞外抗原結合性断片の供給源の選択が、ＣＡＲの有効性に対して顕著な効果を有し、それゆえにＣＡＲの機能および臨床的有用性において決定的な役割を有し得ることも明らかとなっている。

【０１０５】

本明細書で開示するＣＡＲは、細胞において高いレベルで発現される。ＣＡＲを発現する細胞は、ｉｎ ｖｉｖｏで高い増殖速度を有し、多量のサイトカインを産生し、ＣＡＲが結合するＣＤ１９／ＣＤ２２抗原を表面に有する細胞に対し高い細胞傷害活性を有する。細胞外ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインの使用により、ｉｎ ｖｉｖｏでより良好に機能するＣＡＲの生成がもたらされ、一方で宿主免疫応答での抗ＣＡＲ免疫の誘導およびＣＡＲ Ｔ細胞集団の死滅が回避される。細胞外ＣＤ１９／ＣＤ２２ＳｃＦｖ抗原結合性ドメインを発現するＣＡＲは、ｉ）マウス由来の結合性配列で見られる、ＣＡＲ Ｔの持続および機能不足の防止；ｉｉ）有効となるべきＣＡＲの局所（即ち、胸膜内）送達がないこと；ならびにｉｉｉ）ＣＤ１９／ＣＤ２２に対し高親和性および低親和性を有するバインダー両方に基づいてＣＡＲ Ｔ細胞設計を生成する能力、を含む優れた活性／特性を示す。この最後の特性により、腫瘍には正常な組織よりもＣＤ１９／ＣＤ２２が多く発現していることで、親和性がより小さいバインダーは正常な組織よりも腫瘍に対しより大きい特異性を有することができ、それによりオンターゲットな腫瘍以外への毒性およびバイスタンダー細胞の死滅が防止され得るため、研究者は、ＣＡＲ Ｔ産物の毒性に対する有効性、および／または組織特異性をよりよく調整することができる。

【０１０６】

ＣＡＲ、抗体およびその抗原結合性断片、コンジュゲート、ヌクレオチド、発現、ベクターおよび宿主細胞、開示されたＣＡＲを使用する処置の方法、組成物およびキットのさらなる記載と共に、それらの細胞外ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメイン、膜貫通ドメインおよび細胞内ドメインの記載を含む本発明のＣＡＲの詳細な記載は以下である。

【０１０７】

Ａ．キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）

本明細書で開示されるＣＡＲは、ＣＤ１９／ＣＤ２２に結合することが可能な少なくとも１つのＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメイン、少なくとも１つの膜貫通ドメイン、および少なくとも１つの細胞内ドメインを含む。

【０１０８】

キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）は、膜貫通ドメインを介してＴ細胞シグナル伝達ドメインに連結された、抗体の抗原結合性ドメイン（例えば、単鎖可変断片（ｓｃＦｖ））を含有する、人工的に構築されたハイブリッドタンパク質またはポリペプチドである。ＣＡＲの特徴には、非ＭＨＣ拘束様式で、モノクローナル抗体の抗原結合特性を活用して、選択された標的に向かってＴ細胞の特異性および反応性を再指向させるそれらの能力が含まれる。非ＭＨＣ拘束的な抗原認識は、ＣＡＲを発現するＴ細胞に、抗原プロセシングと無関係に抗原を認識する能力を与え、そうして、腫瘍エスケープの主要な機構を迂回する。さらに、Ｔ細胞中で発現される場合、ＣＡＲは、有利なことに、内因性Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）のアルファ鎖およびベータ鎖と二量体化しない。

【０１０９】

本明細書に開示するように、ＣＡＲの細胞内Ｔ細胞シグナル伝達ドメインには、例えば、Ｔ細胞受容体シグナル伝達ドメイン、Ｔ細胞共刺激シグナル伝達ドメイン、またはその両方が含まれ得る。Ｔ細胞受容体シグナル伝達ドメインとは、Ｔ細胞受容体の細胞内ドメイン、例えば、限定としてではなく、ＣＤ３ゼータタンパク質の細胞内部分などを含む、ＣＡＲの一部分を指す。共刺激シグナル伝達ドメインとは、抗原に対するリンパ球の効率的な応答に必要とされる、抗原受容体またはそれらのリガンド以外の細胞表面分子である共刺激分子の細胞内ドメインを含む、ＣＡＲの一部分を指す。

【０１１０】

１．細胞外ドメイン

一実施形態では、ＣＡＲは、さもなければ抗原結合性ドメインまたは部分と呼ばれる標的特異的結合エレメントを含む。ドメインの選択は、標的細胞の表面を規定するリガンドの型および数に依存する。例えば、抗原結合性ドメインは、特定の疾患状態と関連する標的細胞上の細胞表面マーカーとして作用するリガンドを認識するように選択され得る。したがって、ＣＡＲ中の抗原結合性ドメインに対するリガンドとして作用し得る細胞表面マーカーの例には、ウイルス、細菌および寄生生物感染、自己免疫疾患ならびにがん細胞と関連するものが含まれる。

【０１１１】

一実施形態では、ＣＡＲは、腫瘍細胞上の抗原に特異的に結合する所望の抗原結合性ドメインを操作することによって、目的の腫瘍抗原を標的化するように操作され得る。腫瘍抗原は、免疫応答、特にＴ細胞媒介性免疫応答を惹起する、腫瘍細胞によって産生されるタンパク質である。抗原結合性ドメインの選択は、処置される特定の型のがんに依存する。腫瘍抗原は、例えば、神経膠腫関連抗原、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）、ベーターヒト絨毛性ゴナドトロピン、アルファフェトプロテイン（ＡＦＰ）、レクチン反応性ＡＦＰ、サイログロブリン、ＲＡＧＥ－１、ＭＮ－ＣＡ　ＩＸ、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、ＲＵ１、ＲＵ２（ＡＳ）、腸カルボキシルエステラーゼ、ｍｕｔ　ｈｓｐ７０－２、Ｍ－ＣＳＦ、プロスターゼ（ｐｒｏｓｔａｓｅ）、前立腺特異的抗原（ＰＳＡ）、ＰＡＰ、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＬＡＧＥ－１ａ、ｐ５３、プロステイン（ｐｒｏｓｔｅｉｎ）、ＰＳＭＡ、Ｈｅｒ２／ｎｅｕ、サバイビンおよびテロメラーゼ、前立腺癌腫瘍抗原－１（ＰＣＴＡ－１）、ＭＡＧＥ、ＥＬＦ２Ｍ、好中球エラスターゼ、エフリンＢ２、ＣＤ２２、インスリン様成長因子（ｉｎｓｕｌｉｎ　ｇｒｏｗｔｈ　ｆａｃｔｏｒ）（ＩＧＦ）－Ｉ、ＩＧＦ－Ｉ

Ｉ、ＩＧＦ－Ｉ受容体ならびにＣＤ１９／ＣＤ２２が含まれる。本明細書に開示される腫瘍抗原は、例として含まれるにすぎない。このリストは、排他的である意図はなく、さらなる例が、当業者に容易に明らかである。

【０１１２】

一実施形態では、腫瘍抗原は、悪性腫瘍と関連する１または複数の抗原性がんエピトープを含む。悪性腫瘍は、免疫攻撃のための標的抗原として機能し得るいくつかのタンパク質を発現する。これらの分子には、組織特異的抗原、例えば、黒色腫におけるＭＡＲＴ－１、チロシナーゼおよびＧＰ　１００、ならびに前立腺がんにおける前立腺酸性ホスファターゼ（ＰＡＰ）および前立腺特異的抗原（ＰＳＡ）が含まれるがこれらに限定されない。他の標的分子は、癌遺伝子ＨＥＲ－２／Ｎｅｕ／ＥｒｂＢ－２などの形質転換関連分子の群に属する。標的抗原のさらに別の群は、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）などのがん胎児性抗原である。Ｂ細胞リンパ腫では、腫瘍特異的イディオタイプ免疫グロブリンが、個々の腫瘍に独自の真に腫瘍特異的な免疫グロブリン抗原を構成する。Ｂ細胞分化抗原、例えば、ＣＤ１９、ＣＤ２２、ＣＤ２２、ＢＣＭＡ、ＲＯＲ１、およびＣＤ３７は、Ｂ細胞リンパ腫における標的抗原の他の候補である。これらの抗原の一部（ＣＥＡ、ＨＥＲ－２、ＣＤ１９、ＣＤ２２、イディオタイプ）は、限定的な成功で、モノクローナル抗体による受動免疫療法の標的として使用されている。

【０１１３】

好ましい一実施形態において、腫瘍抗原はＣＤ１９／ＣＤ２２であり、ＣＤ１９／ＣＤ２２発現と関連する腫瘍は、高レベルの細胞外タンパク質ＣＤ１９／ＣＤ２２を発現する肺中皮腫、卵巣および膵がん、またはそれらの任意の組合せを含む。

【０１１４】

腫瘍抗原の型は、腫瘍特異的抗原（ＴＳＡ）または腫瘍関連抗原（ＴＡＡ）でもあり得る。ＴＳＡは、腫瘍細胞に独自であり、身体中の他の細胞上には存在しない。ＴＡＡは、腫瘍細胞に独自ではなく、その代り、抗原に対する免疫学的寛容の状態を誘導できない条件下で正常細胞上でも発現される。腫瘍上での抗原の発現は、免疫系が抗原に応答できるようにする条件下で生じ得る。ＴＡＡは、免疫系が未熟であり応答できない胎児発生の間に正常細胞上で発現される抗原であり得、または正常細胞上では非常に低いレベルで通常存在するが、腫瘍細胞上ではかなり高いレベルで発現される抗原であり得る。

【０１１５】

ＴＳＡまたはＴＡＡの非限定的な例には、以下が含まれる：分化抗原、例えば、ＭＡＲＴ－１／ＭｅｌａｎＡ（ＭＡＲＴ－Ｉ）、ｇｐ１００（Ｐｍｅｌ　１７）、チロシナーゼ、ＴＲＰ－１、ＴＲＰ－２および腫瘍特異的多系列抗原、例えば、ＭＡＧＥ－１、ＭＡＧＥ－３、ＢＡＧＥ、ＧＡＧＥ－１、ＧＡＧＥ－２、ｐ１５；過剰発現された胚抗原、例えば、ＣＥＡ；過剰発現された癌遺伝子および変異した腫瘍サプレッサー遺伝子、例えば、ｐ５３、Ｒａｓ、ＨＥＲ－２／ｎｅｕ；染色体転座から生じる独自の腫瘍抗原；例えば、ＢＣＲ－ＡＢＬ、Ｅ２Ａ－ＰＲＬ、Ｈ４－ＲＥＴ、ＩＧＨ－ＩＧＫ、ＭＹＬ－ＲＡＲ；ならびにウイルス抗原、例えば、エプスタイン・バーウイルス抗原ＥＢＶＡおよびヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）抗原Ｅ６およびＥ７。他の大きいタンパク質ベースの抗原には、ＴＳＰ－１８０、ＭＡＧＥ－４、ＭＡＧＥ－５、ＭＡＧＥ－６、ＲＡＧＥ、ＮＹ－ＥＳＯ、ｐ１８５ｅｒｂＢ２、ｐ１８０ｅｒｂＢ－３、ｃ－ｍｅｔ、ｎｍ－２３Ｈ１、ＰＳＡ、ＴＡＧ－７２、ＣＡ　１９－９、ＣＡ　７２－４、ＣＡＭ　１７．１、ＮｕＭａ、Ｋ－ｒａｓ、ベーターカテニン、ＣＤＫ４、Ｍｕｍ－１、ｐ　１５、ｐ　１６、４３－９Ｆ、５Ｔ４、７９１Ｔｇｐ７２、アルファーフェトプロテイン、ベーターＨＣＧ、ＢＣＡ２２５、ＢＴＡＡ、ＣＡ　１２５、ＣＡ　１５－３／ＣＡ　２７．２９／ＢＣＡＡ、ＣＡ　１９５、ＣＡ　２４２、ＣＡ－５０、ＣＡＭ４３、ＣＤ６８／Ｐ１、ＣＯ－０２９、ＦＧＦ－５、Ｇ２５０、Ｇａ７３３／ＥｐＣＡＭ、ＨＴｇｐ－１７５、Ｍ３４４、ＭＡ－５０、ＭＧ７－Ａｇ、ＭＯＶ１８、ＮＢ／７０Ｋ、ＮＹ－ＣＯ－１、ＲＣＡＳ１、ＳＤＣＣＡＧ１６、ＴＡ－９０／Ｍａｃ－２結合タンパク質／シクロフィリンＣ関連タンパク質、ＴＡＡＬ６、ＴＡＧ７２、ＴＬＰおよびＴＰＳが含まれる。

【０１１６】
一実施形態では、ＣＡＲの抗原結合性ドメイン部分は、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＲＯＲ１、ＣＤ３３、ＣＤ３８、ＣＤ１２３、ＣＤ１３８、ＢＣＭＡ、ｃ－Ｍｅｔ、ＰＳＭＡ、糖脂質Ｆ７７、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ－２、ＦＧＦＲ４、ＴＳＬＰＲ、ＮＹ－ＥＳＯ－１　ＴＣＲ、ＭＡＧＥ　Ａ３　ＴＣＲなどを含むがこれらに限定されない抗原を標的化する。
【０１１７】
好ましい実施形態において、ＣＡＲの抗原結合性ドメイン部分は、細胞外ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原を標的化する。
【０１１８】
本明細書で開示するＣＤ１９／ＣＤ２２特異的ＣＡＲの種々の実施形態において、一般スキームは、図１Ａおよび１Ｂに明記され、Ｎ末端からＣ末端へ、シグナルまたはリーダーペプチド、抗ＣＤ１９／ＣＤ２２　ＳｃＦｖ（ＣＤ１９バインダーがＴ細胞膜に対して遠位にあり、ＣＤ２２バインダーがＴ細胞膜に対して近位にある、またはＣＤ２２バインダーがＴ細胞膜に対して遠位にあり、ＣＤ１９バインダーがＴ細胞膜に対して近位にある）、ＣＤ８細胞外リンカー、ＣＤ８膜貫通ドメイン、４－１ＢＢ共刺激ドメイン、ＣＤ３ゼータ活性化ドメインを含む。
【０１１９】
一実施形態において、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号１　（リーダー－ＣＤ２２ＶＨ－（ＧＧＧＧＳ）－３　ＣＤ２２ＶＬ（ＧＧＧＧＳ）－５　ＣＤ１９ＶＨ（ＧＧＧＧＳ）－３　ＣＤ１９ＶＬ　ＣＤ８ヒンジ＋ＴＭ－４－１ＢＢ－ＣＤ３ｚ（コンストラクト　２２１９））の核酸配列を含み、配列番号２　リーダー－ＣＤ２２ＶＨ－（ＧＧＧＧＳ）－３　ＣＤ２２ＶＬ（ＧＧＧＧＳ）－５　ＣＤ１９ＶＨ（ＧＧＧＧＳ）－３　ＣＤ１９ＶＬ　ＣＤ８ヒンジ＋ＴＭ－４－１ＢＢ－ＣＤ３ｚ（コンストラクト　２２１９）に示すアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【０１２０】
一実施形態において、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号１の核酸配列、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するその配列を含み、配列番号２に示すアミノ酸配列、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するその配列リーダー－ＣＤ２２ＶＨ－（ＧＧＧＧＳ）－３　ＣＤ２２ＶＬ（ＧＧＧＧＳ）－５　ＣＤ１９ＶＨ（ＧＧＧＧＳ）－３　ＣＤ１９ＶＬ　ＣＤ８ヒンジ＋ＴＭ－４－１ＢＢ－ＣＤ３ｚ（コンストラクト　２２１９）を含むＣＡＲをコードする。
【０１２１】
別の実施形態において、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号３　（リーダー－ＣＤ１９ＶＨ（ＧＧＧＧＳ）３－ＣＤ１９ＶＬ－（ＧＧＧＧＳ）５－ＣＤ２２ＶＬ－（ＧＧＧＧＳ）３－ＣＤ２２ＶＨ　ＣＤ８ヒンジ＋ＴＭ－４－１ＢＢ－ＣＤ３ｚ（コンストラクト１９２２）（図２））の核酸配列を含み、配列番号４［リーダー－ＣＤ１９ＶＨ（ＧＧＧＧＳ）３－ＣＤ１９ＶＬ－（ＧＧＧＧＳ）５－ＣＤ２２ＶＬ－（ＧＧＧＧＳ）３－ＣＤ２２ＶＨ　ＣＤ８ヒンジ＋ＴＭ－４－１ＢＢ－ＣＤ３ｚ（コンストラクト　１９２２）］に示すアミノ酸配列を含むＣＡＲをコードする。
【０１２２】
別の実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号３の核酸配列、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するその配列を含み、配列番号４に示すアミノ酸配列、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するその配列を含むＣＡＲをコードする（リーダー－ＣＤ１９ＶＨ（ＧＧＧＧＳ）３－ＣＤ１９ＶＬ－（ＧＧＧＧＳ）５－ＣＤ２２ＶＬ－（ＧＧＧＧＳ）３－ＣＤ２２ＶＨＣＤ８ヒンジ＋ＴＭ－４－１ＢＢ－ＣＤ３ｚ（コンストラクト１９２２））。
【０１２３】

ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原と反応性である単鎖断片可変（ＳｃＦｖ）配列が組み込まれている抗ＣＤ１９／ＣＤ２２ＣＡＲの表面発現について、以下で実施例２に示している。ＳｃＦｖを含んだ各ＣＡＲについての発現レベルは、健康なドナーからのＬＶ形質導入Ｔ細胞のフローサイトメトリー分析により、２つの検出方法、即ち、ｉ）ＣＤ２２　ｈｉｓに続いて抗ｈｉｓ－ＦＬ、ｉｉ）ＣＤ１９　Ｆｃ組換えタンパク質に続いて抗Ｆｃ－ＦＬの一方を使用して決定した。ＳｃＦｖベースの抗ＣＤ１９／ＣＤ２２ＣＡＲコンストラクトであるＣＡＲ２２－１９およびＣＡＲ１９－２２は、ヒト初代Ｔ細胞において、非形質導入Ｔ細胞対照に比べて高度に発現された。

【０１２４】

実施例２および図３に示すように、ＣＤ１９／ＣＤ２２ＣＡＲの高度な細胞溶解活性が実証された。図３：ヒト初代Ｔ細胞に、ＣＡＲコンストラクトをコードするＬＶを形質導入し（ＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１、Ｄ００２３）、ＣＡＲ１９－２２（Ｄ００２４）、ＣＡＲ１９（ＬＴＧ１５３８）、またはＣＡＲ２２（ＬＴＧ２２００）；方法を参照されたい）、次いで、蛍光系ｉｎ　ｖｉｔｒｏ死滅アッセイに向けて、ホタルルシフェラーゼが安定に形質導入されたＲａｊｉ、ＲＥＨ、Ｋ５６２、または２９３Ｔ細胞株と共に１８時間インキュベートした。ＲａｊｉおよびＲｅｈ白血病株は、その表面にＣＤ１９およびＣＤ２２を発現するが、陰性対照である２９３Ｔは発現しない。ＲａｊｉおよびＲＥＨ細胞は、タンデムＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１）、タンデムＣＡＲ１９－２２（ＬＴＧ２７１９）、ならびに単一標的化ＣＡＲ１９（ＬＴＧ１５３８）およびＣＡＲ２２（ＬＴＧ２２００）によって有効に溶解された。これらの結果は、単一ＣＡＲ対照およびタンデムＣＤ１９標的化ＣＤ２２標的化ＣＡＲによる、標的抗原が限定された死滅を実証するものである。

【０１２５】

追加の特異性対照として、ＣＤ１９、ＣＤ２０、またはＣＤ２２を発現する２９３Ｔ－ｌｕｃ株およびＡ４３１－ｌｕｃ株を作製した（図４Ａおよび４Ｂ）。２９３Ｔ－１９＋は、ＣＡＲ１９（ＬＴＧ１５３８）およびタンデムＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１）によって溶解されたが、ＣＡＲ２２　ＬＴＧ２２００または非形質導入Ｔ細胞対照によっては溶解されなかった（図３）。２９３Ｔ－ＣＤ２２＋は、タンデムＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１）および単一ＣＡＲ２０　ＬＴＧ２２００によって溶解されたが、単一ＣＡＲ１９（ＬＴＧ１５３８）または非形質導入対照によっては溶解されず、タンデムＣＡＲの抗原特異性が実証された。最後に、２９３Ｔ　ｌｕｃ　ＣＤ２０細胞は、この抗原が標的化されなかったため、ＣＡＲコンストラクトによって溶解されなかった（図４Ａ）。同様に、Ａ４３１－ｌｕｃ　１９株は、タンデムＣＡＲ　ＬＴＧ２６８１または単一ＣＡＲ１９　ＬＴＧ１５３８によって溶解されたが、ＣＡＲ２２　ＬＴＧ２２００またはＵＴＤ対照によって溶解されなかった。逆もまた同様、Ａ４３１　ｌｕｃ　ＣＤ２２細胞は、タンデムＣＡＲ　ｌＴＧ２６８１または単一ＣＡＲ２２　ＬＴＧ２２００によって溶解されたが、ＣＤ１９　ＣＡＲ　ＬＴＧ１５３８またはＵＴＤ対照によって溶解されなかった。特に、無関係の抗原を発現するＡ４３１－ｌｕｃ　ＣＤ２０株は、ＣＤ２０抗原が標的化されなかったため、ＣＡＲコンストラクトによって溶解されなかった（図４Ｂ）。この結果は、タンデムＣＡＲ２２－１９の各標的化ドメインの独立した機能性および特異性を強調するものである（図４）。さらに、この実験では、２つの抗原（ＣＤ１９　ＣＤ２２）の一方が下向き調節され、もはや発現されないとしても、タンデムＣＡＲ２２－１９は、腫瘍細胞に対して有効となることが証明された。したがって、タンデムＣＡＲは、単一ＣＡＲとは対照的に、腫瘍抗原逃避を緩和し得る。

【０１２６】

次いで、抗ＣＤ１９／ＣＤ２２ＣＡＲ　Ｔ細胞のサイトカイン分泌能力を評価した（図５）。ＣＤ１９＋ＣＤ２２＋Ｒａｊｉ腫瘍細胞を、タンデム２２－１９ＣＡＲ　Ｔ細胞（ＬＴＧ２６８１）、陽性対照ＣＡＲ１９（ＬＴＧ１５３８）、陽性対照ＣＡＲ２２（ＬＴＧ２２００）、または陰性対照非形質導入Ｔ細胞（ＵＴＤ）と共に、１０：１のエフェクター対標的比で、一晩共インキュベートし、培養上清を、ＥＬＩＳＡによって、ＩＦＮガ

ンマ、ＴＮＦアルファ、およびＩＬ－２について分析した。タンデムＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１）は、腫瘍細胞に反応して、サイトカインを強力に誘導したのに対し、陰性対照（非形質導入、ＵＴＤ）は、感知できるサイトカイン誘導をもたらさなかった。特に、タンデムＣＡＲ　Ｔ発現細胞であるＬＴＧ２６８１は、ＣＡＲ２２対照（ＬＴＧ２２００）と同様のレベルのＩＦＮガンマ、ＴＮＦアルファ、ＩＬ－２、および単一ＣＡＲ１９（ＬＴＧ１５３８）対照よりやや高いサイトカイン応答を示し、タンデムＣＡＲの高い効力が実証された。重要なことに、ＣＡＲ２２－１９は、腫瘍細胞が存在しなければ（ＣＡＲＴ単独群）サイトカイン分泌を生じておらず、これにより、ＣＡＲ特異性がさらに確認され、タンデムＣＡＲによる持続性シグナル伝達（ｔｏｎｉｃ　ｓｉｇｎａｌｉｎｇ）はないことが示唆された。

【０１２７】

別の実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号６０の核酸配列［ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＢＢｚ（コンストラクトＬＴＧ２７３７）（それぞれ、図６、７、８、および９）］を含み、配列番号６１に示すアミノ酸配列［ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＢＢｚ（コンストラクトＬＴＧ２７３７）］を含むＣＡＲをコードする。

【０１２８】

別の実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号６０の核酸配列、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するその配列を含み、配列番号６１に示すアミノ酸配列、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するその配列を含むＣＡＲをコードする（ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＢＢｚ（コンストラクトＬＴＧ２７３７））。

【０１２９】

別の実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号６４の核酸配列［ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＩＣＯＳｚ　ＤＮＡ（コンストラクトＤ０１３６）（それぞれ、図６、７、８、および９）］を含み、配列番号６５に示すアミノ酸配列［ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＩＣＯＳｚ　ＤＮＡ（コンストラクトＤ０１３６）］を含むＣＡＲをコードする。

【０１３０】

別の実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号６４の核酸配列、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するその配列を含み、配列番号６５に示すアミノ酸配列、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するその配列を含むＣＡＲをコードする（ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＩＣＯＳｚ　ＤＮＡ（コンストラクトＤ０１３６））。

【０１３１】

別の実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号７０の核酸配列［ＣＤ２２－１９　ＣＤ２８　ＣＤ２８ｚ（コンストラクトＤ０１３９）（それぞれ、図６、７、８、および９）］を含み、配列番号７１に示すアミノ酸配列［ＣＤ２２－１９　ＣＤ２８　ＣＤ２８ｚ（コンストラクトＤ０１３９）］を含むＣＡＲをコードする。

【０１３２】

別の実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号７０の核酸配列、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するその配列を含み、配列番号７１に示すアミノ酸配列、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するその配列を含むＣＡＲをコードする（ＣＤ２２－１９　ＣＤ２８　ＣＤ２８ｚ（コンストラクトＤ０１３９））。

【０１３３】

別の実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号７６の核酸配列［ＣＤ１９　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　ＩＣＯＳ　ｚ＿ＣＤ２２　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　３ｚ（コンストラクトＤ０１４６）（それぞれ、図６、７、８、および９）］を含み、配列番号７７に示すアミノ酸配列［ＣＤ１９　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　ＩＣＯＳ　ｚ＿ＣＤ２２　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　３ｚ（コンストラクトＤ０１４６）］を含むＣＡＲをコードする。

【０１３４】

別の実施形態では、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号７６の核酸配列、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するその配列を含み、配列番号７７に示すアミノ酸配列、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するその配列を含むＣＡＲをコードする（ＣＤ１９　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　ＩＣＯＳ　ｚ＿ＣＤ２２　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　３ｚ（コンストラクトＤ０１４６））。

【０１３５】

別の実施形態において、ＣＡＲをコードする核酸配列は、配列番号６２、６６、６８、７２、７４、７８、８０、および８２の核酸配列、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するその配列を含み、配列番号６３、６７、６９、７３、７５、７９、８１、および８３に示すアミノ酸配列、または８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の同一性を有するその配列を含むＣＡＲをコードする。

【０１３６】

ＣＤ２２／ＣＤ１９抗原と反応性である単鎖断片可変（ＳｃＦｖ）配列が組み込まれている抗ＣＤ２２／ＣＤ１９ＣＡＲの表面発現について、以下で実施例３に示している。

【０１３７】

一実施形態では、異なる共刺激ドメインで構成された二重標的化ＣＡＲコンストラクトが設計された。ＣＡＲコンストラクトを以下の実施例３の表１において一覧にしている。ＣＡＲ設計配置の略図を、図６Ａ～Ｄに示している。一部の実施形態では、抗ＣＤ２２　ＳｃＦｖおよび抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ配列で構成されたタンデムＣＡＲ抗原結合性ドメインが、抗ＣＤ２２　ｓｃＦｖ－抗ＣＤ１９－ｓｃＦｖ－ヒンジ－膜貫通ドメイン－内部ドメインの順序でタンデムに連結された（図６Ａ、６Ｂ）。この標的化タンデムドメイン配置は、すべての場合において、ＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１）をベースとする。抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲコンストラクトＬＴＧ２７３７は、抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲコンストラクトＬＴＧ２６８１と同一であるが、その構築の際にウッドチャック肝炎ウイルス（ＷＨＰ）転写後調節エレメント（ＷＰＲＥ）を使用していないＣＡＲ配列を含んでいた。

【０１３８】

別の実施形態では、いくつかのＣＡＲ　Ｔコンストラクトが、以下で実施例３に記載するように、ＣＡＲ抗原結合性ドメインを、ＣＤ８αヒンジおよび膜貫通ドメインにインフレームで連結することにより作製された（コンストラクトＬＴＧ２７３７、Ｄ０１３５、Ｄ０１３６、Ｄ０１３７、Ｄ０１４５、Ｄ０１４６、Ｄ０１４７、Ｄ０１４８、およびＤ０１４９）。他のコンストラクトでは、共刺激ドメインに合う膜貫通ドメイン配列、即ち、Ｄ１３９、Ｄ１４０についてはＣＤ２８、Ｄ０１３７、Ｄ０１４７、Ｄ０１４８についてはＯＸ４０が利用された。膜貫通ドメインは、４－１ＢＢ（ＬＴＧ２７３７）、ＣＤ２８（Ｄ０１３５、Ｄ０１３９、Ｄ０１４０）、ＩＣＯＳ（Ｄ０１３６、Ｄ０１４６、Ｄ０１４８、Ｄ０１４９）、ＯＸ４０（Ｄ０１３７、Ｄ０１４５、Ｄ０１４７、Ｄ０１４８）、またはＣＤ２７（Ｄ０１３８、Ｄ０１４９）由来の共刺激ドメインにインフレームで連結された。すべてのＣＡＲ分子が、ＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメイン（ＣＤ２４７、ａａ５２－１６３、Ｒｅｆ配列ＩＤ：ＮＰ＿０００７２５．１）を含んでいた。

【０１３９】

さらに他の実施形態では、ＣＡＲの内部ドメインが、タンデムに接続された２つの共刺激ドメイン、即ちＣＤ２８および４－１ＢＢで構成された（Ｄ０１４０、図６Ｂ）。一部の実施形態では、２シストロン性発現用の２Ａリボソームスキップエレメントを使用して、２つの別個のＣＡＲ分子を同じＴ細胞において同時発現させた（Ｄ１４６、Ｄ１４７、Ｄ１４８、Ｄ１４９、図６Ｃ、６Ｄ）。この配置では、各ＣＡＲ鎖が、ＣＤ１９またはＣＤ２２抗原のいずれかを標的化する１つだけのｓｃＦｖを含んでおり、２シストロン性配列をコードする単一レンチウイルスベクターの形質導入によって、各形質導入Ｔ細胞において両方の鎖が同時発現された。

【０１４０】

さらに他の実施形態では、少なくとも一方のＣＡＲ鎖に対して共刺激ドメインを使用しておらず、その結果、同じ細胞において同時発生的に発現されるＣＡＲ鎖の一方の膜貫通ドメインに直接、ＣＤ３ζ活性化ドメインがインフレームで連結された（Ｄ０１４６、Ｄ０１４７、図６Ｃ）。ＣＡＲコンストラクト配列は、ヒトＥＦ－１αプロモーターの制御下にある第３世代レンチウイルスプラスミド骨格（Ｌｅｎｔｉｇｅｎ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｉｎｃ．、Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ、ＭＤ）にクローン化された。

【０１４１】

種々の共刺激ドメインが組み込まれている抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲの表面発現を、図７に示している。ＳｃＦｖを含んだ各ＣＡＲについての発現レベルは、健康なドナーからのＬＶ形質導入Ｔ細胞のフローサイトメトリー分析により、２つのｓｃＦｖ　ＣＡＲ標的化ドメインについての同時染色、ｉ）ＣＤ２２－ｈｉｓに続いて抗ｈｉｓ－ＰＥ、ｉｉ）ＣＤ１９　Ｆｃ組換えタンパク質に続いて抗Ｆｃ－Ａ６４７を使用して決定した。すべての抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲが、ヒト初代Ｔ細胞において、非形質導入Ｔ細胞対照に比べて高度に発現された。ＣＡＲ発現レベルは、７１％～９０％の範囲となった（図７）。

【０１４２】

図９Ａ～９Ｄに示されるように、抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲの高度な細胞溶解活性が実証された。ヒト初代Ｔ細胞に、ＣＡＲコンストラクトＬＴＧ２７３７、Ｄ０１３５、Ｄ０１３６、Ｄ０１３７、Ｄ０１３８、Ｄ０１３９、Ｄ０１４０、Ｄ０１４５、Ｄ０１４６）をコードするＬＶを形質導入し、次いで、蛍光系ｉｎ　ｖｉｔｒｏ死滅アッセイに向けて、ホタルルシフェラーゼが安定に形質導入されたＲａｊｉ、２９３Ｔ、２９３ＴＣＤ１９、または２９３ＴＣＤ２２細胞株と共に１８時間インキュベートした。各プロットの右側の凡例に示すように、２．５：１、５：１、または１０：１のエフェクター対標的（ＥＴ）比を使用した。Ｒａｊｉ細胞は、その表面にＣＤ１９およびＣＤ２２を発現するが、陰性対照である２９３Ｔは発現しない。２９３ＴＣＤ１９および２９３ＴＣＤ２２標的株を、それぞれＣＤ１９またはＣＤ２２標的抗原のいずれかを安定に発現するように作製し、これを使用して、各単一標的抗原であるＣＤ１９またはＣＤ２２が、他方の抗原とは無関係に誘発されたとき、異なる共刺激ドメインを有する二重標的化ＣＡＲコンストラクトが標的溶解を実現する能力を評価した。

【０１４３】

Ｒａｊｉ細胞は、すべての二重標的化ＣＡＲによって有効に溶解されたが、陰性対照である非形質導入Ｔ細胞ＵＴＤによって溶解されなかった（図９Ａ）。比較として、すべての二重標的化ＣＡＲコンストラクトが、単一抗原株２９３ＴＣＤ１９および２９３ＴＣＤ２２を溶解し、これらのＣＡＲコンストラクトが、ＣＤ１９抗原のみ、またはＣＤ２２抗原のみのいずれかによって活性化されたときにその抗腫瘍溶解機能を誘発する能力が実証された（それぞれ、図９Ｂおよび９Ｄ）。一方、二重標的化抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲはいずれも、抗原陰性細胞株２９３Ｔを溶解しなかった（図９Ｃ）。したがって、すべての抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲが、ＣＤ１９およびＣＤ２２抗原を同時発現する腫瘍Ｒａｊｉ株において、またＣＤ１９またはＣＤ２２単一抗原のいずれかを発現する２９３Ｔ　ＣＤ１９および２９３Ｔ　ＣＤ２２株において機能し、Ｄ１９－ＣＤ２２－細胞株２９３Ｔに対しては自発死滅活性を示さず、これらのコンストラクトの標的特異性が強調された。

【０１４４】

次いで、種々の共刺激ドメインを有する抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲのサイトカイン分泌能力を評価した（図８）。ＣＤ１９＋ＣＤ２２＋Ｒａｊｉ腫瘍細胞を、ＬＴＧ２７３７、Ｄ０１３５、Ｄ０１３６、Ｄ０１３７、Ｄ０１３８、Ｄ０１３９、Ｄ０１４０、Ｄ０１４５、Ｄ０１４６コンストラクトを発現するタンデム抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲ　Ｔ細胞、または陰性対照である非形質導入Ｔ細胞（ＵＴＤ）と、１０：１のエフェクター対標的比で一晩共インキュベートし、培養上清を、ＥＬＩＳＡによって、ＩＦＮガンマ、ＴＮＦアルファ、およびＩＬ－２について分析した（図８）。すべての二重標的化ＣＡＲが、腫瘍細胞に反応して、ＩＬ－２およびＴＮＦαを強力に誘導したのに対し、陰性対照（非形質導入、ＵＴＤ）は、感知できるサイトカイン誘導をもたらさなかった（図８）。特に、すべて

のＣＡＲ２２－１９において、絶妙なレベルのＩＦＮガンマが強力に誘導されたが、ＣＡＲコンストラクトＤ０１４６、Ｄ０１３９、Ｄ０１３６については特に高く、抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲのサイトカイン応答の強さが、ＣＡＲ設計において利用される共刺激ドメインの組成によって調節され得ることが示唆された。全体として、誘導されたＩＦＮガンマ、ＴＮＦアルファ、およびＩＬ－２の分泌プロファイルから、すべてのＣＡＲ２２－１９コンストラクトの高い効力が実証された。重要なことに、抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲは、腫瘍細胞が存在しなければ（ＣＡＲ　Ｔ単独群）、サイトカイン分泌をわずかしか、またはまったく生じておらず、これにより、ＣＡＲ特異性がさらに確認され、種々の共刺激ドメインを有するタンデム抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲによる持続性シグナル伝達はないことが示唆された。

【０１４５】

任意の特定の作用機構に限定する意図はないが、本発明の例示的なタンデムＣＤ２２およびＣＤ１９標的化ＣＡＲと関連する増強された治療機能の可能な理由には、例えば、限定としてではなく、ａ）より効率的なシグナル伝達を可能にする、原形質膜内での改善された側方の動き、ｂ）脂質ラフトなどの原形質膜マイクロドメイン内の優れた位置、およびＴ細胞活性化と関連する膜貫通シグナル伝達カスケードと相互作用するより高い能力、ｃ）抑制性もしくは下方調節性の相互作用から離れる優先的な動きによる、原形質膜内の優れた位置、例えば、ＣＤ４５などのホスファターゼとあまり近接していないこと、もしくはそれとのより少ない相互作用、ｄ）Ｔ細胞受容体シグナル伝達複合体（即ち、免疫シナプス）への優れたアセンブリー、もしくはｅ）各ＣＡＲ分子に存在する２つの別個の標的化ドメインによる腫瘍抗原とのすぐれた会合能、またはそれらの任意の組合せが含まれると考えられる。

【０１４６】

本開示は、例示的な単独の細胞外ＣＤ１９／ＣＤ２２可変重鎖、およびＳｃＦｖ抗原結合性ドメインを用いて例示しているが、単独のＣＤ１９／ＣＤ２２可変重鎖、およびＳｃＦｖ抗原結合性ドメイン内の他のヌクレオチドおよび／またはアミノ酸変異体を、本明細書に記載のＣＡＲにおいて使用されるＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインを得るのに使用してもよい。

【０１４７】

標的化される所望の抗原に依存して、ＣＡＲは、所望の抗原標的に対して特異的な適切な抗原結合ドメインを含むようにさらに操作され得る。例えば、ＣＤ１９／ＣＤ２２が標的化される所望の抗原である場合、ＣＤ１９／ＣＤ２２に対する抗体が、ＣＡＲ中への抗原結合ドメイン取込みとして使用され得る。

【０１４８】

例示的な一実施形態では、ＣＡＲの抗原結合性ドメイン部分は、ＣＤ３３をさらに標的化する。好ましくは、ＣＡＲ中の抗原結合性ドメインは、抗ＣＤ３３　ｓｃＦＶであり、ここで、抗ＣＤ３３　ｓｃＦＶの核酸配列は、配列番号４６に示される配列を含む。一実施形態では、抗ＣＤ３３　ｓｃＦＶは、配列番号４６のアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。別の実施形態では、ＣＡＲの抗ＣＤ１９／ＣＤ２２　ｓｃＦＶ部分は、配列番号４７に示されるアミノ酸配列を含む。

【０１４９】

例示的な一実施形態では、ＣＡＲの抗原結合性ドメイン部分は、メソセリンもさらに標的化する。好ましくは、ＣＡＲにおける抗原結合性ドメインは、抗メソセリンＳｃＦｖであり、抗メソセリンＳｃＦｖの核酸配列は、配列番号４８に明記する配列を含む。一実施形態では、抗メソセリンＳｃＦｖは、配列番号４８のアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。別の実施形態では、ＣＡＲの抗メソセリンＳｃＦｖ部分は、配列番号４９に示されるアミノ酸配列を含む。

【０１５０】

本発明の一態様では、例えば、限定としてではなく、レトロウイルス科（例えば、ヒト免疫不全ウイルス、例えば、ＨＩＶ－１およびＨＩＶ－ＬＰ）、ピコルナウイルス科（例

えば、ポリオウイルス、Ａ型肝炎ウイルス、エンテロウイルス、ヒトコクサッキーウイルス、ライノウイルスおよびエコーウイルス）、風疹ウイルス、コロナウイルス、水疱性口内炎ウイルス、狂犬病ウイルス、エボラウイルス、パラインフルエンザウイルス、ムンプスウイルス、麻疹ウイルス、呼吸器多核体ウイルス、インフルエンザウイルス、Ｂ型肝炎ウイルス、パルボウイルス、アデノウイルス科、ヘルペスウイルス科［例えば、１型および２型単純ヘルペスウイルス（ＨＳＶ）、水痘帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）ならびにヘルペスウイルス］、ポックスウイルス科（例えば、天然痘ウイルス、ワクシニアウイルスおよびポックスウイルス）もしくはＣ型肝炎ウイルスに由来する抗原、またはそれらの任意の組合せを含む非ＴＳＡまたは非ＴＡＡに結合することが可能なＣＡＲが提供される。

【０１５１】

本発明の別の態様では、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｉ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ、ＰｓｅｕｄｏｍｏｎａｓまたはＳａｌｍｏｎｅｌｌａの細菌株に由来する抗原に結合することが可能なＣＡＲが提供される。特に、感染性細菌、例えば、Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ ｐｙｌｏｒｉｓ、Ｌｅｇｉｏｎｅｌｌａ ｐｎｅｕｍｏｐｈｉｌｉａ、Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉａ ｓｐｓ．の細菌株（例えば、Ｍ．ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓ、Ｍ．ａｖｉｕｍ、Ｍ．ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｅ、Ｍ．ｋａｎｓａｉｉまたは Ｍ．ｇｏｒｄｏｎｅａ）、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ、Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｇｏｎｏｒｒｈｏｅａｅ、Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｍｅｎｉｎｇｉｔｉｄｅｓ、Ｌｉｓｔｅｒｉａ ｍｏｎｏｃｙｔｏｇｅｎｅｓ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｙｏｇｅｎｅｓ、Ａ群Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ、Ｂ群Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ａｇａｌａｃｔｉａｅ）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅもしくはＣｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｔｅｔａｎｉに由来する抗原、またはそれらの組合せに結合することが可能なＣＡＲが提供される。

【０１５２】

２．膜貫通ドメイン

膜貫通ドメインに関して、ＣＡＲは、ＣＡＲの細胞外ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原結合性ドメインに融合された１つまたは複数の膜貫通ドメインを含む。

【０１５３】

膜貫通ドメインは、天然供給源または合成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、任意の膜結合型または膜貫通タンパク質に由来し得る。

【０１５４】

本明細書に記載されるＣＡＲにおいて特に使用される膜貫通領域は、Ｔ細胞受容体のアルファ、ベータまたはゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、メソセリン、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８３、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４、ＴＮＦＲＳＦ１６、またはＴＮＦＲＳＦ１９に由来し得る（即ち、それらの膜貫通領域（複数可）を少なくとも含み得る）。あるいは、膜貫通ドメインは、合成であり得、その場合、ロイシンおよびバリンなどの疎水性残基を優勢に含む。好ましくは、フェニルアラニン、トリプトファンおよびバリンのトリプレットが、合成膜貫通ドメインの各末端において見出される。任意選択で、短いオリゴペプチドリンカーまたはポリペプチドリンカー、好ましくは２アミノ酸長と１０アミノ酸長との間が、ＣＡＲの膜貫通ドメインと細胞質シグナル伝達ドメインとの間での連結を形成し得る。グリシン－セリンダブレットは、特に適切なリンカーを提供する。

【０１５５】

一実施形態では、ＣＡＲ中のドメインの１つと天然に関連する膜貫通ドメインが、上記膜貫通ドメインに加えて使用される。

【０１５６】

一部の場合には、膜貫通ドメインは、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、かかるドメインの、同じまたは異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメイン

