(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-549765
(P2023-549765A)
(43)公表日　令和5年11月29日(2023.11.29)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C12N 15/12 (2006.01)		C12N	15/12		4B063
C07K 14/725 (2006.01)		C07K	14/725	ZNA	4B065
C07K 19/00 (2006.01)		C07K	19/00		4C076
C12N 15/63 (2006.01)		C12N	15/63	Z	4C084
C12N 15/113 (2010.01)		C12N	15/113	Z	4C085

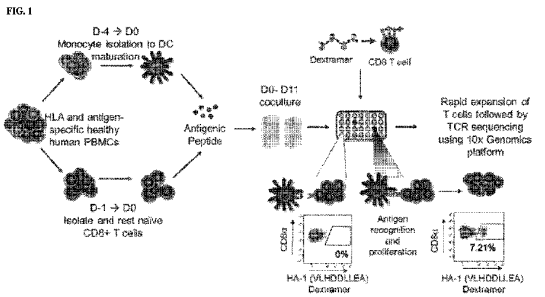
審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全314頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-528001(P2023-528001)
(86)(22)出願日　令和3年11月8日(2021.11.8)
(85)翻訳文提出日　令和5年6月15日(2023.6.15)
(86)国際出願番号　PCT/US2021/058382
(87)国際公開番号　WO2022/099100
(87)国際公開日　令和4年5月12日(2022.5.12)
(31)優先権主張番号　63/111,462
(32)優先日　令和2年11月9日(2020.11.9)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/110,851
(32)優先日　令和2年11月6日(2020.11.6)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/175,350
最終頁に続く

(71)出願人　523165950
ティースキャン セラピューティクス インコーポレイテッド
ＴＳＣＡＮ ＴＨＥＲＡＰＥＵＴＩＣＳ，ＩＮＣ．
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２４５１ ウォルサン ウィンター ストリート ８３０
(74)代理人　100147485
弁理士　杉村 憲司
(74)代理人　230118913
弁護士　杉村 光嗣
(74)代理人　100214259
弁理士　山本 睦也
(72)発明者　リブー ナイヤル
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＨＡ－１抗原を認識する結合タンパク質及びその使用

(57)【要約】
本出願は、HA-1抗原を認識する結合タンパク質、及びその使用、を提供する。
【選択図】図１



【特許請求の範囲】
【請求項１】
以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるT細胞レセプター(TCR)アルファ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖CDR配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRアルファ鎖CDR配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCRベータ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖CDR配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRベータ鎖CDR配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的にここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する。
【請求項２】
以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖可変(V_α)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR V_αドメイン配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCR V_αドメイン配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCR ベータ鎖可変(V_β)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR V_βドメイン配列に対して、と少なくとも約80%の同一性を有するTCR V_βドメイン配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的にここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する。
【請求項３】
以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRアルファ鎖配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCRベータ鎖配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRベータ鎖配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的にここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する。
【請求項４】
以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖CDR配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCRベータ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖CDR配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的にここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する。
【請求項５】
以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖可変(V_α)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR V_αドメイン配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCRベータ鎖可変(V_β)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR V_βドメイン配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的にここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する。
【請求項６】
以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCRベータ鎖配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合

することができる、任意選択的にここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する。

【請求項７】

請求項１から６の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、

1)前記TCRアルファ鎖CDR、TCR V_αドメイン、及び／若しくはTCRアルファ鎖は、表１に列挙されるTRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子の群より選択される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、若しくはそれらフラグメント、によってコードされる、並びに／又は、

2)前記TCRベータ鎖CDR、TCR V_βドメイン、及び／若しくはTCRベータ鎖は、表１に列挙されるTRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子の群より選択される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、によってコードされる、並びに／又は、

3)前記結合タンパク質のそれぞれのCDRは、表１に列挙される同族参照CDR配列と比較して、最大5個の、アミノ酸置換、挿入、欠失、又はそれらの組み合わせ、を有する。

【請求項８】

請求項１から７の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記HA-1免疫原性ペプチドは、アミノ酸配列VLHDDLLEAを含む。

【請求項９】

請求項１から８の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、キメラ、ヒト化、又はヒトである。

【請求項１０】

請求項１から９の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、一本鎖TCR(scTCR)、キメラ抗原レセプター(CAR)、又はTCR及びエフェクター・ドメインを含む融合タンパク質、である、任意選択的にここで、前記結合ドメインは、膜貫通ドメイン及び細胞内にあるエフェクター・ドメイン、を含む。

【請求項１１】

請求項１から１０の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記TCRアルファ鎖、及び前記TCRベータ鎖は、共有結合している、任意選択的にここで、前記TCRアルファ鎖及び前記TCRベータ鎖は、リンカー・ペプチドを介して共有結合している。

【請求項１２】

請求項１から１１の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記TCRアルファ鎖、及び／又は前記TCRベータ鎖は、部分構造に共有結合的に連結している、任意選択的にここで、その共有結合的に連結した部分構造は、親和性ー・タグ又は標識、を含む。

【請求項１３】

請求項１２に記載の結合タンパク質、ここで、前記親和性タグは、CD34濃縮タグ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)、カルモジュリン結合タンパク質(CBP)、タンパク質Cタグ、Mycタグ、Haloタグ、HAタグ、Flagタグ、Hisタグ、ビオチン・タグ、及びV5タグ、からなる群より選択される、及び／又はここで、前記標識は、蛍光タンパク質である。

【請求項１４】

請求項１から１３の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記共有結合的に連結した部分構造は、炎症性薬剤、サイトカイン、毒素、細胞毒性分子、放射性同位体、又は抗体若しくはその抗原結合フラグメント、からなる群より選択される。

【請求項１５】

請求項１から１４の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、細胞表面上にある前記pMHC複合体に結合する。

【請求項１６】

請求項１から１５の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記MHCは、MHC

多量体である、任意選択的にここで、前記ＭＨＣ多量体は、四量体である。
【請求項１７】
請求項１から１６の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記ＭＨＣは、ＭＨＣクラスI分子である。
【請求項１８】
請求項１から１７の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記ＭＨＣは、ＨＬＡ血清型HLA-A*02であるＭＨＣアルファ鎖を含む。
【請求項１９】
請求項１から１８の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記HLA対立遺伝子は、HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*0203、HLA-A*0205、HLA-A*0206、及びHLA-A*207対立遺伝子、からなる群より選択される。
【請求項２０】
請求項１から１９の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質の前記HA-1ペプチド-MHC(pMHC)複合体への結合は、免疫応答を誘発する、任意選択的にここで、前記免疫応答は、T細胞応答である。
【請求項２１】
請求項１から２０の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記T細胞応答は、T細胞増殖、サイトカイン放出、及び／又は細胞傷害性傷害、からなる群より選択される。
【請求項２２】
請求項１から２１の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、前記HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に、特異的及び／又は選択的に、約$1x10^{-4}$ M以下、約$5x10^{-5}$ M以下、約$1x10^{-5}$M以下、約$5x10^{-6}$ M以下、約$1x10^{-6}$ M以下、約$5x10^{-7}$M以下、約$1x10^{-7}$ M以下、約$5x10^{-8}$ M以下、約$1x10^{-8}$M以下、約$5x10^{-9}$ M以下、約$1x10^{-9}$ M以下、約$5x10^{-10}$M以下、約$1x10^{-10}$ M以下、約$5x10^{-11}$ M以下、約$1x10^{-11}$M以下、約$5x10^{-12}$ M以下、又は約$1x10^{-12}$ M以下、のK_dで、結合することができる。
【請求項２３】
請求項１から２２の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、前記ペプチド-MHC(pMHC)に対して、既知のT-細胞レセプターよりも、より高い結合親和性を有する。
【請求項２４】
請求項１から２３の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、前記ペプチド-MHC(pMHC)に対して、既知のT-細胞レセプターよりも、少なくとも1.05倍高い結合親和性を有する。
【請求項２５】
請求項１から２４の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、既知のT-細胞レセプターよりも、より高い、T細胞増殖、サイトカイン放出、及び／又は細胞傷害性傷害、を誘導する。
【請求項２６】
請求項１から２５の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、既知のT-細胞レセプターよりも、少なくとも1.05倍増加した、T細胞増殖、サイトカイン放出、及び／又は細胞傷害性傷害、を誘導する。
【請求項２７】
請求項２５又は２６に記載の結合タンパク質、ここで、前記ターゲット細胞は、THP-1又はTF1細胞株、である。
【請求項２８】
請求項２５又は２６に記載の結合タンパク質、ここで、前記ターゲット細胞は、がん細

胞である、任意選択的にここで、前記がん細胞は、造血系がん細胞、白血病細胞、リンパ腫細胞、骨髄異形成障害細胞、骨髄増殖性新生物細胞、又は骨髄腫細胞、である。

【請求項２９】

請求項２２から２８の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1^{R}ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合しない、ここで、前記HA-1^{R}ペプチドは、アミノ酸配列VLRDDLLEAを含む。

【請求項３０】

請求項２２から２９の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、CCDC114ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合しない、任意選択的にここで、前記CCDC114ペプチドは、SMIDDLLGVである。

【請求項３１】

表１に列挙された、TCRアルファ鎖の、及び／又はTCRベータ鎖の配列からなる群より選択される、TCRアルファ鎖、及び／又はTCRベータ鎖。

【請求項３２】

表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸の相補体と、又は表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸に対して、少なくとも約80%の相同性を有する配列と、ストリンジェントな条件(stringent condition)下で、ハイブリダイズする単離された核酸分子、

任意選択的にここで、前記単離された核酸分子は、

1）表１に列挙されるTRAV、TRAJ、及びTRAC 遺伝子の群より選択される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、並びに／又は、

2）表１に列挙されるTRBV、TRBJ、及びTRBC遺伝子の群より選択される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、

を含む。

【請求項３３】

請求項３２に記載の単離された核酸、ここで、前記核酸は、宿主細胞における発現のために、コドンが最適化されている。

【請求項３４】

請求項３２又は３３に記載の単離された核酸を含むベクター。

【請求項３５】

請求項３４に記載のベクター、ここで、前記ベクターは、クローニング・ベクター、発現ベクター、又はウイルス・ベクター、である。

【請求項３６】

請求項３４又は３５に記載のベクター、ここで、前記ベクターは、CD8α及び／又はCD8βをコードする核酸配列を更に含む。

【請求項３７】

請求項３４から３６の何れか一項に記載のベクター、ここで、CD8α又はCD8βをコードする核酸配列は、タグをコードする核酸に作動可能に連結されている。

【請求項３８】

請求項３４から３７の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記タグをコードする核酸は、前記CD8α又はCD8βをコードする核酸配列の5'上流にあり、その結果、前記タグは、CD8α又はCD8βのN末端で融合している。

【請求項３９】

請求項３４から３８の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記タグは、CD34濃縮タグである。

【請求項４０】

請求項３４から３９の何れか一項に記載のベクター、ここで、請求項２３又は２４に記載の単離された核酸、並びに前記CD8α及び／又はCD8βをコードする核酸配列は、配

列内リボソーム進入部位(internal ribosome entry site)、又は自己切断ペプチドをコードする核酸配列によって、相互連結している。

【請求項４１】

請求項３４から４０の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記自己切断ペプチドは、P2A、E2A、F2A、又はT2A、である。

【請求項４２】

請求項３２又は３３に記載の単離された核酸を含む、請求項３４から４１の何れか一項に記載のベクターを含む、及び／又は請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質を発現する、宿主細胞、任意選択的にここで、前記細胞は、遺伝子操作されている。

【請求項４３】

請求項４２に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、TCR遺伝子の、HLA遺伝子の、又はその両方の、染色体遺伝子のノックアウトを含む。

【請求項４４】

請求項４２又は４３に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、αlマクログロブリン遺伝子、α2マクログロブリン遺伝子、α3マクログロブリン遺伝子、β1ミクログロブリン遺伝子、β2ミクログロブリン遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるHLA遺伝子のノックアウトを含む。

【請求項４５】

請求項４２から４４の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、TCRα可変領域遺伝子、TCRβ可変領域遺伝子、TCR定常領域遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるTCR遺伝子のノックアウトを含む。

【請求項４６】

請求項４２から４５の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、CD8α及び／又はCD8βを発現する。

【請求項４７】

請求項４６に記載の宿主細胞、ここで、前記CD8α及び／又はCD8βは、CD34濃縮タグに融合している。

【請求項４８】

請求項４７に記載の宿主細胞、ここで、宿主細胞は、CD34濃縮タグを用いて富化されている。

【請求項４９】

請求項４２から４８の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、造血始原細胞（progenitor cell）、末梢血単核細胞(peripheral blood mononuclear cell (PBMC))、臍帯血細胞、又は免疫細胞、である。

【請求項５０】

請求項４２から４９の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記免疫細胞は、細胞傷害性リンパ球、細胞傷害性リンパ球前駆細胞（precursor cell）、細胞傷害性リンパ球始原細胞（progenitor cell）、細胞傷害性リンパ球幹細胞、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、CD4/CD8ダブル・ネガティブT細胞、ガンマ・デルタ(γδ)T細胞、ナチュラル・キラー(NK)細胞、NK-T細胞、樹状細胞、又はそれらの組合せ、である。

【請求項５１】

請求項４２から５０の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記T細胞は、ナイーブT細胞, セントラル・メモリーT細胞(central memory T cell), エフェクタ・メモリーT細胞(effector memory T cell)、又はそれらの組み合わせ、である。

【請求項５２】

請求項４２から５１の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記T細胞は、初代T細胞、又はT細胞株の細胞、である。

【請求項５３】

請求項４２から５２の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記T細胞は、内因性のTCRを発現しない、又は内因性のTCRの細胞表面発現がより低い。

【請求項５４】
請求項４２から５３の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、ＭＨＣ分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞と接触した場合に、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。
【請求項５５】
請求項５４に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、in vitro、ex vivo、又はin vivo、でターゲット細胞と接触する。
【請求項５６】
請求項５４又は５５に記載の宿主細胞、ここで、前記サイトカインは、TNF-α、IL-2、及び／又はIFN-γ、である。
【請求項５７】
請求項５４から５６の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記細胞傷害性分子は、パーフォリン類及び／又はグランザイム類である、任意選択的にここで、前記細胞傷害性分子は、グランザイムBである。
【請求項５８】
請求項５４から５７の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。
【請求項５９】
請求項５８に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、少なくとも1.05倍高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。
【請求項６０】
請求項５４から５９の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、ＭＨＣ分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞を傷害することができる。
【請求項６１】
請求項６１に記載の宿主細胞、ここで、前記傷害を、傷害アッセイによって測定する。
【請求項６２】
請求項６０又は６１に記載の宿主細胞、ここで、前記傷害アッセイにおける、前記宿主細胞と前記ターゲット細胞との比率は、20:1から0.625:1である。
【請求項６３】
請求項６０から６２の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、ターゲット細胞は、1μg/mLから50 pg/mLのHA-1ペプチドで、パルスされたT2細胞である。
【請求項６４】
請求項６０から６２の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より多数のターゲット細胞を傷害することができる。
【請求項６５】
請求項６４に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、少なくとも1.05倍多数のターゲット細胞を傷害することができる。
【請求項６６】
請求項６０、６１、６４及び６５の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記ターゲット細胞は、THP-1又はTF1細胞株である。
【請求項６７】
請求項５４から６６の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記HA-1免疫原性ペプチドは、アミノ酸配列VLHDDLLEAを含む。
【請求項６８】
請求項５４から６７の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記ＭＨＣ分子は、ＭＨＣクラスI分子である。