への結合を回避するために、選択され得るまたはアミノ酸置換により得る。
【０１５７】
一実施形態では、本発明のＣＡＲ中の膜貫通ドメインは、ＣＤ８膜貫通ドメインである。一実施形態では、ＣＤ８膜貫通ドメインは、配列番号３５の核酸配列を含む。一実施形態では、ＣＤ８膜貫通ドメインは、配列番号３６のアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。別の実施形態では、ＣＤ８膜貫通ドメインは、配列番号３６のアミノ酸配列を含む。
【０１５８】
一実施形態において、コードされる膜貫通ドメインは、配列番号３６のアミノ酸配列の少なくとも１つ、２つもしくは３つの改変（例えば、置換）であるが２０、１０もしくは５以下の改変（例えば、置換）を有するアミノ酸配列、または配列番号３６のアミノ酸配列に対し９５～９９％の同一性を有する配列を含む。
【０１５９】
一部の場合には、ＣＡＲの膜貫通ドメインは、ＣＤ８アルファヒンジドメインを含む。一実施形態では、ＣＤ８ヒンジドメインは、配列番号３７の核酸配列を含む。一実施形態では、ＣＤ８ヒンジドメインは、配列番号３８アミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。別の実施形態において、ＣＤ８ヒンジドメインは、配列番号３８のアミノ酸配列、または９５～９９％の同一性（ｉｄｅｎｔｉｆｙ）を有するその配列を含む。
【０１６０】
一実施形態では、コードされるリンカードメインが、ＣＤ８の細胞外ドメインに由来し、膜貫通ＣＤ８ドメイン、膜貫通ＣＤ２８ドメイン、またはそれらの組合せに連結される、単離された核酸分子が提供される。
【０１６１】
３．スペーサードメイン
ＣＡＲでは、スペーサードメインは、細胞外ドメインと膜貫通ドメインとの間、または細胞内ドメインと膜貫通ドメインとの間に配置され得る。スペーサードメインは、膜貫通ドメインを細胞外ドメインと連結させるように、および／または膜貫通ドメインを細胞内ドメインと連結させるように機能する、任意のオリゴペプチドまたはポリペプチドを意味する。スペーサードメインは、最大で３００アミノ酸、好ましくは１０～１００アミノ酸、最も好ましくは２５～５０アミノ酸を含む。
【０１６２】
いくつかの実施形態では、リンカーは、存在する場合には、リンカーのサイズを増加させ、その結果、エフェクター分子または検出可能なマーカーと抗体または抗原結合性断片との間の距離が増加される、スペーサーエレメントを含み得る。例示的なスペーサーは、当業者に公知であり、これには、米国特許第７，９６４，５６６号、米国特許第７，４９８，２９８号、米国特許第６，８８４，８６９号、米国特許第６，３２３，３１５号、米国特許第６，２３９，１０４号、米国特許第６，０３４，０６５号、米国特許第５，７８０，５８８号、米国特許第５，６６５，８６０号、米国特許第５，６６３，１４９号、米国特許第５，６３５，４８３号、米国特許第５，５９９，９０２号、米国特許第５，５５４，７２５号、米国特許第５，５３０，０９７号、米国特許第５，５２１，２８４号、米国特許第５，５０４，１９１号、米国特許第５，４１０，０２４号、米国特許第５，１３８，０３６号、米国特許第５，０７６，９７３号、米国特許第４，９８６，９８８号、米国特許第４，９７８，７４４号、米国特許第４，８７９，２７８号、米国特許第４，８１６，４４４号および米国特許第４，４８６，４１４号、ならびに米国特許出願公開第２０１１０２１２０８８号および米国特許出願公開第２０１１００７０２４８号中に列挙されるものが含まれ、その各々は、その全内容が参照により本明細書に組み込まれる。
【０１６３】
スペーサードメインは、好ましくは、抗原とのＣＡＲの結合を促進し、細胞中へのシグナル伝達を増強する配列を有する。結合を促進すると予測されるアミノ酸の例には、システイン、荷電アミノ酸、ならびに潜在的グリコシル化部位中のセリンおよびスレオニンが含まれ、これらのアミノ酸は、スペーサードメインを構成するアミノ酸として使用され得

る。
【０１６４】
スペーサードメインとして、ＣＤ８アルファ（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿００１７５９．３）のヒンジ領域であるアミノ酸番号１３７～２０６（配列番号３９）、ＣＤ８ベータ（ＧｅｎＢａｎｋ：ＡＡＡ３５６６４．１）のアミノ酸番号１３５～１９５、ＣＤ４（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿０００６０７．１）のアミノ酸番号３１５～３９６、またはＣＤ２８（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿００６１３０．１）のアミノ酸番号１３７～１５２の全体または一部が使用され得る。また、スペーサードメインとして、抗体Ｈ鎖またはＬ鎖の定常領域の一部が使用され得る。さらに、スペーサードメインは、人工的に合成された配列であり得る。
【０１６５】
さらに、ＣＡＲでは、シグナルペプチド配列が、Ｎ末端に連結され得る。シグナルペプチド配列は、多くの分泌タンパク質および膜タンパク質のＮ末端に存在し、１５～３０アミノ酸の長さを有する。細胞内ドメインとして上で言及されるタンパク質分子の多くは、シグナルペプチド配列を有するので、これらのシグナルペプチドがＣＡＲのためのシグナルペプチドとして使用され得る。一実施形態では、シグナルペプチドは、配列番号１２に示されるアミノ酸配列を含む。
【０１６６】
４．細胞内ドメイン
ＣＡＲの細胞質ドメインまたはさもなければ細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＡＲが中に置かれた免疫細胞の正常なエフェクター機能のうち少なくとも１つの活性化を担う。用語「エフェクター機能」とは、細胞の特殊化した機能を指す。例えば、Ｔ細胞のエフェクター機能は、サイトカインの分泌を含む細胞溶解活性またはヘルパー活性であり得る。したがって、用語「細胞内シグナル伝達ドメイン」とは、エフェクター機能シグナルを伝達し、特殊化した機能を実行するように細胞を指示する、タンパク質の部分を指す。通常は細胞内シグナル伝達ドメイン全体が使用され得るが、多くの場合、鎖全体を使用する必要はない。細胞内シグナル伝達ドメインの短縮された部分が使用される限りにおいて、かかる短縮された部分は、それがエフェクター機能シグナルを伝達する限り、インタクトな鎖の代わりに使用され得る。したがって、用語、細胞内シグナル伝達ドメインとは、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任意の短縮された部分を含むことを意味する。
【０１６７】
ＣＡＲでの使用のための細胞内シグナル伝達ドメインの好ましい例には、抗原受容体係合後にシグナル伝達を開始させるように協力して作用するＴ細胞受容体（ＴＣＲ）および共受容体の細胞質配列、ならびにこれらの配列の任意の誘導体もしくはバリアント、および同じ機能的能力を有する任意の合成配列が含まれる。
【０１６８】
ＴＣＲ単独を通じて生成されるシグナルが、Ｔ細胞の完全な活性化には不十分であること、および二次または共刺激シグナルもまた必要とされることは公知である。したがって、Ｔ細胞活性化は、２つの別個のクラスの細胞質シグナル伝達配列によって媒介されると言われ得る：ＴＣＲを介した抗原依存的な一次活性化を開始させるもの（一次細胞質シグナル伝達配列）および二次または共刺激シグナルを提供するように抗原依存的に作用するもの（二次細胞質シグナル伝達配列）。
【０１６９】
一次細胞質シグナル伝達配列は、刺激性の方法または阻害性の方法のいずれかで、ＴＣＲ複合体の一次活性化を調節する。刺激性の様式で作用する一次細胞質シグナル伝達配列は、免疫受容活性化チロシンモチーフまたはＩＴＡＭとして公知のシグナル伝達モチーフを含有し得る。
【０１７０】
本明細書に開示されるＣＡＲにおいて特に使用される一次細胞質シグナル伝達配列を含

有するＩＴＡＭの例には、ＴＣＲゼータ（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およびＣＤ６６ｄに由来するものが含まれる。ＩＴＡＭの具体的な非限定的な例には、ＣＤ３ゼータ（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿９３２１７０．１）のアミノ酸番号５１～１６４、ＦｃイプシロンＲＩガンマ（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿００４０９７．１）のアミノ酸番号４５～８６、ＦｃイプシロンＲＩベータ（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿０００１３０．１）のアミノ酸番号２０１～２４４、ＣＤ３ガンマ（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿００００６４．１）のアミノ酸番号１３９～１８２、ＣＤ３デルタ（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿０００７２３．１）のアミノ酸番号１２８～１７１、ＣＤ３イプシロン（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿０００７２４．１）のアミノ酸番号１５３～２０７、ＣＤ５（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿０５５０２２．２）のアミノ酸番号４０２～４９５、００２２（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿００１７６２．２）のアミノ酸番号７０７～８４７、ＣＤ７９ａ（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿００１７７４．１）のアミノ酸番号１６６～２２６、ＣＤ７９ｂ（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿０００６１７．１）のアミノ酸番号１８２～２２９、およびＣＤ６６ｄ（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿００１８０６．２）のアミノ酸番号１７７～２５２の配列を有するペプチド、ならびにこれらのペプチドが有するのと同じ機能を有するそれらのバリアントが含まれる。本明細書に記載されるＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ　ＩＤまたはＧｅｎＢａｎｋのアミノ酸配列情報に基づくアミノ酸番号は、各タンパク質の前駆体（シグナルペプチド配列などを含む）の全長に基づいて番号付けされる。一実施形態では、ＣＡＲ中の細胞質シグナル伝達分子は、ＣＤ３ゼータに由来する細胞質シグナル伝達配列を含む。

【０１７１】

好ましい実施形態では、ＣＡＲの細胞内ドメインは、それ自体で、またはＣＡＲの状況で有用な任意の他の所望の細胞質ドメイン（複数可）と組み合わせて、ＣＤ３－ゼータシグナル伝達ドメインを含むように設計され得る。例えば、ＣＡＲの細胞内ドメインは、ＣＤ３ゼータ鎖部分および共刺激シグナル伝達領域を含み得る。共刺激シグナル伝達領域とは、共刺激分子の細胞内ドメインを含むＣＡＲの一部分を指す。共刺激分子は、抗原に対するリンパ球の効率的な応答のために必要とされる、抗原受容体またはそれらのリガンド以外の細胞表面分子である。かかる共刺激分子の例には、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、およびＣＤ８３と特異的に結合するリガンドなどが含まれる。かかる共刺激分子の具体的な非限定的な例には、ＣＤ２（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿００１７５８．２）のアミノ酸番号２３６～３５１、ＣＤ４（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿０００６０７．１）のアミノ酸番号４２１～４５８、ＣＤ５（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿０５５０２２．２）のアミノ酸番号４０２～４９５、ＣＤ８アルファ（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿００１７５９．３）のアミノ酸番号２０７～２３５、ＣＤ８３（ＧｅｎＢａｎｋ：ＡＡＡ３５６６４．１）のアミノ酸番号１９６～２１０、ＣＤ２８（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿００６１３０．１）のアミノ酸番号１８１～２２０、ＣＤ１３７（４－１ＢＢ、ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿００１５５２．２）のアミノ酸番号２１４～２５５、ＣＤ１３４（ＯＸ４０、ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿００３３１８．１）のアミノ酸番号２４１～２７７およびＩＣＯＳ（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿０３６２２４．１）のアミノ酸番号１６６～１９９の配列を有するペプチド、ならびにこれらのペプチドが有するのと同じ機能を有するそれらのバリアントが含まれる。したがって、本明細書の開示は、４－１ＢＢを共刺激シグナル伝達エレメントとして主に例示するが、他の共刺激エレメントが本開示の範囲内である。

【０１７２】

ＣＡＲの細胞質シグナル伝達部分内の細胞質シグナル伝達配列は、ランダムにまたは特定された順序で、互いに連結され得る。任意選択で、短いオリゴペプチドリンカーまたはポリペプチドリンカー、好ましくは２アミノ酸長と１０アミノ酸長との間が、連結を形成

し得る。グリシン－セリンダブレットは、特に適切なリンカーを提供する。
【０１７３】
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およびＣＤ２８のシグナル伝達ドメインを含むように設計される。別の実施形態では、細胞内ドメインは、ＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインおよび４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインを含むように設計される。さらに別の実施形態では、細胞内ドメインは、ＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインならびにＣＤ２８および４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインを含むように設計される。
【０１７４】
一実施形態では、ＣＡＲ中の細胞内ドメインは、４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインおよびＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインを含むように設計され、ここで、４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインは、配列番号４０に示される核酸配列を含み、ＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインは、配列番号４２に示される核酸配列を含む。
【０１７５】
一実施形態では、ＣＡＲ中の細胞内ドメインは、４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインおよびＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインを含むように設計され、ここで、４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインは、配列番号４１のアミノ酸配列をコードする核酸配列を含み、ＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインは、配列番号４３のアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。
【０１７６】
一実施形態では、ＣＡＲ中の細胞内ドメインは、４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインおよびＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインを含むように設計され、ここで、４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインは、配列番号４１に示されるアミノ酸配列を含み、ＣＤ３－ゼータのシグナル伝達ドメインは、配列番号４３に示されるアミノ酸配列を含む。
【０１７７】
５．ＣＡＲのさらなる記載
本明細書で開示されるＣＡＲの機能的部分もまた、本発明の範囲内に明示的に含まれる。用語「機能的部分」とは、ＣＡＲに関して使用する場合、本明細書に開示されるＣＡＲの１または複数の任意の一部または断片を指し、この一部または断片は、それがその一部であるＣＡＲ（親ＣＡＲ）の生物学的活性を保持する。機能的部分は、例えば、親ＣＡＲと類似の程度、同じ程度、またはより高い程度まで、標的細胞を認識する能力、または疾患を検出、処置もしくは予防する能力を保持する、ＣＲＡの一部を包含する。親ＣＡＲに関して、機能的部分は、例えば、親ＣＡＲの約１０％、２５％、３０％、５０％、６８％、８０％、９０％、９５％またはそれ超を構成し得る。
【０１７８】
機能的部分は、その部分のアミノ末端もしくはカルボキシ末端において、または両方の末端において、さらなるアミノ酸を含み得、このさらなるアミノ酸は、親ＣＡＲのアミノ酸配列中には見出されない。望ましくは、さらなるアミノ酸は、例えば、標的細胞を認識し、がんを検出し、がんを処置または予防するなどの、機能的部分の生物学的機能を妨害しない。より望ましくは、さらなるアミノ酸は、親ＣＡＲの生物学的活性と比較して、その生物学的活性を増強する。
【０１７９】
本明細書に開示されるＣＡＲの機能的バリアントが、本開示の範囲内に含まれる。用語「機能的バリアント」とは、本明細書で使用する場合、親ＣＡＲに対する実質的なまたは著しい配列同一性または類似性を有するＣＡＲ、ポリペプチドまたはタンパク質を指し、この機能的バリアントは、それがそのバリアントであるＣＡＲの生物学的活性を保持する。機能的バリアントは、例えば、親ＣＡＲと類似の程度、同じ程度、またはより高い程度まで、標的細胞を認識する能力を保持する、本明細書に記載されるＣＡＲ（親ＣＡＲ）のバリアントを包含する。親ＣＡＲに関して、機能的バリアントは、例えば、親ＣＡＲに対して、少なくとも約３０％、５０％、７５％、８０％、９０％、９８％またはそれ超、ア

ミノ酸配列が同一であり得る。

【０１８０】

機能的バリアントは、例えば、少なくとも１つの保存的アミノ酸置換を有する親ＣＡＲのアミノ酸配列を含み得る。あるいは、またはさらに、機能的バリアントは、少なくとも１つの非保存的アミノ酸置換を有する親ＣＡＲのアミノ酸配列を含み得る。この場合、非保存的アミノ酸置換は、機能的バリアントの生物学的活性を妨害も阻害もしないことが好ましい。非保存的アミノ酸置換は、機能的バリアントの生物学的活性を増強し得、その結果、機能的バリアントの生物学的活性は、親ＣＡＲと比較して増加される。

【０１８１】

ＣＡＲのアミノ酸置換は、好ましくは、保存的アミノ酸置換である。保存的アミノ酸置換は、当該分野で公知であり、これには、ある特定の物理的および／または化学的特性を有する１つのアミノ酸が、同じまたは類似の化学的または物理的特性を有する別のアミノ酸に交換されるアミノ酸置換が含まれる。例えば、保存的アミノ酸置換は、酸性／負に荷電した別の極性アミノ酸（例えば、ＡｓｐまたはＧｌｕ）を置換する酸性／負に荷電した極性アミノ酸、非極性側鎖を有する別のアミノ酸（例えば、Ａｌａ、Ｇｌｙ、Ｖａｌ、Ｈｅ、Ｌｅｕ、Ｍｅｔ、Ｐｈｅ、Ｐｒｏ、Ｔｒｐ、Ｃｙｓ、Ｖａｌなど）を置換する非極性側鎖を有するアミノ酸、塩基性／正に荷電した別の極性アミノ酸（例えば、Ｌｙｓ、Ｈｉｓ、Ａｒｇなど）を置換する塩基性／正に荷電した極性アミノ酸、極性側鎖を有する別の非荷電アミノ酸（例えば、Ａｓｎ、Ｇｉｎ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｔｙｒなど）を置換する極性側鎖を有する非荷電アミノ酸、ベータ分岐側鎖を有する別のアミノ酸（例えば、Ｈｅ、ＴｈｒおよびＶａｌ）を置換するベータ分岐側鎖を有するアミノ酸、芳香族側鎖を有する別のアミノ酸（例えば、Ｈｉｓ、Ｐｈｅ、ＴｒｐおよびＴｙｒ）を置換する芳香族側鎖を有するアミノ酸などであり得る。

【０１８２】

ＣＡＲは、本明細書に記載される特定されたアミノ酸配列（単数または複数）から本質的になり得、その結果、他の構成要素、例えば、他のアミノ酸は、機能的バリアントの生物学的活性を著しくは変化させない。

【０１８３】

ＣＡＲ（機能的部分および機能的バリアントを含む）は、任意の長さであり得る、即ち、任意の数のアミノ酸を含み、但し、ＣＡＲ（またはその機能的部分もしくは機能的バリアント）は、それらの生物学的活性、例えば、抗原に特異的に結合する能力、哺乳動物において罹患細胞を検出する能力、または哺乳動物において疾患を処置もしくは予防する能力などを保持する。例えば、ＣＡＲは、約５０～約５０００アミノ酸長、例えば、５０、７０、７５、１００、１２５、１５０、１７５、２００、３００、４００、５００、６００、７００、８００、９００、１０００またはそれ超アミノ酸長であり得る。

【０１８４】

ＣＡＲ（本発明の機能的部分および機能的バリアントを含む）は、１または複数の天然に存在するアミノ酸の代わりに合成アミノ酸を含み得る。かかる合成アミノ酸は、当該分野で公知であり、これには、例えば、アミノシクロヘキサンカルボン酸、ノルロイシン、－アミノ　ｎ－デカン酸、ホモセリン、Ｓ－アセチルアミノメチル－システイン、トランス－３－ヒドロキシプロリンおよびトランス－４－ヒドロキシプロリン、４－アミノフェニルアラニン、４－ニトロフェニルアラニン、４－クロロフェニルアラニン、４－カルボキシフェニルアラニン、β－フェニルセリン、β－ヒドロキシフェニルアラニン、フェニルグリシン、ａ－ナフチルアラニン、シクロヘキシルアラニン、シクロヘキシルグリシン、インドリン－２－カルボン酸、１，２，３，４－テトラヒドロイソキノリン－３－カルボン酸、アミノマロン酸、アミノマロン酸モノアミド、Ｎ’－ベンジル－Ｎ’－メチル－リシン、Ｎ’，Ｎ’－ジベンジル－リシン、６－ヒドロキシリシン、オルニチン、－アミノシクロペンタンカルボン酸、ａ－アミノシクロヘキサンカルボン酸、ａ－アミノシクロヘプタンカルボン酸、ａ－（２－アミノ－２－ノルボルナン）－カルボン酸、γ－ジアミノ酪酸、β－ジアミノプロピオン酸、ホモフェニルアラニンおよびａ－ｔｅｒｔ－ブチルグリ

シンが含まれる。

【０１８５】

ＣＡＲ（機能的部分および機能的バリアントを含む）は、グリコシル化、アミド化、カルボキシル化、リン酸化、エステル化、Ｎ－アシル化、例えばジスルフィド架橋を介した環化、もしくは酸付加塩へ変換および／または任意選択で二量体化もしくは重合、あるいはコンジュゲートされ得る。

【０１８６】

ＣＡＲ（その機能的部分および機能的バリアントを含む）は、当該分野で公知の方法によって得られ得る。ＣＡＲは、ポリペプチドまたはタンパク質を作製する任意の適切な方法によって作製され得る。ポリペプチドおよびタンパク質をデノボ合成する適切な方法は、Ｃｈａｎら、Ｆｍｏｃ Ｓｏｌｉｄ Ｐｈａｓｅ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ、Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｏｘｆｏｒｄ、Ｕｎｉｔｅｄ Ｋｉｎｇｄｏｍ、２０００年；Ｐｅｐｔｉｄｅ ａｎｄ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｄｒｕｇ Ａｎａｌｙｓｉｓ、Ｒｅｉｄ，Ｒ．編、Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．、２０００年；Ｅｐｉｔｏｐｅ Ｍａｐｐｉｎｇ、Ｗｅｓｔｗｏｏｄら編、Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｏｘｆｏｒｄ、Ｕｎｉｔｅｄ Ｋｉｎｇｄｏｍ、２００１年；および米国特許第５，４４９，７５２号などの参考文献に記載されている。また、ポリペプチドおよびタンパク質は、標準的な組換え法を使用し、本明細書に記載される核酸を用いて組換え産生可能である。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、３ｒｄ ｅｄ．、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、ＮＹ ２００１；およびＡｕｓｕｂｅｌら、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ ａｎｄ Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、ＮＹ、１９９４を参照のこと。さらに、一部のＣＡＲ（機能性部分およびその機能性バリアントを含む）は、植物、細菌、昆虫、哺乳動物、例えばラット、ヒトなどの供給源から単離および／または精製することができる。単離および精製方法は当技術分野で周知である。あるいは、本明細書に記載されるＣＡＲ（機能性部分およびその機能性バリアントを含む）を、企業が商業的に合成することもできる。この点で、ＣＡＲは合成であっても、組換えであっても、単離されていても、かつ／または精製されていてもよい。

【０１８７】

Ｂ．抗体および抗原結合性断片

一実施形態は、ＣＡＲ、ＣＡＲを発現するＴ細胞、本明細書で開示された抗原のうち１または複数に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性ドメインもしくは部分をさらに提供する。本明細書で使用する場合、「ＣＡＲを発現するＴ細胞」または「ＣＡＲ　Ｔ細胞」とは、ＣＡＲを発現するＴ細胞を意味し、例えば、ＣＡＲの抗体由来の標的化ドメインによって決定される抗原特異性を有する。

【０１８８】

本明細書で使用する場合、「抗原結合性ドメイン」は、抗体およびその抗原結合性断片を含み得る。用語「抗体」は、最も広い意味で本明細書において使用され、それらが所望の抗原結合活性を示す限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多特異的抗体（例えば、二重特異的抗体）、およびそれらの抗原結合性断片を含むがこれらに限定されない種々の抗体構造を包含する。抗体の非限定的な例には、例えば、当該分野で公知のインタクトな免疫グロブリン、ならびに抗原に対する結合親和性を保持するそのバリアントおよび断片が含まれる。

【０１８９】

「モノクローナル抗体」は、実質的に均質な抗体の集団から得られた抗体である、即ち、集団を構成する個々の抗体は、微量で存在し得る可能な天然に存在する変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、単一の抗原性エピトープに対するものである。修飾語「モノクローナル」は、抗体の実質的に均質な集団から得られると

いう抗体の特徴を示すのであって、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とすると解釈すべきではない。一部の例では、モノクローナル抗体は、単一クローンのＢリンパ球によって産生された抗体、または単一の抗体（またはその抗原結合性断片）の抗体の軽鎖および重鎖可変領域をコードする核酸がトランスフェクトされた細胞、もしくはその子孫によって産生された抗体である。一部の例では、モノクローナル抗体は、対象から単離される。モノクローナル抗体は、抗原結合または他の免疫グロブリン機能に対する影響を実質的に有さない保存的アミノ酸置換を有し得る。モノクローナル抗体の産生の例示的な方法は公知であり、例えば、Ｈａｒｌｏｗ ＆ Ｌａｎｅ、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、第２版 Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎｓ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（２０１３年）を参照のこと。

【０１９０】

典型的には、免疫グロブリンは、ジスルフィド結合によって相互接続された重（Ｈ）鎖および軽（Ｌ）鎖を有する。免疫グロブリン遺伝子は、カッパ、ラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロンおよびミュー定常領域遺伝子、ならびに無数の免疫グロブリン可変ドメイン遺伝子を含む。２つの型の軽鎖、ラムダ（λ）およびカッパ（κ）が存在する。抗体分子の機能的活性を決定する５つの主要な重鎖クラス（またはアイソタイプ）：ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＧ、ＩｇＡおよびＩｇＥが存在する。

【０１９１】

各重鎖および軽鎖は、定常領域（または定常ドメイン）および可変領域（または可変ドメインを含有する；例えば、Ｋｉｎｄｔら、Ｋｕｂｙ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、第６版、Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏ．、９１頁（２００７年）を参照のこと）。いくつかの実施形態では、重鎖および軽鎖の可変領域は、組み合わさって、抗原に特異的に結合する。さらなる実施形態では、重鎖可変領域のみが必要とされる。例えば、重鎖のみからなる天然に存在するラクダ科動物（camelid）抗体は、軽鎖の非存在下で機能的かつ安定である（例えば、Ｈａｍｅｒｓ－Ｃａｓｔｅｒｍａｎら、Ｎａｔｕｒｅ、３６３巻：４４６～４４８頁、１９９３年；Ｓｈｅｒｉｆｆら、Ｎａｔ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．、３巻：７３３～７３６頁、１９９６年を参照のこと）。「ＶＨ」または「ＶＨ」への言及は、抗原結合性断片、例えば、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、ｄｓＦｖまたはＦａｂのものを含む、抗体重鎖の可変領域を指す。「ＶＬ」または「ＶＬ」への言及は、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、ｄｓＦｖまたはＦａｂのものを含む、抗体軽鎖の可変ドメインを指す。

【０１９２】

軽鎖および重鎖の可変領域は、「相補性決定領域」または「ＣＤＲ」とも呼ばれる３つの超可変領域によって中断された「フレームワーク」領域を含有する（例えば、Ｋａｂａｔら、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、１９９１年を参照のこと）。異なる軽鎖または重鎖のフレームワーク領域の配列は、種内で比較的保存されている。構成成分である軽鎖および重鎖の組み合わされたフレームワーク領域である抗体のフレームワーク領域は、３次元空間にＣＤＲを位置付けアラインさせるように機能する。

【０１９３】

ＣＤＲは主に、抗原のエピトープへの結合を担う。所与のＣＤＲのアミノ酸配列境界は、Ｋａｂａｔら（「Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ」、第５版 Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、ＭＤ、１９９１年；「Ｋａｂａｔ」番号付けスキーム）、Ａｌ－Ｌａｚｉｋａｎｉら、（ＪＭＢ ２７３巻、９２７～９４８頁、１９９７年；「Ｃｈｏｔｈｉａ」番号付けスキーム）、およびＬｅｆｒａｎｃら（「ＩＭＧＴ ｕｎｉｑｕｅ ｎｕｍｂｅｒｉｎｇ ｆｏｒ ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ ａｎｄ Ｔ ｃｅｌｌ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｖａｒｉａｂｌｅ ｄｏｍａｉｎｓ ａｎｄ Ｉｇ ｓｕｐｅｒｆａｍｉｌｙ Ｖ－ｌｉｋｅ ｄｏｍａｉｎｓ」、Ｄｅｖ．Ｃｏｍｐ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２７巻：５５～７７頁、２００３年；「

ＩＭＧＴ」番号付けスキーム）に記載されるものを含む、いくつかの周知のスキームのいずれかを使用して容易に決定され得る。各鎖のＣＤＲは、典型的には、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３（Ｎ末端からＣ末端へ）と呼ばれ、典型的には、特定のＣＤＲが位置する鎖によっても同定される。したがって、ＶＨ　ＣＤＲ３は、それが見出される抗体の重鎖の可変ドメイン由来のＣＤＲ３であるが、ＶＬ　ＣＤＲ１は、それが見出される抗体の軽鎖の可変ドメイン由来のＣＤＲ１である。軽鎖ＣＤＲは、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３と呼ばれる場合もある。重鎖ＣＤＲは、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３と呼ばれる場合もある。

【０１９４】

「抗原結合性断片」は、同族抗原を特異的に認識する能力を保持する全長抗体の部分、ならびにかかる部分の種々の組合せである。抗原結合性断片の非限定的な例には、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）２；ダイアボディ（ｄｉａｂｏｄｙ）；直鎖状抗体；単鎖抗体分子（例えば、ｓｃＦｖ）；および抗体断片から形成された多特異的抗体が含まれる。抗体断片には、抗体全体の改変によって産生された抗原結合性断片、または組換えＤＮＡ方法論を使用してｄｅ　ｎｏｖｏで合成された抗原結合性断片が含まれる（例えば、ＫｏｎｔｅｒｍａｎｎおよびＤｕｂｅｌ（編）、Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ、１～２巻、第２版、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ　Ｐｒｅｓｓ、２０１０年を参照のこと）。

【０１９５】

単鎖抗体（ｓｃＦｖ）は、適切なポリペプチドリンカーによって連結された１または複数の抗体（複数可）のＶＨおよびＶＬドメインを遺伝学的に融合された単鎖分子として含有する遺伝子操作された分子である（例えば、Ｂｉｒｄら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４２巻：４２３～４２６頁、１９８８年；Ｈｕｓｔｏｎら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．、８５巻：５８７９～５８８３頁、１９８８年；Ａｈｍａｄら、Ｃｌｉｎ．Ｄｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２０１２年、ｄｏｉ：１０．１１５５／２０１２／９８０２５０；Ｍａｒｂｒｙ、ＩＤｒｕｇｓ、１３巻：５４３～５４９頁、２０１０年を参照のこと）。ｓｃＦｖ中のＶＨドメインおよびＶＬドメインの分子内配向は、典型的には、ｓｃＦｖにとって決定的ではない。したがって、両方の可能な配置（ＶＨドメイン－リンカードメイン－ＶＬドメイン；ＶＬドメイン－リンカードメイン－ＶＨドメイン）を有するｓｃＦｖが使用され得る。

【０１９６】

ｄｓＦｖでは、重鎖および軽鎖の可変鎖は、鎖の会合を安定化させるために、ジスルフィド結合を導入するように変異されている。ＶＨおよびＶＬドメインが、単一のポリペプチド鎖上で発現されるが、同じ鎖上の２つのドメイン間のペアリングを可能にするには短すぎるリンカーを使用し、それによって、そのドメインを別の鎖の相補的ドメインとペアリングさせ、２つの抗原結合部位を創出する、二価の二重特異的抗体であるダイアボディもまた含まれる（例えば、Ｈｏｌｌｉｇｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．、９０巻：６４４４～６４４８頁、１９９３年；Ｐｏｌｊａｋら、Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ、２巻：１１２１～１１２３頁、１９９４年を参照のこと）。

【０１９７】

抗体は、キメラ抗体（例えば、ヒト化マウス抗体）およびヘテロコンジュゲート抗体（例えば、二重特異的抗体）などの、遺伝子操作された形態もまた含む。Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃａｔａｌｏｇ　ａｎｄ　Ｈａｎｄｂｏｏｋ、１９９４～１９９５年（Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏ．、Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、ＩＬ）；Ｋｕｂｙ，Ｊ．、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、第３版、Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ　＆　Ｃｏ．、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、１９９７年もまた参照のこと。

【０１９８】

天然に存在しない抗体は、固相ペプチド合成を使用して構築され得、組換え産生され得、または、例えば、参照により本明細書に組み込まれるＨｕｓｅら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４６巻：１２７５～１２８１頁（１９８９年）に記載されるように、可変重鎖および可変

軽鎖からなるコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって得られ得る。例えば、キメラ、ヒト化、ＣＤＲ移植、単鎖および二機能性抗体を作製するこれらおよび他の方法は、当業者に周知である（ＷｉｎｔｅｒおよびＨａｒｒｉｓ、Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｔｏｄａｙ １４巻：２４３～２４６頁（１９９３年）；Ｗａｒｄら、Ｎａｔｕｒｅ ３４１巻：５４４～５４６頁（１９８９年）；ＨａｒｌｏｗおよびＬａｎｅ、上記、１９８８年；Ｈｉｌｙａｒｄら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ：Ａ ｐｒａｃｔｉｃａｌ ａｐｐｒｏａｃｈ（ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ １９９２年）；Ｂｏｒｒａｂｅｃｋ、Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ、第２版（Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ １９９５年）；その各々は、参照により本明細書に組み込まれる）。

【０１９９】

参照抗体と「同じエピトープに結合する抗体」とは、競合アッセイにおいてその抗原への参照抗体の結合を５０％またはそれ超遮断する抗体を指し、逆に、参照抗体は、競合アッセイにおいてその抗原への抗体の結合を５０％またはそれ超遮断する。抗体競合アッセイは公知であり、例示的な競合アッセイが本明細書で提供される。

【０２００】

「ヒト化」抗体または抗原結合性断片は、ヒトフレームワーク領域および非ヒト（例えば、マウス、ラットまたは合成）抗体または抗原結合性断片由来の１または複数のＣＤＲを含む。ＣＤＲを提供する非ヒト抗体または抗原結合性断片は、「ドナー」と呼ばれ、フレームワークを提供するヒト抗体または抗原結合性断片は、「アクセプター」と呼ばれる。一実施形態では、全てのＣＤＲが、ヒト化免疫グロブリン中のドナー免疫グロブリン由来である。定常領域は、存在する必要はないが、存在する場合には、ヒト免疫グロブリン定常領域と実質的に同一、例えば、少なくとも約８５～９０％、例えば、約９５％またはそれ超同一であり得る。したがって、ヒト化抗体または抗原結合性断片の全ての部分は、おそらくはＣＤＲを除いて、天然ヒト抗体配列の対応する部分と実質的に同一である。

【０２０１】

「キメラ抗体」は、典型的には異なる種のものである２つの異なる抗体に由来する配列を含む抗体である。一部の例では、キメラ抗体は、１つのヒト抗体由来の１または複数のＣＤＲおよび／またはフレームワーク領域ならびに別のヒト抗体由来のＣＤＲおよび／またはフレームワーク領域を含む。

【０２０２】

「完全ヒト抗体」または「ヒト抗体」は、ヒトゲノム由来の（またはヒトゲノムに由来する）配列を含むが、別の種由来の配列を含まない抗体である。一部の実施形態では、ヒト抗体は、ヒトゲノム由来の（またはヒトゲノムに由来する）ＣＤＲ、フレームワーク領域および（存在する場合には）Ｆｃ領域を含む。ヒト抗体は、例えば、ファージディスプレイによって、ヒトゲノムに由来する配列に基づいて配列を創出するためのテクノロジーを使用して、またはトランスジェニック動物を使用して、同定および単離され得る（例えば、Ｂａｒｂａｓら Ｐｈａｇｅ ｄｉｓｐｌａｙ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕｅｌ．第１版 Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ：Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、２００４年 Ｐｒｉｎｔ．；Ｌｏｎｂｅｒｇ、Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．、２３巻：１１１７～１１２５頁、２００５年；Ｌｏｎｅｎｂｅｒｇ、Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２０巻：４５０～４５９頁、２００８年を参照のこと）。

【０２０３】

抗体は、１または複数の結合部位を有し得る。１よりも多い結合部位が存在する場合、これらの結合部位は、互いに同一であってもよく、異なってもよい。例えば、天然に存在する免疫グロブリンは、２つの同一の結合部位を有し、単鎖抗体またはＦａｂ断片は、１つの結合部位を有するが、二重特異的または二機能性抗体は、２つの異なる結合部位を有する。

【０２０４】

ＣＡＲの任意の機能的部分に結合する能力について抗体を試験する方法は、当該分野で公知であり、これには、任意の抗体－抗原結合アッセイ、例えば、ラジオイムノアッセイ

（ＲＩＡ）、ＥＬＩＳＡ、ウェスタンブロット、免疫沈降および競合阻害アッセイなどが含まれる（例えば、Ｊａｎｅｗａｙら、以下、米国特許出願公開第２００２／０１９７２６６号Ａｌ、および米国特許第７，３３８，９２９号を参照のこと）。

【０２０５】

また、ＣＡＲ、ＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体またはその抗原結合性部分は、検出可能な標識、例えば、放射性同位体、フルオロフォア（例えば、フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）、フィコエリトリン（ＰＥ））、酵素（例えば、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ）および元素粒子（例えば、金粒子）などを含むように改変され得る。

【０２０６】

Ｃ．コンジュゲート

ＣＡＲ、ＣＡＲを発現するＴ細胞、または本明細書に開示された抗原のうち１もしくは複数に対して特異的なモノクローナル抗体もしくはその抗原結合性断片は、当業者に公知のいくつもの手段を使用して、エフェクター分子または検出可能なマーカーなどの薬剤にコンジュゲートされ得る。共有結合および非共有結合の両方の手段が使用され得る。コンジュゲートには、本明細書に開示された抗原のうち１または複数に特異的に結合する抗体または抗原結合性断片へのエフェクター分子または検出可能なマーカーの共有結合的連結が存在する分子を含むがこれらに限定されない。当業者は、化学療法剤、抗血管新生剤、毒素、放射活性剤、例えば、^{125}Ｉ、^{32}Ｐ、^{14}Ｃ、^{3}Ｈおよび^{35}Ｓ、ならびに他の標識、標的部分およびリガンドなどを含む（がこれらに限定されない）種々のエフェクター分子および検出可能なマーカーが使用され得ることを理解する。

【０２０７】

特定のエフェクター分子または検出可能なマーカーの選択は、特定の標的分子または細胞、および所望の生物学的効果に依存する。したがって、例えば、エフェクター分子は、特定の標的細胞（例えば、腫瘍細胞）の死をもたらすために使用される細胞毒であり得る。

【０２０８】

エフェクター分子または検出可能なマーカーを抗体または抗原結合性断片に結合させるための手順は、エフェクターの化学構造に従って変動する。ポリペプチドは、典型的には、種々の官能基；例えば、カルボン酸（ＣＯＯＨ）、遊離アミン（－NH_2）またはスルフヒドリル（－ＳＨ）基を含有し、これらは、エフェクター分子または検出可能なマーカーの結合を生じるための、抗体上の適切な官能基との反応のために利用可能である。あるいは、抗体または抗原結合性断片は、さらなる反応性官能基を曝露または結合するために誘導体化される。誘導体化は、Ｐｉｅｒｃｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏｍｐａｎｙ、Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、ＩＬから入手可能なものなどの、いくつかの公知のリンカー分子のいずれかの結合を含み得る。リンカーは、抗体または抗原結合性断片をエフェクター分子または検出可能なマーカーに結合させるために使用される任意の分子であり得る。リンカーは、抗体または抗原結合性断片およびエフェクター分子または検出可能なマーカーの両方への共有結合を形成することが可能である。適切なリンカーは、当業者に周知であり、これには、直鎖もしくは分岐鎖炭素リンカー、複素環式炭素リンカーまたはペプチドリンカーが含まれるがこれらに限定されない。抗体または抗原結合性断片およびエフェクター分子または検出可能なマーカーがポリペプチドである場合、リンカーは、それらの側基を介して（例えば、システインへのジスルフィド連結を介して）構成成分アミノ酸に、または末端アミノ酸のアルファ炭素のアミノおよびカルボキシル基に結合され得る。

【０２０９】

いくつかの実施形態では、リンカーは、存在する場合には、リンカーのサイズを増加させ、その結果、エフェクター分子または検出可能なマーカーと抗体または抗原結合性断片との間の距離が増加される、スペーサーエレメントを含み得る。例示的なスペーサーは、当業者に公知であり、これには、米国特許第７，９６４，５６６号、米国特許第７，４９８，２９８号、米国特許第６，８８４，８６９号、米国特許第６，３２３，３１５号、米国特許第６，２３９，１０４号、米国特許第６，０３４，０６５号、米国特許第５，７８

０，５８８号、米国特許第５，６６５，８６０号、米国特許第５，６６３，１４９号、米国特許第５，６３５，４８３号、米国特許第５，５９９，９０２号、米国特許第５，５５４，７２５号、米国特許第５，５３０，０９７号、米国特許第５，５２１，２８４号、米国特許第５，５０４，１９１号、米国特許第５，４１０，０２４号、米国特許第５，１３８，０３６号、米国特許第５，０７６，９７３号、米国特許第４，９８６，９８８号、米国特許第４，９７８，７４４号、米国特許第４，８７９，２７８号、米国特許第４，８１６，４４４号および米国特許第４，４８６，４１４号、ならびに米国特許出願公開第２０１１０２１２０８８号および米国特許出願公開第２０１１００７０２４８号中に列挙されるものが含まれ、その各々は、その全内容が参照により本明細書に組み込まれる。

【０２１０】

一部の実施形態では、リンカーは、細胞内条件下で切断可能であり、その結果、リンカーの切断は、細胞内環境中で、抗体または抗原結合性断片からエフェクター分子または検出可能なマーカーを放出させる。さらに他の実施形態では、リンカーは切断不能であり、エフェクター分子または検出可能なマーカーは、例えば、抗体分解によって放出される。一部の実施形態では、リンカーは、細胞内環境中（例えば、リソソームまたはエンドソームまたはカベオラ（ｃａｖｅｏｌｅａ）内）に存在する切断剤によって切断可能である。リンカーは、例えば、リソソームまたはエンドソームプロテアーゼを含むがこれらに限定されない細胞内ペプチダーゼまたはプロテアーゼ酵素によって切断されるペプチドリンカーであり得る。一部の実施形態では、ペプチドリンカーは、少なくとも２アミノ酸長または少なくとも３アミノ酸長である。しかし、リンカーは、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４または１５アミノ酸長、例えば、１～２、１～３、２～５、３～１０、３～１５、１～５、１～１０、１～１５アミノ酸長であり得る。プロテアーゼには、カテプシンＢおよびＤならびにプラスミンが含まれ得、その全ては、ジペプチド薬物誘導体を加水分解して、標的細胞の内側での活性薬物の放出を生じることが公知である（例えば、ＤｕｂｏｗｃｈｉｋおよびＷａｌｋｅｒ、１９９９年、Ｐｈａｒｍ．Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ　８３巻：６７～１２３頁を参照のこと）。例えば、チオール依存的プロテアーゼであるカテプシンＢによって切断可能なペプチドリンカーが使用され得る（例えば、フェニルアラニン－ロイシンまたはグリシン－フェニルアラニン－ロイシン－グリシンリンカー）。かかるリンカーの他の例は、例えば、参照により本明細書に組み込まれる米国特許第６，２１４，３４５号に記載されている。具体的な実施形態では、細胞内プロテアーゼによって切断可能なペプチドリンカーは、バリン－シトルリン（Ｃｉｔｒｕｌｉｎｅ）リンカーまたはフェニルアラニン－リシンリンカーである（例えば、バリン－シトルリンリンカーを用いたドキソルビシンの合成を記載する米国特許第６，２１４，３４５号を参照のこと）。

【０２１１】

他の実施形態では、切断可能なリンカーは、ｐＨ感受性、即ち、ある特定のｐＨ値において加水分解に対して感受性である。典型的には、ｐＨ感受性リンカーは、酸性条件下で加水分解可能である。例えば、リソソームにおいて加水分解可能な酸不安定性リンカー（例えば、ヒドラゾン、セミカルバゾン、チオセミカルバゾン、シス－アコニットアミド（cis-aconitic amide）、オルトエステル、アセタール、ケタールなど）が使用され得る（例えば、米国特許第５，１２２，３６８号；米国特許第５，８２４，８０５号；米国特許第５，６２２，９２９号；ＤｕｂｏｗｃｈｉｋおよびＷａｌｋｅｒ、１９９９年、Ｐｈａｒｍ．Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ　８３巻：６７～１２３頁；Ｎｅｖｉｌｌｅら、１９８９年、Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６４巻：１４６５３～１４６６１頁を参照のこと）。かかるリンカーは、血液中などの中性のｐＨ条件下で比較的安定であるが、リソソームのおよそのｐＨであるｐＨ５．５または５．０を下回るｐＨでは不安定である。ある特定の実施形態では、加水分解可能なリンカーは、チオエーテルリンカー（例えば、アシルヒドラゾン結合を介して治療剤に結合されたチオエーテルなど）である（例えば、米国特許第５，６２２，９２９号を参照のこと）。

【０２１２】

他の実施形態では、リンカーは、還元条件下で切断可能である（例えば、ジスルフィドリンカー）。種々のジスルフィドリンカーが当該分野で公知であり、これには、例えば、ＳＡＴＡ（Ｎ－スクシンイミジル－Ｓ－アセチルチオアセテート）、ＳＰＤＰ（Ｎ－スクシンイミジル－３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート）、ＳＰＤＢ（Ｎ－スクシンイミジル－３－（２－ピリジルジチオ）ブチレート）およびＳＭＰＴ（Ｎ－スクシンイミジル－オキシカルボニル－アルファ－メチル－アルファ－（２－ピリジル－ジチオ）トルエン）－、ＳＰＤＢおよびＳＭＰＴを使用して形成され得るものが含まれる（例えば、Ｔｈｏｒｐｅら、１９８７年、Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．４７巻：５９２４～５９３１頁；Ｗａｗｒｚｙｎｃｚａｋら、Ｉｍｍｕｎｏｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ：Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ　ｉｎ　Ｒａｄｉｏｉｍａｇｅｒｙ　ａｎｄ　Ｔｈｅｒａｐｙ　ｏｆ　Ｃａｎｃｅｒ（Ｃ．Ｗ．Ｖｏｇｅｌ編、Ｏｘｆｏｒｄ　Ｕ．Ｐｒｅｓｓ、１９８７年）；Ｐｈｉｌｌｉｐｓら、Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．６８巻：９２８０～９２９０頁、２００８年を参照のこと）。米国特許第４，８８０，９３５号もまた参照のこと。

【０２１３】

さらに他の具体的な実施形態では、リンカーは、マロネートリンカー（Ｊｏｈｎｓｏｎら、１９９５年、Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．１５巻：１３８７～９３頁）、マレイミドベンゾイルリンカー（Ｌａｕら、１９９５年、Ｂｉｏｏｒｇ－Ｍｅｄ－Ｃｈｅｍ．３巻（１０号）：１２９９～１３０４頁）または３’－Ｎ－アミドアナログ（Ｌａｕら、１９９５年、Ｂｉｏｏｒｇ－Ｍｅｄ－Ｃｈｅｍ．３巻（１０号）：１３０５～１２頁）である。

【０２１４】

さらに他の実施形態では、リンカーは切断不能であり、エフェクター分子または検出可能なマーカーは、抗体分解によって放出される（その全内容が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２００５／０２３８６４９号を参照のこと）。

【０２１５】

いくつかの実施形態では、リンカーは、細胞外環境中での切断に対して抵抗性である。例えば、コンジュゲートが細胞外環境中（例えば、血漿中）に存在する場合、コンジュゲートのサンプル中のリンカーの約２０％以下、約１５％以下、約１０％以下、約５％以下、約３％以下、または約１％以下が切断される。リンカーが細胞外環境中での切断に対して抵抗性であるか否かは、例えば、目的のリンカーを含有するコンジュゲートを、所定の期間（例えば、２、４、８、１６または２４時間）にわたって血漿と共にインキュベートし、次いで、血漿中に存在する遊離のエフェクター分子または検出可能なマーカーの量を定量することによって決定され得る。コンジュゲート中で使用され得る種々の例示的なリンカーは、ＷＯ２００４／０１０９５７、米国特許出願公開第２００６／００７４００８号、米国特許出願公開第２００５／０２３８６４９号および米国特許出願公開第２００６／００２４３１７号に記載されており、その各々は、その全内容が参照により本明細書に組み込まれる。

【０２１６】

いくつかの実施形態では、ＣＡＲのコンジュゲート、ＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体、またはその抗原結合性部分、および１または複数の小分子毒素、例えば、カリチアマイシン、マイタンシノイド（ｍａｙｔａｎｓｉｎｏｉｄ）、ドラスタチン、アウリスタチン（ａｕｒｉｓｔａｔｉｎ）、トリコテシンおよびＣＣ１０６５ならびに毒素活性を有するこれらの毒素の誘導体が提供される。

【０２１７】

マイタンシノイド毒素部分としての使用に適切なマイタンシン（ｍａｙｔａｎｓｉｎｅ）化合物は、当該分野で周知であり、公知の方法に従って天然供給源から単離され得、遺伝子操作技術（Ｙｕら（２００２年）ＰＮＡＳ　９９巻：７９６８～７９７３頁を参照のこと）、または公知の方法に従って合成により調製されたマイタンシノール（ｍａｙｔａｎｓｉｎｏｌ）およびマイタンシノールアナログを使用して産生され得る。マイタンシノイドは、チューブリン重合を阻害することによって作用する有糸分裂（ｍｉｔｏｔｉｃ）阻害剤である。マイタンシンは、東アフリカの低木Ｍａｙｔｅｎｕｓ　ｓｅｒｒａｔ

ａから最初に単離された（米国特許第３，８９６，１１１号）。引き続いて、ある特定の微生物もまた、マイタンシノールおよびＣ－３マイタンシノールエステルなどのマイタンシノイドを産生することが発見された（米国特許第４，１５１，０４２号）。合成マイタンシノールならびにその誘導体およびアナログは、例えば、米国特許第４，１３７，２３０号；米国特許第４，２４８，８７０号；米国特許第４，２５６，７４６号；米国特許第４，２６０，６０８号；米国特許第４，２６５，８１４号；米国特許第４，２９４，７５７号；米国特許第４，３０７，０１６号；米国特許第４，３０８，２６８号；米国特許第４，３０８，２６９号；米国特許第４，３０９，４２８号；米国特許第４，３１３，９４６号；米国特許第４，３１５，９２９号；米国特許第４，３１７，８２１号；米国特許第４，３２２，３４８号；米国特許第４，３３１，５９８号；米国特許第４，３６１，６５０号；米国特許第４，３６４，８６６号；米国特許第４，４２４，２１９号；米国特許第４，４５０，２５４号；米国特許第４，３６２，６６３号；および米国特許第４，３７１，５３３号に開示されており，その各々は、参照により本明細書に組み込まれる。マイタンシノイドを含有するコンジュゲート、それを作製する方法、およびそれらの治療的使用は、例えば、米国特許第５，２０８，０２０号；米国特許第５，４１６，０６４号；米国特許第６，４４１，１６３号および欧州特許ＥＰ０　４２５　２３５　Ｂ１に開示されており、それらの開示は、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【０２１８】

さらなる毒素が、ＣＡＲ、ＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体、またはその抗原結合性部分と共に使用され得る。例示的な毒素には、Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ外毒素（ＰＥ）、ヒマ毒、アブリン、ジフテリア毒素およびそのサブユニット、リボトキシン（ｒｉｂｏｔｏｘｉｎ）、リボヌクレアーゼ、サポリンおよびカリチアマイシン、ならびにボツリヌス毒素Ａ～Ｆが含まれる。これらの毒素は、当該分野で周知であり、多くは、商業的供給源（例えば、Ｓｉｇｍａ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏｍｐａｎｙ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）から容易に入手可能である。企図される毒素には、これらの毒素のバリアントも含まれる（例えば、米国特許第５，０７９，１６３号および米国特許第４，６８９，４０１号を参照のこと）。

【０２１９】

サポリンは、リボソーム複合体の６０Ｓ部分を不活性化することによってタンパク質合成を破壊する、Ｓａｐｏｎａｒｉａ　ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓに由来する毒素である（Ｓｔｉｒｐeら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、１０巻：４０５～４１２頁、１９９２年）。しかし、この毒素は、細胞中への特異的進入のための機構を有さず、したがって、細胞によって効率的に取り込まれるために、内在化される細胞表面タンパク質を認識する抗体または抗原結合性断片へのコンジュゲートを必要とする。

【０２２０】

ジフテリア毒素は、Ｃｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ　ｄｉｐｈｔｈｅｒｉａｅから単離される。典型的には、免疫毒素における使用のためのジフテリア毒素は、非特異的毒性を低減または排除するために変異される。完全な酵素活性を有するが非特異的毒性が顕著に低減された、ＣＲＭ１０７として公知の変異体は、１９７０年代以降公知であり（ＬａｉｒdおよびＧｒｏｍａｎ、Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．１９巻：２２０頁、１９７６年）、ヒト臨床試験において使用されてきた。米国特許第５，７９２，４５８号および米国特許第５，２０８，０２１号を参照のこと。

【０２２１】

ヒマ毒は、Ｒｉｃｉｎｕｓ　ｃｏｍｍｕｎｉｓ（トウゴマ）由来のレクチンＲＣＡ６０である。ヒマ毒の例については、米国特許第５，０７９，１６３号および米国特許第４，６８９，４０１号を参照のこと。Ｒｉｃｉｎｕｓ　ｃｏｍｍｕｎｉｓアグルチニン（ＲＣＡ）は、それぞれ、およそ６５ｋＤおよび１２０ｋＤの分子量に従って、RCA_{60}およびRCA_{120}と称される２つの形態で存在する（ＮｉｃｈｏｌｓｏｎおよびＢｌａｕｓｔｅｉｎ、Ｊ．Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ　２６６巻：５４３頁、１９７２年）。Ａ鎖は、タンパク質合成の不活性化および細胞の死滅を担う。Ｂ鎖は、ヒマ毒を

細胞表面ガラクトース残基に結合させ、細胞質ゾル中へのＡ鎖の輸送を促進する（Ｏｌｓｎｅｓら、Ｎａｔｕｒｅ　２４９巻：６２７～６３１頁、１９７４年および米国特許第３，０６０，１６５号）。

【０２２２】

リボヌクレアーゼもまた、免疫毒素としての使用のために標的化分子にコンジュゲートされてきた（Ｓｕｚｕｋｉら、Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．１７巻：２６５～７０頁、１９９９年を参照のこと）。例示的なリボトキシン、例えば、α－サルシン（α－ｓａｒｃｉｎ）およびレストリクトシン（ｒｅｓｔｒｉｃｔｏｃｉｎ）は、例えば、Ｒａｔｈｏｒｅら、Ｇｅｎｅ　１９０巻：３１～５頁、１９９７年；ならびにＧｏｙａｌおよびＢａｔｒａ、Ｂｉｏｃｈｅｍ．３４５巻２部：２４７～５４頁、２０００年で議論されている。カリチアマイシンは、Ｍｉｃｒｏｍｏｎｏｓｐｏｒａ　ｅｃｈｉｎｏｓｐｏｒａから最初に単離されたものであり、ＤＮＡ中にアポトーシスをもたらす二本鎖切断を生じさせて、エンジイン抗腫瘍抗生物質ファミリーのメンバーである（例えば、Ｌｅｅら、Ｊ．Ａｎｔｉｂｉｏｔ．４２巻：１０７０～８７頁、１９８９年を参照のこと）。この薬物は、臨床試験中の免疫毒素の毒性部分である（例えば、Ｇｉｌｌｅｓｐｉｅら、Ａｎｎ．Ｏｎｃｏｌ．１１巻：７３５～４１頁、２０００年を参照のこと）。

【０２２３】

アブリンは、Ａｂｒｕｓ　ｐｒｅｃａｔｏｒｉｕｓ由来の毒性レクチンを含む。毒性素であるアブリンａ、ｂ、ｃおよびｄは、約６３ｋＤおよび６７ｋＤの分子量を有し、２つのジスルフィド連結されたポリペプチド鎖ＡおよびＢから構成される。Ａ鎖はタンパク質合成を阻害する；Ｂ鎖（アブリン－ｂ）は、Ｄ－ガラクトース残基に結合する（Ｆｕｎａｔｓｕら、Ａｇｒ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．５２巻：１０９５頁、１９８８年；およびＯｌｓｎｅｓ、Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌ．５０巻：３３０～３３５頁、１９７８年を参照のこと）。

【０２２４】

ＣＡＲ、ＣＡＲを発現するＴ細胞、本明細書に開示された抗原のうち１または複数に対して特異的なモノクローナル抗体、その抗原結合性断片はまた、検出可能なマーカー；例えば、ＥＬＩＳＡ、分光光度法、フローサイトメトリー、顕微鏡法または画像診断技術（例えば、コンピューター断層撮影（ＣＴ）、コンピューター体軸断層撮影（ｃｏｍｐｕｔｅｄ　ａｘｉａｌ　ｔｏｍｏｇｒａｐｈｙ）（ＣＡＴ）スキャン、磁気共鳴画像法（ＭＲＩ）、核磁気共鳴画像法（ＮＭＲＩ）、磁気共鳴断層撮影（ＭＴＲ）、超音波、光ファイバー試験および腹腔鏡下試験）による検出が可能な検出可能なマーカーとコンジュゲートされ得る。検出可能なマーカーの具体的な非限定的な例には、フルオロフォア、化学発光剤、酵素的連結、放射活性同位体および重金属または化合物（例えば、ＭＲＩによる検出のための超常磁性酸化鉄ナノ結晶）が含まれる。例えば、有用な検出可能なマーカーには、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、５－ジメチルアミン－１－ナフタレンスルホニル（ｎａｐｔｈａｌｅｎｅｓｕｌｆｏｎｙｌ）塩化物、フィコエリトリン、ランタニドリン光体などを含む蛍光化合物が含まれる。ルシフェラーゼ、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、黄色蛍光タンパク質（ＹＦＰ）などの生物発光マーカーもまた使用される。ＣＡＲ、ＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体またはその抗原結合性部分は、検出のために有用な酵素、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、β－ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、グルコースオキシダーゼなどにもコンジュゲートされ得る。ＣＡＲ、ＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体またはその抗原結合性部分が、検出可能な酵素とコンジュゲートされる場合、それは、識別できる反応産物を産生するために酵素が使用するさらなる試薬を添加することによって検出され得る。例えば、薬剤西洋ワサビペルオキシダーゼが存在する場合、過酸化水素およびジアミノベンジジンの添加が、視覚的に検出可能な着色反応産物をもたらす。ＣＡＲ、ＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体またはその抗原結合性部分はまた、ビオチンとコンジュゲートされ得、アビジンまたはストレプトアビジンの結合の間接的な測定を介して検出され得る。アビジン自体が酵素または蛍光標識とコンジュゲートされ得ることに留意すべきである。

【０２２５】
ＣＡＲ、ＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体またはその抗原結合性部分は、ガドリニウムなどの常磁性薬剤とコンジュゲートされ得る。超常磁性酸化鉄などの常磁性薬剤もまた、標識として使用される。抗体は、ランタニド（例えば、ユーロピウムおよびジスプロシウム）およびマンガンともコンジュゲートされ得る。抗体または抗原結合性断片はまた、二次レポーターによって認識される所定のポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体への結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）で標識され得る。
【０２２６】
ＣＡＲ、ＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体またはその抗原結合性部分はまた、放射標識されたアミノ酸とコンジュゲートされ得る。放射標識は、診断目的および治療目的の両方のために使用され得る。例えば、放射標識は、ｘ線、発光スペクトルまたは他の診断技術によって本明細書に開示された抗原および抗原発現細胞のうち１または複数を検出するために使用され得る。さらに、放射標識は、対象における腫瘍の処置のため、例えば、神経芽細胞腫の処置のために、毒素として治療的に使用され得る。ポリペプチドのための標識の例には、以下の放射性同位体または放射性ヌクレオチド（ｒａｄｉｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ）が含まれるがこれらに限定されない：^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{15}Ｎ、^{35}Ｓ、^{90}Ｙ、^{99}Ｔｃ、^{111}Ｉｎ、^{125}Ｉ、および^{131}Ｉ。
【０２２７】
かかる検出可能なマーカーを検出する手段は、当業者に周知である。したがって、例えば、放射標識は、写真フィルムまたはシンチレーションカウンターを使用して検出され得、蛍光マーカーは、発せられた照明を検出するために光検出器を使用して検出され得る。酵素標識は、典型的には、酵素に基質を提供し、基質に対する酵素の作用によって産生された反応産物を検出することによって検出され、発色標識は、着色標識を単純に可視化することによって検出される。
【０２２８】
Ｄ．ヌクレオチド、発現、ベクターおよび宿主細胞
本明細書に記載されるＣＡＲ、抗体またはその抗原結合性部分（その機能的部分および機能的バリアントを含む）のいずれかをコードするヌクレオチド配列を含む核酸が、本発明の一実施形態によってさらに提供される。本発明の核酸は、本明細書に記載されるリーダー配列、抗原結合性ドメイン、膜貫通ドメインおよび／または細胞内Ｔ細胞シグナル伝達ドメインのいずれかをコードするヌクレオチド配列を含み得る。
【０２２９】
一部の実施形態では、ヌクレオチド配列は、コドン改変され得る。特定の理論に束縛されないが、ヌクレオチド配列のコドン最適化は、ｍＲＮＡ転写物の翻訳効率を増加させると考えられる。ヌクレオチド配列のコドン最適化は、ネイティブコドンを、同じアミノ酸をコードするが、細胞内でより容易に利用可能なｔＲＮＡによって翻訳され得る別のコドンに置換し、そうして翻訳効率を増加させることを含み得る。ヌクレオチド配列の最適化はまた、翻訳を妨害する二次ｍＲＮＡ構造を低減させ得、そうして翻訳効率を増加させる。
【０２３０】
本発明の実施形態では、核酸は、本発明のＣＡＲの抗原結合性ドメインをコードするコドン改変されたヌクレオチド配列を含み得る。本発明の別の実施形態では、核酸は、本明細書に記載されるＣＡＲ（その機能的部分および機能的バリアントを含む）のいずれかをコードするコドン改変されたヌクレオチド配列を含み得る。
【０２３１】
「核酸」は、本明細書で使用する場合、「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」および「核酸分子」を含み、一般に、一本鎖または二本鎖の、合成のまたは天然供給源から得られた（例えば、単離および／または精製された）ものであり得、天然、非天然または変更されたヌクレオチドを含有し得、未改変のオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間に見出されるホスホジエステルの代わりに、天然、非天然または変更されたヌクレオチド間連結、例えば、ホスホロアミデート（ｐｈｏｓｐｈｏｒｏａｍｉｄａｔｅ）連結または

ホスホロチオエート連結を含有し得る、ＤＮＡまたはＲＮＡのポリマーを意味する。一部の実施形態では、核酸は、いずれの挿入、欠失、逆位および／または置換も含まない。しかし、一部の場合には、本明細書で議論されるように、核酸は、１または複数の挿入、欠失、逆位および／または置換を含むことが適切であり得る。

【０２３２】

組換え核酸は、天然に存在しない配列を有するもの、または配列の２つのさもなければ分離されたセグメントの人工的な組合せによって作製される配列を有するものであり得る。この人工的な組合せは、化学的合成によって、またはより一般的には、例えばＳａｍｂｒｏｏｋら、上記に記載されるものなどの遺伝子操作技術による、核酸の単離されたセグメントの人工的操作によって達成される場合が多い。核酸は、当該分野で公知の手順を使用する化学的合成および／または酵素的ライゲーション反応に基づいて構築され得る。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、上記およびＡｕｓｕｂｅｌら、上記を参照のこと。例えば、核酸は、天然に存在するヌクレオチド、または分子の生物学的安定性を増加させるように、もしくはハイブリダイゼーションの際に形成される二重鎖の物理的安定性を増加させるように設計された種々に改変されたヌクレオチド（例えば、ホスホロチオエート誘導体およびアクリジン置換ヌクレオチド）を使用して化学合成され得る。核酸を生成するために使用され得る改変型ヌクレオチドの例には、５－フルオロウラシル、５－ブロモウラシル、５－クロロウラシル、５－ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、４－アセチルシトシン、５－（カルボキシヒドロキシメチル）ウラシル、５－カルボキシメチルアミノメチル－２－チオウリジン、５－カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、ベーターＤ－ガラクトシルキューオシン（ｇａｌａｃｔｏｓｙｌｑｕｅｏｓｉｎｅ）、イノシン、Ｎ６－イソペンテニルアデニン、１－メチルグアニン、１－メチルイノシン、２，２－ジメチルグアニン、２－メチルアデニン、２－メチルグアニン、３－メチルシトシン、５－メチルシトシン、Ｎ６－置換されたアデニン、７－メチルグアニン、５－メチルアミノメチルウラシル、５－メトキシアミノメチル－２－チオウラシル、ベーターＤ－マンノシルキューオシン（ｍａｎｎｏｓｙｌｑｕｅｏｓｉｎｅ）、５’－メトキシカルボキシメチルウラシル、５－メトキシウラシル、２－メチルチオ－Ｎ６－イソペンテニルアデニン、ウラシル－５－オキシ酢酸（ｖ）、ウブトキソシン（ｗｙｂｕｔｏｘｏｓｉｎｅ）、シュードウラシル、キューオシン（ｑｕｅｏｓｉｎｅ）、２－チオシトシン、５－メチル－２－チオウラシル、２－チオウラシル、４－チオウラシル、５－メチルウラシル、ウラシル－５－オキシ酢酸メチルエステル、３－（３－アミノ－３－Ｎ－２－カルボキシプロピル）ウラシルおよび２，６－ジアミノプリンが含まれるがこれらに限定されない。あるいは、本発明の核酸のうち１または複数は、Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ　ＤＮＡ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ（Ｃｏｒａｌｖｉｌｌｅ、ＩＡ、ＵＳＡ）などの会社から購入できる。

【０２３３】

核酸は、ＣＡＲまたはその機能的部分もしくは機能的バリアントのいずれかをコードする任意の単離または精製されたヌクレオチド配列を含み得る。あるいは、ヌクレオチド配列は、配列のいずれかと縮重するヌクレオチド配列、または縮重配列の組合せを含み得る。

【０２３４】

一実施形態は、本明細書に記載される核酸のいずれかのヌクレオチド配列と相補的であるヌクレオチド配列、または本明細書に記載される核酸のいずれかのヌクレオチド配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む、単離または精製された核酸もまた提供する。

【０２３５】

ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列は、高いストリンジェンシーの条件下でハイブリダイズし得る。「高いストリンジェンシーの条件」とは、ヌクレオチド配列が、非特異的ハイブリダイゼーションよりも検出可能に強い量で、標的配列（本明細書に記載される核酸のいずれかのヌクレオチド配列）に特異的にハイブリダイズすることを意味する。高いストリンジェンシーの条件には、ヌクレオチド配列と一致し

たいくつかの小領域（例えば、３～１０塩基）を偶然に有するランダム配列から、正確に相補的な配列を有するポリヌクレオチド、またはいくつかの散在するミスマッチしか含有しないポリヌクレオチドを識別する条件が含まれる。相補性のかかる小領域は、１４～１７またはそれ超塩基の全長相補体よりも容易に融解され、高いストリンジェンシーのハイブリダイゼーションは、それらを容易に識別可能にする。比較的高いストリンジェンシーの条件には、例えば、約０．０２～０．１ＭのＮａＣｌまたは等価物によって、約５０～７０℃の温度で提供されるような、低塩および／または高温条件が含まれる。かかる高いストリンジェンシーの条件は、存在するとしても、ヌクレオチド配列と鋳型または標的鎖との間のミスマッチをほとんど忍容せず、本発明のＣＡＲのいずれかの発現を検出するのに特に適切である。一般に、条件は、漸増量のホルムアミドの添加によって、よりストリンジェントにされ得ることが理解される。

【０２３６】

本明細書に記載される核酸のいずれかに対して、少なくとも約７０％またはそれ超、例えば、約８０％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％または約９９％同一であるヌクレオチド配列を含む核酸もまた提供される。

【０２３７】

一実施形態では、核酸は、組換え発現ベクター中に取り込まれ得る。これに関して、一実施形態は、核酸のいずれかを含む組換え発現ベクターを提供する。本明細書の目的のために、用語「組換え発現ベクター」とは、コンストラクトが、ｍＲＮＡ、タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む場合、およびベクターが、ｍＲＮＡ、タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドが細胞内で発現されるのに十分な条件下で細胞と接触させられる場合に、宿主細胞によるｍＲＮＡ、タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドの発現を可能にする、遺伝子改変されたオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドコンストラクトを意味する。ベクターは、全体としては天然に存在しない。

【０２３８】

しかし、ベクターの一部は、天然に存在し得る。組換え発現ベクターは、一本鎖または二本鎖の、合成または一部天然供給源から得られたものであり得、天然、非天然または変更されたヌクレオチドを含有し得る、ＤＮＡおよびＲＮＡを含むがこれらに限定されない任意の型のヌクレオチドを含み得る。組換え発現ベクターは、天然に存在するもしくは天然に存在しないヌクレオチド間連結、またはその両方の型の連結を含み得る。好ましくは、天然に存在しないまたは変更されたヌクレオチドまたはヌクレオチド間連結は、ベクターの転写も複製も邪魔しない。

【０２３９】

一実施形態では、組換え発現ベクターは、任意の適切な組換え発現ベクターであり得、任意の適切な宿主細胞を形質転換またはトランスフェクトするために使用され得る。適切なベクターには、プラスミドおよびウイルスなどの、繁殖および増殖のためもしくは発現のため、またはその両方のために設計されたものが含まれる。ベクターは、ｐＵＣシリーズ（Ｆｅｒｍｅｎｔａｓ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｇｌｅｎ　Ｂｕｒｎｉｅ、ＭＤ）、ｐＢｌｕｅｓｃｒｉｐｔシリーズ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ、ＬａＪｏｌｌａ、ＣＡ）、ｐＥＴシリーズ（Ｎｏｖａｇｅｎ、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）、ｐＧＥＸシリーズ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ　Ｂｉｏｔｅｃｈ、Ｕｐｐｓａｌａ、Ｓｗｅｄｅｎ）およびｐＥＸシリーズ（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ、Ｐａｌｏ　Ａｌｔｏ、ＣＡ）からなる群から選択され得る。

【０２４０】

バクテリオファージベクター、例えば、λｕＴＩ　Ｏ、λｕＴＩ　１、λＺａｐＩＩ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）、ＥＭＢＬ４およびλＮＭＩ　１４９もまた使用され得る。植物発現ベクターの例には、ｐＢＩＯｌ、ｐＢＩ１０１．２、ｐＢＨＯｌ．３、ｐＢＩ１２１およびｐＢＩＮ１９（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）が含まれる。動物発現ベクターの例には、ｐＥＵＫ－Ｃｌ、ｐＭＡＭおよびｐＭＡＭｎｅｏ（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）が含まれる。組換え発現ベクターは、ウイルスベクター、例えば、レトロウイルスベクターまたはレンチウイルス

ベクターであり得る。レンチウイルスベクターは、特に、Ｍｉｌｏｎｅら、Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．１７巻（８号）：１４５３～１４６４頁（２００９年）に提供されるような自己不活性化レンチウイルスベクターを含む、レンチウイルスゲノムの少なくとも一部分に由来するベクターである。クリニックにおいて使用され得るレンチウイルスベクターの他の例には、例えば、限定としてではなく、Ｏｘｆｏｒｄ ＢｉｏＭｅｄｉｃａ ｐｌｃのＬＥＮＴＩＶＥＣＴＯＲ（登録商標）遺伝子送達テクノロジー、ＬｅｎｔｉｇｅｎのＬＥＮＴＩＭＡＸ（商標）ベクター系などが含まれる。非臨床型のレンチウイルスベクターもまた利用可能であり、当業者に公知である。

【０２４１】

いくつかのトランスフェクション技術が、当該分野で一般に公知である（例えば、Ｇｒａｈａｍら、Ｖｉｒｏｌｏｇｙ、５２巻：４５６～４６７頁（１９７３年）；Ｓａｍｂｒｏｏｋら、上記；Ｄａｖｉｓら、Ｂａｓｉｃ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｅｌｓｅｖｉｅｒ（１９８６年）；およびＣｈｕら、Ｇｅｎｅ、１３巻：９７頁（１９８１年）を参照のこと）。

【０２４２】

トランスフェクション方法には、リン酸カルシウム共沈（例えば、Ｇｒａｈａｍら、上記を参照のこと）、培養細胞中への直接的マイクロインジェクション（例えば、Ｃａｐｅｃｃｈｉ、Ｃｅｌｌ、２２巻：４７９～４８８頁（１９８０年）を参照のこと）、エレクトロポレーション（例えば、Ｓｈｉｇｅｋａｗａら、ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ、６巻：７４２～７５１頁（１９８８年）を参照のこと）、リポソーム媒介性遺伝子移入（例えば、Ｍａｎｎｉｎｏら、ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ、６巻：６８２～６９０頁（１９８８年）を参照のこと）、脂質媒介性形質導入（例えば、Ｆｅｉｇｎｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８４巻：７４１３～７４１７頁（１９８７年）を参照のこと）および高速微小推進剤（ｈｉｇｈ ｖｅｌｏｃｉｔｙ ｍｉｃｒｏｐｒｏｊｅｃｔｉｌｅ）を使用する核酸送達（例えば、Ｋｌｅｉｎら、Ｎａｔｕｒｅ、３２７巻：７０～７３頁（１９８７年）を参照のこと）が含まれる。

【０２４３】

一実施形態では、組換え発現ベクターは、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、上記およびＡｕｓｕｂｅｌら、上記に記載される、標準的な組換えＤＮＡ技術を使用して調製され得る。環状または直鎖状である発現ベクターのコンストラクトは、原核生物または真核生物宿主細胞において機能的な複製系を含有するように調製され得る。複製系は、例えば、ＣｏｌＥｌ、２μプラスミド、λ、ＳＶ４０、ウシパピローマウイルスなどに由来し得る。

【０２４４】

組換え発現ベクターは、ベクターがＤＮＡベースであるかＲＮＡベースであるかを考慮に入れて、必要に応じて、ベクターが導入される宿主細胞の型（例えば、細菌、真菌、植物または動物）に特異的な調節配列、例えば、転写および翻訳開始および終結コドンを含み得る。組換え発現ベクターは、クローニングを容易にするための制限部位を含み得る。

【０２４５】

組換え発現ベクターは、形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞の選択を可能にする、１または複数のマーカー遺伝子を含み得る。マーカー遺伝子には、殺生物剤耐性、例えば、抗生物質、重金属などに対する耐性、原栄養性を提供するための栄養要求性宿主における補完などが含まれる。本発明の発現ベクターに適切なマーカー遺伝子には、例えば、ネオマイシン／Ｇ４１８耐性遺伝子、ハイグロマイシン耐性遺伝子、ヒスチジノール耐性遺伝子、テトラサイクリン耐性遺伝子およびアンピシリン耐性遺伝子が含まれる。

【０２４６】

組換え発現ベクターは、ＣＡＲ（その機能的部分および機能的バリアントを含む）をコードするヌクレオチド配列に、またはＣＡＲをコードするヌクレオチド配列に対して相補的なもしくはかかるヌクレオチド配列にハイブリダイズするヌクレオチド配列に作動可能に連結したネイティブまたは非ネイティブのプロモーターを含み得る。プロモーターの選択、例えば、強い、弱い、誘導性、組織特異的および発生特異的は、当業者の技術範囲内

である。同様に、ヌクレオチド配列をプロモーターと組み合わせることもまた、当業者の技術範囲内である。プロモーターは、非ウイルスプロモーターまたはウイルスプロモーター、例えば、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）プロモーター、ＳＶ４０プロモーター、ＲＳＶプロモーター、またはマウス幹細胞ウイルスの末端反復配列において見出されるプロモーターであり得る。

【０２４７】

組換え発現ベクターは、一過性の発現のため、安定な発現のため、またはその両方のために設計され得る。また、組換え発現ベクターは、構成的発現または誘導性発現のために作製され得る。

【０２４８】

さらに、組換え発現ベクターは、自殺遺伝子を含むように作製され得る。本明細書で使用する場合、用語「自殺遺伝子」とは、自殺遺伝子を発現する細胞を死なせる遺伝子を指す。自殺遺伝子は、この遺伝子が発現される細胞に薬物などの薬剤に対する感受性を付与する遺伝子、または細胞が薬剤と接触した場合もしくは薬剤に曝露された場合にその細胞を死なせる遺伝子であり得る。自殺遺伝子は、当該分野で公知であり（例えば、Ｓｕｉｃｉｄｅ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ： Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｒｅｖｉｅｗｓ、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ、Ｃａｒｏｌｉｎｅ Ｊ.（Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ＵＫ Ｃｅｎｔｒｅ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ ａｔ ｔｈｅ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ、Ｓｕｔｔｏｎ、Ｓｕｒｒｅｙ、ＵＫ）、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ、２００４年を参照のこと）、これには、例えば、単純ヘルペスウイルス（ＨＳＶ）チミジンキナーゼ（ＴＫ）遺伝子、シトシンデアミナーゼ（ｄａｍｉｎａｓｅ）、プリンヌクレオシドホスホリラーゼおよびニトロレダクターゼが含まれる。

【０２４９】

一実施形態は、本明細書に記載される組換え発現ベクターのいずれかを含む宿主細胞をさらに提供する。本明細書で使用する場合、用語「宿主細胞」とは、本発明の組換え発現ベクターを含有し得る任意の型の細胞を指す。宿主細胞は、真核生物細胞、例えば、植物、動物、真菌もしくは藻類であり得る、または原核生物細胞、例えば、細菌もしくは原生生物であり得る。宿主細胞は、培養細胞または初代細胞であり得る、即ち、ヒトなどの生物から直接単離され得る。宿主細胞は、接着細胞または懸濁細胞、即ち、懸濁物中で成長する細胞であり得る。適切な宿主細胞は、当該分野で公知であり、これには、例えば、ＤＨ５ａ Ｅ．ｃｏｌｉ細胞、チャイニーズハムスター卵巣細胞、サルＶＥＲＯ細胞、ＣＯＳ細胞、ＨＥＫ２９３細胞などが含まれる。組換え発現ベクターを増幅または複製することを目的とすると、宿主細胞は、原核生物細胞、例えば、ＤＨ５ａ細胞であり得る。組換えＣＡＲを産生することを目的とすると、宿主細胞は、哺乳動物細胞であり得る。宿主細胞は、ヒト細胞であり得る。宿主細胞は任意の細胞型のものであり得、任意の型の組織に起源し得、任意の発生段階のものであり得るが、宿主細胞は、末梢血リンパ球（ＰＢＬ）または末梢血単核球（ＰＢＭＣ）であり得る。宿主細胞は、Ｔ細胞であり得る。

【０２５０】

本明細書の目的のために、Ｔ細胞は、任意のＴ細胞、例えば、培養Ｔ細胞、例えば、初代Ｔ細胞、または培養Ｔ細胞株、例えば、Ｊｕｒｋａｔ、ＳｕｐＴｌなど由来のＴ細胞、または哺乳動物から得られたＴ細胞であり得る。哺乳動物から得られる場合、Ｔ細胞は、血液、骨髄、リンパ節、胸腺または他の組織もしくは体液を含むがこれらに限定されない多数の供給源から得られ得る。Ｔ細胞はまた、富化または精製され得る。Ｔ細胞は、ヒトＴ細胞であり得る。Ｔ細胞は、ヒトから単離されたＴ細胞であり得る。Ｔ細胞は、ＣＤ４＋／ＣＤ８＋二重陽性Ｔ細胞、ＣＤ４＋ヘルパーＴ細胞、例えば、Ｔｈ１およびＴｈ２細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞（例えば、細胞傷害性Ｔ細胞）、腫瘍浸潤性細胞、メモリーＴ細胞、メモリー幹細胞、即ち、Ｔｓｃｍ、ナイーブＴ細胞などを含むがこれらに限定されない、任意の型のＴ細胞であり得、任意の発達段階のものでもあり得る。Ｔ細胞は、ＣＤ８＋Ｔ細胞またはＣＤ４＋Ｔ細胞であり得る。

【０２５１】

一実施形態では、本明細書に記載されるＣＡＲは、適切な非Ｔ細胞において使用され得る。かかる細胞は、免疫エフェクター機能を有する細胞、例えば、多能性幹細胞から生成されたＮＫ細胞およびＴ様細胞などである。

【０２５２】

本明細書に記載される少なくとも１つの宿主細胞を含む細胞の集団もまた、一実施形態によって提供される。細胞の集団は、いずれの組換え発現ベクターも含まない少なくとも１つの他の細胞、例えば宿主細胞（例えば、Ｔ細胞）、またはＴ細胞以外の細胞、例えば、Ｂ細胞、マクロファージ、好中球、赤血球、肝細胞、内皮細胞、上皮細胞、筋肉細胞、脳細胞などに加えて、記載される組換え発現ベクターのいずれかを含む宿主細胞を含む不均一な集団であり得る。あるいは、細胞の集団は、実質的に均質な集団であり得、ここで、集団は主に、組換え発現ベクターを含む（例えば、それらから本質的になる）宿主細胞を含む。集団はまた、細胞のクローン性集団であり得、ここで、集団の全ての細胞は、組換え発現ベクターを含む単一の宿主細胞のクローンであり、その結果、集団の全ての細胞は、その組換え発現ベクターを含む。本発明の一実施形態では、細胞の集団は、本明細書に記載される組換え発現ベクターを含む宿主細胞を含むクローン性集団である。

【０２５３】

ＣＡＲ（その機能的部分およびバリアントを含む）、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞（その集団を含む）および抗体（その抗原結合性部分を含む）は、単離および／または精製され得る。例えば、精製（または単離）された宿主細胞の調製物は、宿主細胞が身体内のその天然環境中の細胞よりも純粋である調製物である。かかる宿主細胞は、例えば、標準的な精製技術によって産生され得る。一部の実施形態では、宿主細胞の調製物は精製され、その結果、宿主細胞は、調製物の総細胞含量の少なくとも約５０％、例えば、少なくとも約７０％を示す。例えば、純度は、少なくとも約５０％であり得、約６０％、約７０％もしくは約８０％よりも上であり得、または約１００％であり得る。

【０２５４】

Ｅ．処置の方法

本明細書で開示されるＣＡＲは、哺乳動物において疾患を処置または予防する方法において使用され得ることが企図される。これに関して、一実施形態は、ＣＡＲ、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、抗体および／もしくはその抗原結合性部分、ならびに／または医薬組成物を、哺乳動物においてがんを処置または予防するのに有効な量で哺乳動物に投与するステップを含む、哺乳動物においてがんを処置または予防する方法を提供する。

【０２５５】

一実施形態は、本明細書に開示されるＣＡＲを投与するステップの前に、哺乳動物をリンパ枯渇させる（ｌｙｍｐｈｏｄｅｐｌｅｔｉｎｇ）ステップをさらに含む。リンパ枯渇の例には、非骨髄破壊的リンパ枯渇性化学療法、骨髄破壊的リンパ枯渇性化学療法、全身照射などが含まれ得るがこれらに限定されない。

【０２５６】

宿主細胞、または細胞の集団が投与される方法を目的として、細胞は、哺乳動物にとって同種または自家である細胞であり得る。好ましくは、細胞は、哺乳動物にとって自家である。本明細書で使用する場合、同種とは、材料が導入される個体と同じ種の異なる動物に由来する任意の材料を意味する。１または複数の遺伝子座において遺伝子が同一でない場合、２以上の個体は、互いに同種であると言われる。一部の態様では、同じ種の個体由来の同種材料は、抗原性に相互作用するのに十分に遺伝的に異なり得る。本明細書で使用する場合、「自家」とは、個体に後に再導入される、同じ個体に由来する任意の材料を意味する。

【０２５７】

本明細書で言及される哺乳動物は、任意の哺乳動物であり得る。本明細書で使用する場合、用語「哺乳動物」とは、齧歯目の哺乳動物、例えば、マウスおよびハムスター、ならびにウサギ（Ｌｏｇｏｍｏｒｐｈａ）目の哺乳動物、例えば、ウサギを含むがこれらに限

定されない任意の哺乳動物を指す。哺乳動物は、ネコ（Ｆｅｌｉｎｅ）（ネコ（ｃａｔ））およびイヌ（Ｃａｎｉｎｅ）（イヌ（ｄｏｇ））を含む食肉目由来であり得る。哺乳動物は、ウシ（Ｂｏｖｉｎｅ）（ウシ（ｃｏｗ））およびブタ（Ｓｗｉｎｅ）（ブタ（ｐｉｇ））を含む偶蹄目由来、またはウマ（Ｅｑｕｉｎｅ）（ウマ（ｈｏｒｓｅ））を含む奇蹄目（Ｐｅｒｓｓｏｄａｃｔｙｌａ）のものであり得る。哺乳動物は、霊長目、新世界ザル（Ｃｅｂｏｉｄ）目もしくはサル（Ｓｉｍｏｉｄ）目（サル（ｍｏｎｋｅｙ））または類人猿（Ａｎｔｈｒｏｐｏｉｄ）目（ヒトおよび類人猿（ａｐｅ））のものであり得る。好ましくは、哺乳動物はヒトである。

【０２５８】

これらの方法に関して、がんは、急性リンパ性がん、急性骨髄性白血病、胞巣状横紋筋肉腫、膀胱がん（例えば、膀胱癌）、骨がん、脳がん（例えば、髄芽腫（ｍｅｄｕｌｌｏｂｌａｓｔｏｍａ））、乳房がん、肛門、肛門管もしくは肛門直腸のがん、眼のがん、肝内胆管のがん、関節のがん、頸部、胆嚢もしくは胸膜のがん、鼻、鼻腔もしくは中耳のがん、口腔のがん、外陰部のがん、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性がん（ｃｈｒｏｎｉｃ ｍｙｅｌｏｉｄ ｃａｎｃｅｒ）、結腸がん、食道がん、子宮頸がん、線維肉腫、消化管カルチノイド腫瘍、頭頸部がん（例えば、頭頸部扁平上皮癌）、ホジキンリンパ腫、下咽頭がん、腎臓がん、喉頭がん、白血病、液性腫瘍、肝臓がん、肺がん（例えば、非小細胞肺癌および肺腺癌）、リンパ腫、中皮腫、肥満細胞腫、黒色腫、多発性骨髄腫、上咽頭がん、非ホジキンリンパ腫、Ｂ－慢性リンパ性白血病、ヘアリー細胞白血病、急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）およびバーキットリンパ腫、卵巣がん、膵がん、腹膜、網および腸間膜のがん、咽頭がん、前立腺がん、直腸がん、腎がん、皮膚がん、小腸がん、軟組織がん、固形腫瘍、滑膜肉腫、胃がん、精巣がん、甲状腺がんならびに尿管がんのいずれかを含む任意のがんであり得る。

【０２５９】

用語「処置する」および「予防する」ならびにそれらから派生した単語は、本明細書で使用する場合、１００％または完全な処置または予防を必ずしも意味しない。むしろ、当業者が潜在的な有益な効果または治療効果を有すると認識する、種々の程度の処置または予防が存在する。これに関して、この方法は、任意の量または任意のレベルの、哺乳動物におけるがんの処置または予防を提供し得る。

【０２６０】

さらに、この方法によって提供される処置または予防には、処置または予防されているがんなどの疾患の１または複数の状態または症状の処置または予防が含まれ得る。また、本明細書の目的のために、「予防」は、疾患、またはその症状もしくは状態の発病を遅延させることを包含し得る。

【０２６１】

別の実施形態は、哺乳動物におけるがんの存在を検出する方法であって、（ａ）哺乳動物由来の１または複数の細胞を含む試料を、ＣＡＲ、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、抗体および／もしくはその抗原結合性部分、または医薬組成物と接触させ、それによって、複合体を形成するステップ、ならびに（ｂ）複合体を検出するステップであって、複合体の検出が、哺乳動物におけるがんの存在を示す、ステップを含む方法を提供する。

【０２６２】

試料は、任意の適切な方法、例えば、生検または剖検によって得られ得る。生検は、個体からの組織および／または細胞の取り出しである。かかる取り出しは、取り出された組織および／または細胞に対する実験を実施するために、個体から組織および／または細胞を収集することであり得る。この実験には、個体がある特定の状態もしくは疾患状態を有するかどうか、および／またはある特定の状態もしくは疾患状態に罹患しているかどうかを決定するための実験が含まれ得る。状態または疾患は、例えば、がんであり得る。

【０２６３】

哺乳動物における増殖障害、例えばがんの存在を検出する方法の実施形態に関して、哺

乳動物の細胞を含む試料は、細胞全体、その溶解物、または細胞全体溶解物の画分、例えば、核もしくは細胞質画分、タンパク質全体画分、または核酸画分を含む試料であり得る。試料が細胞全体を含む場合、これらの細胞は、哺乳動物の任意の細胞、例えば、血液細胞または内皮細胞を含む任意の臓器または組織の細胞であり得る。