【請求項６９】
請求項５４から６８の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで前記ＭＨＣ分子は、ＨＬＡ血清型ＨＬＡ-Ａ*０２であるＭＨＣアルファ鎖を含む。
【請求項７０】
請求項５４から６９の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記ＨＬＡ対立遺伝子は、ＨＬＡ-Ａ*０２:０１、ＨＬＡ-Ａ*０２:０２、ＨＬＡ-Ａ*０２:０３、ＨＬＡ-Ａ*０２:０５、ＨＬＡ-Ａ*０２:０６、及びＨＬＡ-Ａ*０２:０７対立遺伝子、からなる群より選択される。
【請求項７１】
請求項５４から７０の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記ターゲット細胞は、ＳｕｐＭ２、ＴＨＰ-１、及びＴＦ１細胞株からなる群より選択される細胞株である、ＨＡ-１を発現する造血系がん細胞である、又はＳＵ-ＤＨＬ１ではない。
【請求項７２】
請求項７１に記載の宿主細胞、ここで、前記がん細胞は、白血病、リンパ腫、骨髄異形成障害、骨髄増殖性新生物、又は骨髄腫、からなる群より選択される血液悪性腫瘍(ｈｅｍａｔｏｌｏｇｉｃａｌ ｍａｌｉｇｎａｎｃｙ)の細胞である。
【請求項７３】
請求項５４から７２の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、
ａ)前記宿主細胞は、ＭＨＣ分子の中にＣＣＤＣ１１４ペプチド・エピトープを含むペプチド-ＭＨＣ(ｐＭＨＣ)複合体、を含むターゲット細胞と接触させた場合に、Ｔ細胞増殖、サイトカイン放出、若しくは細胞傷害性傷害を誘導しない、並びに／又は、
ｂ)前記宿主細胞は、ＨＡ-１抗原を発現しない、請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質によって認識されない、血清型ＨＬＡ-Ａ*０２の細胞ではない、及び／若しくはＨＬＡ-Ａ*０２対立遺伝子を発現しない、任意選択的にここで、前記ＨＬＡ-Ａ*０２対立遺伝子は、ＨＬＡ-Ａ*０２:０１及び／若しくはＨＬＡ-Ａ*０２:０６である。
【請求項７４】
請求項４２から７３の何れか一項に記載の宿主細胞の集団。
【請求項７５】
以下を含む組成物：
ａ)請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質、
ｂ)請求項３２又は３３に記載の単離された核酸、
ｃ)請求項３４から４１の何れか一項に記載のベクター、
ｄ)請求項４２から７３の何れか一項に記載の宿主細胞、及び／又は、
ｅ)請求項７４に記載の宿主細胞の集団、
並びに担体。
【請求項７６】
以下を含むデバイス又はキット：
ａ)請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質、
ｂ)請求項３２又は３３に記載の単離された核酸、
ｃ)請求項３４から４１の何れか一項に記載のベクター、
ｄ)請求項４２から７３の何れか一項に記載の宿主細胞、及び／又は、
ｅ)請求項７４に記載の宿主細胞の集団、
ここで、前記デバイス又はキットは、任意選択的に、ａ)、ｄ)及び／又はｅ)がｐＭＨＣ複合体に結合すること、を検出するための試薬、を含む。
【請求項７７】
請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質を産生する方法、ここで、前記方法は、以下のステップを含む：
(ｉ)請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質をコードする配列を含む核酸によって形質転換された、形質転換済み宿主細胞を、前記結合タンパク質が発現することが可能になるのに適した条件下で、培養するステップ；及び、
(ｉｉ)発現した結合タンパク質を回収するステップ。

【請求項７８】
請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質を発現する宿主細胞を産生する方法、ここで、前記方法は、以下のステップを含む：
(i)請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質をコードする配列を含む核酸を、前記宿主細胞に導入するステップ；
(ii)その形質転換済み宿主細胞を、前記結合タンパク質が発現することが可能になるのに適した条件下で、培養するステップ。
【請求項７９】
HA-1抗原の、及び／又はHA-1を発現する細胞の有無を検出する方法、任意選択的にここで、前記細胞は、過剰増殖性細胞である、前記方法は、請求項１から３０の何れか一項に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、又は請求項４２から７３の何れか一項に記載の少なくとも1種の宿主細胞、を使用することによって、サンプル中のHA-1抗原の有無を検出するステップを含む、ここで、前記HA-1抗原を検出することは、HA-1抗原、及び／又はHA-1を発現する細胞、が存在することの指標である。
【請求項８０】
請求項７９に記載の方法、ここで、前記少なくとも1種の結合タンパク質、又は前記少なくとも1種の宿主細胞は、MHC分子の中の前記HA-1ペプチドと複合体を形成する、及び前記複合体を、蛍光活性化細胞選別(fluorescence activated cell sorting)(FACS)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、放射免疫アッセイ(RIA)、免疫化学的、ウェスタン・ブロット、又は細胞内フロー・アッセイ、の形態で検出する。
【請求項８１】
対象から前記サンプルを得ることを更に含む、請求項７９又は８０に記載の方法。
【請求項８２】
骨髄生検によって、HA-1を発現する細胞を確認することを更に含む、請求項７９から８１の何れか一項に記載の方法。
【請求項８３】
以下を含む、対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、のレベルを検出する方法：
a)前記対象から得られたサンプルを、請求項１から３０の何れか一項に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、請求項４２から７３の何れか一項に記載の少なくとも1種の宿主細胞、又は請求項７４に記載の宿主細胞の集団、と接触させるステップ；及び、
b)応答性のレベルを検出するステップ、ここで、コントロールのレベルと比較して、より高いレベルの応答性は、前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、のレベルを示す。
【請求項８４】
請求項８３に記載の方法、ここで、前記コントロールのレベルは、参照する数である。
【請求項８５】
請求項８３に記載の方法、ここで、前記コントロールのレベルは、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を有さない対象のレベルである。
【請求項８６】
対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の進行をモニタリングするための方法、ここで、前記方法は、以下を含む：
a)請求項７９から８５の何れか一項に記載の、HA-1抗原又はHA-1を発現する目的の細胞のレベルを、対象のサンプルにおいて、第1の時点で、検出するステップ；
b)後続の時点で、ステップa)を反復するステップ；並びに、
c)前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の進行をモニタリングするために、ステップa)及びステップb)において検出した、HA-1抗原又はHA-1を発現する目的の細胞のレベルを比較す

るステップ、ここで、ステップa)と比較した、ステップb)において検出した、HA-1抗原又はHA-1を発現する関心とする細胞の、存在しない、又は減少したレベルは、前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の進行が、阻害されていることを示す。