【０２６４】

接触させるステップは、哺乳動物に関してｉｎ ｖｉｔｒｏまたはｉｎ ｖｉｖｏで起こり得る。好ましくは、接触させるステップは、ｉｎ ｖｉｔｒｏである。

【０２６５】

また、複合体の検出は、当該分野で公知の多くの方法によって行われ得る。例えば、本明細書に記載される、本明細書に開示されるＣＡＲ、ポリペプチド、タンパク質、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、または抗体もしくはその抗原結合性部分は、検出可能な標識、例えば、上に開示される放射性同位体、フルオロフォア（例えば、フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）、フィコエリトリン（ＰＥ））、酵素（例えば、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ）および元素粒子（例えば、金粒子）などで標識され得る。

【０２６６】

標的細胞を認識する能力および抗原特異性についてＣＡＲを試験する方法は、当該分野で公知である。例えば、Ｃｌａｙら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ、１６３巻：５０７～５１３頁（１９９９年）は、サイトカイン（例えば、インターフェロン－γ、顆粒球／単球コロニー刺激因子（ｇｒａｎｕｌｏｃｙｔｅ／ｍｏｎｏｃｙｔｅ ｃｏｌｏｎｙ ｓｔｉｍｕｌａｔｉｎｇ ｆａｃｔｏｒ）（ＧＭ－ＣＳＦ）、腫瘍壊死因子α（ＴＮＦ－ａ）またはインターロイキン２（ＩＬ－２））の放出を測定する方法を教示している。さらに、ＣＡＲ機能は、Ｚｈａｏら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１７４巻：４４１５～４４２３頁（２００５年）に記載されるように、細胞傷害性の測定によって評価され得る。

【０２６７】

別の実施形態は、本発明のＣＡＲ、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、抗体もしくはその抗原結合性部分、および／または医薬組成物の使用、哺乳動物におけるがんなどの増殖障害の処置または予防を提供する。がんは、本明細書に記載されるがんのいずれかであり得る。

【０２６８】

局所および全身投与を含む任意の投与方法が、開示された治療剤のために使用され得る。例えば、外用、経口、静脈内などの血管内、筋内、腹腔内、鼻腔内、皮内、くも膜下腔内および皮下投与が使用され得る。特定の投与様式および投薬レジメンは、症例の特徴（例えば、対象、疾患、関与する疾患状態、および処置が予防的かどうか）を考慮して、担当の臨床医によって選択される。１よりも多い薬剤または組成物が投与されている場合、１または複数の投与経路が使用され得る；例えば、化学療法剤は、経口投与され得、抗体もしくは抗原結合性断片またはコンジュゲートまたは組成物は、静脈内投与され得る。投与方法には、ＣＡＲ、ＣＡＲ Ｔ細胞、コンジュゲート、抗体、抗原結合性断片または組成物が、非毒性の薬学的に許容される担体、例えば、水、食塩水、リンゲル溶液、デキストロース溶液、５％ヒト血清アルブミン、固形油、オレイン酸エチルまたはリポソーム中に提供される注射が含まれる。一部の実施形態では、開示された化合物の局所投与は、例えば、腫瘍が除去された組織の領域、または腫瘍発達の傾向があると疑われる領域に、抗体または抗原結合性断片を適用することによって使用され得る。一部の実施形態では、治療有効量の抗体または抗原結合性断片を含む医薬調製物の持続性の腫瘍内（または腫瘍近傍）放出が有益であり得る。他の例では、コンジュゲートが、角膜に点眼薬として外用で、または目に硝子体内で適用される。

【０２６９】

開示された治療剤は、正確な投薬量の個々の投与に適切な単位剤形で製剤化され得る。さらに、開示された治療剤は、単一の用量でまたは複数用量のスケジュールで投与され得る。複数用量のスケジュールは、処置の主要な過程が、１よりも多い別々の用量、例えば

１～１０用量と、その後の、組成物の作用を維持または強化するために必要に応じて引き続く時間間隔で与えられる他の用量とによるものであり得るスケジュールである。処置は、数日～数カ月またはさらには数年の期間にわたる、１日用量または複数の１日用量の化合物（複数可）を含み得る。したがって、投薬レジームはまた、処置される対象の特定の要求に基づいて少なくとも一部決定され、投与する実務者の判断に依存する。

【０２７０】

抗体またはコンジュゲートの典型的な投薬量は、約０．０１～約３０ｍｇ／ｋｇ、例えば、約０．１～約１０ｍｇ／ｋｇの範囲であり得る。

【０２７１】

特定の例では、対象には、複数の１日投薬スケジュールで、例えば、少なくとも２連続日、１０連続日など、例えば、数週間、数カ月または数年の期間にわたって、コンジュゲート、抗体、組成物、ＣＡＲ、ＣＡＲ　Ｔ細胞またはさらなる薬剤のうち１または複数を含む治療組成物が投与される。一例では、対象には、少なくとも３０日、例えば、少なくとも２カ月、少なくとも４カ月、少なくとも６カ月、少なくとも１２カ月、少なくとも２４カ月または少なくとも３６カ月の期間にわたって、コンジュゲート、抗体、組成物またはさらなる薬剤が投与される。

【０２７２】

一部の実施形態では、開示された方法は、開示された抗体、抗原結合性断片、コンジュゲート、ＣＡＲまたはＣＡＲを発現するＴ細胞と組み合わせて、手術、放射線療法および／または化学療法薬を（例えば、連続的に、実質的に同時にまたは同時に）対象に提供することを含む。かかる薬剤および処置の方法および治療的投薬量は、当業者に公知であり、熟練の臨床医によって決定され得る。さらなる薬剤についての調製および投薬スケジュールは、製造業者の指示に従って使用され得る、または当業者によって実験的に決定される通りであり得る。かかる化学療法についての調製および投薬スケジュールは、Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒａｐｙ　Ｓｅｒｖｉｃｅ、（１９９２年）Ｍ．Ｃ．Ｐｅｒｒｙ編、Ｗｉｌｌｉａｍｓ　＆　Ｗｉｌｋｉｎｓ、Ｂａｌｔｉｍｏｒｅ、Ｍｄにも記載されている。

【０２７３】

一部の実施形態では、併用治療は、治療有効量のさらなるがん阻害剤の、対象への投与を含み得る。併用治療で使用され得るさらなる治療剤の非限定的な例には、微小管結合剤、ＤＮＡインターカレーターまたはクロスリンカー、ＤＮＡ合成阻害剤、ＤＮＡおよびＲＮＡ転写阻害剤、抗体、酵素、酵素阻害剤、遺伝子調節因子ならびに血管新生阻害剤が含まれる。これらの薬剤（治療有効量で投与される）および処置は、単独でまたは組み合わせて使用され得る。例えば、任意の適切な抗がん剤または抗血管新生剤は、本明細書に開示されるＣＡＲ、ＣＡＲ－Ｔ細胞、抗体、抗原結合性断片またはコンジュゲートと組み合わせて投与され得る。方法およびかかる薬剤の治療的投薬量は、当業者に公知であり、熟練の臨床医によって決定され得る。

【０２７４】

さらなる化学療法剤には、アルキル化剤、例えば、ナイトロジェンマスタード（例えば、クロラムブシル、クロルメチン、シクロホスファミド、イホスファミドおよびメルファラン）、ニトロソウレア（例えば、カルムスチン、ホテムスチン、ロムスチンおよびストレプトゾシン）、白金化合物（例えば、カルボプラチン、シスプラチン、オキサリプラチンおよびＢＢＲ３４６４）、ブスルファン、ダカルバジン、メクロレタミン、プロカルバジン、テモゾロミド、チオテパおよびウラムスチン（ｕｒａｍｕｓｔｉｎｅ）；代謝拮抗薬、例えば、葉酸（例えば、メトトレキサート、ペメトレキセドおよびラルチトレキセド）、プリン（例えば、クラドリビン、クロファラビン、フルダラビン、メルカプトプリンおよびチオグアニン）、ピリミジン（例えば、カペシタビン）、シタラビン、フルオロウラシルおよびゲムシタビン；植物アルカロイド、例えば、ポドフィルム（例えば、エトポシドおよびテニポシド）、タキサン（例えば、ドセタキセルおよびパクリタキセル）、ビンカ（例えば、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシンおよびビノレルビン）；細胞傷害性／抗腫瘍抗生物質、例えば、アントラサイクリンファミリーのメンバー（例えば

、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシン、ミトキサントロンおよびバルルビシン）、ブレオマイシン、リファンピシン、ヒドロキシウレアおよびマイトマイシン；トポイソメラーゼ阻害剤、例えば、トポテカンおよびイリノテカン；モノクローナル抗体、例えば、アレムツズマブ、ベバシズマブ、セツキシマブ、ゲムツズマブ、リツキシマブ、パニツムマブ、ペルツズマブおよびトラスツズマブ；腫瘍親和性感光色素、例えば、アミノレブリン酸、アミノレブリン酸メチル、ポルフィマーナトリウムおよびベルテポルフィン；ならびに他の薬剤、例えば、アリトレチノイン、アルトレタミン、アムサクリン、アナグレリド、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、アキシチニブ、ベキサロテン、ベバシズマブ、ボルテゾミブ、セレコキシブ、デニロイキンジフチトクス、エルロチニブ、エストラムスチン、ゲフィチニブ、ヒドロキシカルバミド、イマチニブ、ラパチニブ、パゾパニブ、ペントスタチン、マソプロコール、ミトタン、ペグアスパルガーゼ、タモキシフェン、ソラフェニブ、スニチニブ、ベムラフェニブ（ｖｅｍｕｒａｆｉｎｉｂ）、バンデタニブおよびトレチノインが含まれるがこれらに限定されない。かかる薬剤の選択および治療的投薬量は、当業者に公知であり、熟練の臨床医によって決定され得る。

【０２７５】

併用療法は、相乗作用を提供し得、相乗的であることが証明され得る、即ち、活性成分が一緒に使用される場合に達成される効果は、それらの化合物を別々に使用することから生じ得る効果の合計よりも大きい。相乗効果は、活性成分が、（１）共製剤化され、併用される単位投薬製剤と同時に投与もしくは送達される場合；（２）別々の製剤として交互にもしくは並行して送達される場合；または（３）一部の他のレジメンによる場合に、達成され得る。交互に送達される場合、相乗効果は、それらの化合物が、例えば、別々のシリンジ中の異なる注射によって連続的に投与または送達される場合に達成され得る。一般に、交代の間、有効投薬量の各活性成分が、連続的に、即ち、順次に投与されるが、併用療法では、有効投薬量の２以上の活性成分が一緒に投与される。

【０２７６】

一実施形態では、本明細書に開示された抗原のうち１もしくは複数に特異的に結合する抗体もしくは抗原結合性断片またはそのコンジュゲートの有効量が、抗がん処置後に腫瘍を有する対象に投与される。投与された抗体もしくは抗原結合性断片またはコンジュゲートがそれぞれのがん細胞上で発現された抗原と免疫複合体を形成するのに十分な量の時間が経過した後で、免疫複合体が検出される。免疫複合体の存在（または非存在）は、処置の有効性を示す。例えば、処置の前に採取された対照と比較した免疫複合体の増加は、その処置が有効でないことを示し、処置の前に採取された対照と比較した免疫複合体の減少は、その処置が有効であることを示す。

【０２７７】

Ｆ．バイオ医薬組成物

担体（例えば、薬学的に許容される担体）中に、開示されたＣＡＲ、またはＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体、抗原結合性断片、コンジュゲート、ＣＡＲ、または本明細書に開示された１もしくは複数の抗原に特異的に結合するＣＡＲを発現するＴ細胞のうち１または複数を含む、遺伝子治療、免疫療法および／または細胞療法における使用のためのバイオ医薬組成物または生物製剤組成物（本明細書で以下「組成物」）が、本明細書で提供される。これらの組成物は、対象への投与のために単位投薬形態で調製され得る。所望の転帰を達成するための投与の量およびタイミングは、処置を行う臨床医の裁量である。これらの組成物は、全身（例えば、静脈内）または局所（例えば、腫瘍内）投与のために製剤化され得る。一例では、開示されたＣＡＲ、またはＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体、抗原結合性断片、コンジュゲートは、静脈内投与などの非経口投与のために製剤化される。本明細書に開示されるＣＡＲ、またはＣＡＲを発現するＴ細胞、コンジュゲート、抗体もしくは抗原結合性断片を含む組成物は、腫瘍、例えば、限定としてではなく、神経芽細胞腫の、例えば、処置および検出などのために使用される。一部の例では、これらの組成物は、癌の処置または検出に有用である。本明細書に開示されるＣＡＲ、またはＣＡＲを発現するＴ細胞、コンジュゲート、抗体もしくは抗原結合性断片を含む組成物は、例えば、病理

学的血管新生の検出にも使用される。

【０２７８】

投与のための組成物には、水性担体などの薬学的に許容される担体中に溶解されたＣＡＲ、またはＣＡＲを発現するＴ細胞、コンジュゲート、抗体もしくは抗原結合性断片の溶液が含まれ得る。例えば緩衝食塩水などの種々の水性担体が使用され得る。これらの溶液は無菌であり、一般に、望ましくない物質を含まない。組成物は、従来の周知の無菌化技術によって無菌化され得る。組成物は、生理学的条件に近付くのに必要な薬学的に許容される補助的物質、例えば、ｐＨ調整剤および緩衝剤、毒性調整剤、アジュバント薬剤など、例えば、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸ナトリウムなどを含有し得る。これらの製剤中のＣＡＲ、またはＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体もしくは抗原結合性断片またはコンジュゲートの濃度は、広く変動し得、選択された特定の投与様式および対象の要求に従って、液量、粘度、体重などに主に基づいて選択される。遺伝子治療、免疫療法および／または細胞療法における使用のためのかかる投薬形態を調製する実際の方法は、当業者に公知であり、または明らかとなる。

【０２７９】

静脈内投与のための典型的な組成物は、１日当たり対象１人当たり約０．０１～約３０ｍｇ／ｋｇの抗体もしくは抗原結合性断片またはコンジュゲート（あるいは対応する用量のＣＡＲ、またはＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体もしくは抗原結合性断片を含むコンジュゲート）を含む。投与可能な組成物を調製するための実際の方法は、当業者に公知または明らかであり、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ、第１９版、Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ、Ｅａｓｔｏｎ、ＰＡ（１９９５年）などの刊行物中により詳細に記載されている。

【０２８０】

ＣＡＲ、またはＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体、抗原結合性断片、またはコンジュゲートは、凍結乾燥形態で提供され得、投与前に無菌水で再水和され得るが、これらは、既知の濃度の無菌溶液中でも提供される。次いで、ＣＡＲ、またはＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体もしくは抗原結合性断片またはコンジュゲートの溶液が、０．９％塩化ナトリウム、ＵＳＰを含有する注入バッグに添加され、一部の場合には、０．５～１５ｍｇ／体重ｋｇの投薬量で投与される。抗体または抗原結合性断片およびコンジュゲート薬物の投与では、当該分野でかなりの経験が利用可能である；例えば、抗体薬物は、１９９７年のＲＩＴＵＸＡＮ（登録商標）の承認以降、米国で市販されている。ＣＡＲ、またはＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体、抗原結合性断片およびそれらのコンジュゲートは、静注または静脈内ボーラスでではなく、緩徐な注入によって投与され得る。一例では、より高い負荷用量が、より低いレベルで投与される引き続く維持用量と共に投与される。例えば、４ｍｇ／ｋｇの初期負荷用量の抗体または抗原結合性断片（または対応する用量の、抗体もしくは抗原結合性断片を含むコンジュゲート）が、およそ９０分の期間にわたって注入され得、その後、以前の用量が十分に忍容された場合に３０分の期間にわたって注入される４～８週間にわたる２ｍｇ／ｋｇの毎週の維持用量が注入され得る。

【０２８１】

制御放出非経口製剤は、インプラント、油性注射として、または粒状の系として作製され得る。タンパク質送達系の広い概説については、Ｂａｎｇａ，Ａ．Ｊ．、Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ ａｎｄ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ：Ｆｏｒｍｕｌａｔｉｏｎ，Ｐｒｏｃｅｓｓｉｎｇ，ａｎｄ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｔｅｃｈｎｏｍｉｃ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｉｎｃ．、Ｌａｎｃａｓｔｅｒ、ＰＡ（１９９５年）を参照のこと。粒状の系には、ミクロスフェア、マイクロ粒子、マイクロカプセル、ナノカプセル、ナノスフェアおよびナノ粒子が含まれる。マイクロカプセルは、中心コアとして、細胞毒または薬物などの治療的タンパク質を含有する。ミクロスフェアでは、治療薬は、粒子の至る所に分散される。約１μｍよりも小さい粒子、ミクロスフェアおよびマイクロカプセルは一般に、それぞれ、ナノ粒子、ナノスフェアおよびナノカプセルと呼ばれる。毛細管は、ナノ粒子だけが静脈内投与されるように、およそ５μｍの直径を有

する。マイクロ粒子は、典型的には、直径がおよそ１００μｍであり、皮下または筋内投与される。例えば、Ｋｒｅｕｔｅｒ，Ｊ．、Ｃｏｌｌｏｉｄａｌ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｊ．Ｋｒｅｕｔｅｒ編、Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、ＮＹ、２１９～３４２頁（１９９４年）；ならびにＴｉｃｅおよびＴａｂｉｂｉ、Ｔｒｅａｔｉｓｅ ｏｎ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ、Ａ．Ｋｙｄｏｎｉｅｕｓ編、Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、ＮＹ、３１５～３３９頁（１９９２年）を参照のこと。

【０２８２】

ポリマーは、本明細書に開示されるＣＡＲ、またはＣＡＲを発現するＴ細胞、抗体もしくは抗原結合性断片またはコンジュゲート組成物のイオン制御された放出のために使用され得る。制御された薬物送達に使用される種々の分解性および非分解性ポリマーマトリックスは、当該分野で公知である（Ｌａｎｇｅｒ、Ａｃｃｏｕｎｔｓ Ｃｈｅｍ．Ｒｅｓ．２６巻：５３７～５４２頁、１９９３年）。例えば、ブロックコポリマーであるｐｏｌａｘａｍｅｒ ４０７は、低温で粘性であるがなお可動性の液体として存在するが、体温では半流動性ゲルを形成する。これは、組換えインターロイキン－２およびウレアーゼの製剤化および持続性送達のための有効なビヒクルであることが示されている（Ｊｏｈｎｓｔｏｎら、Ｐｈａｒｍ．Ｒｅｓ．９巻：４２５～４３４頁、１９９２年；およびＰｅｃら、Ｊ．Ｐａｒｅｎｔ．Ｓｃｉ．Ｔｅｃｈ．４４巻（２号）：５８～６５頁、１９９０年）。あるいは、ヒドロキシアパタイトが、タンパク質の制御された放出のための微小担体として使用されてきた（Ｉｊｎｔｅｍａら、Ｉｎｔ．Ｊ．Ｐｈａｒｍ．１１２巻：２１５～２２４頁、１９９４年）。さらに別の態様では、リポソームが、脂質カプセル化薬物の制御された放出および薬物標的化に使用される（Ｂｅｔａｇｅｒｉら、Ｌｉｐｏｓｏｍｅ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｔｅｃｈｎｏｍｉｃ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｉｎｃ．、Ｌａｎｃａｓｔｅｒ、ＰＡ（１９９３年））。治療的タンパク質の制御された送達のための多数のさらなる系が公知である（米国特許第５，０５５，３０３号；米国特許第５，１８８，８３７号；米国特許第４，２３５，８７１号；米国特許第４，５０１，７２８号；米国特許第４，８３７，０２８号；米国特許第４，９５７，７３５号；米国特許第５，０１９，３６９号；米国特許第５，０５５，３０３号；米国特許第５，５１４，６７０号；米国特許第５，４１３，７９７号；米国特許第５，２６８，１６４号；米国特許第５，００４，６９７号；米国特許第４，９０２，５０５号；米国特許第５，５０６，２０６号；米国特許第５，２７１，９６１号；米国特許第５，２５４，３４２号および米国特許第５，５３４，４９６号を参照のこと）。

【０２８３】

Ｇ．キット

一態様では、本明細書に開示されるＣＡＲを使用するキットもまた提供される。例えば、対象における腫瘍を処置するためのキットまたは本明細書に開示されるＣＡＲのうち１もしくは複数を発現するＣＡＲ Ｔ細胞を作製するためのキット。キットは、典型的には、本明細書に開示される、開示された抗体、抗原結合性断片、コンジュゲート、核酸分子、ＣＡＲまたはＣＡＲを発現するＴ細胞を含む。開示された抗体、抗原結合性断片、コンジュゲート、核酸分子、ＣＡＲまたはＣＡＲを発現するＴ細胞のうち１よりも多くが、キット中に含まれ得る。

【０２８４】

キットは、コンテナ、およびコンテナ上のまたはコンテナと関連したラベルまたは添付文書を含み得る。適切なコンテナには、例えば、瓶、バイアル、シリンジなどが含まれる。コンテナは、ガラスまたはプラスチックなどの種々の材料から形成され得る。コンテナは、典型的には、開示された抗体、抗原結合性断片、コンジュゲート、核酸分子、ＣＡＲまたはＣＡＲを発現するＴ細胞のうち１または複数を含む組成物を保持する。いくつかの実施形態では、コンテナは、無菌アクセスポートを有し得る（例えば、コンテナは、皮下注射針によって貫通可能なストッパーを有する静脈内溶液バッグまたはバイアルであり得る）。ラベルまたは添付文書は、その組成物が特定の状態を処置するために使用されるこ

とを示す。

【０２８５】

ラベルまたは添付文書は、典型的には、例えば、腫瘍を処置もしくは予防する方法、またはＣＡＲ Ｔ細胞を作製する方法における、開示された抗体、抗原結合性断片、コンジュゲート、核酸分子、ＣＡＲまたはＣＡＲを発現するＴ細胞の使用のための指示書をさらに含む。添付文書は、典型的には、治療的製品の使用に関する、適応症、用法、投薬量、投与、禁忌および／またはかかる警告についての情報を含む、治療的製品の市販の包装中に習慣的に含まれる指示書を含む。教材は、電子的形態（例えば、コンピューターディスケットまたはコンパクトディスク）で書かれ得、または視覚的（例えば、動画ファイル）であり得る。キットは、キットが設計される特定の適用を容易にするためのさらなる構成要素もまた含み得る。したがって、例えば、キットは、標識を検出する手段（例えば、酵素標識のための酵素基質、蛍光標識を検出するためのフィルターセット、二次抗体などの適切な二次標識など）をさらに含み得る。キットは、特定の方法の実施のために慣用的に使用される緩衝液および他の試薬をさらに含み得る。かかるキットおよび適切な内容物は、当業者に周知である。

【実施例】

【０２８６】

本発明は以下の実施例によってさらに例証され、これらの実施例は決して本発明の範囲に制約を課すものとして解釈すべきではない。反対に、その様々な他の実施形態、変更形態、および均等物に頼らなければならず、これらは本明細書の記載を読んだ後、本発明の精神および／または添付の特許請求の範囲から逸脱せずに、当業者の念頭に浮かび得ることは容易に理解される。

【０２８７】

実施例１Ａ

完全ヒト型ファージおよび酵母を提示したｓｃＦｖライブラリーからのＣＤ１９特異的抗体の単離

材料および方法：

ａ）ヒトｓｃＦｖおよびＣＤ１９特異的抗体の産生

５０人の健康なドナーの末梢血Ｂ細胞から構築されたナイーブヒトＳｃＦｖ（免疫グロブリンの組換え単鎖断片可変）ファージディスプレイライブラリー（およその多様性、10^{10}種の独自の特異性）（Ｚ．Ｙ．ＺｈｕおよびＤ．Ｓ．Ｄｉｍｉｔｒｏｖ、未公開データ）を、組換えヒトＣＤ１９タンパク質（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ、未公開）のためのＳｃＦｖの選択に使用した。ファージディスプレイしたｓｃＦｖ10^{12}種の増幅されたライブラリーを、体積５×１００μｌのコーティングされたＣＤ１９の５、３、および１μｇとともにインキュベートし、第１、第２および第３のラウンドそれぞれのバイオパニング中に９６ウェルプレートのウェル５つに等しく分配し室温で２時間置いた。各ラウンドのインキュベーション後に、０．０５％ Ｔｗｅｅｎ２０を含むリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳＴ）で、第１のラウンドでは５回、その後のラウンドでは１０回ウェルを洗浄して非特異的に結合したファージを除去し、結合したファージをＴＧ１コンピテント細胞と３７℃で１時間混合し、感染させた細胞からファージを増幅させて次のラウンドのバイオパニングに使用した。第３のラウンドのバイオパニング後、感染させたＴＧ１細胞から３８０のクローンをランダムに選び、それぞれを、自動ＢｉｏＲｏｂｏｔｉｃｓ ＢｉｏＰｉｃｋコロニーピッキングシステム（Ｇｅｎｏｍｉｃ Ｓｏｌｕｔｉｏｎｓ、Ａｎｎ Ａｒｂｏｒ、ＭＩ）を使用することにより、９６ウェルプレート中の、１００μｇ／ｍｌカルベニシリンおよび０．２％ グルコースを含む２ＹＴ培地１５０μｌに接種した。細菌培養物が６００ｎｍでの光学密度（ＯＤ６００）０．５に到達した後、感染多重度（ＭＯＩ）１０のヘルパーファージＭ１３Ｋ０７および５０μｇ／ｍｌ（最終濃度）のカナマイシンを培地に添加し、プレートを振とう機において２５０ｒｐｍで、３０℃で一晩さらにインキュベートした。ファージ上清を体積比４：１で、ＰＢＳ中３％脱脂乳溶液と混合し、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）に使用して、高ＣＤ１９結合親和性

を有するｓｃＦｖまたはＶＨを提示するファージのクローンを同定した。上清を、９６ウェルプレート中で１ウェルあたり５０ｎｇのコーティングされた組換えヒトＣＤ１９とともに室温で２時間インキュベートし、ＰＢＳＴで５回洗浄し、（４℃で一晩インキュベートした後、ＰＢＳ中３％脱脂乳溶液でブロッキングし、０．０５％　Ｔｗｅｅｎ２０を含むＰＢＳで３回洗浄した。）ＣＤ１９に結合したファージを、西洋ワサビペルオキシダーゼとコンジュゲートされたヤギ抗Ｍ１３抗体を使用して検出した。抗体とともにインキュベートした後、ウェルを洗浄することにより、非特異的に結合した抗体を除去し、３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）基質を添加し、４５０ｎｍでの溶液吸光度（Ａ４５０）を測定した。Ａ４５０が１．０を超える、ＣＤ１９に結合したクローンをさらなる特徴決定のために選択した。

【０２８８】

ｂ）選択された可溶性ｓｃＦｖの発現および精製

選択されたクローンのＶＨおよびＶＬをＤＮＡ配列決定し、独自の配列を有するクローンによりコードされるｓｃＦｖを下記のように発現させ、精製した。これらのクローンから抽出されたプラスミドを、ＨＢ２１５１細胞の形質転換に使用した。新しく形質転換された細胞を含むプレートから単一コロニーを選び取り、１００μｇ／ｍｌのアンピシリンおよび０．２％　グルコースを含む２ＹＴ培地２００ｍｌに接種し、２５０ｒｐｍで振とうしながら３７℃でインキュベートした。６００ｎｍでの培養物ＯＤが０．９０に到達すると、最終濃度０．５ｍＭでイソプロピル－β－ｄ－チオガラクトピラノシドを添加し、培養物を３０℃で一晩さらにインキュベートした。８，０００×ｇで２０分間遠心分離した後、細菌ペレットを収集し、０．５ｍＵのポリミキシン（ｐｏｌｙｍｉｘｉｎ）Ｂ（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）を含むＰＢＳ緩衝液に再懸濁した。５０ｒｐｍで回転させながら室温で３０分間インキュベートした後、再懸濁したペレットを２５，０００×ｇで２５分間、４℃で遠心分離し、上清を、Ｎｉ－ＮＴＡ樹脂を使用して供給業者のプロトコール（Ｑｉａｇｅｎ）に従ってＳｃＦｖ精製に使用した。

【０２８９】

ｃ）ＥＬＩＳＡ結合アッセイ

ＥＬＩＳＡ結合アッセイ　ＰＢＳで２μｇ／ｍｌに希釈された組換えヒトＣＤ１９、５０μｌを、９６ウェルプレートに４℃で一晩コーティングした。ＨｉｓおよびＦｌａｇタグを有する精製ＳｃＦｖを段階希釈し、標的タンパク質でコーティングされたウェルに添加した。洗浄後、１：３０００に希釈された、ＨＲＰとコンジュゲートされた抗Ｆｌａｇ抗体をＲＴで１時間添加した。洗浄後、３，３，５，５’－テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）基質を添加し、室温で１０分間インキュベートした後、１Ｎ　H_2SO_4を添加して反応を停止させ、Ｏ．Ｄ．を４５０ｎｍで読み取って、ＳｃＦｖのＣＤ１９に結合する相対的能力を定量化した。

【０２９０】

ｄ）ｓｃＦｖライブラリーの酵母ディスプレイ

ファージディスプレイ用と同じＳｃＦｖ出発材料を、酵母ＳｃＦｖディスプレイシステムにも組み込んだ。ファージ系ｓｃＦｖ分析を補うために、ヒトｓｃＦｖライブラリーを発現する酵母ライブラリーもスクリーニングした。組換えＣＤ１９－ＦｃとＣＨＯＫ１細胞の細胞表面上に発現されるＣＤ１９の両方に結合するｓｃＦｖを発現する酵母を富化するために、ＣＤ１９でトランスフェクトされたＣＨＯＫ１細胞に対する細胞パニングを行った。細胞表面に関する第１ラウンドのパニングのために、パニングの２日前に、ＣＨＯＫ１－ＣＤ１９細胞を６ウェルプレートに播き、Ｆ１２Ｋ培地で増殖させて集密度を５０％とした。次いで、５×10^7個の酵母細胞をＰＢＳＡ緩衝液で２回洗浄し、３ｍＬのＦ１２Ｋ培地に再懸濁し、次いで、ＣＨＯＫ１－ＣＤ１９細胞に穏やかに滴下添加した。ＣＨＯＫ１－ＣＤ１９細胞を、氷上で２時間緩やかに揺動させた後、次いで、氷冷ＰＢＳＡで３回洗浄して、ＣＨＯＫ１－ＣＤ１９に結合しなかった酵母細胞を除去し、次いで、０．０５％のトリプシン－ＥＤＴＡ（Ｇｉｂｃｏ）を使用して、ＣＨＯＫ１－ＣＤ１９細胞および結合した酵母細胞をプレートから解離させた。次いで、酵母細胞とＣＨＯＫ１細胞

を含有する細胞ミックスを、１０ｍＬのＳＤＣＡＡ培地に接種し、３０℃で一晩増幅させ、次いで、ＳＧＣＡＡ培地において３０℃で１６時間誘導した。第２ラウンドの細胞パニングについては、上記と同様のプロトコールを実施したが、より厳しい洗浄条件を使用した。このパニング方法によって、ｍ１９２１７バインダーが得られた。このバインダーならびにファージディスプレイからの他のバインダーをさらに特徴付けると、このヒットから創出されたＣＡＲの生物学的特徴が依然として最適でなかったため、親和性を成熟させる必要があることが示された。

【０２９１】

ｍ１９２１７の親和性を高めるために、エラープローンＰＣＲを使用することによって、酵母ディスプレイｍ１９２１７突然変異体ｓｃＦｖライブラリーを創出して、ｓｃＦｖ遺伝子配列にランダムな点突然変異を生じさせた。得られる突然変異体ライブラリーは、電気穿孔を施した後、次いで、ＳＤＣＡＡ培地において３０℃で１６時間かけて一晩増殖させ、次いで、ＳＧＣＡＡ培地に切り替え、３０℃でもう１６時間置いた。次いで、突然変異体ライブラリーを、捕捉抗原としてＣＤ１９－Ｆｃを用いたＭＡＣＳ（免疫磁性（ｉｍｍｕｎｏｍａｇｅｎｔｉｃ）カラム、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）によって選別して、ライブラリーの規模を縮小し、ＣＤ１９－Ｆｃに結合することのできる突然変異体の集団を増やした。次いで、プールを抗ｃ－Ｍｙｃ－Ａｌｅｘａ４８８およびＣＤ１９－Ｆｃ／抗Ｈｕ－Ｆｃで二重染色し、最も高い結合親和性およびｃ－Ｍｙｃ発現レベルを示したバインダーを選択することにより、最も強力なバインダーを選出した。次いで、この過程を、蛍光タグが付けられた抗原を用いた酵母粒子のフローサイトメトリーによって突然変異体プールの平均結合親和性が出発コンストラクトより大きくなるまで、もう２回繰り返した。結合親和性は、漸減量の標識ＣＤ１９を使用する酵母プールのフローサイトメトリーによって推定された。この過程の結果として、Ｍ１９２１７についての０．５μｇ／ｍｌというＥＣ５０（ＳｃＦｖを提示する酵母上の標識ＣＤ１９を５０％結合する有効濃度）が、親和性を成熟させたバインダー（Ｍ１９２１７－１、１９２１７－２、Ｍ１９２１７－７、Ｍ１９２１７－２３、Ｍ１９２１７－２９、Ｍ１９２１７－３８、Ｍ１９２１７－４０）についての０．０１μｇ／ｍｌ未満の親和性に高められた。

【０２９２】

結果：

ＣＤ１９構造の抗原負荷は独特であるため、ファージディスプレイ候補からは、生物学的に機能し得るＣＡＲコンストラクトが出ておらず、したがって、生物活性のあるバインダーをもたらすＳｃＦｖ特定を、酵母ディスプレイによって実現した。酵母ディスプレイによるＳｃＦｖのフローサイトメトリー分析に基づき、組換えヒトＣＤ１９に特異的な８種のＳｃＦｖクローンが特定され、それぞれ、ヒト抗ＣＤ１９ ＳｃＦｖバインダーＭ１９２１７（ＬＴＧ２０５０、初代クローン、ＥＣ５０は０．５μｇ／ｍｌ）、および親和性を成熟させた次のバインダー（ＥＣ５０は０．０１μｇ／ｍｌ未満）、即ち、Ｍ１９２１７－１（ＬＴＧ２０６５）、Ｍ１９２１７－２（ＬＴＧ２０６６）、Ｍ１９２１７－７（ＬＴＧ２０６７）、Ｍ１９２１７－２３（ＬＴＧ２０６８）、Ｍ１９２１７－２９（ＬＴＧ２０６９）、Ｍ１９２１７－３８（ＬＴＧ２０７０）、およびＭ１９２１７－４０（ＬＴＧ２０７１）と名付けた。抗ＣＤ１９ ｓｃＦｖ Ｍ１９２１７－１配列が組み込まれているタンデムＣＡＲの生成については、以下の実施例２で概説する。

【０２９３】

実施例１Ｂ

完全ヒトファージおよび酵母ディスプレイによるＳｃＦｖライブラリーからのＣＤ２２特異的抗体の単離

材料および方法：

ａ）ヒトＳｃＦｖおよびＣＤ２２特異的抗体の産生

５０人の健康なドナーの末梢血Ｂ細胞から構築されたナイーブヒトＳｃＦｖ（免疫グロブリンの組換え単鎖断片可変）ファージディスプレイライブラリー（およその多様性、10^{10}種の独自の特異性）（Ｚ．Ｙ．ＺｈｕおよびＤ．Ｓ．Ｄｉｍｉｔｒｏｖ、未公開デ

ータ）を、組換えヒトＣＤ１９タンパク質（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ、未公開）のためのＳｃＦｖｓの選択に使用した。ファージディスプレイしたＳｃＦｖ１０^{12}種の増幅されたライブラリーを、体積５×１００μｌのコーティングされたＣＤ２２、５、３、および１μｇとともにインキュベートし、第１、第２および第３のラウンドそれぞれのバイオパニング中に９６ウェルプレートのウェル５つに等しく分配し室温で２時間置いた。各ラウンドのインキュベーション後に、０．０５％　Ｔｗｅｅｎ２０を含むリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳＴ）で、第１のラウンドでは５回、その後のラウンドでは１０回ウェルを洗浄して非特異的に結合したファージを除去し、結合したファージをＴＧ１コンピテント細胞と３７℃で１時間混合し、感染させた細胞からファージを増幅させて次のラウンドのバイオパニングに使用した。第３のラウンドのバイオパニング後、感染させたＴＧ１細胞から３８０のクローンをランダムに選び、それぞれを、自動ＢｉｏＲｏｂｏｔｉｃｓ　ＢｉｏＰｉｃｋコロニーピッキングシステム（Ｇｅｎｏｍｉｃ　Ｓｏｌｕｔｉｏｎｓ、Ａｎｎ　Ａｒｂｏｒ、ＭＩ）を使用することにより、９６ウェルプレート中の、１００μｇ／ｍｌカルベニシリンおよび０．２％グルコースを含む２ＹＴ培地１５０μｌに接種した。細菌培養物が６００ｎｍでの光学密度（ＯＤ６００）０．５に到達した後、感染多重度（ＭＯＩ）１０のヘルパーファージＭ１３Ｋ０７および５０μｇ／ｍｌ（最終濃度）のカナマイシンを培地に添加し、プレートを振とう機において２５０ｒｐｍで、３０℃で一晩さらにインキュベートした。ファージ上清を体積比４：１で、ＰＢＳ中３％脱脂乳溶液と混合し、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）に使用して、高ＣＤ２２結合親和性を有するｓｃＦｖを提示するファージのクローンを同定した。上清を、９６ウェルプレート中で１ウェルあたり５０ｎｇのコーティングされた組換えヒトＣＤ２２とともに室温で２時間インキュベートし、ＰＢＳＴで５回洗浄し、（４℃で一晩インキュベートした後、ＰＢＳ中３％　脱脂乳溶液でブロッキングし、０．０５％　Ｔｗｅｅｎ２０を含むＰＢＳで３回洗浄した）。ＣＤ２２に結合したファージを、西洋ワサビペルオキシダーゼとコンジュゲートされたヤギ抗Ｍ１３抗体を使用して検出した。抗体とともにインキュベートした後、ウェルを洗浄することにより、非特異的に結合した抗体を除去し、３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）基質を添加し、４５０ｎｍでの溶液吸光度（Ａ４５０）を測定した。Ａ４５０が１．０を超える、ＣＤ２２に結合したクローンをさらなる特徴決定のために選択した。

【０２９４】

ｂ）選択された可溶性ＳｃＦｖの発現および精製

選択されたクローンのＶＨおよびＶＬをＤＮＡ配列決定し、独自の配列を有するクローンによりコードされるＳｃＦｖｓを下記のように発現させ、精製した。これらのクローンから抽出したプラスミドをＨＢ２１５１細胞の形質転換に使用した。新しく形質転換された細胞を含むプレートから単一コロニーを選び、１００μｇ／ｍｌアンピシリンおよび０．２％　グルコースを含む２ＹＴ培地２００ｍｌに接種し、２５０ｒｐｍで振とうしながら３７℃でインキュベートした。６００ｎｍでの培養物ＯＤが０．９０に到達すると、最終濃度０．５ｍＭでイソプロピル－β－ｄ－チオガラクトピラノシドを添加し、培養物を３０℃で一晩さらにインキュベートした。８，０００×ｇで２０分間遠心分離した後、細菌ペレットを収集し、０．５ｍＵポリミキシンＢ（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）を含むＰＢＳ緩衝液に再懸濁した。５０ｒｐｍで回転させながら室温で３０分間インキュベートした後、再懸濁したペレットを２５，０００×ｇで２５分間、４℃で遠心分離し、上清を、Ｎｉ－ＮＴＡ樹脂を使用して供給業者のプロトコール（Ｑｉａｇｅｎ）に従ってｓｃＦｖ精製に使用した。

【０２９５】

ｃ）ＥＬＩＳＡ結合アッセイ

ＥＬＩＳＡ分析のために、ＰＢＳで２μｇ／ｍｌに希釈された組換えヒトＣＤ２２　５０μｌを、９６ウェルプレートに４℃で一晩コーティングした。ＨｉｓおよびＦｌａｇタグを有する精製されたｓｃＦｖを段階希釈し、標的タンパク質でコーティングされたウェルに添加した。洗浄後、１：３０００に希釈された、ＨＲＰとコンジュゲートされた抗Ｆ

ｌａｇ抗体を室温で１時間添加した。洗浄後、３、３、５、５’－テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）基質を添加し、室温で１０分間インキュベートした後、１Ｎ　H_2SO_4を添加して反応を停止させ、Ｏ．Ｄ．を４５０ｎｍで読み取って、ｓｃＦｖの、ＣＤ２２に結合する相対的能力を定量化した。

【０２９６】

ｄ）ｓｃＦｖライブラリーの酵母ディスプレイ

ファージディスプレイ用と同じＳｃＦｖ出発材料を、酵母ＳｃＦｖディスプレイシステムにも組み込んだ。ファージ系ｓｃＦｖ分析を補うために、ヒトｓｃＦｖライブラリーを発現する酵母ライブラリーもスクリーニングした。組換えＣＤ２２－ＦｃとＣＨＯＫ１細胞の細胞表面上に発現されるＣＤ１９の両方に結合するｓｃＦｖを発現する酵母を富化するために、ＣＤ２２でトランスフェクトされたＣＨＯＫ１細胞に対する細胞パニングを行った。細胞表面に関する第１ラウンドのパニングのために、パニングの２日前に、ＣＨＯＫ１－ＣＤ２２細胞を６ウェルプレートに播き、Ｆ１２Ｋ培地で増殖させて集密度を５０％とした。次いで、5×10^7個の酵母細胞をＰＢＳＡ緩衝液で２回洗浄し、３ｍＬのＦ１２Ｋ培地に再懸濁し、次いで、ＣＨＯＫ１－ＣＤ２２細胞に穏やかに滴下添加した。ＣＨＯＫ１－ＣＤ２２細胞を、氷上で２時間緩やかに揺動させた後、次いで、氷冷ＰＢＳＡで３回洗浄して、ＣＨＯＫ１－ＣＤ２２に結合しなかった酵母細胞を除去し、次いで、０．０５％のトリプシン－ＥＤＴＡ（Ｇｉｂｃｏ）を使用して、ＣＨＯＫ１－ＣＤ２２細胞および結合した酵母細胞をプレートから解離させた。次いで、酵母細胞とＣＨＯＫ１細胞を含有する細胞ミックスを、１０ｍＬのＳＤＣＡＡ培地に接種し、３０℃で一晩増幅させ、次いで、ＳＧＣＡＡ培地において３０℃で１６時間誘導した。第２ラウンドの細胞パニングについては、上記と同様のプロトコールを実施したが、より厳しい洗浄条件を使用した。このパニング方法によって、１６Ｐ、２４Ｐ、２５Ｐ、１１Ｓ、および１２Ｓバインダーが得られた。一連のｉｎ　ｖｉｔｒｏ　ＣＡＲＴ機能アッセイにおいて、バインダー配列を、以下で実施例２に記載するように、ＣＡＲＴコンストラクトに組み込んだ。ファージディスプレイからのこれらのバインダーをＣＡＲＴフォーマットで特徴付けると、１６Ｐバインダーだけが、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで特異的な腫瘍溶解活性を示したが、その活性は、ＣＡＲ陽性対照に比べて低かったことが明らかになった。さらに、１６Ｐ系のＣＡＲＴ細胞をｉｎ　ｖｉｖｏ異種移植モデルにおいて試験したとき、その抗腫瘍機能は、非常に弱かった（実施例２、後掲）。まとめると、こうした結果から、このバインダーセットから創出されたＣＡＲの生物学的特徴が依然として最適でなかったため、抗ＣＤ２２　ＳｃＦｖバインダーの親和性を成熟させる必要があることが示された。

【０２９７】

１６Ｐの親和性を高めるために、エラープローンＰＣＲを使用することによって、酵母ディスプレイ突然変異体ｓｃＦｖライブラリーを創出して、ｓｃＦｖ遺伝子配列にランダムな点突然変異を生じさせた。得られる突然変異体ライブラリーは、電気穿孔を施した後、次いで、ＳＤＣＡＡ培地において３０℃で１６時間かけて一晩増殖させ、次いで、ＳＧＣＡＡ培地に切り替え、３０℃でもう１６時間置いた。次いで、突然変異体ライブラリーを、捕捉抗原としてＣＤ２２－Ｆｃを用いたＭＡＣＳ（免疫磁性カラム、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）によって選別して、ライブラリーの規模を縮小し、ＣＤ２２－Ｆｃに結合することのできる突然変異体の集団を増やした。次いで、プールを抗ｃ－Ｍｙｃ－Ａｌｅｘａ４８８およびＣＤ１９－Ｆｃ／抗Ｈｕ－Ｆｃで二重染色し、最も高い結合親和性およびｃ－Ｍｙｃ発現レベルを示したバインダーを選択することにより、最も強力なバインダーを選出した。次いで、この過程を、蛍光タグが付けられた抗原を用いた酵母粒子のフローサイトメトリーによって突然変異体プールの平均結合親和性が出発コンストラクトより大きくなるまで、もう２回繰り返した。結合親和性は、漸減量の標識ＣＤ２２を使用する酵母プールのフローサイトメトリーによって推定された。この過程の結果として、１６Ｐについての０．５μｇ／ｍｌというＥＣ５０（ＳｃＦｖを提示する酵母上の標識ＣＤ１９を５０％結合する有効濃度）が、親和性を成熟させたバインダー（１６Ｐ１、１６Ｐ２、１６Ｐ３、１６Ｐ３ｖ２、１６Ｐ６、１６Ｐ８、１６Ｐ１０、１６Ｐ１３、１６Ｐ１

５、１６Ｐ１６、１６Ｐ１７、１６Ｐ２０、１６Ｐ２０ｖ２）についての０．０１μｇ／ｍｌ未満の親和性に高められた。

【０２９８】

結果：

ＣＤ２２構造の抗原負荷は独特であるため、ファージディスプレイ候補からは、高い生物活性および特異性を有する十分に機能し得るＣＡＲ構造が出なかった。したがって、生物活性があり、高度に特異的なバインダーのためのＳｃＦｖを、酵母ディスプレイによって得た。酵母ディスプレイによるＳｃＦｖのフローサイトメトリー分析に基づき、組換えヒトＣＤ２２に特異的な１３種のＳｃＦｖクローンが特定され、それぞれ、ヒト抗ＣＤ２２　ＳｃＦｖバインダー１６Ｐ（ＬＴＧ２２０２、初代クローン、ＥＣ５０は０．５μｇ／ｍｌ）、および親和性を成熟させた次のバインダー（ＥＣ５０は０．０１μｇ／ｍｌ未満）、即ち、１６Ｐ１、１６Ｐ２、１６Ｐ３、１６Ｐ３ｖ２、１６Ｐ６、１６Ｐ８、１６Ｐ１０、１６Ｐ１３、１６Ｐ１５、１６Ｐ１７、１６Ｐ２０、および１６Ｐ２０ｖ２と名付けた。抗ＣＤ２２　ｓｃＦｖ　１６Ｐ１７配列が組み込まれているタンデムＣＡＲの生成については、以下の実施例２で概説する。

【０２９９】

実施例２

二重標的化タンデムＣＡＲを発現する完全ヒト抗ＣＤ２２および抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ結合性配列

この実施例では、腫瘍抗原ＣＤ１９およびＣＤ２２を同時に標的化する二重標的化ＣＡＲの創出について論述する。この手法に向けられている要求は、単一のＣＡＲ手法、即ち、抗ＣＤ１９ＣＡＲまたは抗ＣＤ２２ＣＡＲ療法を使用するＣＡＲ療法の失敗のかなりの部分の原因である腫瘍抗原逃避緩和の一助となることである（Ｓｏｔｉｌｌｏ，Ｅｌｅｎａら、「Ｃｏｎｖｅｒｇｅｎｃｅ　ｏｆ　ａｃｑｕｉｒｅｄ　ｍｕｔａｔｉｏｎｓ　ａｎｄ　ａｌｔｅｒｎａｔｉｖｅ　ｓｐｌｉｃｉｎｇ　ｏｆ　ＣＤ１９　ｅｎａｂｌｅｓ　ｒｅｓｉｓｔａｎｃｅ　ｔｏ　ＣＡＲＴ－１９　ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ」、Ｃａｎｃｅｒ　ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ（２０１５年）；Ｇａｒｄｎｅｒ，Ｒｅｂｅｃｃａら、「Ａｃｑｕｉｓｉｔｉｏｎ　ｏｆ　ａ　ＣＤ１９　ｎｅｇａｔｉｖｅ　ｍｙｅｌｏｉｄ　ｐｈｅｎｏｔｙｐｅ　ａｌｌｏｗｓ　ｉｍｍｕｎｅ　ｅｓｃａｐｅ　ｏｆ　ＭＬＬ－ｒｅａｒｒａｎｇｅｄ　Ｂ－ＡＬＬ　ｆｒｏｍ　ＣＤ１９　ＣＡＲ－Ｔ　ｃｅｌｌ　ｔｈｅｒａｐｙ」、Ｂｌｏｏｄ（２０１６年）：ｂｌｏｏｄ－２０１５；Ｆｒｙ，Ｔｅｒｒｙ　Ｊ．ら、「ＣＤ２２－ｔａｒｇｅｔｅｄ　ＣＡＲ　Ｔ　ｃｅｌｌｓ　ｉｎｄｕｃｅ　ｒｅｍｉｓｓｉｏｎ　ｉｎ　Ｂ－ＡＬＬ　ｔｈａｔ　ｉｓ　ｎａｉｖｅ　ｏｒ　ｒｅｓｉｓｔａｎｔ　ｔｏ　ＣＤ１９－ｔａｒｇｅｔｅｄ　ＣＡＲ　ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ」、Ｎａｔｕｒｅ　ｍｅｄｉｃｉｎｅ　２４．１巻（２０１８年）：２０号）。

【０３００】

マウスｓｃＦｖ配列のＣＡＲ構成要素としての利用は、患者において免疫拒絶またはアレルギー性アナフィラキシー反応を引き起こし、このため、ＣＡＲ　Ｔ治療の継続および利用は限定され、毒性のリスクが増大することが示されている。したがって、ＣＡＲ設計における完全ヒトｓｃＦｖバインダー配列の利用は、将来のＣＡＲ開発のために非常に優先すべきことである。

【０３０１】

ＣＤ１９は、８５～９５ｋＤａの膜貫通型細胞表面糖タンパク質受容体である。ＣＤ１９は、タンパク質の免疫グロブリン（Ｉｇ）スーパーファミリーの一員であり、２つの細胞外Ｉｇ様ドメイン、膜貫通、および細胞内シグナル伝達ドメインを含んでいる（Ｔｅｄｄｅｒ　ＴＦ、Ｉｓａａｃｓ、ＣＭ、１９８９年、Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　１４３巻：７１２～１７１頁）。ＣＤ１９は、抗原に対するＢ細胞受容体の誘発閾値を下げながら、Ｂ細胞受容体シグナル伝達を改変し（Ｃａｒｔｅｒ，ＲＨおよびＦｅａｒｏｎ，ＤＴ、１９９２年、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２５６巻：１０５～１０７頁）、ＣＤ８１およびＣＤ２１と協調して、この本質的なＢ細胞シグナル伝達複合体を調節する（Ｂｒａｄｂｕｒｙ，ＬＥ、Ｋａ

ｎｓａｓ ＧＳ、Ｌｅｖｙ Ｓ、Ｅｖａｎｓ ＲＬ、Ｔｅｄｄｅｒ ＴＦ、１９９２年、ＪＩｍｍｕｎｏｌ、１４９巻：２８４１～５０頁）。Ｂ細胞個体発生の間、ＣＤ１９は、プロＢ、プレ－プレＢ細胞、プレＢ、初期Ｂ細胞段階において、抗原受容体と無関係にシグナル伝達を行うことができ、Ｓｒｃファミリーのタンパク質チロシンキナーゼと会合し、チロシンリン酸化を受け、細胞内カルシウム動員およびイノシトールリン脂質シグナル伝達の両方を誘導する（Ｕｃｋｕｎ ＦＭ、Ｂｕｒｋｈａｒｄｔ ＡＬ、Ｊａｒｖｉｓ Ｌ、Ｊｕｎ Ｘ、Ｓｔｅａｌｙ Ｂ、Ｄｉｂｉｒｄｉｋ Ｉ、Ｍｙｅｒｓ ＤＥ、Ｔｕｅｌ－Ａｈｌｇｒｅｎ Ｌ、Ｂｏｌｅｎ ＪＢ、１９８３年、Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２６８巻：２１１７２～８４頁）。Ｂ細胞悪性疾患の処置に関係のある重要な点は、ＣＤ１９が、ＩｇＨ遺伝子再構成の段階にある初期前駆Ｂ細胞、成熟Ｂ細胞に限定される厳重に調節された形で正常Ｂ細胞上に発現されるが、造血幹細胞または成熟形質細胞上には発現されないということである（Ａｎｄｅｒｓｏｎ，ＫＣ、Ｂａｔｅｓ，ＭＰ、Ｓｌａｕｇｈｅｎｈｏｕｔ ＢＬ、Ｐｉｎｋｕｓ ＧＳ、Ｓｃｈｌｏｓｓｍａｎ ＳＦ、Ｎａｄｌｅｒ ＬＭ、１９８４年、Ｂｌｏｏｄ ６３巻：１４２４～１４３３頁）。

【０３０２】

ホモ・サピエンスＣＤ２２（ＳＩＧＬＥＣ－２、Ｌｅｕ１４）は、Ｂ細胞白血病およびリンパ腫において発現される十分に研究された細胞表面糖タンパク質である。少なくとも２種の抗ＣＤ２２抗体薬物（イノツズマブオゾガマイシン）または免疫毒素コンジュゲート（モキセツモマブパスードトクス）が、臨床試験の対象となっている（ＮＣＴ０２９８１６２８、ＮＣＴ００６５９４２５）。こうした手法は、多少の成功を収めており、例えば、他の化学療法剤と組み合わせて、今なお研究がなされている（Ｍｕｌｌｅｒ Ｆ、Ｓｔｏｏｋｅｙ Ｓ、Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ Ｔ、Ｐａｓｔａｎ Ｉ、２０１７、Ｐａｃｌｉｔａｘｅｌ ｓｙｎｅｒｇｉｚｅｓ ｗｉｔｈ ｅｘｐｏｓｕｒｅ ｔｕｍｅ ａｄｊｕｓｔｅｄ ＣＤ２２－ｔａｒｇｅｔｅｄ ｉｍｍｕｎｏｔｏｘｉｎｓ ａｇａｉｎｓｔ Ｂ－ｃｅｌｌ ｍａｌｉｇｎａｎｃｉｅｓ、Ｏｎｃｏｔａｒｇｅｔ ８巻：３０６４４～３０６５５頁）。しかし、ＣＤ１９ ＣＡＲによるＴ細胞療法の現在の進歩を踏まえると、ＣＤ２２発現悪性腫瘍を標的化する最良の手法は、細胞ベースの免疫療法である。ｍ９７１ベースの抗ＣＤ２２ ＣＡＲを特色とする療法が、米国国立がん研究所において現在臨床試験中である（ＮＣＴ０２３１５６１２、Ｐ．Ｉ．：Ｔｅｒｒｙ Ｆｒｙ，Ｍ．Ｄ．）。ここで提供するタンデムＣＤ２２ ＣＤ１９標的化ＣＡＲコンストラクトは、完全な永続性のある寛解を実現し、腫瘍抗原逃避を防ぐための、新たな完全ヒトＣＤ１９およびＣＤ２２結合性部分を１つのコンストラクトとして創出および実装する革新的な新手法である。

【０３０３】

この実施例では、ＣＤ１９およびＣＤ２２を標的化するタンデムＣＡＲとの比較として、単一ＣＡＲ対照を用いている。マウスハイブリドーマＦＭＣ６３由来ｓｃＦｖを利用するＣＡＲコンストラクトＬＴＧ１５３８を、活性対照とする。このマウス由来配列は、商業開発において用いられている現用のバインダーである（ＫＴＥ－Ｃ１９、Ｋｉｔｅ Ｐｈａｒｍａ、およびＣＴＬ０１９、Ｎｏｖａｒｔｉｓを参照されたい）。ｍ９７１ ＣＡＲであるＬＴＧ２２００は、ＮＣＩにおいて評価がなされているＣＡＲと同等であり、抗ＣＤ２２ ＣＡＲ対照として使用する。

【０３０４】

材料および方法：

（ａ）細胞株

バーキットリンパ腫細胞株であるＲａｊｉ、および慢性骨髄性白血病株Ｋ５６２は、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｉｓｓｕｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ （ＡＴＣＣ、Ｍａｎａｓｓａｓ、ＶＡ）から購入した。ＲＥＨ白血病株は、ＤＳＭＺ（Ｌｅｉｂｎｉｚ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ＤＳＭＺ、Ｂｒａｕｎｓｃｈｗｉｅｇ、ドイツ国）から購入した。細胞は、１０％の熱不活化ウシ胎児血清（ＦＢＳ、Ｈｙｃｌｏｎｅ、Ｌｏｇａｎ、ＵＴ）および２ｍＭのＬ－Ｇｌｕｔａｍａｘ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、Ｇｒａｎｄ Ｉｓｌａｎｄ、ＮＹ）で補充したＲＰＭＩ－１６４０培地において培養

した。ヒト胎児由来腎臓株２９３Ｔは、ＡＴＣＣから購入した（Ｇｉｂｃｏ／Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、Ｇｒａｎｄ Ｉｓｌａｎｄ、ＮＹ）。野生型腫瘍株に、ホタルルシフェラーゼをコードするレンチウイルスベクター（Ｌｅｎｔｉｇｅｎ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．、Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ、ＭＤ）を安定に形質導入した後、クローン化し、ルシフェラーゼ陽性クローンを選択することにより、ルシフェラーゼ発現細胞株の単一細胞クローンを生成した。Ｒａｊｉクローンは、ルシフェラーゼが形質導入されたＲａｊｉ細胞をマウスにおいて継代することにより生成し、その増殖能力について選択した。Ｏｋｌａｈｏｍａ Ｂｌｏｏｄ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ（ＯＢＩ）において、書面によるドナーの同意を得て、健康なボランティアから全血が採取された。加工されたバフィーコートをＯＢＩ（Ｏｋｌａｈｏｍａ Ｃｉｔｙ、ＯＫ）から購入した。ＣＤ４およびＣＤ８マイクロビーズ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ、Ｂｅｒｇｉｓｃｈ Ｇｌａｄｂａｃｈ、Ｇｅｒｍａｎｙ）の１：１混合物を製造業者のプロトコールに従って使用する正の選択によって、バフィーコートからＣＤ４陽性およびＣＤ８陽性ヒトＴ細胞を精製した。

【０３０５】

（ｂ）キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）の創出－発現ベクター

ＣＡＲ抗原結合性ドメイン、ＳｃＦｖ、配列は、ヒト抗ＣＤ２２ ＳｃＦｖまたは重鎖可変断片に由来していた。バインダー配列を、インフレームでＣＤ８ａ連結および膜貫通ドメイン（ａａ１２３－１９１、Ｒｅｆ配列ＩＤ ＮＰ＿００１７５９．３）、次いで、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７、ａａ２１４－２５５、ＵｎｉＰｒｏｔ配列ＩＤ Ｑ０７０１１）シグナル伝達ドメインおよびＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメイン（ＣＤ２４７、ａａ５２－１６３、Ｒｅｆ配列ＩＤ：ＮＰ＿０００７２５．１）に連結することにより、ＣＡＲＴコンストラクトを生成した。ＣＡＲコンストラクト配列を、第３世代のレンチウイルスプラスミド骨格（Ｌｅｎｔｉｇｅｎ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｃ．、Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ、ＭＤ）にクローニングした。ＨＥＫ ２９３Ｔ細胞の一過性トランスフェクションによりレンチウイルスベクター（ＬＶ）を含む上清を生成し、レンチウイルスベクターを含む上清を遠心処理することによってベクターをペレットにして、－８０℃で保管した。

【０３０６】

（ｃ）初代Ｔ細胞精製および形質導入

製造業者（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ、Ｂｅｒｇｉｓｃｈ Ｇｌａｄｂａｃｈ、Ｇｅｒｍａｎｙ）のプロトコールに従うＣＤ４$^{+}$およびＣＤ８$^{+}$細胞の免疫磁性ビーズ選択を使用して、全血またはバフィーコート（書面によるドナーの同意を有する民間提供者から購入）から、健康なボランティア由来のヒト初代Ｔ細胞を精製した。Ｔ細胞を、２００ＩＵ／ｍｌのＩＬ－２を添加したＴｅｘＭＡＣＳ培地で、０．３～２×１０^{6}細胞／ｍｌの密度で培養し、ＣＤ３／ＣＤ２８ ＭＡＣＳ（登録商標）ＧＭＰ Ｔ Ｃｅｌｌ ＴｒａｎｓＡｃｔ試薬（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）で活性化し、２日目に、１０ｕｇ／ｍｌの硫酸プロタミン（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）の存在下で、ＣＡＲコンストラクトをコードするレンチウイルスベクターを一晩形質導入し、３日目に培地を交換した。２００ＩＵ／ｍｌのＩＬ－２を添加したＴｅｘＭＡＣＳ培地において、８～１３日目の採取まで、培養物を繁殖させた。

【０３０７】

（ｄ）免疫エフェクターアッセイ（ＣＴＬおよびサイトカイン）

細胞媒介性の細胞傷害性を決定するため（ＣＴＬアッセイ）、ホタルルシフェラーゼが安定に形質導入された標的細胞５，０００個を種々のエフェクター対標的比でＣＡＲ Ｔ細胞と合わせ、一晩インキュベートした。ＳｔｅａｄｙＧｌｏ試薬（Ｐｒｏｍｅｇａ、Ｍａｄｉｓｏｎ ＷＩ）を各ウェルに添加し、生じた発光を秒あたりのカウントとして定量化した（試料ＣＰＳ）。標的のみのウェル（最大ＣＰＳ）および１％Ｔｗｅｅｎ－２０を加えた標的のみのウェル（最小ＣＰＳ）を使用して、アッセイ範囲を決定した。特異的な溶解パーセントを、（１－（試料ＣＰＳ－最小ＣＰＳ）／（最大ＣＰＳ－最小ＣＰＳ））

として算出した。１０：１のＥ：Ｔ比の共培養物からの上清を取り出し、ＥＬＩＳＡ（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）によって、ＩＦＮγ、ＴＮＦα、およびＩＬ－２濃度について分析した。

【０３０８】

（ｅ）フローサイトメトリー分析

細胞染色では、ＣＡＲ Ｔ形質導入細胞５０万個を培養物から採取し、０．５％ ウシ血清アルブミン（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）を添加した低温のＡｕｔｏＭＡＣＳ緩衝液中で２回洗浄し、ＣＤ２２－Ｆｃペプチドに続いて抗Ｆｃ－ＰＥコンジュゲート（Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ、Ｗｅｓｔ Ｇｒｏｖｅ、ＰＡ）で染色することにより、ＣＡＲ表面発現を検出した。供給業者のプロトコールにより、表示があった場合は、ＶｉｏＢｌｕｅフルオロフォアにコンジュゲートされた抗ＣＤ４抗体（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）を使用した。陰性対照として非形質導入細胞を使用した。全ての研究で、死滅した細胞は７ＡＡＤ染色（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓａｎ Ｊｏｓｅ、ＣＡ）により除外した。細胞を２回洗浄し、フローサイトメトリーによる定量分析前に染色緩衝液２００ｕｌで再懸濁させた。ＭＡＣＳＱｕａｎｔ（登録商標）１０ Ａｎａｌｙｚｅｒ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）でフローサイトメトリー分析を実施し、ＦｌｏｗＪｏソフトウェア（Ａｓｈｌａｎｄ、ＯＲ）を使用してデータプロットを作成した。

【０３０９】

結果

腫瘍抗原逃避を克服するために、ＣＤ２２およびＣＤ１９腫瘍抗原の二重標的化のためのタンデムＣＡＲコンストラクトを開発した。タンデムＣＡＲ設計の概要（Ｓｈｅｍａ）を図１Ａおよび１Ｂに示す。ＣＤ１９およびＣＤ２２を標的化する完全ヒトｓｃＦｖバインダーを、膜遠位から近位として示す２２－１９または１９－２２いずれかの配向で、可動性リンカーによってタンデムに接続した。次いで、得られるＣＡＲ結合性セグメントを、ＣＤ８ヒンジおよび膜貫通ドメイン、４－１ＢＢ共刺激ドメイン、およびＣＤ３ゼータ活性化ドメインに、インフレームで連結して、ＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１、図１Ａ）またはＣＡＲ１９－２２（ＬＴＧ２７１９、図１Ｂ）を作製した。ＣＡＲ配列を、第３世代レンチウイルスベクターに組み込み、初代ヒトＴ細胞に適用して形質導入した。

【０３１０】

この実施例では、ＣＤ１９およびＣＤ２２を標的化するタンデムＣＡＲとの比較として、単一ＣＡＲ対照を用いている。マウスハイブリドーマＦＭＣ６３由来ｓｃＦｖを利用するＣＡＲコンストラクトＬＴＧ１５３８を、活性対照とする。このマウス由来配列は、商業開発において用いられている現用のバインダーである（ＫＴＥ－Ｃ１９、Ｋｉｔｅ Ｐｈａｒｍａ、およびＣＴＬ０１９、Ｎｏｖａｒｔｉｓを参照されたい）。ｍ９７１ ＣＡＲであるＬＴＧ２２００は、ＮＣＩにおいて評価がなされているＣＡＲと同等であり、抗ＣＤ２２ＣＡＲ対照として使用する。

【０３１１】

ＣＤ１９／ＣＤ２２抗原と反応性である単鎖断片可変（ＳｃＦｖ）配列が組み込まれている抗ＣＤ１９／ＣＤ２２ＣＡＲの表面発現を、図２に示す。ＳｃＦｖを含んだ各ＣＡＲについての発現レベルは、健康なドナーからのＬＶ形質導入Ｔ細胞のフローサイトメトリー分析により、２つの検出方法、即ち、ｉ）ＣＤ２２－ｈｉｓに続いて抗ｈｉｓ－ＰＥ、ｉｉ）ＣＤ１９ Ｆｃ組換えタンパク質に続いて抗Ｆｃ－Ａ６４７の一方を使用して決定した。ＳｃＦｖベースの抗ＣＤ１９／ＣＤ２２ＣＡＲコンストラクトであるＣＡＲ２２－１９ ＬＴＧ２６８１およびＣＡＲ１９－２２ ＬＴＧ２７１９は、ヒト初代Ｔ細胞において、非形質導入Ｔ細胞対照に比べて高度に発現された。

【０３１２】

図３に示されるように、ＣＤ１９／ＣＤ２２ＣＡＲの高度な細胞溶解活性が実証された。ヒト初代Ｔ細胞に、ＣＡＲコンストラクトをコードするＬＶを形質導入し（ＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１、Ｄ００２３）、ＣＡＲ１９－２２（ＬＴＧ２７９１、Ｄ００２

４）、ＣＡＲ１９（ＬＴＧ１５３８）、またはＣＡＲ２２（ＬＴＧ２２００）；方法を参照されたい）、次いで、蛍光系ｉｎ　ｖｉｔｒｏ死滅アッセイに向けて、ホタルルシフェラーゼが安定に形質導入されたＲａｊｉ、ＲＥＨ、または２９３Ｔ細胞株と共に１８時間インキュベートした。ＲａｊｉおよびＲｅｈ白血病株は、その表面にＣＤ１９およびＣＤ２２を発現するが、陰性対照である２９３Ｔは発現しない。ＲａｊｉおよびＲＥＨ細胞は、タンデムＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１）、タンデムＣＡＲ１９－２２（ＬＴＧ２７１９０）、ならびに単一標的化対照であるＣＡＲ１９（ＬＴＧ１５３８）およびＣＡＲ２２（ＬＴＧ２２００）によって有効に溶解された（図３）。したがって、タンデムＣＡＲ２２－１９およびＣＡＲ１９－２２はどちらも、ＣＤ１９およびＣＤ２２抗原を同時発現する腫瘍株において機能し、ＣＤ１９－ＣＤ２２－細胞株２９３Ｔに対しては自発死滅活性を示さず、これらのコンストラクトの標的特異性が強調された。

【０３１３】

次に、単一の標的抗原（ＣＤ１９もしくはＣＤ２２、または無関係の抗原ＣＤ２０）だけを発現するように操作された腫瘍株Ａ４３１または２９３Ｔを使用することにより、タンデムＣＡＲにおける各ｓｃＦｖの機能性および特異性を、切り離して試験した。ＣＤ１９（２９３Ｔ　ｌｕｃ　ＣＤ１９＋）またはＣＤ２２（２９３Ｔ　ｌｕｃ－２０＋）を発現する２９３Ｔ－ｌｕｃ株を創出し、ＣＤ２０＋（２９３Ｔ　ｌｕｃ　ＣＤ２０）を無関係標的対照として使用した（図４Ａ）。２９３Ｔ－１９＋は、ＣＡＲ１９（ＬＴＧ１５３８）およびタンデムＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１）によって溶解されたが、ＣＡＲ２２　ＬＴＧ２２００または非形質導入Ｔ細胞対照によっては溶解されなかった（図３）。２９３Ｔ－ＣＤ２２＋は、タンデムＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１）および単一ＣＡＲ２０　ＬＴＧ２２００によって溶解されたが、単一ＣＡＲ１９（ＬＴＧ１５３８）または非形質導入対照によっては溶解されず、タンデムＣＡＲの抗原特異性が実証された。最後に、２９３Ｔ　ｌｕｃ　ＣＤ２０細胞は、この抗原が標的化されなかったため、ＣＡＲコンストラクトによって溶解されなかった（図４Ａ）。同様に、ＣＤ１９抗原だけ（Ａ４３１　ｌｕｃ　ＣＤ１９）もしくはＣＤ２２抗原だけ（Ａ４３１　ｌｕｃ－ＣＤ２２）を発現するＡ４３１クローン、またはタンデムＣＡＲ１９－２２および２２－１９によって認識されることが意図されていないＣＤ２０抗原を発現する無関係標的対照株であるＡ４３１　ｌｕｃ　－ＣＤ２０に対する一晩死滅アッセイにおいても、タンデムＣＡＲ　Ｔ細胞を試験した（図４Ｂ）。ここでも、Ａ４３１　ｌｕｃ　ＣＤ１９株が、ＣＡＲ１９（ＬＴＧ１５３８）およびタンデムＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１）によってのみ溶解され、ＣＡＲ２２　ＬＴＧ２２００または非形質導入Ｔ細胞対照によっては溶解されなかったのに対し、Ａ４３１　ｌｕｃ　ＣＤ２２株は、タンデムＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１）および単一ＣＡＲ２０　ＬＴＧ２２００によって溶解されたが、単一ＣＡＲ１９（ＬＴＧ１５３８）または非形質導入対照によっては溶解されず、タンデムＣＡＲの抗原特異性が実証された。さらに、Ａ４３１　ｌｕｃ　ＣＤ２０細胞は、この抗原が標的化されなかったため、ＣＡＲコンストラクトによって溶解されなかった（図４Ｂ）。この結果は、タンデムＣＡＲ２２－１９の各標的化ドメインの独立した機能性および特異性（図４Ａ～４Ｂ）、ならびにＣＤ１９およびＣＤ２２抗原を標的化するタンデムＣＡＲが腫瘍抗原逃避を緩和する潜在的可能性を強調するものである。

【０３１４】

次いで、抗ＣＤ１９／ＣＤ２２ＣＡＲ　Ｔ細胞のサイトカイン分泌能力を評価した（図５）。ＣＤ１９＋ＣＤ２２＋Ｒａｊｉ腫瘍細胞を、タンデム２２－１９ＣＡＲ　Ｔ細胞（ＬＴＧ２６８１）、陽性対照ＣＡＲ１９（ＬＴＧ１５３８）、陽性対照ＣＡＲ２２（ＬＴＧ２２００）、または陰性対照非形質導入Ｔ細胞（ＵＴＤ）と共に、１０：１のエフェクター対標的比で、一晩共インキュベートし、培養上清を、ＥＬＩＳＡによって、ＩＦＮガンマ、ＴＮＦアルファ、およびＩＬ－２について分析した。タンデムＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１）は、腫瘍細胞に反応して、サイトカインを強力に誘導したのに対し、陰性対照（非形質導入、ＵＴＤ）は、感知できるサイトカイン誘導をもたらさなかった。特に、タンデムＣＡＲ　Ｔ発現細胞であるＬＴＧ２６８１は、ＣＡＲ２２対照（ＬＴＧ２２

００）と同様のレベルのＩＦＮガンマ、ＴＮＦアルファ、ＩＬ－２、および単一ＣＡＲ１９（ＬＴＧ１５３８）対照よりやや高いサイトカイン応答を示し、タンデムＣＡＲの高い効力が実証された。重要なことに、ＣＡＲ２２－１９は、腫瘍細胞が存在しなければ（ＣＡＲＴ単独群）サイトカイン分泌を生じておらず、これにより、ＣＡＲ特異性がさらに確認され、タンデムＣＡＲによる持続性シグナル伝達はないことが示唆された。

【０３１５】

実施例３

種々の共刺激ドメインが組み込まれている二重標的化ＣＡＲ２２－１９コンストラクトは、堅固な抗腫瘍機能を示す

この実施例では、種々の共刺激ドメインが組み込まれているタンデムＣＤ２２およびＣＤ１９二重標的化ＣＡＲコンストラクトについて論述する。この実施例においてＣＡＲ２２－１９設計に利用した共刺激ドメインには、ＩＣＯＳ、ＯＸ４０、ＣＤ２７、ＣＤ１３７／４－１ＢＢ、およびＣＤ２８が含まれる。これらの共刺激ドメイン配列は、Ｔ細胞活性化、増殖、持続性、表現型分化、記憶形成、および抗腫瘍応答を含むＴ細胞機能の正の調節に関与することが知られているＴ細胞表面分子由来である（Ｚｈａｏ Ｚ、Ｃｏｎｄｏｍｉｎｅｓ Ｍ、ｖａｎ ｄｅｒ Ｓｔｅｇｅｎ ＳＪら、Ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｄｅｓｉｇｎ ｏｆ ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ ｃｏｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎ ｄｅｔｅｒｍｉｎｅｓ ｔｕｍｏｒ ｒｅｊｅｃｔｉｏｎ ｋｉｎｅｔｉｃｓ ａｎｄ ｐｅｒｓｉｓｔｅｎｃｅ ｏｆ ＣＡＲ Ｔ ｃｅｌｌｓ．Ｃａｎｃｅｒ ｃｅｌｌ２８巻：４１５～４２８頁、２０１５年；Ｇｕｅｄａｎ Ｓ、Ｐｏｓｅｙ ＡＤ、Ｊｒ．、Ｓｈａｗ Ｃら、Ｅｎｈａｎｃｉｎｇ ＣＡＲ Ｔ ｃｅｌｌ ｐｅｒｓｉｓｔｅｎｃｅ ｔｈｒｏｕｇｈ ＩＣＯＳ ａｎｄ ４－１ＢＢ ｃｏｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎ．ＪＣＩ Ｉｎｓｉｇｈｔ３巻、２０１８年；Ｓｏｎｇ Ｄ－Ｇ、Ｙｅ Ｑ、Ｐｏｕｓｓｉｎ Ｍら、ＣＤ２７ ｃｏｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎ ａｕｇｍｅｎｔｓ ｔｈｅ ｓｕｒｖｉｖａｌ ａｎｄ ａｎｔｉｔｕｍｏｒ ａｃｔｉｖｉｔｙ ｏｆ ｒｅｄｉｒｅｃｔｅｄ ｈｕｍａｎ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｉｎ ｖｉｖｏ．Ｂｌｏｏｄ１１９巻：６９６～７０６頁、２０１２年；Ｈｏｍｂａｃｈ ＡＡ、Ｈｅｉｄｅｒｓ Ｊ、Ｆｏｐｐｅ Ｍら、ＯＸ４０ ｃｏｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎ ｂｙ ａ ｃｈｉｍｅｒｉｃ ａｎｔｉｇｅｎ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ａｂｒｏｇａｔｅｓ ＣＤ２８ ａｎｄ ＩＬ－２ ｉｎｄｕｃｅｄ ＩＬ－１０ ｓｅｃｒｅｔｉｏｎ ｂｙ ｒｅｄｉｒｅｃｔｅｄ ＣＤ４＋ Ｔ ｃｅｌｌｓ．Ｏｎｃｏｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ１巻：４５８～４６６頁、２０１２年；Ｙｏｓｈｉｎａｇａ ＳＫ、Ｗｈｏｒｉｓｋｅｙ ＪＳ、Ｋｈａｒｅ ＳＤら、Ｔ－ｃｅｌｌ ｃｏ－ｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎ ｔｈｒｏｕｇｈ Ｂ７ＲＰ－１ ａｎｄ ＩＣＯＳ．Ｎａｔｕｒｅ ４０２巻：８２７～８３２頁、１９９９年）。一部の場合では、ＣＡＲリンカー／ヒンジ領域も、利用した共刺激ドメイン由来のものとした。

【０３１６】

ＣＤ１９およびＣＤ２２抗原の同時発生的な二重標的化は、ＣＤ１９またはＣＤ２２のいずれかを標的化した単一ＣＡＲ療法を受けたことのある患者の亜集団において治療利益の妨げとなっている、腫瘍抗原逃避を緩和するように設計される（Ｓｏｔｉｌｌｏ，Ｅｌｅｎａら、「Ｃｏｎｖｅｒｇｅｎｃｅ ｏｆ ａｃｑｕｉｒｅｄ ｍｕｔａｔｉｏｎｓ ａｎｄ ａｌｔｅｒｎａｔｉｖｅ ｓｐｌｉｃｉｎｇ ｏｆ ＣＤ１９ ｅｎａｂｌｅｓ ｒｅｓｉｓｔａｎｃｅ ｔｏ ＣＡＲＴ－１９ ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ」、Ｃａｎｃｅｒ ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ（２０１５年）；Ｇａｒｄｎｅｒ，Ｒｅｂｅｃｃａら、「Ａｃｑｕｉｓｉｔｉｏｎ ｏｆ ａ ＣＤ１９ ｎｅｇａｔｉｖｅ ｍｙｅｌｏｉｄ ｐｈｅｎｏｔｙｐｅ ａｌｌｏｗｓ ｉｍｍｕｎｅ ｅｓｃａｐｅ ｏｆ ＭＬＬ－ｒｅａｒｒａｎｇｅｄ Ｂ－ＡＬＬ ｆｒｏｍ ＣＤ１９ ＣＡＲ－Ｔ ｃｅｌｌ ｔｈｅｒａｐｙ」、Ｂｌｏｏｄ（２０１６年）：ｂｌｏｏｄ－２０１５；Ｆｒｙ，Ｔｅｒｒｙ Ｊ．ら、「ＣＤ２２－ｔａｒｇｅｔｅｄ ＣＡＲ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｉｎｄｕｃｅ ｒｅｍｉｓｓｉｏｎ ｉｎ Ｂ－ＡＬＬ ｔｈａｔ ｉｓ ｎａｉｖｅ ｏｒ ｒｅｓｉｓｔａｎｔ ｔｏ ＣＤ１９－ｔａｒｇｅｔｅｄ ＣＡＲ ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ」、Ｎａｔｕｒｅ ｍｅｄｉｃｉｎｅ ２４．１巻（２０１８年）：２０号）。

【０３１７】
ＣＡＲ設計において、宿主に抗「外来」免疫応答を引き起こさせかねない非ヒト起源の配列を回避することは、ＣＡＲ Ｔ細胞の持続性の向上に寄与すると考えられ、好ましい。この実施例において利用するＣＡＲ構成要素はすべて、ヒト起源のものとした。Ｔ細胞膜近位ヒトｓｃＦｖ標的化ＣＤ１９にインフレームで連結されたＴ細胞膜遠位ヒトｓｃＦｖ標的化ＣＤ２２で構成された、抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲ（ＬＴＧ２７３７）をもとにしたＣＡＲバインダー配置を、実施例３における全てのＣＡＲコンストラクトに利用した。
【０３１８】
材料および方法：
（ａ）細胞株
バーキットリンパ腫細胞株であるＲａｊｉは、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｉｓｓｕｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ、Ｍａｎａｓｓａｓｓ、ＶＡ）から購入した。細胞は、１０％の熱不活化ウシ胎児血清（ＦＢＳ、Ｈｙｃｌｏｎｅ、Ｌｏｇａｎ、ＵＴ）および2mMのＬ－Ｇｌｕｔａｍａｘ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、Ｇｒａｎｄ Ｉｓｌａｎｄ、ＮＹ）で補充したＲＰＭＩ－１６４０培地で培養した。ヒト胎児由来腎臓株２９３Ｔは、ＡＴＣＣから購入した（Ｇｉｂｃｏ／Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、Ｇｒａｎｄ Ｉｓｌａｎｄ、ＮＹ）。野生型腫瘍株に、ホタルルシフェラーゼをコードするレンチウイルスベクター（Ｌｅｎｔｉｇｅｎ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．、Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ、ＭＤ）を安定に形質導入した後、クローン化し、ルシフェラーゼ陽性クローンを選択することで、ルシフェラーゼ発現細胞株の単一細胞クローンを生成した。それぞれ２９３ＴＣＤ１９および２９３ＴＣＤ２２と呼ぶ、ＣＤ１９およびＣＤ２２を発現する２９３Ｔ細胞株クローンは、親２９３Ｔ－ルシフェラーゼ発現クローンに、ヒトＣＤ１９タンパク質およびヒトＣＤ２２タンパク質をレンチウイルスによって形質導入しその後、必要に応じて、単一細胞クローン化、ＣＤ１９またはＣＤ２２陽性標的細胞クローンの選択および増殖を行うことにより生成した。安定したルシフェラーゼ発現Ｒａｊｉクローンは、ルシフェラーゼが形質導入されたＲａｊｉ細胞をマウスにおいて継代することにより生成し、その増殖能力について選択した。Ｏｋｌａｈｏｍａ Ｂｌｏｏｄ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ（ＯＢＩ）において、書面によるドナーの同意を得て、健康なボランティアから全血が採取された。加工されたバフィーコートをＯＢＩ（Ｏｋｌａｈｏｍａ Ｃｉｔｙ、ＯＫ）から購入した。ＣＤ４およびＣＤ８マイクロビーズ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ、Ｂｅｒｇｉｓｃｈ Ｇｌａｄｂａｃｈ、Ｇｅｒｍａｎｙ）の１：１混合物を製造業者のプロトコールに従って使用する正の選択によって、バフィーコートからＣＤ４陽性およびＣＤ８陽性ヒトＴ細胞を精製した。
【０３１９】
（ｂ）キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）の創出－発現ベクター
タンデムＣＡＲ抗原結合性ドメインを、ヒト抗ＣＤ２２ ＳｃＦｖおよびヒト抗ＣＤ１９ ｓｃＦｖ配列から得、抗ＣＤ２２ ｓｃＦｖ－抗ＣＤ１９ ｓｃＦｖ－ヒンジ－膜貫通ドメイン－内部ドメインという配置でタンデムに連結した。一部のＣＡＲ Ｔコンストラクトは、ＣＡＲ抗原結合性ドメインを、ＣＤ８ａヒンジおよび膜貫通ドメイン（ａａ１２３－１９１、Ｒｅｆ配列ＩＤ ＮＰ＿００１７５９．３）に、次いで４－１ＢＢ（ＣＤ１３７、ａａ２１４－２５５、ＵｎｉＰｒｏｔ配列ＩＤ Ｑ０７０１１）シグナル伝達ドメインおよびＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメイン（ＣＤ２４７、ａａ５２－１６３、Ｒｅｆ配列ＩＤ：ＮＰ＿０００７２５．１）に、インフレームで連結することにより作製した。他のコンストラクトでは、４－１ＢＢ共刺激ドメインを、ヒトＩＣＯＳ、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＯＸ－４０共刺激ドメインと、各分子の完全シグナル伝達ドメイン配列を使用して置換した。一部の実施形態では、ＣＤ８膜貫通ドメインを、共刺激ドメインと同じタンパク質由来の膜貫通配列によって置換した。一部の実施形態では、ＣＡＲの内部ドメインが、タンデムに接続された２つの共刺激ドメインを含んでいた。一部の実施形態では、共刺激ドメインを使用せず、ＣＤ３ζ活性化ドメインを、膜貫通ドメインに直接インフレームで連結した。一部の実施形態では、２つのＣＡＲ鎖が、同じ２シストロン性発現カセットの中

にコードされ、２Ａリボソームスキップエレメントによって隔てられており、したがって、２シストロン性ＣＡＲをコードするレンチウイルスコンストラクトが形質導入された各Ｔ細胞における、２つのＣＡＲ鎖の同時発現が可能となった。ＣＡＲコンストラクト配列は、ヒトＥＦ－１αプロモーターの制御下にある第３世代レンチウイルスプラスミド骨格（Ｌｅｎｔｉｇｅｎ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｃ．、Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ、ＭＤ）にクローン化した。ＨＥＫ２９３Ｔ細胞の一過性トランスフェクションによりレンチウイルスベクター（ＬＶ）を含む上清を生成し、レンチウイルスベクターを含む上清を遠心処理することによりベクターをペレットにして、－８０℃で保存した。

【０３２０】

（ｃ）初代Ｔ細胞精製および形質導入

製造業者（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ、Ｂｅｒｇｉｓｃｈ Ｇｌａｄｂａｃｈ、Ｇｅｒｍａｎｙ）のプロトコールに従うＣＤ４$^{+}$およびＣＤ８$^{+}$細胞の免疫磁性ビーズ選択を使用して、全血またはバフィーコート（書面によるドナーの同意を有する民間提供者から購入）から、健康なボランティア由来のヒト初代Ｔ細胞を精製した。Ｔ細胞を、２００ＩＵ／ｍｌのＩＬ－２を添加したＴｅｘＭＡＣＳ培地において、０．３～２×１０^{6}細胞／ｍｌの密度で培養し、ＣＤ３／ＣＤ２８ ＭＡＣＳ（登録商標）ＧＭＰ Ｔ Ｃｅｌｌ ＴｒａｎｓＡｃｔ試薬（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）で活性化し、２日目に、１０ｕｇ／ｍｌの硫酸プロタミン（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）の存在下で、ＣＡＲコンストラクトをコードするレンチウイルスベクターを一晩形質導入し、３日目に培地を交換した。２００ＩＵ／ｍｌ ＩＬ－２を添加したＴｅｘＭＡＣＳ培地で８～１３日目の採取まで培養物を繁殖させた。

【０３２１】

（ｄ）免疫エフェクターアッセイ（ＣＴＬおよびサイトカイン）

細胞媒介性の細胞傷害性を決定するため（ＣＴＬアッセイ）、ホタルルシフェラーゼが安定に形質導入された標的細胞５，０００個を種々のエフェクター対標的比でＣＡＲ Ｔ細胞と組み合わせ、一晩インキュベートした。ＳｔｅａｄｙＧｌｏ試薬（Ｐｒｏｍｅｇａ、Ｍａｄｉｓｏｎ ＷＩ）を各ウェルに添加し、生じた発光を秒あたりのカウントとして定量化した（試料ＣＰＳ）。標的のみのウェル（最大ＣＰＳ）および１％ Ｔｗｅｅｎ－２０を加えた標的のみのウェル（最小ＣＰＳ）を使用してアッセイ範囲を決定した。特異的な溶解のパーセントを（１－（試料ＣＰＳ－最小ＣＰＳ）／（最大ＣＰＳ－最小ＣＰＳ））として算出した。１０：１のＥ：Ｔ比の共培養物からの上清を取り出し、ＥＬＩＳＡ（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）によって、ＩＦＮγ、ＴＮＦα、およびＩＬ－２濃度について分析した。