【請求項８７】

請求項８６に記載の方法、ここで、前記第1の時点と前記後続の時点との間で、前記対象は、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を治療するための治療を受けたことがある。

【請求項８８】

以下を含む、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する療法の有効性を評価する方法：

a)前記対象から得られたサンプルと、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する療法の少なくとも1部を提供する前に、対象から取得した第1のサンプルにおける、請求項１から３０の何れか一項に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、請求項４２から７３の何れか一項に記載の少なくとも1種の宿主細胞、又は請求項７４に記載の宿主細胞の集団、との間の、応答性の存在又はレベル、を決定するステップ、並びに、

b) 前記対象から得られたサンプルと、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する療法の少なくとも1部を提供した後に、対象から取得した第2のサンプルにおける、請求項１から３０の何れか一項に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、請求項４２から７３の何れか一項に記載の少なくとも1種の宿主細胞、又は請求項７４に記載の宿主細胞の集団、との間の、応答性の存在又はレベル、を決定するステップ、

ここで、前記第2のサンプルにおける応答性が、第1のサンプルと比較して、存在しないこと、又はレベルが減少していることは、前記療法が、前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を治療することに対して有効である、ことを示す。

【請求項８９】

請求項８３から８９の何れか一項に記載の方法、ここで、前記応答性のレベルは、a)結合の存在、並びに／又はb)T細胞活性化、及び／若しくはエフェクター機能、によって示される。

【請求項９０】

請求項８９に記載の方法、ここで、前記T細胞活性化、又はエフェクター機能は、T細胞増殖、傷害、又はサイトカイン放出、である。

【請求項９１】

請求項８３から９０の何れか一項に記載の方法、ここで、前記T細胞結合、活性化、及び／又はエフェクター機能を、蛍光活性化細胞選別(fluorescence activated cell sorting)(FACS)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、放射性免疫アッセイ(RIA)、免疫化学的、ウェスタン・ブロット、又は細胞内フロー・アッセイ、を使用して検出する。

【請求項９２】

対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を、予防する、及び／又は治療する方法、ここで、前記方法は、請求項１から３０の何れか一項に記載の少なくとも1種の結合タンパク質を発現する細胞を含む医薬組成物の治療有効量を、前記対象に投与するステップを含む。

【請求項９３】

請求項９２に記載の方法、ここで、前記細胞は、同種異系細胞、同系細胞、又は自己細胞、である。

【請求項９４】

請求項９２又は９３に記載の方法、ここで、前記細胞は、遺伝子改変をされている。

【請求項９５】

請求項９２から９４の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞は、TCR遺伝子の、HLA遺伝子の、又はTCR遺伝子及びHLA遺伝子の両方の、染色体遺伝子のノックアウトを含む。

【請求項９６】

請求項９２から９５の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞は、α1マクログロブリン遺伝子、α2マクログロブリン遺伝子、α3マクログロブリン遺伝子、β1ミクログロブリン遺伝子、β2ミクログロブリン遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるHLA遺伝子のノックアウトを含む。

【請求項９７】

請求項９２から９６の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞は、TCRα可変領域遺伝子、TCRβ可変領域遺伝子、TCR定常領域遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるTCR遺伝子のノックアウトを含む。

【請求項９８】

請求項９２から９７の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞は、CD8α及び／又はCD8βを発現する、任意選択的にここで、前記CD8α及び／又はCD8βは、CD34濃縮タグに融合している。

【請求項９９】

請求項９８に記載の方法、ここで、前記細胞は、CD34濃縮タグを用いて富化されている。

【請求項１００】

請求項９２から９９の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞は、造血始原細胞（progenitor cell）、末梢血単核細胞(peripheral blood mononuclear cell (PBMC))、臍帯血細胞、又は免疫細胞、である。

【請求項１０１】

細胞項９２から１００の何れか一項に記載の方法、ここで、前記免疫細胞は、細胞傷害性リンパ球、細胞傷害性リンパ球前駆細胞（precursor cell）、細胞傷害性リンパ球始原細胞（progenitor cell）、細胞傷害性リンパ球幹細胞、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、CD4/CD8ダブル・ネガティブT細胞、ガンマ・デルタ(γδ)T細胞、ナチュラル・キラー(NK)細胞、NK-T細胞、樹状細胞、又はそれらの組合せ、である。

【請求項１０２】

請求項９２から１０１の何れか一項に記載の方法、ここで、前記T細胞は、ナイーブT細胞, セントラル・メモリーT細胞(central memory T cell), エフェクタ・メモリーT細胞(effector memory T cell)、又はそれらの組み合わせ、である。

【請求項１０３】

請求項９２から１０２の何れか一項に記載の方法、ここで、前記T細胞は、初代T細胞、又はT細胞株の細胞、である。

【請求項１０４】

請求項９２から１０３の何れか一項に記載の方法、ここで、前記T細胞は、内因性のTCRを発現しない、又は内因性のTCRの細胞表面発現がより低い。

【請求項１０５】

請求項９２から１０４の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞は、MHC分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞と接触した場合に、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。

【請求項１０６】

請求項９２から１０５の何れか一項に記載の方法、ここで、前記サイトカインは、TNF-α、IL-2、及び／又はIFN-γ、である。

【請求項１０７】

請求項９２から１０６の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞傷害性分子は、パーフォリン類及び／又はグランザイム類である、任意選択的にここで、前記細胞傷害性分子は、グランザイムBである。

【請求項１０８】
請求項９２から１０７の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。
【請求項１０９】
請求項１０８に記載の方法、ここで、前記細胞は、少なくとも1.05倍高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。
【請求項１１０】
請求項９２から１０９の何れか一項に記載の方法、ここで、前記宿主細胞は、MHC分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞を傷害することができる。
【請求項１１１】
請求項９２から１１０の何れか一項に記載の方法、ここで、前記宿主細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より多数のターゲット細胞を傷害することができる。
【請求項１１２】
請求項１１１に記載の方法、ここで、前記宿主細胞は、少なくとも1.05倍多数のターゲット細胞を傷害することができる。
【請求項１１３】
請求項９２から１１２の何れか一項に記載の方法、ここで、前記HA-1免疫原性ペプチドは、アミノ酸配列VLHDDLLEAを含む。
【請求項１１４】
請求項９２から１１３の何れか一項に記載の方法、ここで、前記MHC分子は、MHCクラスI分子である。
【請求項１１５】
請求項９２から１１４の何れか一項に記載の方法、ここで、前記MHC分子は、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖を含む。
【請求項１１６】
請求項９２から１１５の何れか一項に記載の方法、ここで、前記HLA対立遺伝子は、HLA-A*02:01、HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、及びHLA-A*02:07対立遺伝子、からなる群より選択される。
【請求項１１７】
請求項９２から１１６の何れか一項に記載の方法、ここで、前記ターゲット細胞は、前記対象において前記HA-1抗原を発現する、非-悪性細胞又は過剰増殖性細胞、である。
【請求項１１８】
請求項９２から１１７の何れか一項に記載の方法、ここで、前記組成物は、薬学的に許容可能な担体を更に含む。
【請求項１１９】
請求項９２から１１８の何れか一項に記載の方法、ここで、前記組成物は、前記対象において前記HA-1抗原を発現する、前記非-悪性細胞、又は前記過剰増殖性細胞、に対する、免疫応答を誘導する。
【請求項１２０】
請求項９２から１１９の何れか一項に記載の方法、ここで、前記組成物は、前記対象において前記HA-1抗原を発現する、前記非-悪性細胞、又は前記過剰増殖性細胞、に対する、抗原-特異的なT細胞免疫応答を誘導する。
【請求項１２１】
請求項９２から１２０の何れか一項に記載の方法、ここで、前記抗原-特異的なT細胞免疫応答は、$CD4^+$ヘルパーTリンパ球(Th)応答及びCD8+細胞傷害性Tリンパ球(CTL)応答のうちの少なくとも1種を含む。
【請求項１２２】