【０３２２】

（ｅ）フローサイトメトリー分析

細胞染色では、ＣＡＲ Ｔ形質導入細胞５０万個を培養物から採取し、０．５％のウシ血清アルブミン（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）を添加した低温のＡｕｔｏＭＡＣＳ緩衝液中で２回洗浄し、ＣＤ２２－Ｈｉｓペプチドに続いて抗Ｈｉｓ二次検出試薬で、同時に、ＣＤ１９Ｆｃペプチドに続いて抗Ｆｃコンジュゲートで染色することにより、ＣＡＲ表面発現を検出した（二次検出試薬は、Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ、Ｗｅｓｔ Ｇｒｏｖｅ、ＰＡから購入した）。供給業者のプロトコールにより、表示があった場合は、ＶｉｏＢｌｕｅフルオロフォアにコンジュゲートされた抗ＣＤ４抗体（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）を使用した。陰性対照として非形質導入細胞を使用した。全ての研究で、死滅した細胞は７ＡＡＤ染色（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓａｎ Ｊｏｓｅ、ＣＡ）により除外した。細胞を２回洗浄し、フローサイトメトリーによる定量分析前に染色緩衝液２００μｌで再懸濁させた。ＭＡＣＳＱｕａｎｔ（登録商標）１０ Ａｎａｌｙｚｅｒ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）でフローサイトメトリー分析を実施し、ＦｌｏｗＪｏソフトウェア（Ａｓｈｌａｎｄ、ＯＲ）を使用してデータプロットを生成した。

【０３２３】

結果：

異なる共刺激ドメインで構成された二重標的化ＣＡＲコンストラクトを設計した。ＣＡＲコンストラクトについては、表１で一覧にしている。ＣＡＲ設計配置の略図を図６に示す。一部の実施形態では、抗ＣＤ２２　ＳｃＦｖおよび抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ配列で構成されたタンデムＣＡＲ抗原結合性ドメインを、抗ＣＤ２２　ｓｃＦｖ－抗ＣＤ１９－ｓｃＦｖ－ヒンジ－膜貫通ドメイン－内部ドメインの順序でタンデムに連結した（図６Ａおよび６Ｂ）。この標的化タンデムドメイン配置は、すべての場合において、ＣＡＲ２２－１９（ＬＴＧ２６８１）をベースとする。抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲコンストラクトＬＴＧ２７３７は、抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲコンストラクトＬＴＧ２６８１と同一であるが、その構築の際にウッドチャック肝炎ウイルス（ＷＨＰ）転写後調節エレメント（ＷＰＲＥ）を使用していないＣＡＲ配列を含んでいた。

【０３２４】

いくつかのＣＡＲ　Ｔコンストラクトは、ＣＡＲ抗原結合性ドメインを、ＣＤ８ａヒンジおよび膜貫通ドメインにインフレームで連結することにより作製された（コンストラクトＬＴＧ２７３７、Ｄ０１３５、Ｄ０１３６、Ｄ０１３７、Ｄ０１４５、Ｄ０１４６、Ｄ０１４７、Ｄ０１４８、およびＤ０１４９）。他のコンストラクトでは、共刺激ドメインに合う膜貫通ドメイン配列、即ち、Ｄ１３９、Ｄ１４０についてはＣＤ２８、Ｄ０１３７、Ｄ０１４７、Ｄ０１４８についてはＯＸ４０が利用された。膜貫通ドメインは、４－１ＢＢ（ＬＴＧ２７３７）、ＣＤ２８（Ｄ０１３５、Ｄ０１３９、Ｄ０１４０）、ＩＣＯＳ（Ｄ１３６、Ｄ１４６、Ｄ１４８、Ｄ１４９）、ＯＸ４０（Ｄ０１３７、Ｄ０１４５、Ｄ０１４７、Ｄ０１４８）、またはＣＤ２７（Ｄ０１３８、Ｄ０１４９）由来の共刺激ドメインにインフレームで連結された。すべてのＣＡＲ分子が、ＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメイン（ＣＤ２４７、ａａ５２－１６３、Ｒｅｆ配列ＩＤ：ＮＰ＿０００７２５．１）を含んでいた。一実施形態では、ＣＡＲの内部ドメインが、タンデムに接続された２つの共刺激ドメイン、即ちＣＤ２８および４－１ＢＢで構成された（Ｄ０１４０、図６Ｂ）。一部の実施形態では、２シストロン性発現用の２Ａリボソームスキップエレメントを使用して、２つの別個のＣＡＲ分子を同じＴ細胞において同時発現させた（Ｄ１４６、Ｄ１４７、Ｄ１４８、Ｄ１４９、図６Ｃ、６Ｄ）。この配置では、各ＣＡＲ鎖が、ＣＤ１９またはＣＤ２２抗原のいずれかを標的化する１つだけのｓｃＦｖを含んでおり、２シストロン性配列をコードする単一レンチウイルスベクターの形質導入によって、各形質導入Ｔ細胞において両方の鎖が同時発現された。一部の実施形態では、少なくとも一方のＣＡＲ鎖に対して共刺激ドメインを使用しておらず、その結果、同じ細胞において同時発生的に発現されるＣＡＲ鎖の一方の膜貫通ドメインに直接、ＣＤ３ζ活性化ドメインがインフレームで連結された（Ｄ０１４６、Ｄ０１４７、図６Ｃ）。ＣＡＲコンストラクト配列は、ヒトＥＦ－１αプロモーターの制御下にある第３世代レンチウイルスプラスミド骨格（Ｌｅｎｔｉｇｅｎ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｉｎｃ．、Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ、ＭＤ）にクローン化された。

【０３２５】

【表１】

表1. CD22およびCD19CAR T-標的化構築物および対照

構築物呼称	CAR 明細	CAR 世代
LTG2737	22-19-CD8H&TM-41BB-CD3ζ	第 2 世代タンデム
D0135	22-19-CD8H&TM-CD28-CD3ζ	第 2 世代タンデム
D0136	22-19- CD8H&TM -ICOS-CD3ζ	第 2 世代タンデム
D0137	22-19-CD8hinge-OX40TM-OX40-CD3ζ	第 2 世代タンデム
D0138	22-19-CD8H&TM-CD27-CD3ζ	第 2 世代タンデム
D0139	22-19-CD28H&TM-CD28-CD3ζ	第 2 世代タンデム
D0145	22-19-CD8H&TM-OX40-CD3ζ	第 2 世代タンデム
D0140	22-19-CD28H&TM-CD28-41BB-CD3ζ	第 3 世代タンデム
D0146	19-CD8H&TM-ICOS-CD3ζ _22-CD8H&TM-CD3ζ	2 シストロン性二重標的化
D0147	19-CD8H-OX40TM-OX40-CD3ζ _22-CD8H&TM-CD3ζ	2 シストロン性二重標的化
D0148	19-CD8H-OX40TM-OX40-CD3ζ _22-CD8H&TM-ICOS-CD3ζ	2 シストロン性二重標的化
D0149	19-CD8H&TM-CD27-CD3ζ _22-CD8H&TM-ICOS-CD3ζ	2 シストロン性二重標的化

【０３２６】

種々の共刺激ドメインが組み込まれている抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲの表面発現を、図７に示す。ＳｃＦｖを含んだ各ＣＡＲについての発現レベルは、健康なドナーからのＬＶ形質導入Ｔ細胞のフローサイトメトリー分析により、２つのｓｃＦｖ　ＣＡＲ標的化ドメインについての同時染色、ｉ）ＣＤ２２－ｈｉｓに続いて抗ｈｉｓ－ＰＥ、ｉｉ）ＣＤ１９Ｆｃ組換えタンパク質に続いて抗Ｆｃ－Ａ６４７を使用して決定した。すべての抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲが、ヒト初代Ｔ細胞において、非形質導入Ｔ細胞対照に比べて高度に発現された。ＣＡＲ発現レベルは、７１％～９０％の範囲となった（図７）。

【０３２７】

図９に示すように、抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲの高度な細胞溶解活性が実証された。ヒト初代Ｔ細胞に、ＣＡＲコンストラクトＬＴＧ２７３７、Ｄ０１３５、Ｄ０１３６、Ｄ０１３７、Ｄ０１３８、Ｄ０１３９、Ｄ０１４０、Ｄ０１４５、Ｄ０１４６）をコードするＬＶを形質導入し、次いで、蛍光系ｉｎ　ｖｉｔｒｏ死滅アッセイに向けて、ホタルルシフェラーゼが安定に形質導入されたＲａｊｉ、２９３Ｔ、２９３ＴＣＤ１９、または２９３ＴＣＤ２２細胞株と共に１８時間インキュベートした。各プロットの右側の凡例に示すように、２．５：１、５：１、または１０：１のエフェクター対標的（ＥＴ）比を使用した。Ｒａｊｉ細胞は、その表面にＣＤ１９およびＣＤ２２を発現するが、陰性対照である２９３Ｔは発現しない。２９３ＴＣＤ１９および２９３ＴＣＤ２２標的株を、それぞれＣＤ

１９またはＣＤ２２標的抗原のいずれかを安定に発現するように作製し、これを使用して、各単一標的抗原であるＣＤ１９またはＣＤ２２が、他方の抗原とは無関係に誘発されたとき、異なる共刺激ドメインを有する二重標的化ＣＡＲコンストラクトが標的溶解を実現する能力を評価した。

【０３２８】

Ｒａｊｉ細胞は、すべての二重標的化ＣＡＲによって有効に溶解されたが、陰性対照である非形質導入Ｔ細胞ＵＴＤによって溶解されなかった（図９Ａ）。比較として、すべての二重標的化ＣＡＲコンストラクトが、単一抗原株２９３ＴＣＤ１９および２９３ＴＣＤ２２を溶解し、これらのＣＡＲコンストラクトが、ＣＤ１９抗原のみ、またはＣＤ２２抗原のみのいずれかによって活性化されたときにその抗腫瘍溶解機能を誘発する能力が実証された（それぞれ、図９Ｂおよび９Ｄ）。一方、二重標的化抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲはいずれも、抗原陰性細胞株２９３Ｔを溶解しなかった（図９Ｃ）。したがって、すべての抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲが、ＣＤ１９およびＣＤ２２抗原を同時発現する腫瘍株において、またＣＤ１９またはＣＤ２２単一抗原のいずれかを発現する２９３Ｔ　ＣＤ１９および２９３Ｔ　ＣＤ２２株において機能し、Ｄ１９－ＣＤ２２－細胞株２９３Ｔに対しては自発死滅活性を示さず、これらのコンストラクトの標的特異性が強調された。

【０３２９】

次いで、種々の共刺激ドメインを有する抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲのサイトカイン分泌能力を評価した（図８）。ＣＤ１９＋ＣＤ２２＋Ｒａｊｉ腫瘍細胞を、ＬＴＧ２７３７、Ｄ０１３５、Ｄ０１３６、Ｄ０１３７、Ｄ０１３８、Ｄ０１３９、Ｄ０１４０、Ｄ０１４５、Ｄ０１４６コンストラクトを発現するタンデム抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲ　Ｔ細胞、または陰性対照である非形質導入Ｔ細胞（ＵＴＤ）と、１０：１のエフェクター対標的比で一晩共インキュベートし、培養上清を、ＥＬＩＳＡによって、ＩＦＮガンマ、ＴＮＦアルファ、およびＩＬ－２について分析した（図８）。すべての二重標的化ＣＡＲが、腫瘍細胞に反応して、ＩＬ－２およびＴＮＦαを強力に誘導したのに対し、陰性対照（非形質導入、ＵＴＤ）は、感知できるサイトカイン誘導をもたらさなかった（図８）。特に、すべてのＣＡＲ２２－１９において、絶妙なレベルのＩＦＮガンマが強力に誘導されたが、ＣＡＲコンストラクトＤ０１４６、Ｄ０１３９、Ｄ０１３６については特に高く、抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲのサイトカイン応答の強さが、ＣＡＲ設計において利用される共刺激ドメインの組成によって調節され得ることが示唆された。全体として、誘導されたＩＦＮガンマ、ＴＮＦアルファ、およびＩＬ－２の分泌プロファイルから、すべてのＣＡＲ２２－１９コンストラクトの高い効力が実証された。重要なことに、抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲは、腫瘍細胞が存在しなければ（ＣＡＲ　Ｔ単独群）、サイトカイン分泌をわずかしか、またはまったく生じておらず、これにより、ＣＡＲ特異性がさらに確認され、種々の共刺激ドメインを有するタンデム抗ＣＤ２２－１９ＣＡＲによる持続性シグナル伝達はないことが示唆された。

【０３３０】

均等物

本文中に引用したそれぞれの出願と特許、および（訴訟中のそれぞれの交付済特許、「出願引用文書」を含めた）それぞれの出願と特許中で引用されたそれぞれの文書または参照文献、およびこれらの出願と特許のいずれかに対応するおよび／またはその優先権を主張するそれぞれのＰＣＴと外国出願または特許、およびそれぞれの出願引用文書中で引用もしくは参照されたそれぞれの文書は、ここで明確に参照により本明細書に組み込まれ、本発明を実施する際に利用することができる。より一般的には、文書または参照文献は本文中、特許請求の範囲の前の参照文献一覧中、または本文自体中のいずれかに引用され、それぞれのこれらの文書または参照文献（「本明細書中引用参照文献」）、および（任意の製造者の仕様書、説明書などを含めた）それぞれの本明細書中引用参照文献中に引用されたそれぞれの文書または参照文献は、ここで明確に参照により本明細書に組み込まれる。

【０３３１】

一部の具体的実施形態の前述の記載によって、他者が、本発明の知識を適用することに

よって、一般的概念から逸脱せずに、具体的実施形態などの様々な適用例に関して容易に変更または適合させることができるのに充分な情報を与え、したがってこのような適合および変更形態は、開示した実施形態の均等物の意味および範囲内と理解すべきであり、理解することが意図されている。本明細書で利用する語句または述語は、限定の目的ではなく記載の目的であることは理解される。図面および記載中、例示的実施形態を開示しており、特異的用語が利用された可能性はあるが、他に言及しない限り、それらは限定の目的ではなく一般的および叙述的な意味でのみ使用され、したがって特許請求の範囲もそのように限定されない。さらに当業者は、本明細書で論じた方法の、ある特定ステップは別の順序で順に並べることができ、またはステップを組み合わせることができることを理解する。したがって、添付の特許請求の範囲は本明細書で開示した詳細な実施形態に限られないことが意図される。当業者は、ごく普通の実験を使用した、本明細書に記載した本発明の実施形態の多くの均等物を理解し、把握することができる。このような均等物は以下の特許請求の範囲によって包含される。

【０３３２】

配列表

以下に列挙する核酸およびアミノ酸配列は、３７Ｃ．Ｆ．Ｒ．１．８２２で規定されるように、ヌクレオチド塩基用の標準的な略語、およびアミノ酸用の３文字コードを使用して示される。各核酸配列のうち一方の鎖のみが示されているが、相補鎖は、示される鎖を参照することによって含まれるものと理解される。添付の配列表では：

配列番号１は、ＬＴＧ２６８１　Ｄ００２３　リーダー－ＣＤ２２ＶＨ－（ＧＧＧＧＳ）－３　ＣＤ２２ＶＬ（ＧＧＧＧＳ）－５　ＣＤ１９ＶＨ（ＧＧＧＧＳ）－３　ＣＤ１９ＶＬ　ＣＤ８ヒンジ＋ＴＭ－４－１ＢＢ－ＣＤ３ｚ（コンストラクトＣＡＲ２２１９）のヌクレオチド配列である。

ATGCTCTTGCTCGTGACTTCTTTGCTTTTGTGCGAACTTCCGCACCCAGCCTTCCTTTTG
ATACCTCAGGTACAGCTTCAACAAAGCGGACCGGGACTTGTTAAGCATTCCCAAACCCT
TTCTCTCACGTGTGCAATTAGCGGCGATAGTGTATCCTCTAATTCTGCGGCCTGGAACT
GGATACGACAATCACCAAGCCGGGGACTCGAGTGGTTGGGCCGAACCTACTATCGGTCC
AAATGGTATAATGACTACGCAGTATCCGTGAAATCTCGCATTACGATCAATCCAGACAC
CTCCAAAAATCAATTTTCTCTGCAGTTGAATAGCGTGACTCCCGAGGACACGGCCGTTT
ACTATTGCGCCCAGGAAGTTGAACCCCACGATGCATTTGATATTTGGGGCCAGGGAACC
ATGGTGACAGTGAGTAGTGGGGGTGGAGGATCTGGAGGAGGCGGTAGCGGCGGGGGCG
GCAGTGATATCCAGATGACGCAGTCACCTTCCAGCGTGTATGCGAGTGTGGGGGACAAG
GTCACCATAACCTGTCGCGCTAGCCAAGATGTCAGCGGGTGGCTGGCTTGGTACCAGCA
GAAACCAGGTTTGGCTCCTCAGCTTTTGATCTCAGGAGCGAGCACGCTTCAGGGTGAGG
TCCCAAGTCGCTTTAGTGGCTCTGGCTCCGGGACAGACTTCACGTTGACGATCAGCAGT
TTGCAGCCTGAGGATTTCGCGACCTACTACTGCCAGCAAGCGAAATATTTTCCGTACAC
TTTCGGTCAGGGGACCAAATTGGAGATCAAAGGTGGGGGTGGTTCAGGCGGCGGAGGCT
CAGGCGGCGGCGGTAGCGGAGGAGGCGGAAGCGGGGGTGGCGGATCAGAAGTGCAACT
CGTTCAGAGTGGCGCGGAGGTTAAGAAACCCGGTGCATCTGTAAAGGTTAGCTGTAAGG
CATCAGGATACACTTTTACCAGCTATTACATGCATTGGGTGAGACAGGCTCCCGGTCAG
GGGCTCGAATGGATGGGGTTGATCAACCCGAGTGGTGGTTCAACATCTTACGCCCAGAA
GTTTCAGGGCCGAGTAACAATGACTCGGGACACGTCTACCTCAACTGTGTATATGGAGC
TTTCCAGCCTGCGCTCAGAGGATACAGCAGTCTATTACTGCGCACGGTCAGACAGAGGT
ATAACGGCCACTGATGCGTTCGATATCTGGGGACAAGGGACTATGGTAACTGTGTCTTC
CGGAGGAGGAGGTAGTGGAGGGGGAGGAAGCGGTGGGGGGGGCTCACAGTCCGTTTTG
ACTCAGCCACCAAGCGTCTCAGTCGCACCGGGGCGAATGGCGAAAATTACTTGCGGCGG
GAGCGACATAGGCAACAAGAATGTGCATTGGTACCAACAGAAACCAGGTCAAGCACCTG
TTCTCGTGGTGTATGATGACTACGATCGCCCAAGCGGGATCCCGGAGCGGTTCTCTGGA
TCAAATTCTGGTGATGCAGCCACTCTGACAATATCAACGGTGGAAGTCGGTGACGAGGC
TGATTACTTCTGCCAAGTATGGGATGGCAGCGGAGATCCCTACTGGATGTTTGGAGGAG

GTACTCAACTGACAGTTCTGGGCGCGGCCGCAACGACCACTCCTGCACCCCGCCCTCCG
ACTCCGGCCCCAACCATTGCCAGCCAGCCCCTGTCCCTGCGGCCGGAAGCCTGCAGACC
GGCTGCCGGCGGAGCCGTCCATACCCGGGGACTGGATTTCGCCTGCGATATCTATATCT
GGGCACCACTCGCCGGAACCTGTGGAGTGCTGCTGCTGTCCCTTGTGATCACCCTGTAC
TGCAAGCGCGGACGGAAGAAACTCTTGTACATCTTCAAGCAGCCGTTCATGCGCCCTGT
GCAAACCACCCAAGAAGAGGACGGGTGCTCCTGCCGGTTCCCGGAAGAGGAAGAGGGCG
GCTGCGAACTGCGCGTGAAGTTTTCCCGGTCCGCCGACGCTCCGGCGTACCAGCAGGGG
CAAAACCAGCTGTACAACGAACTTAACCTCGGTCGCCGGGAAGAATATGACGTGCTGGA
CAAGCGGCGGGGAAGAGATCCCGAGATGGGTGGAAAGCCGCGGCGGAAGAACCCTCAG
GAGGGCTTGTACAACGAGCTGCAAAAGGACAAAATGGCCGAAGCCTACTCCGAGATTGG
CATGAAGGGAGAGCGCAGACGCGGGAAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGACTGTCAA
CCGCGACTAAGGACACTTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCGCGC

配列番号２は、ＬＴＧ２６８１　Ｄ００２３　リーダー－ＣＤ２２ＶＨ－（ＧＧＧＧＳ）－３　ＣＤ２２ＶＬ（ＧＧＧＧＳ）－５　ＣＤ１９ＶＨ（ＧＧＧＧＳ）－３　ＣＤ１９ＶＬ　ＣＤ８ヒンジ＋ＴＭ－４－１ＢＢ－ＣＤ３ｚ（コンストラクトＣＡＲ２２１９）のアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPQVQLQQSGPGLVKHSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNW
IRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY
CAQEVEPHDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVYASVGDKVT
ITCRASQDVSGWLAWYQQKPGLAPQLLISGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGA
EVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGR
VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGG
SGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVAPGRMAKITCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVY
DDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATLTISTVEVGDEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLT
VLGAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG
TCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKF
SRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL
QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

配列番号３は、ＬＴＧ２７９１　Ｄ００２４　リーダー－ＣＤ１９ＶＨ（ＧＧＧＧＳ）３－ＣＤ１９ＶＬ－（ＧＧＧＧＳ）５－ＣＤ２２ＶＨ（ＧＧＧＧＳ）３－ＣＤ２２ＶＨ　ＣＤ８ヒンジ＋ＴＭ－４－１ＢＢ－ＣＤ３ｚ（コンストラクトＣＡＲ１９２２）のヌクレオチド配列である。

ATGTTGCTTCTGGTTACTTCCCTTCTTCTTTGCGAGCTTCCACACCCAGCATTCCTGCTC
ATTCCGGAGGTGCAACTCGTCCAATCCGGGGCCGAAGTTAAGAAGCCGGGAGCATCTGT
TAAAGTATCCTGTAAGGCCAGTGGGTATACTTTCACCTCATATTATATGCACTGGGTGA
GGCAGGCTCCAGGCCAAGGGTTGGAGTGGATGGGACTGATAAACCCATCTGGGGGATCA
ACTTCTTATGCGCAAAAGTTCCAAGGTCGGGTCACTATGACAAGGGACACATCCACCAG
CACTGTTTATATGGAACTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGATACCGCAGTATATTACTGTG
CACGCAGTGATAGAGGCATAACGGCGACTGACGCCTTCGACATTTGGGGCCAAGGGACA
ATGGTCACGGTTTCAAGTGGAGGTGGAGGGTCTGGTGGCGGGGGGTCTGGTGGTGGAGG
CAGTCAGAGCGTCCTGACCCAGCCGCCTAGCGTCAGTGTGGCCCCCGGCCGCATGGCCA
AGATAACGTGTGGCGGAAGCGATATTGGGAATAAGAACGTCCACTGGTATCAGCAGAAG
CCAGGGCAGGCTCCCGTCCTCGTAGTATACGACGATTATGATCGGCCCAGTGGAATCCC
CGAGAGATTTAGCGGGAGTAACTCTGGGGATGCAGCGACACTTACTATCTCCACTGTTG
AAGTAGGAGACGAGGCTGACTATTTTTGTCAGGTTTGGGACGGATCCGGAGATCCTTAT
TGGATGTTTGGCGGAGGTACTCAATTGACCGTGCTTGGAGGTGGCGGAGGGAGCGGGGG
TGGGGGCTCAGGGGGAGGTGGGTCAGGCGGGGGCGGAAGTGGTGGCGGGGGTTCCCAA
GTCCAACTCCAGCAGTCAGGACCTGGACTGGTAAAACACTCTCAAACCCTGTCTCTCAC
GTGTGCCATATCTGGCGATAGTGTATCTTCAAACTCTGCTGCATGGAACTGGATCAGGC

AAAGTCCATCCCGCGGCCTTGAGTGGCTCGGTCGAACCTATTACCGAAGCAAATGGTAC
AACGATTATGCGGTTTCAGTCAAGTCAAGAATTACGATCAACCCTGATACGAGTAAGAA
CCAGTTTAGTTTGCAATTGAACAGTGTAACTCCCGAGGACACGGCGGTGTACTATTGTG
CGCAAGAAGTCGAACCGCATGATGCGTTCGATATCTGGGGGCAGGGCACAATGGTGACC
GTATCTTCTGGCGGCGGCGGCTCTGGAGGAGGAGGAAGCGGCGGAGGGGGATCTGACAT
ACAAATGACACAATCCCCAAGTTCAGTATATGCTAGCGTCGGGGATAAAGTGACAATTA
CTTGTAGGGCTTCTCAAGACGTAAGTGGCTGGTTGGCGTGGTACCAGCAAAAGCCGGGT
CTCGCCCCTCAACTCCTTATCAGCGGAGCTTCAACTCTTCAGGGAGAGGTCCCAAGTCG
ATTCTCAGGCTCTGGCTCCGGGACAGATTTCACCTTGACAATTAGTTCACTGCAACCCG
AGGATTTCGCAACTTACTACTGTCAACAGGCCAAGTACTTCCCGTATACGTTTGGTCAA
GGCACAAAACTGGAGATTAAGGCGGCCGCAACGACCACTCCTGCACCCCGCCCTCCGAC
TCCGGCCCCAACCATTGCCAGCCAGCCCCTGTCCCTGCGGCCGGAAGCCTGCAGACCGG
CTGCCGGCGGAGCCGTCCATACCCGGGGACTGGATTTCGCCTGCGATATCTATATCTGG
GCACCACTCGCCGGAACCTGTGGAGTGCTGCTGCTGTCCCTTGTGATCACCCTGTACTG
CAAGCGCGGACGGAAGAAACTCTTGTACATCTTCAAGCAGCCGTTCATGCGCCCTGTGC
AAACCACCCAAGAAGAGGACGGGTGCTCCTGCCGGTTCCCGGAAGAGGAAGAGGGCGGC
TGCGAACTGCGCGTGAAGTTTTCCCGGTCCGCCGACGCTCCGGCGTACCAGCAGGGGCA
AAACCAGCTGTACAACGAACTTAACCTCGGTCGCCGGGAAGAATATGACGTGCTGGACA
AGCGGCGGGGAAGAGATCCCGAGATGGGTGGAAAGCCGCGGCGGAAGAACCCTCAGGA
GGGCTTGTACAACGAGCTGCAAAAGGACAAAATGGCCGAAGCCTACTCCGAGATTGGCA
TGAAGGGAGAGCGCAGACGCGGGAAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGACTGTCAACC
GCGACTAAGGACACTTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCGCGC

配列番号４は、ＬＴＧ２７１９　Ｄ００２４　リーダー－ＣＤ１９ＶＨ（ＧＧＧＧＳ）３－ＣＤ１９ＶＬ－（ＧＧＧＧＳ）５－ＣＤ２２ＶＨ（ＧＧＧＧＳ）３－ＣＤ２２ＶＨ　ＣＤ８ヒンジ＋ＴＭ－４－１ＢＢ－ＣＤ３ｚ（コンストラクトＣＡＲ１９２２）のアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVR
QAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA
RSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVAPGRMAKI
TCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVYDDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATLTISTVEVG
DEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQ
LQQSGPGLVKHSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYND
YAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQEVEPHDAFDIWGQGTMVTVSS
GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVYASVGDKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKPGLAP
QLLISGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEI
KAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTC
GVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSR
SADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK
DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

配列番号５は、完全ヒトＣＡＲ１９　ＬＴＧ２０６５（Ｍ１９２１７－１－ＣＤ８ＴＭ－４－１ＢＢゼータ）のヌクレオチド配列である。

ATGCTGCTGCTGGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCGCATCCGGCGTTTCTGCT
GATTCCGGAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAG
TGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGCTACTATATGCACTGGGTG
CGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATTAATCAACCCTAGTGGTGGTAG
CACAAGCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGA
GCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT
GCGAGATCGGATCGGGGAATTACCGCCACGGACGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGAC
AATGGTCACCGTCTCTTCAGGCGGAGGAGGCTCCGGGGGAGGAGGTTCCGGGGGCGGGG
GTTCCCAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGGCGGATGGCC

AAGATTACCTGTGGGGGAAGTGACATTGGAAATAAAAATGTCCACTGGTATCAGCAGAA
GCCAGGCCAGGCCCCTGTCCTGGTTGTCTATGATGATTACGACCGGCCCTCAGGGATCC
CTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGGACGCGGCCACCCTGACGATCAGCACGGTC
GAAGTCGGGGATGAGGCCGACTATTTCTGTCAGGTGTGGGACGGTAGTGGTGATCCTTA
TTGGATGTTCGGCGGAGGGACCCAGCTCACCGTTTTAGGTGCGGCCGCAACTACCACCC
CTGCCCCTCGGCCGCCGACTCCGGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGC
CCCGAAGCTTGCCGCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCCGGGGGCTGGACTTTGC
CTGCGATATCTACATTTGGGCCCCGCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCGC
TGGTCATCACCCTTTACTGCAAGAGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTTACATCTTCAAGCAG
CCGTTCATGCGGCCCGTGCAGACGACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCAGATTCCC
TGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGTCCGCCGACGCCC
CCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAG
GAGTACGACGTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGGGGAAACCACG
GCGGAAAAACCCTCAGGAAGGACTGTACAACGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAA
GCCTACTCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCACGACGGGC
TGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCCTTGCATATGCAAGCA
CTCCCACCCCGG

配列番号６は、完全ヒトＣＡＲ１９　ＬＴＧ２０６５（Ｍ１９２１７－１－ＣＤ８ＴＭ－４－１ＢＢゼータ）のアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVR
QAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA
RSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVAPGRMAKI
TCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVYDDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATLTISTVEVG
DEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLTVLGAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA
CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMR
PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL
DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL
STATKDTYDALHMQALPPR

配列番号７は、マウスｓｃＦｖ　ＣＡＲ１９　ＬＴＧ１５３８のヌクレオチド配列である。

ATGCTTCTCCTGGTCACCTCCCTGCTCCTCTGCGAACTGCCTCACCCTGCCTTCCTTCTG
ATTCCTGACATTCAGATGACTCAGACCACCTCTTCCTTGTCCGCGTCACTGGGAGACAG
AGTGACCATCTCGTGTCGCGCAAGCCAGGATATCTCCAAGTACCTGAACTGGTACCAAC
AGAAGCCCGACGGGACTGTGAAGCTGCTGATCTACCACACCTCACGCCTGCACAGCGGA
GTGCCAAGCAGATTCTCCGGCTCCGGCTCGGGAACCGATTACTCGCTTACCATTAGCAA
CCTCGAGCAGGAGGACATCGCTACCTACTTCTGCCAGCAAGGAAATACCCTGCCCTACA
CCTTCGGCGGAGGAACCAAATTGGAAATCACCGGCGGAGGAGGCTCCGGGGGAGGAGGT
TCCGGGGGCGGGGGTTCCGAAGTGAAGCTCCAGGAGTCCGGCCCCGGCCTGGTGGCGCC
GTCGCAATCACTCTCTGTGACCTGTACCGTGTCGGGAGTGTCCCTGCCTGATTACGGCG
TGAGCTGGATTCGGCAGCCGCCGCGGAAGGGCCTGGAATGGCTGGGTGTCATCTGGGGA
TCCGAGACTACCTACTACAACTCGGCCCTGAAGTCCCGCCTGACTATCATCAAAGACAA
CTCGAAGTCCCAGGTCTTTCTGAAGATGAACTCCCTGCAAACTGACGACACCGCCATCT
ATTACTGTGCTAAGCACTACTACTACGGTGGAAGCTATGCTATGGACTACTGGGGGCAA
GGCACTTCGGTGACTGTGTCAAGCGCGGCCGCAACTACCACCCCTGCCCCTCGGCCGCC
GACTCCGGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCCGAAGCTTGCCGCC
CGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCCGGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATATCTACATT
TGGGCCCCGCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCGCTGGTCATCACCCTTTA
CTGCAAGAGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTTACATCTTCAAGCAGCCGTTCATGCGGCCCG
TGCAGACGACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCAGATTCCCTGAGGAGGAAGAGGGG
GGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGTCCGCCGACGCCCCCGCATATCAACAGGG
CCAGAATCAGCTCTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGG

ACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGGGGAAACCACGGCGGAAAAACCCTCA
GGAAGGACTGTACAACGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAAATCG
GGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCACGACGGGCTGTACCAGGGACTGAG
CACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCCTTGCATATGCAAGCACTCCCACCCCGG

配列番号８は、マウスｓｃＦｖ　ＣＡＲ１９　ＬＴＧ１５３８のアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQK
PDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGG
GTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQ
PPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHY
YYGGSYAMDYWGQGTSVTVSSAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV
HTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEED
GCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE
MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD
ALHMQALPP

配列番号９は、ＣＡＲ２２　ＬＴＧ２２０９のヌクレオチド配列である。

ATGCTTCTTTTGGTGACTTCCCTTTTGCTGTGCGAGTTGCCACACCCCGCCTTCCTGCTT
ATTCCCCAGGTACAGCTTCAACAGAGTGGGCCGGGACTGGTGAAACACTCCCAAACACT
TTCTCTGACGTGCGCTATATCAGGTGACTCTGTTTCATCTAATTCTGCTGCGTGGAACT
GGATTCGACAATCTCCCAGTCGCGGGTTGGAATGGCTGGGACGAACATATTATCGGTCT
AAGTGGTATAACGATTATGCTGTATCTGTTAAATCTCGAATTACGATTAATCCTGACAC
CTCCAAGAACCAGTTCTCCCTCCAGTTGAACTCAGTCACACCGGAAGACACTGCGGTCT
ACTATTGCGCTCAAGAAGTCGAGCCACATGATGCATTCGACATCTGGGGCCAGGGAACG
ATGGTCACCGTCAGCAGTGGCGGCGGCGGATCTGGGGGTGGCGGTTCTGGCGGTGGAGG
ATCAGACATACAAATGACGCAGAGTCCCTCAAGTGTGTACGCGAGTGTGGGGGATAAGG
TAACTATTACGTGCAGAGCGTCACAGGATGTTAGTGGATGGCTTGCCTGGTATCAGCAG
AAGCCAGGCCTTGCTCCACAGCTCCTTATCAGTGGTGCTTCTACACTTCAGGGCGAGGT
TCCGAGTAGATTCTCTGGTTCTGGATCTGGTACTGACTTCACTCTTACAATTTCTTCTTT
GCAACCAGAAGACTTTGCGACTTATTACTGCCAACAGGCCAAATACTTCCCTTATACAT
TTGGCCAAGGTACCAAGTTGGAGATAAAGGCGGCCGCAACTACCACCCCTGCCCCTCGG
CCGCCGACTCCGGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCCGAAGCTTG
CCGCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCCGGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATATCT
ACATTTGGGCCCCGCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCGCTGGTCATCACC
CTTTACTGCAAGAGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTTACATCTTCAAGCAGCCGTTCATGCG
GCCCGTGCAGACGACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCAGATTCCCTGAGGAGGAAG
AGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGTCCGCCGACGCCCCCGCATATCAA
CAGGGCCAGAATCAGCTCTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGACGT
GCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGGGGAAACCACGGCGGAAAAAC
CCTCAGGAAGGACTGTACAACGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGA
AATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCACGACGGGCTGTACCAGGGA
CTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCCTTGCATATGCAAGCACTCCCACCCCGG

配列番号１０は、ＣＤ２２Ａ　１４９５（ＣＡＲ２０Ａ）のアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPQVQLQQSGPGLVKHSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNW
IRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY
CAQEVEPHDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVYASVGDKVT
ITCRASQDVSGWLAWYQQKPGLAPQLLISGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG
GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ
EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR
DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD
TYDALHMQALPPR

配列番号１１は、リーダー／シグナルペプチド配列（ＬＰ）のヌクレオチド配列である。
atgctgctgctggtgaccagcctgctgctgtgcgaactgccgcatccggcgtttctgctgattccg
配列番号１２は、リーダー／シグナルペプチド配列（ＬＰ）のアミノ酸配列である。
MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIP
配列番号３５は、ＤＮＡ　ＣＤ８膜貫通ドメインのヌクレオチド配列である。
atttgggccccgctggccggcacttgcggcgtgctcctgctgtcgctggtcatcacccttt
actgc
配列番号３６は、ＣＤ８膜貫通ドメインのアミノ酸配列である。
Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
Val Ile Thr Leu Tyr Cys
配列番号３７は、ＤＮＡ　ＣＤ８ヒンジドメインのヌクレオチド配列である。
actaccacccctgcccctcggccgccgactccggccccaaccatcgcaagccaacccctc
tccttgcgccccgaagcttgccgcccggccgcgggtggagccgtgcatacccgggggctg
gactttgcctgcgatatctac
配列番号３８は、ＣＤ８ヒンジドメインのアミノ酸配列である。
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
配列番号３９は、アミノ酸番号１３７～２０６ヒンジおよびＣＤ８αの膜貫通領域のアミノ酸配列（ＮＣＢＩ　ＲｅｆＳｅｑ：ＮＰ＿００１７５９．３）である。
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
配列番号４０は、４－１ＢＢのＤＮＡシグナル伝達ドメインのヌクレオチド配列である。
aagaggggccggaagaagctgctttacatcttcaagcagccgttcatgcggcccgtgcag
acgactcaggaagaggacggatgctcgtgcagattccctgaggaggaagaggggggatgc
gaactg
配列番号４１は、４－１ＢＢのシグナル伝達ドメインのアミノ酸配列である。
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
配列番号４２は、ＣＤ３－ゼータのＤＮＡシグナル伝達ドメインのヌクレオチド配列である。
cgcgtcaagttctcacggtccgccgacgcccccgcatatcaacagggccagaatcagctc
tacaacgagctgaacctgggaaggagagaggagtacgacgtgctggacaagcgacgcgga
cgcgacccggagatgggggggaaaccacggcggaaaaaccctcaggaaggactgtacaac
gaactccagaaagacaagatggcggaagcctactcagaaatcgggatgaagggagagcgg
aggaggggaaagggtcacgacgggctgtaccagggactgagcaccgccactaaggatacc
tacgatgccttgcatatgcaagcactcccaccccgg
配列番号４３は、ＣＤ３ゼータのアミノ酸配列である。
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
配列番号４４は、Ｓｃｖｆ　ＣＤ１９　（ＦＭＣ６３）のヌクレオチド配列である。
gacattcagatgactcagaccacctcttccttgtccgcgtcactgggagacagagtgaccat

ctcgtgtcgcgcaagccaggatatctccaagtacctgaactggtaccaacagaagcccga
cgggactgtgaagctgctgatctaccacacctcacgcctgcacagcggagtgccaagcag
attctccggctccggctcgggaaccgattactcgcttaccattagcaacctcgagcagga
ggacatcgctacctacttctgccagcaaggaaataccctgccctacaccttcggcggagg
aaccaaattggaaatcaccggcggaggaggctccgggggaggaggttccgggggcggggg
ttccgaagtgaagctccaggagtccggccccggcctggtggcgccgtcgcaatcactctc
tgtgacctgtaccgtgtcgggagtgtccctgcctgattacggcgtgagctggattcggca
gccgccgcggaagggcctggaatggctgggtgtcatctggggatccgagactacctacta
caactcggccctgaagtcccgcctgactatcatcaaagacaactcgaagtcccaggtctt
tctgaagatgaactccctgcaaactgacgacaccgccatctattactgtgctaagcacta
ctactacggtggaagctatgctatggactactgggggcaaggcacttcggtgactgtgtc
aagc

配列番号４５は、Ｓｃｖｆ　ＣＤ１９　（ＦＭＣ６３）のアミノ酸配列である。

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val
Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln L
ys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly V
al Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser As
n Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro T
yr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val A
la Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp T
yr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile
Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile L
ys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp
Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp T
yr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

配列番号４６は、抗ＣＤ３３ＣＡＲ（ＬＴＧ１９３６）のヌクレオチド配列である。

ATGCTGCTGCTGGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCGCATCCGGCGTTTCTGCT
GATTCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAATCTGGGGCAGAGGTGAAAAAGCCCGGGGAGTCTC
TGAGGATCTCCTGTAAGGGTTCTGGATTCAGTTTTCCCACCTACTGGATCGGCTGGGTG
CGCCAGATGCCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGACTCTGA
TACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCCATCA
GCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTACTGT
GCGAGACTAGTTGGAGATGGCTACAATACGGGGGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGAC
AATGGTCACCGTCTCTTCAGGAGGTGGCGGGTCTGGTGGTGGCGGTAGCGGTGGTGGCG
GATCCGATATTGTGATGACCCACACTCCACTCTCTCTGTCCGTCACCCCTGGACAGCCG
GCCTCCATCTCCTGCAAGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAATGGAAAGACCTATTT
GTATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGCCTCCACAGCTCCTGATCTATGGAGCTTCCA
ACCGGTTCTCTGGAGTGCCAGACAGGTTCAGTGGCAGCGGGTCAGGGACAGATTTCACA
CTGAAAATCAGCCGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAAGTAT
ACAGCTTCCTATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAAGCGGCCGCAACTA
CCACCCCTGCCCCTCGGCCGCCGACTCCGGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCC
TTGCGCCCCGAAGCTTGCCGCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCCGGGGGCTGGA
CTTTGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCGCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGC
TGTCGCTGGTCATCACCCTTTACTGCAAGAGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTTACATCTTC
AAGCAGCCGTTCATGCGGCCCGTGCAGACGACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCAG
ATTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGTCCGCCG
ACGCCCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGG
AGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGGGGA
AACCACGGCGGAAAAACCCTCAGGAAGGACTGTACAACGAACTCCAGAAAGACAAGATG

GCGGAAGCCTACTCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCACG
ACGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCCTTGCATATG
CAAGCACTCCCACCCCGG

配列番号４７は、抗ＣＤ３３ＣＡＲ（ＬＴＧ１９３６）のアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPQVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGFSFPTYWIGWVR
QMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR
LVGDGYNTGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTHTPLSLSVTPGQPAS
ISCKSSQSLLHSNGKTYLYWYLQKPGQPPQLLIYGASNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS
RVEAEDVGVYYCMQSIQLPITFGQGTRLEIKAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP
VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL
DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL
STATKDTYDALHMQALPP

配列番号４８は、抗メソセリンＣＡＲ（ＬＴＧ１９０４）のヌクレオチド配列である。

ATGCTGCTGCTGGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCGCATCCGGCGTTTCTGCT
GATTCCGGAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTC
CGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAG
CATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGA
ACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGT
GCAAAAGATTTATCGTCAGTGGCTGGACCCTTTAACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGT
CACCGTCTCCTCAGGAGGTGGCGGGTCTGGTGGAGGCGGTAGCGGCGGTGGCGGATCCT
CTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATC
ACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAAGCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG
ACAGGCCCCTGTACTTGTCATCTATGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACC
GATTCTCTGGCTCCAGCTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGGCG
GAGGATGAGGCTGACTATTACTGTAACTCCCGGGACAGCAGTGGTAACCATCTGGTATT
CGGCGGAGGCACCCAGCTGACCGTCCTCGGTGCGGCCGCAACTACCACCCCTGCCCCTC
GGCCGCCGACTCCGGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCCGAAGCT
TGCCGCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCCGGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATAT
CTACATTTGGGCCCCGCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCGCTGGTCATCA
CCCTTTACTGCAAGAGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTTACATCTTCAAGCAGCCGTTCATG
CGGCCCGTGCAGACGACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCAGATTCCCTGAGGAGGA
AGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGTCCGCCGACGCCCCCGCATATC
AACAGGGCCAGAATCAGCTCTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGAC
GTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGGGGAAACCACGGCGGAAAA
ACCCTCAGGAAGGACTGTACAACGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCA
GAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCACGACGGGCTGTACCAGG
GACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCCTTGCATATGCAAGCACTCCCACCC
CGG

配列番号４９は、抗メソセリンＣＡＲ（ＬＴＧ１９０４）のアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPEVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVR
QAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAK
DLSSVAGPFNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQ
GDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEA
DYYCNSRDSSGNHLVFGGGTQLTVLGAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA
GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTT
QEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG
RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK
DTYDALHMQALPPR

配列番号５０は、重鎖ｓｃＦｖ　１６Ｐ１７のヌクレオチド配列である。
CAGGTACAGCTTCAACAGAGTGGGCCGGGACTGGTGAAACACTCCCAAACACTTTCTCT
GACGTGCGCTATATCAGGTGACTCTGTTTCATCTAATTCTGCTGCGTGGAACTGGATTC
GACAATCTCCCAGTCGCGGGTTGGAATGGCTGGGACGAACATATTATCGGTCTAAGTGG
TATAACGATTATGCTGTATCTGTTAAATCTCGAATTACGATTAATCCTGACACCTCCAA
GAACCAGTTCTCCCTCCAGTTGAACTCAGTCACACCGGAAGACACTGCGGTCTACTATT
GCGCTCAAGAAGTCGAGCCACATGATGCATTCGACATCTGGGGCCAGGGAACGATGGTC
ACCGTCAGCAGT
配列番号５１は、重鎖ｓｃＦｖ　１６Ｐ１７のアミノ酸配列である。
QVQLQQSGPGLVKHSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKW
YNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQEVEPHDAFDIWGQGTMV
TVSS
配列番号５２は、軽鎖ｓｃＦｖ　１６Ｐ１７のヌクレオチド配列である。
GACATACAAATGACGCAGAGTCCCTCAAGTGTGTACGCGAGTGTGGGGGATAAGGTAAC
TATTACGTGCAGAGCGTCACAGGATGTTAGTGGATGGCTTGCCTGGTATCAGCAGAAGC
CAGGCCTTGCTCCACAGCTCCTTATCAGTGGTGCTTCTACACTTCAGGGCGAGGTTCCG
AGTAGATTCTCTGGTTCTGGATCTGGTACTGACTTCACTCTTACAATTTCTTCTTTGCAA
CCAGAAGACTTTGCGACTTATTACTGCCAACAGGCCAAATACTTCCCTTATACATTTGG
CCAAGGTACCAAGTTGGAGATAAAG
配列番号５３は、軽鎖ｓｃＦｖ　１６Ｐ１７のアミノ酸配列である。
DIQMTQSPSSVYASVGDKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKPGLAPQLLISGASTLQGEVP
SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIK
配列番号５４は、重鎖ｓｃＦｖ　Ｍ１９２１７－１のヌクレオチド配列である。
GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT
CTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGCTACTATATGCACTGGGTGCGACAGG
CCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATTAATCAACCCTAGTGGTGGTAGCACAAGC
TACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGT
CTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAT
CGGATCGGGGAATTACCGCCACGGACGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTC
ACCGTCTCTTCA
配列番号５５は、重鎖ｓｃＦｖ　Ｍ１９２１７－１のヌクレオチド配列である。
EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGLINPSGGST
SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSDRGITATDAFDIWGQGTM
VTVSS
配列番号５６は、軽鎖ｓｃＦｖ　Ｍ１９２１７－１のヌクレオチド配列である。
CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGGCGGATGGCCAAGAT
TACCTGTGGGGGAAGTGACATTGGAAATAAAAATGTCCACTGGTATCAGCAGAAGCCAG
GCCAGGCCCCTGTCCTGGTTGTCTATGATGATTACGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAG
CGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGGACGCGGCCACCCTGACGATCAGCACGGTCGAAGT
CGGGGATGAGGCCGACTATTTCTGTCAGGTGTGGGACGGTAGTGGTGATCCTTATTGGA
TGTTCGGCGGAGGGACCCAGCTCACCGTTTTAGGT
配列番号５７は、軽鎖ｓｃＦｖ　Ｍ１９２１７－１のアミノ酸配列である。
QSVLTQPPSVSVAPGRMAKITCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVYDDYDRPSGIPE
RFSGSNSGDAATLTISTVEVGDEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLTVLG
配列番号５８は、ＣＡＲ２２　ＬＴＧ２２００（Ｍ９７１－ＣＤ８ＴＭ－４－１ＢＢ－ゼータ）のヌクレオチド配列である。
ATGCTTCTTTTGGTGACTTCCCTTTTGCTGTGCGAGTTGCCACACCCCGCCTTCCTGCTT
ATTCCCCAGGTACAGCTCCAGCAGAGTGGCCCAGGGCTCGTGAAGCCAAGCCAGACGCT
GTCCCTGACTTGTGCAATTTCAGGGGATTCAGTTTCATCAAATAGCGCGGCGTGGAATT
GGATTCGACAATCTCCTTCCCGAGGGTTGGAATGGCTTGGACGAACATATTACAGATCC

AAATGGTATAACGACTATGCGGTATCAGTAAAGTCAAGAATAACCATTAACCCCGACAC
AAGCAAGAACCAATTCTCTTTGCAGCTTAACTCTGTCACGCCAGAAGACACGGCAGTCT
ATTATTGCGCTCGCGAGGTAACGGGTGACCTGGAAGACGCTTTTGACATTTGGGGGCAG
GGTACGATGGTGACAGTCAGTTCAGGGGGCGGTGGGAGTGGGGGAGGGGGTAGCGGGG
GGGGAGGGTCAGACATTCAGATGACCCAGTCCCCTTCATCCTTGTCTGCCTCCGTCGGT
GACAGGGTGACAATAACATGCAGAGCAAGCCAAACAATCTGGAGCTATCTCAACTGGTA
CCAGCAGCGACCAGGAAAAGCGCCAAACCTGCTGATTTACGCTGCTTCCTCCCTCCAAT
CAGGCGTGCCTAGTAGATTTAGCGGTAGGGGCTCCGGCACCGATTTTACGCTCACTATA
AGCTCTCTTCAAGCAGAAGATTTTGCGACTTATTACTGCCAGCAGTCCTATAGTATACC
TCAGACTTTCGGACAGGGTACCAAGTTGGAGATTAAGGCGGCCGCAACTACCACCCCTG
CCCCTCGGCCGCCGACTCCGGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCC
GAAGCTTGCCGCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCCGGGGGCTGGACTTTGCCTG
CGATATCTACATTTGGGCCCCGCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCGCTGG
TCATCACCCTTTACTGCAAGAGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTTACATCTTCAAGCAGCCG
TTCATGCGGCCCGTGCAGACGACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCAGATTCCCTGA
GGAGGAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGTCCGCCGACGCCCCCG
CATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAG
TACGACGTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGGGGAAACCACGGCG
GAAAAACCCTCAGGAAGGACTGTACAACGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCT
ACTCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCACGACGGGCTGTA
CCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCCTTGCATATGCAAGCACTCC
CACCCCGG

配列番号５９は、ＣＡＲ２２　ＬＴＧ２２００（Ｍ９７１－ＣＤ８ＴＭ－４－１ＢＢ－ゼータ）のアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPQVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNW
IRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY
CAREVTGDLEDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR
VTITCRASQTIWSYLNWYQQRPGKAPNLLIYAASSLQSGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSLQ
AEDFATYYCQQSYSIPQTFGQGTKLEIKAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA
AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT
TQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR
GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTAT
KDTYDALHMQALPPR

配列番号６０は、ＣＡＲ　ＬＴＧ２７３７（ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＢＢｚ）のヌクレオチド配列である。

ATGCTCTTGCTCGTGACTTCTTTGCTTTTGTGCGAACTTCCGCACCCAGCCTTCCTTTTG
ATACCTCAGGTACAGCTTCAACAAAGCGGACCGGGACTTGTTAAGCATTCCCAAACCCT
TTCTCTCACGTGTGCAATTAGCGGCGATAGTGTATCCTCTAATTCTGCGGCCTGGAACT
GGATACGACAATCACCAAGCCGGGGACTCGAGTGGTTGGGCCGAACCTACTATCGGTCC
AAATGGTATAATGACTACGCAGTATCCGTGAAATCTCGCATTACGATCAATCCAGACAC
CTCCAAAAATCAATTTTCTCTGCAGTTGAATAGCGTGACTCCCGAGGACACGGCCGTTT
ACTATTGCGCCCAGGAAGTTGAACCCCACGATGCATTTGATATTTGGGGCCAGGGAACC
ATGGTGACAGTGAGTAGTGGGGGTGGAGGATCTGGAGGAGGCGGTAGCGGCGGGGGCG
GCAGTGATATCCAGATGACGCAGTCACCTTCCAGCGTGTATGCGAGTGTGGGGGACAAG
GTCACCATAACCTGTCGCGCTAGCCAAGATGTCAGCGGGTGGCTGGCTTGGTACCAGCA
GAAACCAGGTTTGGCTCCTCAGCTTTTGATCTCAGGAGCGAGCACGCTTCAGGGTGAGG
TCCCAAGTCGCTTTAGTGGCTCTGGCTCCGGGACAGACTTCACGTTGACGATCAGCAGT
TTGCAGCCTGAGGATTTCGCGACCTACTACTGCCAGCAAGCGAAATATTTTCCGTACAC
TTTCGGTCAGGGGACCAAATTGGAGATCAAAGGTGGGGGTGGTTCAGGCGGCGGAGGCT
CAGGCGGCGGCGGTAGCGGAGGAGGCGGAAGCGGGGGTGGCGGATCAGAAGTGCAACT

CGTTCAGAGTGGCGCGGAGGTTAAGAAACCCGGTGCATCTGTAAAGGTTAGCTGTAAGG
CATCAGGATACACTTTTACCAGCTATTACATGCATTGGGTGAGACAGGCTCCCGGTCAG
GGGCTCGAATGGATGGGGTTGATCAACCCGAGTGGTGGTTCAACATCTTACGCCCAGAA
GTTTCAGGGCCGAGTAACAATGACTCGGGACACGTCTACCTCAACTGTGTATATGGAGC
TTTCCAGCCTGCGCTCAGAGGATACAGCAGTCTATTACTGCGCACGGTCAGACAGAGGT
ATAACGGCCACTGATGCGTTCGATATCTGGGGACAAGGGACTATGGTAACTGTGTCTTC
CGGAGGAGGAGGTAGTGGAGGGGGAGGAAGCGGTGGGGGGGGCTCACAGTCCGTTTTG
ACTCAGCCACCAAGCGTCTCAGTCGCACCGGGGCGAATGGCGAAAATTACTTGCGGCGG
GAGCGACATAGGCAACAAGAATGTGCATTGGTACCAACAGAAACCAGGTCAAGCACCTG
TTCTCGTGGTGTATGATGACTACGATCGCCCAAGCGGGATCCCGGAGCGGTTCTCTGGA
TCAAATTCTGGTGATGCAGCCACTCTGACAATATCAACGGTGGAAGTCGGTGACGAGGC
TGATTACTTCTGCCAAGTATGGGATGGCAGCGGAGATCCCTACTGGATGTTTGGAGGAG
GTACTCAACTGACAGTTCTGGGCGCGGCCGCAACGACCACTCCTGCACCCCGCCCTCCG
ACTCCGGCCCCAACCATTGCCAGCCAGCCCCTGTCCCTGCGGCCGGAAGCCTGCAGACC
GGCTGCCGGCGGAGCCGTCCATACCCGGGGACTGGATTTCGCCTGCGATATCTATATCT
GGGCACCACTCGCCGGAACCTGTGGAGTGCTGCTGCTGTCCCTTGTGATCACCCTGTAC
TGCAAGCGCGGACGGAAGAAACTCTTGTACATCTTCAAGCAGCCGTTCATGCGCCCTGT
GCAAACCACCCAAGAAGAGGACGGGTGCTCCTGCCGGTTCCCGGAAGAGGAAGAGGGCG
GCTGCGAACTGCGCGTGAAGTTTTCCCGGTCCGCCGACGCTCCGGCGTACCAGCAGGGG
CAAAACCAGCTGTACAACGAACTTAACCTCGGTCGCCGGGAAGAATATGACGTGCTGGA
CAAGCGGCGGGGAAGAGATCCCGAGATGGGTGGAAAGCCGCGGCGGAAGAACCCTCAG
GAGGGCTTGTACAACGAGCTGCAAAAGGACAAAATGGCCGAAGCCTACTCCGAGATTGG
CATGAAGGGAGAGCGCAGACGCGGGAAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGACTGTCAA
CCGCGACTAAGGACACTTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCGCGC

配列番号６１は、ＣＡＲ　ＬＴＧ２７３７　ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＢＢｚのアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPQVQLQQSGPGLVKHSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNW
IRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY
CAQEVEPHDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVYASVGDKVT
ITCRASQDVSGWLAWYQQKPGLAPQLLISGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGA
EVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGR
VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGG
SGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVAPGRMAKITCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVY
DDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATLTISTVEVGDEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLT
VLGAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG
TCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKF
SRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL
QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

配列番号６２は、ＣＡＲ　Ｄ０１３５　ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＣＤ２８ｚのヌクレオチド配列である。

ATGCTCTTGCTCGTGACTTCTTTGCTTTTGTGCGAACTTCCGCACCCAGCCTTCCTTTTG
ATACCTCAGGTACAGCTTCAACAAAGCGGACCGGGACTTGTTAAGCATTCCCAAACCCT
TTCTCTCACGTGTGCAATTAGCGGCGATAGTGTATCCTCTAATTCTGCGGCCTGGAACT
GGATACGACAATCACCAAGCCGGGGACTCGAGTGGTTGGGCCGAACCTACTATCGGTCC
AAATGGTATAATGACTACGCAGTATCCGTGAAATCTCGCATTACGATCAATCCAGACAC
CTCCAAAAATCAATTTTCTCTGCAGTTGAATAGCGTGACTCCCGAGGACACGGCCGTTT
ACTATTGCGCCCAGGAAGTTGAACCCCACGATGCATTTGATATTTGGGGCCAGGGAACC
ATGGTGACAGTGAGTAGTGGGGGTGGAGGATCTGGAGGAGGCGGTAGCGGCGGGGGCG
GCAGTGATATCCAGATGACGCAGTCACCTTCCAGCGTGTATGCGAGTGTGGGGGACAAG

GTCACCATAACCTGTCGCGCTAGCCAAGATGTCAGCGGGTGGCTGGCTTGGTACCAGCA
GAAACCAGGTTTGGCTCCTCAGCTTTTGATCTCAGGAGCGAGCACGCTTCAGGGTGAGG
TCCCAAGTCGCTTTAGTGGCTCTGGCTCCGGGACAGACTTCACGTTGACGATCAGCAGT
TTGCAGCCTGAGGATTTCGCGACCTACTACTGCCAGCAAGCGAAATATTTTCCGTACAC
TTTCGGTCAGGGGACCAAATTGGAGATCAAAGGTGGGGGTGGTTCAGGCGGCGGAGGCT
CAGGCGGCGGCGGTAGCGGAGGAGGCGGAAGCGGGGGTGGCGGATCAGAAGTGCAACT
CGTTCAGAGTGGCGCGGAGGTTAAGAAACCCGGTGCATCTGTAAAGGTTAGCTGTAAGG
CATCAGGATACACTTTTACCAGCTATTACATGCATTGGGTGAGACAGGCTCCCGGTCAG
GGGCTCGAATGGATGGGGTTGATCAACCCGAGTGGTGGTTCAACATCTTACGCCCAGAA
GTTTCAGGGCCGAGTAACAATGACTCGGGACACGTCTACCTCAACTGTGTATATGGAGC
TTTCCAGCCTGCGCTCAGAGGATACAGCAGTCTATTACTGCGCACGGTCAGACAGAGGT
ATAACGGCCACTGATGCGTTCGATATCTGGGGACAAGGGACTATGGTAACTGTGTCTTC
CGGAGGAGGAGGTAGTGGAGGGGGAGGAAGCGGTGGGGGGGGCTCACAGTCCGTTTTG
ACTCAGCCACCAAGCGTCTCAGTCGCACCGGGGCGAATGGCGAAAATTACTTGCGGCGG
GAGCGACATAGGCAACAAGAATGTGCATTGGTACCAACAGAAACCAGGTCAAGCACCTG
TTCTCGTGGTGTATGATGACTACGATCGCCCAAGCGGGATCCCGGAGCGGTTCTCTGGA
TCAAATTCTGGTGATGCAGCCACTCTGACAATATCAACGGTGGAAGTCGGTGACGAGGC
TGATTACTTCTGCCAAGTATGGGATGGCAGCGGAGATCCCTACTGGATGTTTGGAGGAG
GTACTCAACTGACAGTTCTGGGCGCGGCCGCGACTACCACTCCTGCACCACGGCCACCT
ACCCCAGCCCCCACCATTGCAAGCCAGCCACTTTCACTGCGCCCCGAAGCGTGTAGACC
AGCTGCTGGAGGAGCCGTGCATACCCGAGGGCTGGACTTCGCCTGTGACATCTACATCT
GGGCCCCATTGGCTGGAACTTGCGGCGTGCTGCTCTTGTCTCTGGTCATTACCCTGTAC
TGCCGGTCGAAGAGGTCCAGACTCTTGCACTCCGACTACATGAACATGACTCCTAGAAG
GCCCGGACCCACTAGAAAGCACTACCAGCCGTACGCCCCTCCTCGGGATTTCGCCGCAT
ACCGGTCCAGAGTGAAGTTCAGCCGCTCAGCCGATGCACCGGCCTACCAGCAGGGACAG
AACCAGCTCTACAACGAGCTCAACCTGGGTCGGCGGGAAGAATATGACGTGCTGGACAA
ACGGCGCGGCAGAGATCCGGAGATGGGGGGAAAGCCGAGGAGGAAGAACCCTCAAGAG
GGCCTGTACAACGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCCGAGATCGGCAT
GAAGGGAGAACGCCGGAGAGGGAAGGGTCATGACGGACTGTACCAGGGCCTGTCAACTG
CCACTAAGGACACTTACGATGCGCTCCATATGCAAGCTTTGCCCCCGCGG

配列番号６３は、ＣＡＲ　Ｄ０１３５　ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＣＤ２８ｚのアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPQVQLQQSGPGLVKHSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNW
IRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY
CAQEVEPHDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVYASVGDKVT
ITCRASQDVSGWLAWYQQKPGLAPQLLISGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGA
EVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGR
VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGG
SGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVAPGRMAKITCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVY
DDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATLTISTVEVGDEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLT
VLGAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG
TCGVLLLSLVITLYCRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKF
SRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL
QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

配列番号６４は、ＣＡＲ　Ｄ０１３６　ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＩＣＯＳｚ　ＤＮＡのヌクレオチド配列である。

ATGCTCTTGCTCGTGACTTCTTTGCTTTTGTGCGAACTTCCGCACCCAGCCTTCCTTTTG
ATACCTCAGGTACAGCTTCAACAAAGCGGACCGGGACTTGTTAAGCATTCCCAAACCCT
TTCTCTCACGTGTGCAATTAGCGGCGATAGTGTATCCTCTAATTCTGCGGCCTGGAACT

GGATACGACAATCACCAAGCCGGGGACTCGAGTGGTTGGGCCGAACCTACTATCGGTCC
AAATGGTATAATGACTACGCAGTATCCGTGAAATCTCGCATTACGATCAATCCAGACAC
CTCCAAAAATCAATTTTCTCTGCAGTTGAATAGCGTGACTCCCGAGGACACGGCCGTTT
ACTATTGCGCCCAGGAAGTTGAACCCCACGATGCATTTGATATTTGGGGCCAGGGAACC
ATGGTGACAGTGAGTAGTGGGGGTGGAGGATCTGGAGGAGGCGGTAGCGGCGGGGGCG
GCAGTGATATCCAGATGACGCAGTCACCTTCCAGCGTGTATGCGAGTGTGGGGGACAAG
GTCACCATAACCTGTCGCGCTAGCCAAGATGTCAGCGGGTGGCTGGCTTGGTACCAGCA
GAAACCAGGTTTGGCTCCTCAGCTTTTGATCTCAGGAGCGAGCACGCTTCAGGGTGAGG
TCCCAAGTCGCTTTAGTGGCTCTGGCTCCGGGACAGACTTCACGTTGACGATCAGCAGT
TTGCAGCCTGAGGATTTCGCGACCTACTACTGCCAGCAAGCGAAATATTTTCCGTACAC
TTTCGGTCAGGGGACCAAATTGGAGATCAAAGGTGGGGGTGGTTCAGGCGGCGGAGGCT
CAGGCGGCGGCGGTAGCGGAGGAGGCGGAAGCGGGGGTGGCGGATCAGAAGTGCAACT
CGTTCAGAGTGGCGCGGAGGTTAAGAAACCCGGTGCATCTGTAAAGGTTAGCTGTAAGG
CATCAGGATACACTTTTACCAGCTATTACATGCATTGGGTGAGACAGGCTCCCGGTCAG
GGGCTCGAATGGATGGGGTTGATCAACCCGAGTGGTGGTTCAACATCTTACGCCCAGAA
GTTTCAGGGCCGAGTAACAATGACTCGGGACACGTCTACCTCAACTGTGTATATGGAGC
TTTCCAGCCTGCGCTCAGAGGATACAGCAGTCTATTACTGCGCACGGTCAGACAGAGGT
ATAACGGCCACTGATGCGTTCGATATCTGGGGACAAGGGACTATGGTAACTGTGTCTTC
CGGAGGAGGAGGTAGTGGAGGGGGAGGAAGCGGTGGGGGGGGCTCACAGTCCGTTTTG
ACTCAGCCACCAAGCGTCTCAGTCGCACCGGGGCGAATGGCGAAAATTACTTGCGGCGG
GAGCGACATAGGCAACAAGAATGTGCATTGGTACCAACAGAAACCAGGTCAAGCACCTG
TTCTCGTGGTGTATGATGACTACGATCGCCCAAGCGGGATCCCGGAGCGGTTCTCTGGA
TCAAATTCTGGTGATGCAGCCACTCTGACAATATCAACGGTGGAAGTCGGTGACGAGGC
TGATTACTTCTGCCAAGTATGGGATGGCAGCGGAGATCCCTACTGGATGTTTGGAGGAG
GTACTCAACTGACAGTTCTGGGCGCGGCCGCGACTACCACTCCTGCACCACGGCCACCT
ACCCCAGCCCCCACCATTGCAAGCCAGCCACTTTCACTGCGCCCCGAAGCGTGTAGACC
AGCTGCTGGAGGAGCCGTGCATACCCGAGGGCTGGACTTCGCCTGTGACATCTACATCT
GGGCCCCATTGGCTGGAACTTGCGGCGTGCTGCTCTTGTCTCTGGTCATTACCCTGTAC
TGCTGGCTGACAAAAAAGAAGTATTCATCTAGTGTACATGATCCGAACGGTGAATACAT
GTTCATGCGCGCGGTGAACACGGCCAAGAAGAGCAGACTGACCGACGTAACCCTTAGAG
TGAAGTTCAGCCGCTCAGCCGATGCACCGGCCTACCAGCAGGGACAGAACCAGCTCTAC
AACGAGCTCAACCTGGGTCGGCGGGAAGAATATGACGTGCTGGACAAACGGCGCGGCAG
AGATCCGGAGATGGGGGGAAAGCCGAGGAGGAAGAACCCTCAAGAGGGCCTGTACAAC
GAACTGCAGAAGGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCCGAGATCGGCATGAAGGGAGAACG
CCGGAGAGGGAAGGGTCATGACGGACTGTACCAGGGCCTGTCAACTGCCACTAAGGACA
CTTACGATGCGCTCCATATGCAAGCTTTGCCCCCGCGG

配列番号６５は、ＣＡＲ　Ｄ０１３６　ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＩＣＯＳｚのアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPQVQLQQSGPGLVKHSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNW
IRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY
CAQEVEPHDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVYASVGDKVT
ITCRASQDVSGWLAWYQQKPGLAPQLLISGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGA
EVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGR
VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGG
SGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVAPGRMAKITCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVY
DDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATLTISTVEVGDEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLT
VLGAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG
TCGVLLLSLVITLYCWLTKKKYSSSVHDPNGEYMFMRAVNTAKKSRLTDVTLRVKFSRSA
DAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK

MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

配列番号６６は、ＣＡＲ　Ｄ０１３７　ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＯＸ４０ＴＭ　ＯＸ４０ｚのヌクレオチド配列である。

ATGCTCTTGCTCGTGACTTCTTTGCTTTTGTGCGAACTTCCGCACCCAGCCTTCCTTTTG
ATACCTCAGGTACAGCTTCAACAAAGCGGACCGGGACTTGTTAAGCATTCCCAAACCCT
TTCTCTCACGTGTGCAATTAGCGGCGATAGTGTATCCTCTAATTCTGCGGCCTGGAACT
GGATACGACAATCACCAAGCCGGGGACTCGAGTGGTTGGGCCGAACCTACTATCGGTCC
AAATGGTATAATGACTACGCAGTATCCGTGAAATCTCGCATTACGATCAATCCAGACAC
CTCCAAAAATCAATTTTCTCTGCAGTTGAATAGCGTGACTCCCGAGGACACGGCCGTTT
ACTATTGCGCCCAGGAAGTTGAACCCCACGATGCATTTGATATTTGGGGCCAGGGAACC
ATGGTGACAGTGAGTAGTGGGGGTGGAGGATCTGGAGGAGGCGGTAGCGGCGGGGGCG
GCAGTGATATCCAGATGACGCAGTCACCTTCCAGCGTGTATGCGAGTGTGGGGGACAAG
GTCACCATAACCTGTCGCGCTAGCCAAGATGTCAGCGGGTGGCTGGCTTGGTACCAGCA
GAAACCAGGTTTGGCTCCTCAGCTTTTGATCTCAGGAGCGAGCACGCTTCAGGGTGAGG
TCCCAAGTCGCTTTAGTGGCTCTGGCTCCGGGACAGACTTCACGTTGACGATCAGCAGT
TTGCAGCCTGAGGATTTCGCGACCTACTACTGCCAGCAAGCGAAATATTTTCCGTACAC
TTTCGGTCAGGGGACCAAATTGGAGATCAAAGGTGGGGGTGGTTCAGGCGGCGGAGGCT
CAGGCGGCGGCGGTAGCGGAGGAGGCGGAAGCGGGGGTGGCGGATCAGAAGTGCAACT
CGTTCAGAGTGGCGCGGAGGTTAAGAAACCCGGTGCATCTGTAAAGGTTAGCTGTAAGG
CATCAGGATACACTTTTACCAGCTATTACATGCATTGGGTGAGACAGGCTCCCGGTCAG
GGGCTCGAATGGATGGGGTTGATCAACCCGAGTGGTGGTTCAACATCTTACGCCCAGAA
GTTTCAGGGCCGAGTAACAATGACTCGGGACACGTCTACCTCAACTGTGTATATGGAGC
TTTCCAGCCTGCGCTCAGAGGATACAGCAGTCTATTACTGCGCACGGTCAGACAGAGGT
ATAACGGCCACTGATGCGTTCGATATCTGGGGACAAGGGACTATGGTAACTGTGTCTTC
CGGAGGAGGAGGTAGTGGAGGGGGAGGAAGCGGTGGGGGGGGCTCACAGTCCGTTTTG
ACTCAGCCACCAAGCGTCTCAGTCGCACCGGGGCGAATGGCGAAAATTACTTGCGGCGG
GAGCGACATAGGCAACAAGAATGTGCATTGGTACCAACAGAAACCAGGTCAAGCACCTG
TTCTCGTGGTGTATGATGACTACGATCGCCCAAGCGGGATCCCGGAGCGGTTCTCTGGA
TCAAATTCTGGTGATGCAGCCACTCTGACAATATCAACGGTGGAAGTCGGTGACGAGGC
TGATTACTTCTGCCAAGTATGGGATGGCAGCGGAGATCCCTACTGGATGTTTGGAGGAG
GTACTCAACTGACAGTTCTGGGCGCGGCCGCAACGACCACTCCAGCACCGAGACCGCCA
ACCCCCGCGCCTACCATCGCAAGTCAACCACTTTCTCTCAGGCCTGAAGCGTGCCGACC
TGCAGCTGGTGGGGCAGTACATACCAGGGGTTTGGACTTCGCATGTGACGTGGCGGCAA
TTCTCGGCCTGGGACTTGTCCTTGGTCTGCTTGGTCCGCTCGCAATACTTCTGGCCTTGT
ACCTGCTCCGCAGAGACCAAAGACTTCCGCCCGACGCCCACAAGCCCCCAGGAGGAGGT
TCCTTCAGAACGCCTATACAAGAAGAACAAGCAGATGCCCACTCTACCCTGGCTAAAAT
CAGGGTGAAGTTTAGCCGGTCAGCTGATGCACCTGCATATCAGCAGGGACAGAACCAGC
TGTACAATGAGCTGAACCTCGGACGAAGAGAGGAGTACGACGTGTTGGACAAAAGACGA
GGTAGAGACCCCGAGATGGGCGGCAAGCCGAGAAGAAAAAACCCACAAGAAGGGCTTT
ATAATGAGCTTCAGAAAGATAAGATGGCAGAGGCCTACAGTGAGATTGGCATGAAGGGC
GAAAGAAGGAGGGGCAAAGGACACGACGGTCTCTACCAAGGCCTCAGCACGGCTACCAA
AGATACGTATGACGCATTGCATATGCAGGCATTGCCGCCCCGC

配列番号６７は、ＣＡＲ　Ｄ０１３７　ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＯＸ４０ＴＭ　ＯＸ４０ｚのアミノ酸配列である。

LLLVTSLLLCELPHPAFLLIPQVQLQQSGPGLVKHSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIR
QSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCA
QEVEPHDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVYASVGDKVTIT
CRASQDVSGWLAWYQQKPGLAPQLLISGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
FATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAE
VKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGRV

TMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGS
GGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVAPGRMAKITCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVY
DDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATLTISTVEVGDEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLT
VLGAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDVAAILGLGL
VLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKFSRS
ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD
KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

配列番号６８は、ＣＡＲ　Ｄ０１３８　ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＣＤ２７ｚのヌクレオチド配列である。

ATGCTCTTGCTCGTGACTTCTTTGCTTTTGTGCGAACTTCCGCACCCAGCCTTCCTTTTG
ATACCTCAGGTACAGCTTCAACAAAGCGGACCGGGACTTGTTAAGCATTCCCAAACCCT
TTCTCTCACGTGTGCAATTAGCGGCGATAGTGTATCCTCTAATTCTGCGGCCTGGAACT
GGATACGACAATCACCAAGCCGGGGACTCGAGTGGTTGGGCCGAACCTACTATCGGTCC
AAATGGTATAATGACTACGCAGTATCCGTGAAATCTCGCATTACGATCAATCCAGACAC
CTCCAAAAATCAATTTTCTCTGCAGTTGAATAGCGTGACTCCCGAGGACACGGCCGTTT
ACTATTGCGCCCAGGAAGTTGAACCCCACGATGCATTTGATATTTGGGGCCAGGGAACC
ATGGTGACAGTGAGTAGTGGGGGTGGAGGATCTGGAGGAGGCGGTAGCGGCGGGGGCG
GCAGTGATATCCAGATGACGCAGTCACCTTCCAGCGTGTATGCGAGTGTGGGGGACAAG
GTCACCATAACCTGTCGCGCTAGCCAAGATGTCAGCGGGTGGCTGGCTTGGTACCAGCA
GAAACCAGGTTTGGCTCCTCAGCTTTTGATCTCAGGAGCGAGCACGCTTCAGGGTGAGG
TCCCAAGTCGCTTTAGTGGCTCTGGCTCCGGGACAGACTTCACGTTGACGATCAGCAGT
TTGCAGCCTGAGGATTTCGCGACCTACTACTGCCAGCAAGCGAAATATTTTCCGTACAC
TTTCGGTCAGGGGACCAAATTGGAGATCAAAGGTGGGGGTGGTTCAGGCGGCGGAGGCT
CAGGCGGCGGCGGTAGCGGAGGAGGCGGAAGCGGGGGTGGCGGATCAGAAGTGCAACT
CGTTCAGAGTGGCGCGGAGGTTAAGAAACCCGGTGCATCTGTAAAGGTTAGCTGTAAGG
CATCAGGATACACTTTTACCAGCTATTACATGCATTGGGTGAGACAGGCTCCCGGTCAG
GGGCTCGAATGGATGGGGTTGATCAACCCGAGTGGTGGTTCAACATCTTACGCCCAGAA
GTTTCAGGGCCGAGTAACAATGACTCGGGACACGTCTACCTCAACTGTGTATATGGAGC
TTTCCAGCCTGCGCTCAGAGGATACAGCAGTCTATTACTGCGCACGGTCAGACAGAGGT
ATAACGGCCACTGATGCGTTCGATATCTGGGGACAAGGGACTATGGTAACTGTGTCTTC
CGGAGGAGGAGGTAGTGGAGGGGGAGGAAGCGGTGGGGGGGGCTCACAGTCCGTTTTG
ACTCAGCCACCAAGCGTCTCAGTCGCACCGGGGCGAATGGCGAAAATTACTTGCGGCGG
GAGCGACATAGGCAACAAGAATGTGCATTGGTACCAACAGAAACCAGGTCAAGCACCTG
TTCTCGTGGTGTATGATGACTACGATCGCCCAAGCGGGATCCCGGAGCGGTTCTCTGGA
TCAAATTCTGGTGATGCAGCCACTCTGACAATATCAACGGTGGAAGTCGGTGACGAGGC
TGATTACTTCTGCCAAGTATGGGATGGCAGCGGAGATCCCTACTGGATGTTTGGAGGAG
GTACTCAACTGACAGTTCTGGGCGCGGCCGCGACTACCACTCCTGCACCACGGCCACCT
ACCCCAGCCCCCACCATTGCAAGCCAGCCACTTTCACTGCGCCCCGAAGCGTGTAGACC
AGCTGCTGGAGGAGCCGTGCATACCCGAGGGCTGGACTTCGCCTGTGACATCTACATCT
GGGCCCCATTGGCTGGAACTTGCGGCGTGCTGCTCTTGTCTCTGGTCATTACCCTGTAC
TGCCAACGGCGCAAATACCGCTCCAATAAAGGCGAAAGTCCGGTAGAACCCGCAGAACC
TTGCCACTACAGTTGTCCCAGAGAAGAAGAGGGTTCTACAATACCTATTCAAGAGGACT
ATAGGAAACCAGAGCCCGCATGTAGTCCCAGAGTGAAGTTCAGCCGCTCAGCCGATGCA
CCGGCCTACCAGCAGGGACAGAACCAGCTCTACAACGAGCTCAACCTGGGTCGGCGGGA
AGAATATGACGTGCTGGACAAACGGCGCGGCAGAGATCCGGAGATGGGGGGAAAGCCG
AGGAGGAAGAACCCTCAAGAGGGCCTGTACAACGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCGG
AAGCCTACTCCGAGATCGGCATGAAGGGAGAACGCCGGAGAGGGAAGGGTCATGACGGA
CTGTACCAGGGCCTGTCAACTGCCACTAAGGACACTTACGATGCGCTCCATATGCAAGC
TTTGCCCCCGCGG

配列番号６９は、ＣＡＲ　Ｄ０１３８　ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＣＤ２７ｚのアミノ酸配

列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPQVQLQQSGPGLVKHSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNW
IRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY
CAQEVEPHDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVYASVGDKVT
ITCRASQDVSGWLAWYQQKPGLAPQLLISGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGA
EVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGR
VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGG
SGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVAPGRMAKITCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVY
DDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATLTISTVEVGDEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLT
VLGAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG
TCGVLLLSLVITLYCQRRKYRSNKGESPVEPAEPCHYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACS
PRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGL
YNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP

配列番号７０は、ＣＡＲ　Ｄ０１３９　ＣＤ２２－１９　ＣＤ２８　ＣＤ２８ｚのヌクレオチド配列である。

ATGCTCTTGCTCGTGACTTCTTTGCTTTTGTGCGAACTTCCGCACCCAGCCTTCCTTTTG
ATACCTCAGGTACAGCTTCAACAAAGCGGACCGGGACTTGTTAAGCATTCCCAAACCCT
TTCTCTCACGTGTGCAATTAGCGGCGATAGTGTATCCTCTAATTCTGCGGCCTGGAACT
GGATACGACAATCACCAAGCCGGGGACTCGAGTGGTTGGGCCGAACCTACTATCGGTCC
AAATGGTATAATGACTACGCAGTATCCGTGAAATCTCGCATTACGATCAATCCAGACAC
CTCCAAAAATCAATTTTCTCTGCAGTTGAATAGCGTGACTCCCGAGGACACGGCCGTTT
ACTATTGCGCCCAGGAAGTTGAACCCCACGATGCATTTGATATTTGGGGCCAGGGAACC
ATGGTGACAGTGAGTAGTGGGGGTGGAGGATCTGGAGGAGGCGGTAGCGGCGGGGGCG
GCAGTGATATCCAGATGACGCAGTCACCTTCCAGCGTGTATGCGAGTGTGGGGGACAAG
GTCACCATAACCTGTCGCGCTAGCCAAGATGTCAGCGGGTGGCTGGCTTGGTACCAGCA
GAAACCAGGTTTGGCTCCTCAGCTTTTGATCTCAGGAGCGAGCACGCTTCAGGGTGAGG
TCCCAAGTCGCTTTAGTGGCTCTGGCTCCGGGACAGACTTCACGTTGACGATCAGCAGT
TTGCAGCCTGAGGATTTCGCGACCTACTACTGCCAGCAAGCGAAATATTTTCCGTACAC
TTTCGGTCAGGGGACCAAATTGGAGATCAAAGGTGGGGGTGGTTCAGGCGGCGGAGGCT
CAGGCGGCGGCGGTAGCGGAGGAGGCGGAAGCGGGGGTGGCGGATCAGAAGTGCAACT
CGTTCAGAGTGGCGCGGAGGTTAAGAAACCCGGTGCATCTGTAAAGGTTAGCTGTAAGG
CATCAGGATACACTTTTACCAGCTATTACATGCATTGGGTGAGACAGGCTCCCGGTCAG
GGGCTCGAATGGATGGGGTTGATCAACCCGAGTGGTGGTTCAACATCTTACGCCCAGAA
GTTTCAGGGCCGAGTAACAATGACTCGGGACACGTCTACCTCAACTGTGTATATGGAGC
TTTCCAGCCTGCGCTCAGAGGATACAGCAGTCTATTACTGCGCACGGTCAGACAGAGGT
ATAACGGCCACTGATGCGTTCGATATCTGGGGACAAGGGACTATGGTAACTGTGTCTTC
CGGAGGAGGAGGTAGTGGAGGGGGAGGAAGCGGTGGGGGGGGCTCACAGTCCGTTTTG
ACTCAGCCACCAAGCGTCTCAGTCGCACCGGGGCGAATGGCGAAAATTACTTGCGGCGG
GAGCGACATAGGCAACAAGAATGTGCATTGGTACCAACAGAAACCAGGTCAAGCACCTG
TTCTCGTGGTGTATGATGACTACGATCGCCCAAGCGGGATCCCGGAGCGGTTCTCTGGA
TCAAATTCTGGTGATGCAGCCACTCTGACAATATCAACGGTGGAAGTCGGTGACGAGGC
TGATTACTTCTGCCAAGTATGGGATGGCAGCGGAGATCCCTACTGGATGTTTGGAGGAG
GTACTCAACTGACAGTTCTGGGCGCGGCCGCAATCGAAGTGATGTATCCACCTCCGTAC
CTCGATAACGAGAAATCAAATGGAACGATCATTCATGTGAAAGGGAAACATCTGTGCCC
AAGCCCATTGTTCCCAGGTCCGTCAAAACCATTCTGGGTGCTTGTCGTTGTTGGGGGTG
TACTCGCATGTTATTCTTTGCTGGTGACTGTGGCGTTTATCATCTTCTGGGTAAGGAGT
AAACGCAGCCGCCTGCTGCATTCAGACTACATGAACATGACCCCACGGCGGCCCGGCCC
AACGCGCAAACACTACCAACCTTACGCCCCACCGCGAGACTTTGCCGCCTACAGATCCC
GCGTGAAGTTTTCCCGGTCCGCCGACGCTCCGGCGTACCAGCAGGGGCAAAACCAGCTG

TACAACGAACTTAACCTCGGTCGCCGGGAAGAATATGACGTGCTGGACAAGCGGCGGGG
AAGAGATCCCGAGATGGGTGGAAAGCCGCGGCGGAAGAACCCTCAGGAGGGCTTGTACA
ACGAGCTGCAAAAGGACAAAATGGCCGAAGCCTACTCCGAGATTGGCATGAAGGGAGAG
CGCAGACGCGGGAAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGACTGTCAACCGCGACTAAGGA
CACTTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCGCGC

配列番号７１は、ＣＡＲ　Ｄ０１３９　ＣＤ２２－１９　ＣＤ２８　ＣＤ２８ｚのアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPQVQLQQSGPGLVKHSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNW
IRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY
CAQEVEPHDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVYASVGDKVT
ITCRASQDVSGWLAWYQQKPGLAPQLLISGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGA
EVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGR
VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGG
SGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVAPGRMAKITCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVY
DDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATLTISTVEVGDEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLT
VLGAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYS
LLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRS
ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD
KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

配列番号７２は、ＣＡＲ　Ｄ０１４５　ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＯＸ４０ｚのヌクレオチド配列である。

ATGCTCTTGCTCGTGACTTCTTTGCTTTTGTGCGAACTTCCGCACCCAGCCTTCCTTTTG
ATACCTCAGGTACAGCTTCAACAAAGCGGACCGGGACTTGTTAAGCATTCCCAAACCCT
TTCTCTCACGTGTGCAATTAGCGGCGATAGTGTATCCTCTAATTCTGCGGCCTGGAACT
GGATACGACAATCACCAAGCCGGGGACTCGAGTGGTTGGGCCGAACCTACTATCGGTCC
AAATGGTATAATGACTACGCAGTATCCGTGAAATCTCGCATTACGATCAATCCAGACAC
CTCCAAAAATCAATTTTCTCTGCAGTTGAATAGCGTGACTCCCGAGGACACGGCCGTTT
ACTATTGCGCCCAGGAAGTTGAACCCCACGATGCATTTGATATTTGGGGCCAGGGAACC
ATGGTGACAGTGAGTAGTGGGGGTGGAGGATCTGGAGGAGGCGGTAGCGGCGGGGGCG
GCAGTGATATCCAGATGACGCAGTCACCTTCCAGCGTGTATGCGAGTGTGGGGGACAAG
GTCACCATAACCTGTCGCGCTAGCCAAGATGTCAGCGGGTGGCTGGCTTGGTACCAGCA
GAAACCAGGTTTGGCTCCTCAGCTTTTGATCTCAGGAGCGAGCACGCTTCAGGGTGAGG
TCCCAAGTCGCTTTAGTGGCTCTGGCTCCGGGACAGACTTCACGTTGACGATCAGCAGT
TTGCAGCCTGAGGATTTCGCGACCTACTACTGCCAGCAAGCGAAATATTTTCCGTACAC
TTTCGGTCAGGGGACCAAATTGGAGATCAAAGGTGGGGGTGGTTCAGGCGGCGGAGGCT
CAGGCGGCGGCGGTAGCGGAGGAGGCGGAAGCGGGGGTGGCGGATCAGAAGTGCAACT
CGTTCAGAGTGGCGCGGAGGTTAAGAAACCCGGTGCATCTGTAAAGGTTAGCTGTAAGG
CATCAGGATACACTTTTACCAGCTATTACATGCATTGGGTGAGACAGGCTCCCGGTCAG
GGGCTCGAATGGATGGGGTTGATCAACCCGAGTGGTGGTTCAACATCTTACGCCCAGAA
GTTTCAGGGCCGAGTAACAATGACTCGGGACACGTCTACCTCAACTGTGTATATGGAGC
TTTCCAGCCTGCGCTCAGAGGATACAGCAGTCTATTACTGCGCACGGTCAGACAGAGGT
ATAACGGCCACTGATGCGTTCGATATCTGGGGACAAGGGACTATGGTAACTGTGTCTTC
CGGAGGAGGAGGTAGTGGAGGGGGAGGAAGCGGTGGGGGGGGCTCACAGTCCGTTTTG
ACTCAGCCACCAAGCGTCTCAGTCGCACCGGGGCGAATGGCGAAAATTACTTGCGGCGG
GAGCGACATAGGCAACAAGAATGTGCATTGGTACCAACAGAAACCAGGTCAAGCACCTG
TTCTCGTGGTGTATGATGACTACGATCGCCCAAGCGGGATCCCGGAGCGGTTCTCTGGA
TCAAATTCTGGTGATGCAGCCACTCTGACAATATCAACGGTGGAAGTCGGTGACGAGGC
TGATTACTTCTGCCAAGTATGGGATGGCAGCGGAGATCCCTACTGGATGTTTGGAGGAG
GTACTCAACTGACAGTTCTGGGCGCGGCCGCAACAACCACTCCAGCACCTAGACCGCCA