請求項８３から１２１の何れか一項に記載の方法、ここで、前記過剰増殖性障害は、血液悪性腫瘍(hematological malignancy)を含む。

【請求項１２３】

請求項８３から１２２の何れか一項に記載の方法、ここで、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、白血病、リンパ腫、骨髄異形成障害、骨髄増殖性新生物、又は骨髄腫、を含む。

【請求項１２４】

請求項８３から１２３の何れか一項に記載の方法、ここで、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、白血病を含む。

【請求項１２５】

請求項８３から１２４の何れか一項に記載の方法、ここで、前記白血病は、急性骨髄性白血病(acute myeloid leukemia (AML))、急性リンパ球性白血病(acute lymphocytic leukemia (ALL))、混合表現型急性白血病(mixed phenotype acute leukemia (MPAL))、慢性骨髄性白血病(chronic myeloid leukemia (CML))、B細胞前リンパ球性白血病(prolymphocytic leukemia)、ヘアリー細胞白血病(hairy cell leukemia)、又は慢性リンパ球性白血病(chronic lymphocytic leukemia (CLL))、より選択される。

【請求項１２６】

請求項８３から１２５の何れか一項に記載の方法、ここで、前記血液障害は、リンパ腫を含む。

【請求項１２７】

請求項８３から１２５の何れか一項に記載の方法、ここで、前記リンパ腫は、ホジキン・リンパ腫(Hodgkin's lymphoma (HL))、非-ホジキン・リンパ腫(non-Hodgkin's lymphoma (NHL))、中枢神経系リンパ腫、小リンパ球性リンパ腫(small lymphocytic lymphoma (SLL))、CD37+樹状細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、粘膜関連（ＭＡＬＴ）リンパ組織の節外辺縁帯B-細胞リンパ腫、節内辺縁帯B-細胞リンパ腫、濾胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B-細胞リンパ腫、縦隔（胸腺）大細胞型B-細胞リンパ腫、前駆B-リンパ芽球性リンパ腫、免疫芽球性大細胞リンパ腫、血管内大細胞型B-細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、又はバーキット・リンパ腫、より選択される。

【請求項１２８】

請求項８３から１２３の何れか一項に記載の方法、ここで、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄異形成障害(myelodysplastic disorder (MDS))を含む、任意選択的にここで、前記ＭＤＳは、単一血球系統の異形成を伴う不応性血球減少症(不応性貧血、不応性好中球減少症、及び不応性血小板減少症)、環状鉄芽球を伴う不応性貧血(refractory anemia with ring sideroblasts (RARS))、環状鉄芽球を伴う不応性貧血-血小板増加症(refractory anemia with ring sideroblasts - thrombocytosis (RARS-t))、多血球系異形成を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia (RCMD))、多血球系異形成と環状鉄芽球を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia and ring sideroblasts (RCMD-RS))、芽球増加を伴う不応性貧血(refractory anemia with excess blasts (RAEB))、分類不能型骨髄異形成症候群、小児不応性血球減少症、5番染色体長腕の単独欠失を伴う骨髄異形成症候群(ＭＤＳ with isolated del(5q))、より選択される。

【請求項１２９】

請求項８３から１２３の何れか一項に記載の方法、ここで、前記非-悪性障害は、免疫不全障害である、任意選択的にここで、前記免疫不全障害は、重度複合免疫不全症(SCID)、ウィスコット-アルドリッチ症候群(Wiskott-Aldrich syndrome)、オーメン症候群（Omenn syndrome）、X-連鎖リンパ増殖症候群、慢性肉芽腫病、白血球接着不全症、ディジョージ症候群(DiGeorge syndrome)、及び造血幹細胞移植(hematopoiet

ic stem cell transplantation (HCT))の適応症、からなる群より選択される。
【請求項１３０】
請求項８３から１２１の何れか一項に記載の方法、ここで、前記非-悪性障害は、非-悪性血液障害である、任意選択的にここで、前記非-悪性血液障害は、鎌状赤血球貧血, サラセミア、再生不良性貧血、血球貪食性リンパ組織症(hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH))、重度の再生不良性貧血、骨髄不全症候群、ファンコニ貧血(Fanconi anemia)、ダイアモンド-ブラックファン貧血(Diamond-Blackfan anemia)、及びシュワックマン・ダイアモンド症候群(Schwachman Diamond syndrome)、からなる群より選択される。
【請求項１３１】
請求項８３から１２１の何れか一項に記載の方法、ここで、前記非-悪性障害は、自己免疫障害である、任意選択的にここで、前記自己免疫障害は、全身性硬化症又は多発性硬化症である。
【請求項１３２】
請求項９２から１３１の何れか一項に記載の方法、ここで、前記対象は、造血細胞移植(HCT)を受けている、又は以前に受けた、任意選択的にここで、前記HCTは、HA-1抗原を発現しない、請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質によって認識されない、血清型HLA-A*02の細胞ではない、及び／又はHLA-A*02:01対立遺伝子を発現しない、細胞を含む。
【請求項１３３】
請求項１３２に記載の方法、ここで、前記HCTは、HLA構成要素をコードする遺伝子の染色体ノックアウト、TCR構成要素をコードする遺伝子の染色体ノックアウト、又はその両方、を含むドナー(donor)造血細胞を含む。
【請求項１３４】
請求項９２から１３３の何れか一項に記載の方法、ここで、前記対象は、以前にリンパ球除去化学療法を受けていた。
【請求項１３５】
請求項１３４に記載の方法、ここで、前記リンパ球除去化学療法は、シクロフォスファミド、フルダラビン、抗-胸腺細胞グロブリン、又はそれらの組み合わせ、を含む。
【請求項１３６】
請求項９２から１３５の何れか一項に記載の方法、ここで、前記方法は、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する少なくとも1種の追加的な治療を、前記対象に、処方するステップを更に含む。
【請求項１３７】
請求項９２から１３６の何れか一項に記載の方法、ここで、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する前記少なくとも1種の追加的な治療は、前記組成物と、同時に、又は連続して、処方される。
【請求項１３８】
請求項８１から１３７の何れか一項に記載の方法、ここで、前記対象は、HA-1の発現を特徴とする障害の動物モデル、及び／又は哺乳動物である、任意選択的にここで、前記哺乳動物は、ヒト、霊長類、又は齧歯類、である。
【請求項１３９】
CD8α及び／又はCD8βをコードする核酸配列に作動可能に連結されたプロモーター、を含む発現ベクター。
【請求項１４０】
請求項１３９に記載のベクター、ここで、CD8α又はCD8βをコードする核酸配列は、タグをコードする核酸に作動可能に連結し、その結果、前記タグは、CD8α又はCD8βに融合している。
【請求項１４１】
請求項１３９又は１４０に記載のベクター、ここで、前記タグをコードする核酸は、前