ACACCTGCACCTACCATCGCAAGTCAACCACTTTCTCTCAGGCCTGAAGCGTGCCGACC
TGCAGCTGGTGGGGCAGTACATACCAGGGGTTTGGACTTCGCATGTGACATCTACATCT
GGGCCCCATTGGCTGGAACTTGCGGCGTGCTGCTCTTGTCTCTGGTCATTACCCTGTAC
TGCGCCTTGTACCTGCTCCGCAGAGACCAAAGACTTCCGCCCGACGCCCACAAGCCCCC
AGGAGGAGGTTCCTTCAGAACGCCTATACAAGAAGAACAAGCAGATGCCCACTCTACCC
TGGCTAAAATCAGGGTGAAGTTTAGCCGGTCAGCTGATGCACCTGCATATCAGCAGGGA
CAGAACCAGCTGTACAATGAGCTGAACCTCGGACGAAGAGAGGAGTACGACGTGTTGGA
CAAAAGACGAGGTAGAGACCCCGAGATGGGCGGCAAGCCGAGAAGAAAAAACCCACAA
GAAGGGCTTTATAATGAGCTTCAGAAAGATAAGATGGCAGAGGCCTACAGTGAGATTGG
CATGAAGGGCGAAAGAAGGAGGGGCAAAGGACACGACGGTCTCTACCAAGGCCTCAGCA
CGGCTACCAAAGATACGTATGACGCATTGCATATGCAGGCATTGCCGCCCCGC

配列番号７３は、ＣＡＲ　Ｄ０１４５　ＣＤ２２－１９　ＣＤ８　ＯＸ４０ｚのアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPQVQLQQSGPGLVKHSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNW
IRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY
CAQEVEPHDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVYASVGDKVT
ITCRASQDVSGWLAWYQQKPGLAPQLLISGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGA
EVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGR
VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGG
SGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVAPGRMAKITCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVY
DDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATLTISTVEVGDEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLT
VLGAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG
TCGVLLLSLVITLYCALYLLRRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKF
SRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL
QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

配列番号７４は、ＣＡＲ　Ｄ０１４０　ＣＤ２２－１９　ＣＤ２８　ＣＤ２８　ＢＢｚのヌクレオチド配列である。

ATGCTCTTGCTCGTGACTTCTTTGCTTTTGTGCGAACTTCCGCACCCAGCCTTCCTTTTG
ATACCTCAGGTACAGCTTCAACAAAGCGGACCGGGACTTGTTAAGCATTCCCAAACCCT
TTCTCTCACGTGTGCAATTAGCGGCGATAGTGTATCCTCTAATTCTGCGGCCTGGAACT
GGATACGACAATCACCAAGCCGGGGACTCGAGTGGTTGGGCCGAACCTACTATCGGTCC
AAATGGTATAATGACTACGCAGTATCCGTGAAATCTCGCATTACGATCAATCCAGACAC
CTCCAAAAATCAATTTTCTCTGCAGTTGAATAGCGTGACTCCCGAGGACACGGCCGTTT
ACTATTGCGCCCAGGAAGTTGAACCCCACGATGCATTTGATATTTGGGGCCAGGGAACC
ATGGTGACAGTGAGTAGTGGGGGTGGAGGATCTGGAGGAGGCGGTAGCGGCGGGGGCG
GCAGTGATATCCAGATGACGCAGTCACCTTCCAGCGTGTATGCGAGTGTGGGGGACAAG
GTCACCATAACCTGTCGCGCTAGCCAAGATGTCAGCGGGTGGCTGGCTTGGTACCAGCA
GAAACCAGGTTTGGCTCCTCAGCTTTTGATCTCAGGAGCGAGCACGCTTCAGGGTGAGG
TCCCAAGTCGCTTTAGTGGCTCTGGCTCCGGGACAGACTTCACGTTGACGATCAGCAGT
TTGCAGCCTGAGGATTTCGCGACCTACTACTGCCAGCAAGCGAAATATTTTCCGTACAC
TTTCGGTCAGGGGACCAAATTGGAGATCAAAGGTGGGGGTGGTTCAGGCGGCGGAGGCT
CAGGCGGCGGCGGTAGCGGAGGAGGCGGAAGCGGGGGTGGCGGATCAGAAGTGCAACT
CGTTCAGAGTGGCGCGGAGGTTAAGAAACCCGGTGCATCTGTAAAGGTTAGCTGTAAGG
CATCAGGATACACTTTTACCAGCTATTACATGCATTGGGTGAGACAGGCTCCCGGTCAG
GGGCTCGAATGGATGGGGTTGATCAACCCGAGTGGTGGTTCAACATCTTACGCCCAGAA
GTTTCAGGGCCGAGTAACAATGACTCGGGACACGTCTACCTCAACTGTGTATATGGAGC
TTTCCAGCCTGCGCTCAGAGGATACAGCAGTCTATTACTGCGCACGGTCAGACAGAGGT
ATAACGGCCACTGATGCGTTCGATATCTGGGGACAAGGGACTATGGTAACTGTGTCTTC
CGGAGGAGGAGGTAGTGGAGGGGGAGGAAGCGGTGGGGGGGGCTCACAGTCCGTTTTG

ACTCAGCCACCAAGCGTCTCAGTCGCACCGGGGCGAATGGCGAAAATTACTTGCGGCGG
GAGCGACATAGGCAACAAGAATGTGCATTGGTACCAACAGAAACCAGGTCAAGCACCTG
TTCTCGTGGTGTATGATGACTACGATCGCCCAAGCGGGATCCCGGAGCGGTTCTCTGGA
TCAAATTCTGGTGATGCAGCCACTCTGACAATATCAACGGTGGAAGTCGGTGACGAGGC
TGATTACTTCTGCCAAGTATGGGATGGCAGCGGAGATCCCTACTGGATGTTTGGAGGAG
GTACTCAACTGACAGTTCTGGGCGCGGCCGCAATCGAAGTGATGTATCCACCTCCGTAC
CTCGATAACGAGAAATCAAATGGAACGATCATTCATGTGAAAGGGAAACATCTGTGCCC
AAGCCCATTGTTCCCAGGTCCGTCAAAACCATTCTGGGTGCTTGTCGTTGTTGGGGGTG
TACTCGCATGTTATTCTTTGCTGGTGACTGTGGCGTTTATCATCTTCTGGGTAAGGAGT
AAACGCAGCCGCCTGCTGCATTCAGACTACATGAACATGACCCCACGGCGGCCCGGCCC
AACGCGCAAACACTACCAACCTTACGCCCCACCGCGAGACTTTGCCGCCTACAGATCCA
AGCGCGGACGGAAGAAACTCTTGTACATCTTCAAGCAGCCGTTCATGCGCCCTGTGCAA
ACCACCCAAGAAGAGGACGGGTGCTCCTGCCGGTTCCCGGAAGAGGAAGAGGGCGGCTG
CGAACTGCGCGTGAAGTTTTCCCGGTCCGCCGACGCTCCGGCGTACCAGCAGGGGCAAA
ACCAGCTGTACAACGAACTTAACCTCGGTCGCCGGGAAGAATATGACGTGCTGGACAAG
CGGCGGGGAAGAGATCCCGAGATGGGTGGAAAGCCGCGGCGGAAGAACCCTCAGGAGG
GCTTGTACAACGAGCTGCAAAAGGACAAAATGGCCGAAGCCTACTCCGAGATTGGCATG
AAGGGAGAGCGCAGACGCGGGAAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGACTGTCAACCGC
GACTAAGGACACTTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCGCGC

配列番号７５は、ＣＡＲ　Ｄ０１４０　ＣＤ２２－１９　ＣＤ２８　ＣＤ２８　ＢＢｚのアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPQVQLQQSGPGLVKHSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNW
IRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY
CAQEVEPHDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVYASVGDKVT
ITCRASQDVSGWLAWYQQKPGLAPQLLISGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGA
EVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGR
VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGG
SGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVAPGRMAKITCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVY
DDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATLTISTVEVGDEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLT
VLGAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYS
LLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSKRGRKK
LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL
NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR
GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

配列番号７６は、ＣＡＲ　Ｄ０１４６　ＣＤ１９　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　ＩＣＯＳ　ｚ－＿ＣＤ２２　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　３ｚのヌクレオチド配列である。

ATGCTGCTGCTGGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCGCATCCGGCGTTTCTGCT
GATTCCGGAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAG
TGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGCTACTATATGCACTGGGTG
CGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATTAATCAACCCTAGTGGTGGTAG
CACAAGCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGA
GCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT
GCGAGATCGGATCGGGGAATTACCGCCACGGACGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGAC
AATGGTCACCGTCTCTTCAGGCGGAGGAGGCTCCGGGGGAGGAGGTTCCGGGGGCGGGG
GTTCCCAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGGCGGATGGCC
AAGATTACCTGTGGGGGAAGTGACATTGGAAATAAAAATGTCCACTGGTATCAGCAGAA
GCCAGGCCAGGCCCCTGTCCTGGTTGTCTATGATGATTACGACCGGCCCTCAGGGATCC
CTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGGACGCGGCCACCCTGACGATCAGCACGGTC
GAAGTCGGGGATGAGGCCGACTATTTCTGTCAGGTGTGGGACGGTAGTGGTGATCCTTA

TTGGATGTTCGGCGGAGGGACCCAGCTCACCGTTTTAGGTGCGGCCGCAACGACCACTC
CTGCACCACGGCCACCTACCCCAGCCCCCACCATTGCAAGCCAGCCACTTTCACTGCGC
CCCGAAGCGTGTAGACCAGCTGCTGGAGGAGCCGTGCATACCCGAGGGCTGGACTTCGC
CTGTGACATCTACATCTGGGCCCCATTGGCTGGAACTTGCGGCGTGCTGCTCTTGTCTC
TGGTCATTACCCTGTACTGCTGGCTGACAAAAAAGAAGTATTCATCTAGTGTACATGAT
CCGAACGGTGAATACATGTTCATGCGCGCGGTGAACACGGCCAAGAAGAGCAGACTGAC
CGACGTAACCCTTAGAGTGAAGTTTAGCCGCTCAGCCGATGCACCGGCCTACCAGCAGG
GACAGAACCAGCTCTACAACGAGCTCAACCTGGGTCGGCGGGAAGAATATGACGTGCTG
GACAAACGGCGCGGCAGAGATCCGGAGATGGGGGGAAAGCCGAGGAGGAAGAACCCTC
AAGAGGGCCTGTACAACGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCCGAGATC
GGCATGAAGGGAGAACGCCGGAGAGGGAAGGGTCATGACGGACTGTACCAGGGCCTGTC
AACTGCCACTAAGGACACTTACGATGCGCTCCATATGCAAGCTTTGCCCCCGCGGCGCG
CGAAACGCGGCAGCGGCGCGACCAACTTTAGCCTGCTGAAACAGGCGGGCGATGTGGAA
GAAAACCCGGGCCCGCGAGCAAAGAGGAATATTATGGCTCTGCCTGTTACGGCACTGCT
CCTTCCGCTTGCATTGTTGTTGCACGCAGCGCGGCCCCAAGTGCAGCTGCAGCAGTCCG
GTCCTGGACTGGTCAAGCCGTCCCAGACTCTGAGCCTGACTTGCGCAATTAGCGGGGAC
TCAGTCTCGTCCAATTCGGCGGCCTGGAACTGGATCCGGCAGTCACCATCAAGGGGCCT
GGAATGGCTCGGGCGCACTTACTACCGGTCCAAATGGTATACCGACTACGCCGTGTCCG
TGAAGAATCGGATCACCATTAACCCCGACACCTCGAAGAACCAGTTCTCACTCCAACTG
AACAGCGTGACCCCCGAGGATACCGCGGTGTACTACTGCGCACAAGAAGTGGAACCGCA
GGACGCCTTCGACATTTGGGGACAGGGAACGATGGTCACAGTGTCGTCCGGTGGAGGAG
GTTCCGGAGGCGGTGGATCTGGAGGCGGAGGTTCGGATATCCAGATGACCCAGAGCCCC
TCCTCGGTGTCCGCATCCGTGGGCGATAAGGTCACCATTACCTGTAGAGCGTCCCAGGA
CGTGTCCGGATGGCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCTTGGCTCCTCAACTGCTGA
TCTTCGGCGCCAGCACTCTTCAGGGGGAAGTGCCATCACGCTTCTCCGGATCCGGTTCC
GGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACTTACTA
CTGCCAACAGGCCAAGTACTTCCCCTATACCTTCGGAAGAGGCACTAAGCTGGAAATCA
AGGCTAGCGCAACCACTACGCCTGCTCCGCGGCCTCCAACGCCCGCGCCCACGATAGCT
AGTCAGCCGTTGTCTCTCCGACCAGAGGCGTGTAGACCGGCCGCTGGCGGAGCCGTACA
TACTCGCGGACTCGACTTCGCTTGCGACATCTACATTTGGGCACCCTTGGCTGGGACCT
GTGGGGTGCTGTTGCTGTCCTTGGTTATTACGTTGTACTGCAGAGTCAAATTTTCCAGG
TCCGCAGATGCCCCCGCGTACCAGCAAGGCCAGAACCAACTTTACAACGAACTGAACCT
GGGTCGCCGGGAGGAATATGATGTGCTGGATAAACGAAGGGGGAGGGACCCTGAGATGG
GAGGGAAACCTCGCAGGAAAAACCCGCAGGAAGGTTTGTACAACGAGTTGCAGAAGGAT
AAGATGGCTGAGGCTTACTCTGAAATAGGGATGAAGGGAGAGAGACGGAGAGGAAAAG
GCCATGATGGCCTTTACCAGGGCTTAAGCACAGCAACAAAGGATACTTACGACGCTCTT
CACATGCAAGCTCTGCCACCACGG

配列番号７７は、ＣＡＲ　Ｄ０１４６　ＣＤ１９　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　ＩＣＯＳ　ｚ＿ＣＤ２２　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭｚのアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVR
QAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA
RSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVAPGRMAKI
TCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVYDDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATLTISTVEVG
DEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLTVLGAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA
CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCWLTKKKYSSSVHDPNGE
YMFMRAVNTAKKSRLTDVTLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR
RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPRRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPRAKRNIMALPVTALLLP
LALLLHAARPQVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWL
GRTYYRSKWYTDYAVSVKNRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQEVEPQDAF

DIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDKVTITCRASQDVSG
WLAWYQQKPGLAPQLLIFGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQA
KYFPYTFGRGTKLEIKASATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF
ACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYD
VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ
GLSTATKDTYDALHMQALPPR

配列番号７８は、ＣＡＲ　Ｄ０１４７　ＣＤ１９　ＣＤ８Ｈ　ＯＸ４０ＴＭ　ＯＸ４０　ｚ＿ＣＤ２２　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　ｚのヌクレオチド配列である。

ATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATTAATCAACCC
TAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGG
ACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCC
GTGTATTACTGTGCGAGATCGGATCGGGGAATTACCGCCACGGACGCTTTTGATATCTG
GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAGGCGGAGGAGGCTCCGGGGGAGGAGGTT
CCGGGGGCGGGGGTTCCCAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCA
GGGCGGATGGCCAAGATTACCTGTGGGGGAAGTGACATTGGAAATAAAAATGTCCACTG
GTATCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCCTGTCCTGGTTGTCTATGATGATTACGACCGGC
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGGACGCGGCCACCCTGACG
ATCAGCACGGTCGAAGTCGGGGATGAGGCCGACTATTTCTGTCAGGTGTGGGACGGTAG
TGGTGATCCTTATTGGATGTTCGGCGGAGGGACCCAGCTCACCGTTTTAGGTGCGGCCG
CAACGACCACTCCAGCACCGAGACCGCCAACCCCCGCGCCTACCATCGCAAGTCAACCA
CTTTCTCTCAGGCCTGAAGCGTGCCGACCTGCAGCTGGTGGGGCAGTACATACCAGGGG
TTTGGACTTCGCATGTGACGTGGCGGCAATTCTCGGCCTGGGACTTGTCCTTGGTCTGC
TTGGTCCGCTCGCAATACTTCTGGCCTTGTACCTGCTCCGCAGAGACCAAAGACTTCCG
CCCGACGCCCACAAGCCCCCAGGAGGAGGTTCCTTCAGAACGCCTATACAAGAAGAACA
AGCAGATGCCCACTCTACCCTGGCTAAAATCAGGGTGAAGTTTAGCCGCTCAGCCGATG
CACCGGCCTACCAGCAGGGACAGAACCAGCTCTACAACGAGCTCAACCTGGGTCGGCGG
GAAGAATATGACGTGCTGGACAAACGGCGCGGCAGAGATCCGGAGATGGGGGGAAAGC
CGAGGAGGAAGAACCCTCAAGAGGGCCTGTACAACGAACTGCAGAAGGACAAGATGGC
GGAAGCCTACTCCGAGATCGGCATGAAGGGAGAACGCCGGAGAGGGAAGGGTCATGACG
GACTGTACCAGGGCCTGTCAACTGCCACTAAGGACACTTACGATGCGCTCCATATGCAA
GCTTTGCCCCCGCGGCGCGCGAAACGCGGCAGCGGCGCGACCAACTTTAGCCTGCTGAA
ACAGGCGGGCGATGTGGAAGAAAACCCGGGCCCGCGAGCAAAGAGGAATATTATGGCTC
TGCCTGTTACGGCACTGCTCCTTCCGCTTGCATTGTTGTTGCACGCAGCGCGGCCCCAA
GTGCAGCTGCAGCAGTCCGGTCCTGGACTGGTCAAGCCGTCCCAGACTCTGAGCCTGAC
TTGCGCAATTAGCGGGGACTCAGTCTCGTCCAATTCGGCGGCCTGGAACTGGATCCGGC
AGTCACCATCAAGGGGCCTGGAATGGCTCGGGCGCACTTACTACCGGTCCAAATGGTAT
ACCGACTACGCCGTGTCCGTGAAGAATCGGATCACCATTAACCCCGACACCTCGAAGAA
CCAGTTCTCACTCCAACTGAACAGCGTGACCCCCGAGGATACCGCGGTGTACTACTGCG
CACAAGAAGTGGAACCGCAGGACGCCTTCGACATTTGGGGACAGGGAACGATGGTCACA
GTGTCGTCCGGTGGAGGAGGTTCCGGAGGCGGTGGATCTGGAGGCGGAGGTTCGGATAT
CCAGATGACCCAGAGCCCCTCCTCGGTGTCCGCATCCGTGGGCGATAAGGTCACCATTA
CCTGTAGAGCGTCCCAGGACGTGTCCGGATGGCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGC
TTGGCTCCTCAACTGCTGATCTTCGGCGCCAGCACTCTTCAGGGGGAAGTGCCATCACG
CTTCTCCGGATCCGGTTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTCCAGCCTG
AGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAACAGGCCAAGTACTTCCCCTATACCTTCGGAAGA
GGCACTAAGCTGGAAATCAAGGCTAGCGCAACCACTACGCCTGCTCCGCGGCCTCCAAC
GCCCGCGCCCACGATAGCTAGTCAGCCGTTGTCTCTCCGACCAGAGGCGTGTAGACCGG
CCGCTGGCGGAGCCGTACATACTCGCGGACTCGACTTCGCTTGCGACATCTACATTTGG
GCACCCTTGGCTGGGACCTGTGGGGTGCTGTTGCTGTCCTTGGTTATTACGTTGTACTG
CAGAGTCAAATTTTCCAGGTCCGCAGATGCCCCCGCGTACCAGCAAGGCCAGAACCAAC

TTTACAACGAACTGAACCTGGGTCGCCGGGAGGAATATGATGTGCTGGATAAACGAAGG
GGGAGGGACCCTGAGATGGGAGGGAAACCTCGCAGGAAAAACCCGCAGGAAGGTTTGTA
CAACGAGTTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAGGCTTACTCTGAAATAGGGATGAAGGGAG
AGAGACGGAGAGGAAAAGGCCATGATGGCCTTTACCAGGGCTTAAGCACAGCAACAAAG
GATACTTACGACGCTCTTCACATGCAAGCTCTGCCACCACGG

配列番号７９は、ＣＡＲ　Ｄ０１４７　ＣＤ１９　ＣＤ８Ｈ　ＯＸ４０ＴＭ　ＯＸ４０　ｚ＿ＣＤ２２　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　３ｚのアミノ酸配列である。

MHWVRQAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT
AVYYCARSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVA
PGRMAKITCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVYDDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATL
TISTVEVGDEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLTVLGAAATTTPAPRPPTPAPTIASQ
PLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPP
DAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE
YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL
YQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPRAKRNIMALP
VTALLLPLALLLHAARPQVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSP
SRGLEWLGRTYYRSKWYTDYAVSVKNRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQE
VEPQDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDKVTITCR
ASQDVSGWLAWYQQKPGLAPQLLIFGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA
TYYCQQAKYFPYTFGRGTKLEIKASATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV
HTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNL
GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK
GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

配列番号８０は、ＣＡＲ　Ｄ０１４８　ＣＤ１９　ＣＤ８Ｈ　ＯＸ４０ＴＭ　ＯＸ４０　ｚ＿ＣＤ２２　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　ＩＣＯＳ　ｚのヌクレオチド配列である。

ATGCTGCTGCTGGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCGCATCCGGCGTTTCTGCT
GATTCCGGAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAG
TGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGCTACTATATGCACTGGGTG
CGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATTAATCAACCCTAGTGGTGGTAG
CACAAGCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGA
GCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT
GCGAGATCGGATCGGGGAATTACCGCCACGGACGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGAC
AATGGTCACCGTCTCTTCAGGCGGAGGAGGCTCCGGGGGAGGAGGTTCCGGGGGCGGGG
GTTCCCAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGGCGGATGGCC
AAGATTACCTGTGGGGGAAGTGACATTGGAAATAAAAATGTCCACTGGTATCAGCAGAA
GCCAGGCCAGGCCCCTGTCCTGGTTGTCTATGATGATTACGACCGGCCCTCAGGGATCC
CTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGGACGCGGCCACCCTGACGATCAGCACGGTC
GAAGTCGGGGATGAGGCCGACTATTTCTGTCAGGTGTGGGACGGTAGTGGTGATCCTTA
TTGGATGTTCGGCGGAGGGACCCAGCTCACCGTTTTAGGTGCGGCCGCAACGACCACTC
CAGCACCGAGACCGCCAACCCCCGCGCCTACCATCGCAAGTCAACCACTTTCTCTCAGG
CCTGAAGCGTGCCGACCTGCAGCTGGTGGGGCAGTACATACCAGGGGTTTGGACTTCGC
ATGTGACGTGGCGGCAATTCTCGGCCTGGGACTTGTCCTTGGTCTGCTTGGTCCGCTCG
CAATACTTCTGGCCTTGTACCTGCTCCGCAGAGACCAAAGACTTCCGCCCGACGCCCAC
AAGCCCCCAGGAGGAGGTTCCTTCAGAACGCCTATACAAGAAGAACAAGCAGATGCCCA
CTCTACCCTGGCTAAAATCAGGGTGAAGTTTAGCCGCTCAGCCGATGCACCGGCCTACC
AGCAGGGACAGAACCAGCTCTACAACGAGCTCAACCTGGGTCGGCGGGAAGAATATGAC
GTGCTGGACAAACGGCGCGGCAGAGATCCGGAGATGGGGGGAAAGCCGAGGAGGAAGA
ACCCTCAAGAGGGCCTGTACAACGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCC
GAGATCGGCATGAAGGGAGAACGCCGGAGAGGGAAGGGTCATGACGGACTGTACCAGG
GCCTGTCAACTGCCACTAAGGACACTTACGATGCGCTCCATATGCAAGCTTTGCCCCCG

CGGCGCGCGAAACGCGGCAGCGGCGCGACCAACTTTAGCCTGCTGAAACAGGCGGGCGA
TGTGGAAGAAAACCCGGGCCCGCGAGCAAAGAGGAATATTATGGCTCTGCCTGTTACGG
CACTGCTCCTTCCGCTTGCATTGTTGTTGCACGCAGCGCGGCCCCAAGTGCAGCTGCAG
CAGTCCGGTCCTGGACTGGTCAAGCCGTCCCAGACTCTGAGCCTGACTTGCGCAATTAG
CGGGGACTCAGTCTCGTCCAATTCGGCGGCCTGGAACTGGATCCGGCAGTCACCATCAA
GGGGCCTGGAATGGCTCGGGCGCACTTACTACCGGTCCAAATGGTATACCGACTACGCC
GTGTCCGTGAAGAATCGGATCACCATTAACCCCGACACCTCGAAGAACCAGTTCTCACT
CCAACTGAACAGCGTGACCCCCGAGGATACCGCGGTGTACTACTGCGCACAAGAAGTGG
AACCGCAGGACGCCTTCGACATTTGGGGACAGGGAACGATGGTCACAGTGTCGTCCGGT
GGAGGAGGTTCCGGAGGCGGTGGATCTGGAGGCGGAGGTTCGGATATCCAGATGACCCA
GAGCCCCTCCTCGGTGTCCGCATCCGTGGGCGATAAGGTCACCATTACCTGTAGAGCGT
CCCAGGACGTGTCCGGATGGCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCTTGGCTCCTCAA
CTGCTGATCTTCGGCGCCAGCACTCTTCAGGGGGAAGTGCCATCACGCTTCTCCGGATC
CGGTTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCA
CTTACTACTGCCAACAGGCCAAGTACTTCCCCTATACCTTCGGAAGAGGCACTAAGCTG
GAAATCAAGGCTAGCGCAACCACTACGCCTGCTCCGCGGCCTCCAACGCCCGCGCCCAC
GATAGCTAGTCAGCCGTTGTCTCTCCGACCAGAGGCGTGTAGACCGGCCGCTGGCGGAG
CCGTACATACTCGCGGACTCGACTTCGCTTGCGACATCTACATTTGGGCACCCTTGGCT
GGGACCTGTGGGGTGCTGTTGCTGTCCTTGGTTATTACGTTGTACTGCTGGCTGACAAA
AAAGAAGTATTCATCTAGTGTACATGATCCGAACGGTGAATACATGTTCATGCGCGCGG
TGAACACGGCCAAGAAGAGCAGACTGACCGACGTAACCCTTAGAGTCAAATTTTCCAGG
TCCGCAGATGCCCCCGCGTACCAGCAAGGCCAGAACCAACTTTACAACGAACTGAACCT
GGGTCGCCGGGAGGAATATGATGTGCTGGATAAACGAAGGGGGAGGGACCCTGAGATGG
GAGGGAAACCTCGCAGGAAAAACCCGCAGGAAGGTTTGTACAACGAGTTGCAGAAGGAT
AAGATGGCTGAGGCTTACTCTGAAATAGGGATGAAGGGAGAGAGACGGAGAGGAAAAG
GCCATGATGGCCTTTACCAGGGCTTGAGCACAGCAACAAAGGATACTTACGACGCTCTT
CACATGCAAGCTCTGCCACCACGG

配列番号８１は、ＣＡＲ　Ｄ０１４８　ＣＤ１９　ＣＤ８Ｈ　ＯＸ４０ＴＭ　ＯＸ４０　ｚ＿ＣＤ２２　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　ＩＣＯＳ　ｚのアミノ酸配列である。

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVR
QAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA
RSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVAPGRMAKI
TCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVYDDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATLTISTVEVG
DEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLTVLGAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA
CRPAAGGAVHTRGLDFACDVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKPPG
GGSFRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR
RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPRRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPRAKRNIMALPVTALLLP
LALLLHAARPQVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWL
GRTYYRSKWYTDYAVSVKNRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQEVEPQDAF
DIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDKVTITCRASQDVSG
WLAWYQQKPGLAPQLLIFGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQA
KYFPYTFGRGTKLEIKASATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF
ACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCWLTKKKYSSSVHDPNGEYMFMRAVNTAKKSRL
TDVTLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKN
PQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

配列番号８２は、ＣＡＲ　Ｄ０１４９　ＣＤ１９　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　ＣＤ２７　ｚ＿ＣＤ２２　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　ＩＣＯＳ３　ｚのヌクレオチド配列である。

ATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATTAATCAACCC
TAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGG

ACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCC
GTGTATTACTGTGCGAGATCGGATCGGGGAATTACCGCCACGGACGCTTTTGATATCTG
GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAGGCGGAGGAGGCTCCGGGGGAGGAGGTT
CCGGGGGCGGGGGTTCCCAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCA
GGGCGGATGGCCAAGATTACCTGTGGGGGAAGTGACATTGGAAATAAAAATGTCCACTG
GTATCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCCTGTCCTGGTTGTCTATGATGATTACGACCGGC
CCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGGACGCGGCCACCCTGACG
ATCAGCACGGTCGAAGTCGGGGATGAGGCCGACTATTTCTGTCAGGTGTGGGACGGTAG
TGGTGATCCTTATTGGATGTTCGGCGGAGGGACCCAGCTCACCGTTTTAGGTGCGGCCG
CGACTACCACTCCTGCACCACGGCCACCTACCCCAGCCCCCACCATTGCAAGCCAGCCA
CTTTCACTGCGCCCCGAAGCGTGTAGACCAGCTGCTGGAGGAGCCGTGCATACCCGAGG
GCTGGACTTCGCCTGTGACATCTACATCTGGGCCCCATTGGCTGGAACTTGCGGCGTGC
TGCTCTTGTCTCTGGTCATTACCCTGTACTGCCAACGGCGCAAATACCGCTCCAATAAA
GGCGAAAGTCCGGTAGAACCCGCAGAACCTTGCCACTACAGTTGTCCCAGAGAAGAAGA
GGGTTCTACAATACCTATTCAAGAGGACTATAGGAAACCAGAGCCCGCATGTAGTCCCA
GAGTGAAGTTCAGCCGCTCAGCCGATGCACCGGCCTACCAGCAGGGACAGAACCAGCTC
TACAACGAGCTCAACCTGGGTCGGCGGGAAGAATATGACGTGCTGGACAAACGGCGCGG
CAGAGATCCGGAGATGGGGGGAAAGCCGAGGAGGAAGAACCCTCAAGAGGGCCTGTAC
AACGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCCGAGATCGGCATGAAGGGAGA
ACGCCGGAGAGGGAAGGGTCATGACGGACTGTACCAGGGCCTGTCAACTGCCACTAAGG
ACACTTACGATGCGCTCCATATGCAAGCTTTGCCCCCGCGGCGCGCGAAACGCGGCAGC
GGCGCGACCAACTTTAGCCTGCTGAAACAGGCGGGCGATGTGGAAGAAAACCCGGGCCC
GCGAGCAAAGAGGAATATTATGGCTCTGCCTGTTACGGCACTGCTCCTTCCGCTTGCAT
TGTTGTTGCACGCAGCGCGGCCCCAAGTGCAGCTGCAGCAGTCCGGTCCTGGACTGGTC
AAGCCGTCCCAGACTCTGAGCCTGACTTGCGCAATTAGCGGGGACTCAGTCTCGTCCAA
TTCGGCGGCCTGGAACTGGATCCGGCAGTCACCATCAAGGGGCCTGGAATGGCTCGGGC
GCACTTACTACCGGTCCAAATGGTATACCGACTACGCCGTGTCCGTGAAGAATCGGATC
ACCATTAACCCCGACACCTCGAAGAACCAGTTCTCACTCCAACTGAACAGCGTGACCCC
CGAGGATACCGCGGTGTACTACTGCGCACAAGAAGTGGAACCGCAGGACGCCTTCGACA
TTTGGGGACAGGGAACGATGGTCACAGTGTCGTCCGGTGGAGGAGGTTCCGGAGGCGGT
GGATCTGGAGGCGGAGGTTCGGATATCCAGATGACCCAGAGCCCCTCCTCGGTGTCCGC
ATCCGTGGGCGATAAGGTCACCATTACCTGTAGAGCGTCCCAGGACGTGTCCGGATGGC
TGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCTTGGCTCCTCAACTGCTGATCTTCGGCGCCAGC
ACTCTTCAGGGGGAAGTGCCATCACGCTTCTCCGGATCCGGTTCCGGCACCGACTTCAC
CCTGACCATCAGCAGCCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAACAGGCCA
AGTACTTCCCCTATACCTTCGGAAGAGGCACTAAGCTGGAAATCAAGGCTAGCGCAACC
ACTACGCCTGCTCCGCGGCCTCCAACGCCCGCGCCCACGATAGCTAGTCAGCCGTTGTC
TCTCCGACCAGAGGCGTGTAGACCGGCCGCTGGCGGAGCCGTACATACTCGCGGACTCG
ACTTCGCTTGCGACATCTACATTTGGGCACCCTTGGCTGGGACCTGTGGGGTGCTGTTG
CTGTCCTTGGTTATTACGTTGTACTGCTGGCTGACAAAAAAGAAGTATTCATCTAGTGT
ACATGATCCGAACGGTGAATACATGTTCATGCGCGCGGTGAACACGGCCAAGAAGAGCA
GACTGACCGACGTAACCCTTAGAGTCAAATTTTCCAGGTCCGCAGATGCCCCCGCGTAC
CAGCAAGGCCAGAACCAACTTTACAACGAACTGAACCTGGGTCGCCGGGAGGAATATGA
TGTGCTGGATAAACGAAGGGGGAGGGACCCTGAGATGGGAGGGAAACCTCGCAGGAAA
AACCCGCAGGAAGGTTTGTACAACGAGTTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAGGCTTACTC
TGAAATAGGGATGAAGGGAGAGAGACGGAGAGGAAAAGGCCATGATGGCCTTTACCAG
GGCTTGAGCACAGCAACAAAGGATACTTACGACGCTCTTCACATGCAAGCTCTGCCACC
ACGG

配列番号８３は、ＣＡＲ　Ｄ０１４９　ＣＤ１９　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　ＩＣＯＳ　ｚ　ＣＤ２２　ＣＤ８Ｈ＆ＴＭ　ＩＣＯＳ　ｚのアミノ酸配列である。

MHWVRQAPGQGLEWMGLINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT
AVYYCARSDRGITATDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVA
PGRMAKITCGGSDIGNKNVHWYQQKPGQAPVLVVYDDYDRPSGIPERFSGSNSGDAATL
TISTVEVGDEADYFCQVWDGSGDPYWMFGGGTQLTVLGAAATTTPAPRPPTPAPTIASQ
PLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCQRRKYRSNK
GESPVEPAEPCHYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSPRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN
ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERR
RGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPRA
KRNIMALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAA
WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYTDYAVSVKNRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDT
AVYYCAQEVEPQDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVG
DKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKPGLAPQLLIFGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISS
LQPEDFATYYCQQAKYFPYTFGRGTKLEIKASATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR
PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCWLTKKKYSSSVHDPNGEYM
FMRAVNTAKKSRLTDVTLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR
DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD
TYDALHMQALPPR

【図面】

【図１Ａ】

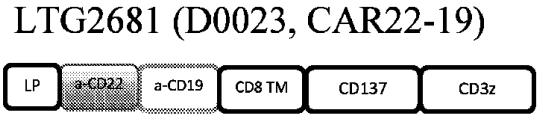

FIGURE 1A

【図１Ｂ】

FIGURE 1B

【図２】

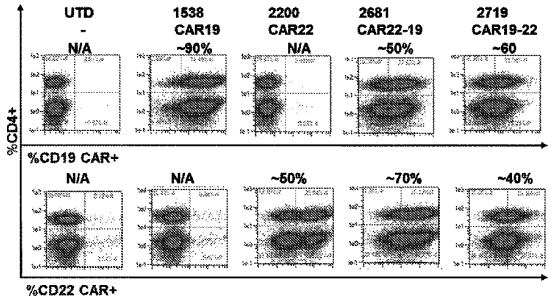

FIGURE 2

【図３】

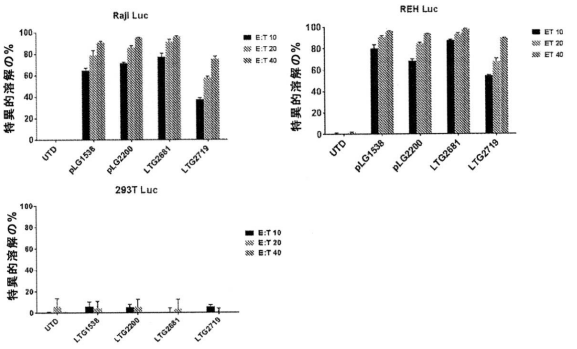

FIGURE 3

【図４Ａ】

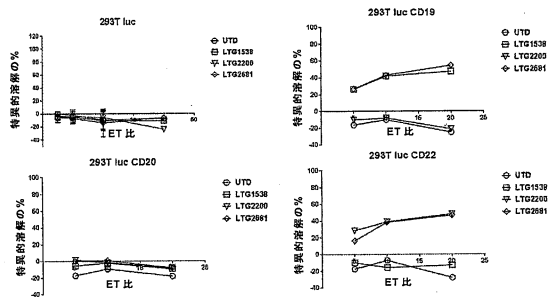

FIGURE 4A

【図４Ｂ】

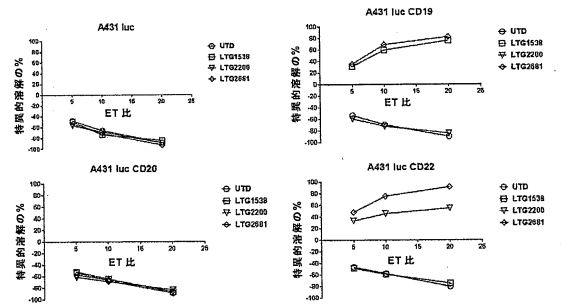

FIGURE 4B

【図５】

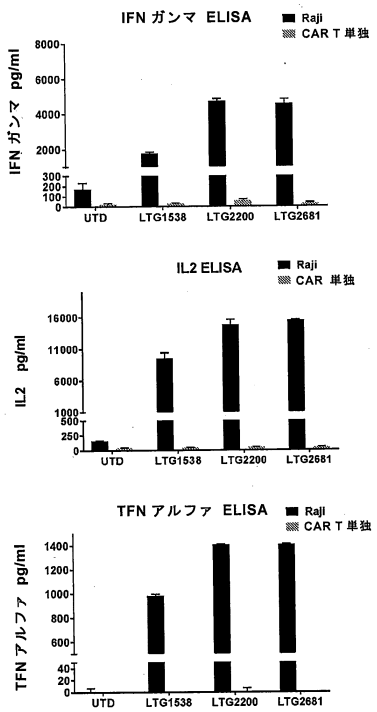

FIGURE 5

【図６Ａ】

FIGURE 6A

【図６Ｂ】

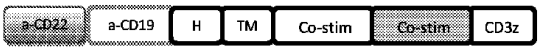

FIGURE 6B

【図６Ｃ】

FIGURE 6C

【図６Ｄ】

FIGURE 6D

【図７】

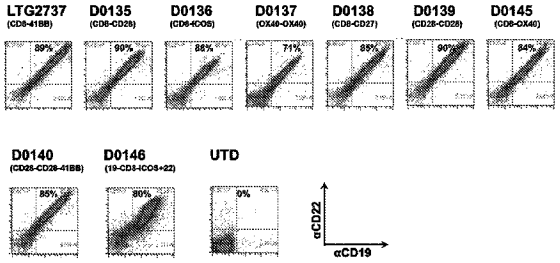

FIGURE 7

【図８】

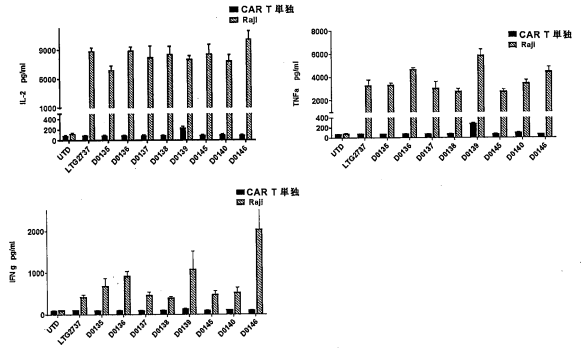

FIGURE 8

【図９Ａ】

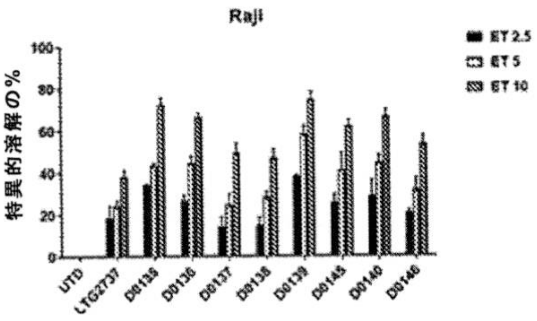

FIGURE 9A

【図９Ｂ】

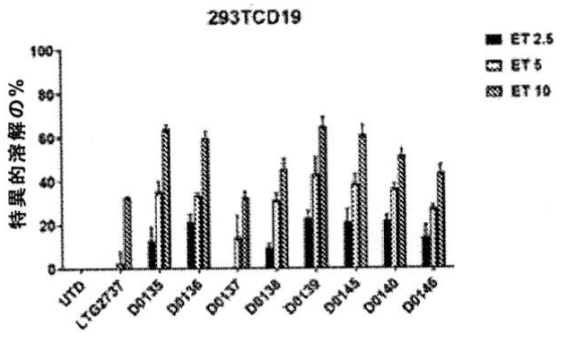

FIGURE 9B

【図９Ｃ】

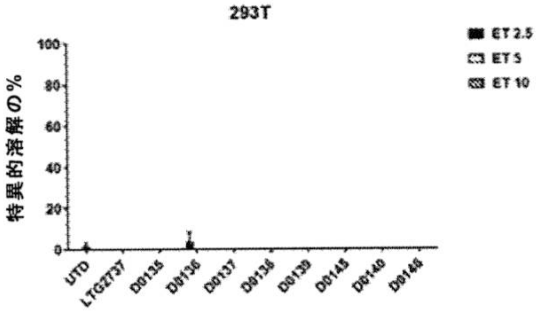

FIGURE 9C

【図９Ｄ】

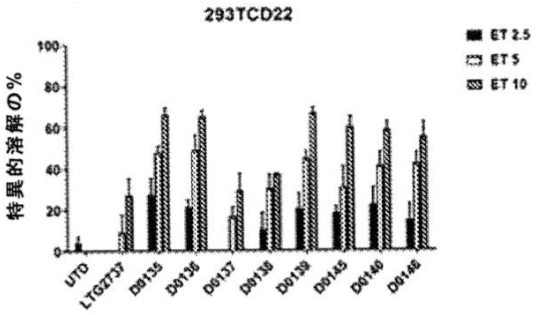

FIGURE 9D

【配列表】

0007546554000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI		
C12N	*15/62*	*(2006.01)*	C12N	15/62	Z
C12N	*15/13*	*(2006.01)*	C12N	15/13	
C12N	*15/12*	*(2006.01)*	C12N	15/12	
C07K	*19/00*	*(2006.01)*	C07K	19/00	
C07K	*16/28*	*(2006.01)*	C07K	16/28	

アメリカ合衆国、９８１１５ ワシントン州、シアトル、ブルックリン・アベニュ・ノース・ウェスト、６１２９
(72)発明者 ドロプリク，ボロ
アメリカ合衆国、２１０４２ メリーランド州、エリコット・シティ、ゴールデン・オーク・ドライブ、１２６３７
(72)発明者 フー，ペイロン
アメリカ合衆国、２１７５４ メリーランド州、イジャムズビル、ブルーベック・テラス、２９６９

審査官 池上 文緒

(56)参考文献 国際公開第２０１８／０４５３２５（WO，Ａ１）
中国特許出願公開第１０８５０４６６８（ＣＮ，Ａ）
国際公開第２０１６／１４９５７８（WO，Ａ１）
Nat. Med.，2018年01月，vol.24, no.1，p.20-28
Blood，2017年，vol.130, suppl.1，810

(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ ３５／１７
Ｃ１２Ｎ １５／６２
Ｃ１２Ｎ １５／１３
Ｃ１２Ｎ １５／１２
Ｃ０７Ｋ １９／００
Ｃ０７Ｋ １６／２８
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）
ＵｎｉＰｒｏｔ／ＧｅｎｅＳｅｑ