記CD8α又はCD8βをコードする核酸配列の5'上流にあり、その結果、前記タグは、CD8α又はCD8βのN末端で融合している。
【請求項１４２】
請求項１３９から１４１の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記タグは、CD34濃縮タグである。
【請求項１４３】
請求項１３９から１４２の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記ベクターは、TCRα及び／又はTCRβをコードする核酸配列を更に含む。
【請求項１４４】
請求項１３９から１４３の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記TCRα及び／又はTCRβは、変異を有する膜貫通ドメインを、及び／又は変異を有する定常ドメインを、含む。
【請求項１４５】
請求項１３９から１４４の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記変異を有する膜貫通ドメイン、及び／又は変異を有する定常ドメインは、内因性のTCRα及び／又はTCRβの発現を減少させながらも、TCRα及び／又はTCRβの細胞表面発現を増強する。
【請求項１４６】
請求項１３９から１４５の何れか一項に記載のベクター、ここで、CD8α及び／又はCD8βをコードする核酸配列は、並びにTCRα及び／又はTCRβをコードする核酸配列は、配列内リボソーム進入部位(internal ribosome entry site)、又は自己切断ペプチドをコードする核酸配列によって、相互連結している。
【請求項１４７】
請求項１３９から１４６の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記自己切断ペプチドは、P2A、E2A、F2A、又はT2A、である。
【請求項１４８】
請求項１３９から１４７の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記ベクターは、表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸配列、又は表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸に対して、少なくとも約80％の相同性を有する配列、を更に含む、任意選択的にここで、前記単離された核酸分子は、1)表１に列挙されるTRAV、TRAJ、及びTRAC遺伝子の群より選択される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、並びに／又は2)表１に列挙されるTRBV、TRBJ、及びTRBC遺伝子の群より選択される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、を含む。
【請求項１４９】
請求項１３９から１４８の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記ベクターは、表３に記載の核酸配列を有する。
【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2020年11月6日に出願された米国仮出願第63/110,851号、2020年11月9日に出願された米国仮出願第63/111,462号、2020年12月23日に出願された米国仮出願第63/129,804号、及び2021年4月15日に出願された米国仮出願第63/175,350号の利益を主張する；前記出願の各々の全体内容は、この参照によって、その全体が本出願に取り込まれる。
【背景技術】
【０００２】
AML患者の約30から40％は、同種異系の造血幹細胞移植療法後に再発し、非常に少ない治療選択肢しかない(Pavletic et al. (2010) Biol Blood Marrow Transplant.

16:871-890; Miller et al. (2010) Biol Blood Marrow Transplant. 16:565-586).しかしながら、HA-1-特異的な移植片-対-白血病T細胞の応答を自然に発症する稀な患者では、再発率は、実質的により低い(Marijt et al. (2003) PNAS. 100:2742-2747; Spierings et al. (2013) Biol Blood Marrow Transplant. 19:1244-1253)。HA-1(VLHDDLLEA、遺伝子型RS_1801284 A/G又はA/A)は、HLA-A*02:01であり、造血限定的なマイナー組織適合性抗原であるので、HA-1は、液性腫瘍に対するTCR免疫療法に対する理想的な候補になる(Bleakley and Riddell (2011) Immunol. Cell Biol. 89:396-407)。HA-1抗原の発現を特徴とする障害を治療するため等に、HA-1-特異的なTCR免疫療法を開発する必要がある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００３】

本発明は、HA-1抗原を認識する、例えば、T細胞レセプター(TCR)等の、結合タンパク質の発見に、少なくとも部分的に、基づいている。

【課題を解決するための手段】

【０００４】

1つの態様では、以下を含む結合タンパク質：

a)表１に列挙されるT細胞レセプター(TCR)アルファ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖CDR配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRアルファ鎖CDR配列；及び／又は、

b)表１に列挙されるTCRベータ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖CDR配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRベータ鎖CDR配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的にここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する、を提供する。

【０００５】

別の態様では、以下を含む結合タンパク質：

a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖可変(V_α)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR V_αドメイン配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCR V_αドメイン配列；及び／又は、

b)表１に列挙されるTCR ベータ鎖可変(V_β)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR V_βドメイン配列に対して、と少なくとも約80%の同一性を有するTCR V_βドメイン配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的にここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する、
を提供する。

【０００６】

更に別の態様では、以下を含む結合タンパク質：

a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRアルファ鎖配列；及び／又は、

b)表１に列挙されるTCRベータ鎖配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRベータ鎖配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的にここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する、
を提供する。

【０００７】

更に別の態様では、以下を含む結合タンパク質：

a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖CDR配列；及び／又は、

b)表１に列挙されるTCRベータ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖

CDR配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的にここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する、
を提供する。
【０００８】
別の態様では、以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖可変(V_α)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR V_αドメイン配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCRベータ鎖可変(V_β)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR V_βドメイン配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的にここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する、
を提供する。
【０００９】
更に別の態様では、以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCRベータ鎖配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的にここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する、
を提供する。
【００１０】
本発明が包含する任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、　1)前記TCRアルファ鎖CDR、TCR V_αドメイン、及び／若しくはTCRアルファ鎖は、表１に列挙されるTRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子の群より選択される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、若しくはそれらフラグメント、によってコードされる、並びに／又は、
2)前記TCRベータ鎖CDR、TCR V_βドメイン、及び／若しくはTCRベータ鎖は、表１に列挙されるTRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子の群より選択される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、によってコードされる、並びに／又は、
3)前記結合タンパク質のそれぞれのCDRは、表１に列挙される同族の参考CDR配列と比較して、最大5個の、アミノ酸置換、挿入、欠失、又はそれらの組み合わせ、を有する。
【００１１】
別の実施形態では、HA-1免疫原性ペプチドは、アミノ酸配列VLHDDLLEAを含む。更に別の実施形態では、結合タンパク質は、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、一本鎖TCR(scTCR)、キメラ抗原レセプター(CAR)、又はTCR及びエフェクター・ドメインを含む融合タンパク質、である、任意選択的にここで、前記結合ドメインは、膜貫通ドメイン及び細胞内にあるエフェクター・ドメイン、を含む。
別の実施形態では、TCRアルファ鎖、及び前記TCRベータ鎖は、共有結合している、任意選択的にここで、前記TCRアルファ鎖及び前記TCRベータ鎖は、リンカー・ペプチドを介して共有結合している。
【００１２】
更に別の実施形態では、TCRアルファ鎖、及び／又は前記TCRベータ鎖は、部分構造に共有結合的に連結している、任意選択的にここで、その共有結合的に連結した部分構造は、親和性タグ又は標識、を含む。
更に別の実施形態では、親和性タグは、CD34濃縮タグ、グルタチオン-S-トランスフ

ェラーゼ(GST)、カルモジュリン結合タンパク質(CBP)、タンパク質Cタグ、Mycタグ、Haloタグ、HAタグ、Flagタグ、Hisタグ、ビオチン・タグ、及びV5タグ、からなる群より選択される、及び／又はここで、前記標識は、蛍光タンパク質である。

【００１３】

別の実施形態では、共有結合的に連結した部分構造は、炎症性薬剤、サイトカイン、毒素、細胞毒性分子、放射性同位体、又は抗体若しくはその抗原結合フラグメント、からなる群より選択される。

更に別の実施形態では、結合タンパク質は、細胞表面上にある前記pMHC複合体に結合する。

更に別の実施形態では、MHCは、MHC多量体である、任意選択的にここで、前記MHC多量体は、四量体である。

別の実施形態では、MHCは、MHCクラスI分子である。

更に別の実施形態では、MHCは、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖を含む。

更に別の実施形態では、HLA対立遺伝子は、HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*0203、HLA-A*0205、HLA-A*0206、及びHLA-A*207対立遺伝子、からなる群より選択される。

別の実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質の前記HA-1ペプチド-MHC(pMHC)複合体への結合は、免疫応答を誘発する、任意選択的にここで、前記免疫応答は、T細胞応答である。

更に別の実施形態では、T細胞応答は、T細胞増殖、サイトカイン放出、及び／又は細胞傷害性傷害、からなる群より選択される。

更に別の実施形態では、結合タンパク質は、前記HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に、特異的及び／又は選択的に、約$1x10^{-4}$ M以下、約$5x10^{-5}$ M以下、約$1x10^{-5}$M以下、約$5x10^{-6}$ M以下、約$1x10^{-6}$ M以下、約$5x10^{-7}$M以下、約$1x10^{-7}$ M以下、約$5x10^{-8}$ M以下、約$1x10^{-8}$M以下、約$5x10^{-9}$ M以下、約$1x10^{-9}$ M以下、約$5x10^{-10}$M以下、約$1x10^{-10}$ M以下、約$5x10^{-11}$ M以下、約$1x10^{-11}$M以下、約$5x10^{-12}$ M以下、又は約$1x10^{-12}$ M以下、のK_dで、結合することができる。

更に別の実施形態では、結合タンパク質は、前記ペプチド-MHC(pMHC)に対して、既知のT-細胞レセプターよりも、より高い結合親和性を有する。

別の実施形態では、結合タンパク質は、前記ペプチド-MHC(pMHC)に対して、既知のT-細胞レセプターよりも、少なくとも1.05倍高い結合親和性を有する。

更に別の実施形態では、結合タンパク質は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、既知のT-細胞レセプターよりも、より高い、T細胞増殖、サイトカイン放出、及び／又は細胞傷害性傷害、を誘導する。

更に別の実施形態では、結合タンパク質は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、既知のT-細胞レセプターよりも、少なくとも1.05倍増加した、T細胞増殖、サイトカイン放出、及び／又は細胞傷害性傷害、を誘導する。

本出願で使用する場合、倍率変化への言及は、いくつかの実施形態では、任意の関心とする参照モダリティとの比較（例えば、異なる結合タンパク質との比較；異なる免疫細胞での、異なるレベルでの、本出願に記載される他の薬剤との組み合わせでの、同じ結合タンパク質の発現のような異なる状況下での、同じ結合タンパク質との比較；等）であることがある。

別の実施形態では、ターゲット細胞は、THP-1又はTF1細胞株、である。

更に別の実施形態では、ターゲット細胞は、がん細胞である、任意選択的にここで、前記がん細胞は、造血系がん細胞、白血病細胞、リンパ腫細胞、骨髄異形成障害細胞、骨髄増殖性新生物細胞、又は骨髄腫細胞、である。

更に別の実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質は、HA-1^Rペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合しない、ここで、前記HA-1^Rペプチドは、アミノ酸配列VLRDDLLEAを含む。

更に別の実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質は、CCDC114ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合しない、任意選択的にここで、前記CCDC114ペプチドは、SMIDDLLGVである。

【００１４】

更に別の態様では、表１に列挙された、TCRアルファ鎖の、及び／又はTCRベータ鎖の配列からなる群より選択される、TCRアルファ鎖、及び／又はTCRベータ鎖、を提供する。

【００１５】

別の態様では、表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸の相補体と、又は表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸に対して、少なくとも約80%の相同性を有する配列と、ストリンジェントな条件(stringent condition)下で、ハイブリダイズする単離された核酸分子、

任意選択的にここで、前記単離された核酸分子は、

1）表１に列挙されるTRAV、TRAJ、及びTRAC 遺伝子の群より選択される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、並びに／又は、

2）表１に列挙されるTRBV、TRBJ、及びTRBC遺伝子の群より選択される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、

を含む、

を提供する。

【００１６】

本発明が包含する任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、核酸は、宿主細胞における発現のために、コドンが最適化されている。

【００１７】

更に別の態様では、本出願に記載される単離された核酸を含むベクター、を提供する。

【００１８】

本発明が包含する任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、ベクターは、クローニング・ベクター、発現ベクター、又はウイルス・ベクター、である。

別の実施形態では、ベクターは、CD8α及び／又はCD8βをコードする核酸配列を更に含む。

更に別の実施形態では、CD8α又はCD8βをコードする核酸配列は、タグをコードする核酸に作動可能に連結されている。

更に別の実施形態では、タグをコードする核酸は、前記CD8α又はCD8βをコードする核酸配列の5'上流にあり、その結果、前記タグは、CD8α又はCD8βのN末端で融合している。

別の実施形態では、タグは、CD34濃縮タグである。

更に別の実施形態では、本出願に記載される単離された核酸、並びに前記CD8α及び／又はCD8βをコードする核酸配列は、配列内リボソーム進入部位(internal ribosome entry site)、又は自己切断ペプチドをコードする核酸配列によって、相互連結している。

更に別の実施形態では、自己切断ペプチドは、P2A、E2A、F2A、又はT2A、である。

【００１９】

更に別の態様では、本出願に記載される単離された核酸を含む、本出願に記載されるベクターを含む、及び／又は本出願に記載される結合タンパク質を発現する、宿主細胞、任意選択的にここで、前記細胞は、遺伝子操作されている、

を提供する。

【００２０】
本発明が包含する任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、宿主細胞は、TCR遺伝子の、HLA遺伝子の、又はその両方の、染色体遺伝子のノックアウトを含む。
別の実施形態では、宿主細胞は、αlマクログロブリン遺伝子、α2マクログロブリン遺伝子、α3マクログロブリン遺伝子、β1ミクログロブリン遺伝子、β2ミクログロブリン遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるHLA遺伝子のノックアウトを含む。
更に別の実施形態では、宿主細胞は、TCRα可変領域遺伝子、TCRβ可変領域遺伝子、TCR定常領域遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるTCR遺伝子のノックアウトを含む。
【００２１】
更に別の実施形態では、宿主細胞は、CD8α及び／又はCD8βを発現する。
別の実施形態では、CD8α及び／又はCD8βは、CD34濃縮タグに融合している。
更に別の実施　態では、宿主細胞は、CD34濃縮タグを用いて富化されている。
更に別の実施形態では、宿主細胞は、造血始原細胞（progenitor cell）、末梢血単核細胞(peripheral blood mononuclear cell (PBMC))、臍帯血細胞、又は免疫細胞、である。
【００２２】
別の実施形態では、免疫細胞は、細胞傷害性リンパ球、細胞傷害性リンパ球前駆細胞（precursor cell）、細胞傷害性リンパ球始原細胞（progenitor cell）、細胞傷害性リンパ球幹細胞、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、CD4/CD8ダブル・ネガティブT細胞、ガンマ・デルタ(γδ)T細胞、ナチュラル・キラー(NK)細胞、NK-T細胞、樹状細胞、又はそれらの組み合わせ、である。
【００２３】
別の実施形態では、T細胞は、ナイーブT細胞, セントラル・メモリーT細胞(central memory T cell), エフェクタ・メモリーT細胞(effector memory T cell)、又はそれらの組み合わせ、である。
更に別の実施形態では、T細胞は、初代T細胞、又はT細胞株の細胞、である。
更に別の実施形態では、T細胞は、内因性のTCRを発現しない、又は内因性のTCRの細胞表面発現がより低い。
別の実施形態では、宿主細胞は、MHC分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞と接触した場合に、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。
更に別の実施形態では、宿主細胞は、in vitro、ex vivo、又はin vivo、でターゲット細胞と接触する。
更に別の実施形態では、サイトカインは、TNF-α、IL-2、及び／又はIFN-γ、である。
別の実施形態では、細胞傷害性分子は、パーフォリン類及び／又はグランザイム類である、任意選択的にここで、前記細胞傷害性分子は、グランザイムBである。
更に別の実施形態では、宿主細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。
更に別の実施形態では、宿主細胞は、少なくとも1.05倍高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。
別の実施形態では、宿主細胞は、MHC分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞を傷害することができる。
【００２４】
更に別の実施形態では、傷害を、傷害アッセイによって測定する。
更に別の実施形態では、傷害アッセイにおける、前記宿主細胞と前記ターゲット細胞との比率は、20:1から0.625:1である。

別の実施形態では、ターゲット細胞は、１μｇ/ｍＬから５０ｐｇ/ｍＬのＨＡ-１ペプチドで、パルスされたＴ２細胞である。

【００２５】

更に別の実施形態では、宿主細胞は、ＨＡ-１をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より多数のターゲット細胞を傷害することができる。

更に別の実施形態では、宿主細胞は、少なくとも1.05倍多数のターゲット細胞を傷害することができる。

別の実施形態では、ターゲット細胞は、ＴＨＰ-１又はＴＦ１細胞株である。

更に別の実施形態では、ＨＡ-１免疫原性ペプチドは、アミノ酸配列ＶＬＨＤＤＬＬＥＡを含む。

【００２６】

更に別の実施形態では、ＭＨＣ分子は、ＭＨＣクラスＩ分子である。

別の実施形態では、ＭＨＣ分子は、ＨＬＡ血清型ＨＬＡ-Ａ*０２であるＭＨＣアルファ鎖を含む。

更に別の実施形態では、ＨＬＡ対立遺伝子は、ＨＬＡ-Ａ*０２:０１、ＨＬＡ-Ａ*０２:０２、ＨＬＡ-Ａ*０２:０３、ＨＬＡ-Ａ*０２:０５、ＨＬＡ-Ａ*０２:０６、及びＨＬＡ-Ａ*０２:０７対立遺伝子、からなる群より選択される。

【００２７】

更に別の実施形態では、ターゲット細胞は、ＳｕｐＭ２、ＴＨＰ-１、及びＴＦ１細胞株からなる群より選択される細胞株である、ＨＡ-１を発現する造血系がん細胞である、又はＳＵ-ＤＨＬ１ではない。

別の実施形態では、がん細胞は、白血病、リンパ腫、骨髄異形成障害、骨髄増殖性新生物、又は骨髄腫、からなる群より選択される血液悪性腫瘍(hematological malignancy)の細胞である。

更に別の実施形態では、

ａ)前記宿主細胞は、ＭＨＣ分子の中にＣＣＤＣ１１４ペプチド・エピトープを含むペプチド-ＭＨＣ(ｐＭＨＣ)複合体、を含むターゲット細胞と接触させた場合に、Ｔ細胞増殖、サイトカイン放出、若しくは細胞傷害性傷害を誘導しない、並びに／又は、

ｂ)前記宿主細胞は、ＨＡ-１抗原を発現しない、請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質によって認識されない、血清型ＨＬＡ-Ａ*０２の細胞ではない、及び／若しくはＨＬＡ-Ａ*０２対立遺伝子を発現しない、任意選択的にここで、前記ＨＬＡ-Ａ*０２対立遺伝子は、ＨＬＡ-Ａ*０２:０１及び／若しくはＨＬＡ-Ａ*０２:０６である。

【００２８】

別の態様では、本出願に記載される宿主細胞の集団、

を提供する。

【００２９】

更に別の態様では、

以下を含む組成物：

ａ)請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質、

ｂ)請求項３２又は３３に記載の単離された核酸、

ｃ)請求項３４から４１の何れか一項に記載のベクター、

ｄ)請求項４２から７３の何れか一項に記載の宿主細胞、及び／又は、

ｅ)請求項７４に記載の宿主細胞の集団、

並びに担体、

を提供する。

【００３０】

更に別の態様では、

以下を含むデバイス又はキット：

ａ)請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質、

ｂ)請求項３２又は３３に記載の単離された核酸、

c)請求項３４から４１の何れか一項に記載のベクター、
d)請求項４２から７３の何れか一項に記載の宿主細胞、及び／又は、
e)請求項７４に記載の宿主細胞の集団、
ここで、前記デバイス又はキットは、任意選択的に、a)、d)及び／又はe)がpMHC複合体に結合すること、を検出するための試薬、を含む、
を提供する。
【００３１】
別の態様では、
本出願に記載される結合タンパク質を産生する方法、ここで、前記方法は、以下のステップを含む：
(i)本出願に記載される結合タンパク質をコードする配列を含む核酸によって形質転換された、形質転換済み宿主細胞を、前記結合タンパク質が発現することが可能になるのに適した条件下で、培養するステップ；及び、
(ii)発現した結合タンパク質を回収するステップ、
を提供する。
【００３２】
更に別の態様では、
本出願に記載される結合タンパク質を発現する宿主細胞を産生する方法、ここで、前記方法は、以下のステップを含む：
(i)本出願に記載される結合タンパク質をコードする配列を含む核酸を、前記宿主細胞に導入するステップ；
(ii)その形質転換済み宿主細胞を、前記結合タンパク質が発現することが可能になるのに適した条件下で、培養するステップ、
を提供する。
【００３３】
更に別の態様では、
HA-1抗原の、及び／又はHA-1を発現する細胞の有無を検出する方法、任意選択的にここで、前記細胞は、過剰増殖性細胞である、前記方法は、請求項１から３０の何れか一項に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、又は請求項４２から７３の何れか一項に記載の少なくとも1種の宿主細胞、を使用することによって、サンプル中のHA-1抗原の有無を検出するステップを含む、ここで、前記HA-1抗原を検出することは、HA-1抗原、及び／又はHA-1を発現する細胞、が存在することの指標である、
を提供する。
【００３４】
本発明が包含する任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、少なくとも1種の結合タンパク質、又は前記少なくとも1種の宿主細胞は、MHC分子の中の前記HA-1ペプチドと複合体を形成する、及び前記複合体を、蛍光活性化細胞選別(fluorescence activated cell sorting)(FACS)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、放射免疫アッセイ(RIA)、免疫化学的、ウェスタン・ブロット、又は細胞内フロー・アッセイ、の形態で検出する。
別の実施形態では、方法は、対象から前記サンプルを得ることを更に含む。
更に別の実施形態では、方法は、骨髄生検によって、HA-1を発現する細胞を確認することを更に含む。
【００３５】
別の態様では、
以下を含む、対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、のレベルを検出する方法：
a)前記対象から得られたサンプルを、請求項１から３０の何れか一項に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、請求項４２から７３の何れか一項に記載の少なくとも1種

の宿主細胞、又は請求項７４に記載の宿主細胞の集団、と接触させるステップ；及び、
b)応答性のレベルを検出するステップ、ここで、コントロールのレベルと比較して、より高いレベルの応答性は、前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、のレベルを示す、
を提供する。

【００３６】

本発明が包含する任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、コントロールのレベルは、参照する数である。

別の実施形態では、コントロールのレベルは、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を有さない対象のレベルである。

【００３７】

更に別の態様では、

対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の進行をモニタリングするための方法、ここで、前記方法は、以下を含む：

a)請求項７９から８５の何れか一項に記載の、HA-1抗原又はHA-1を発現する関心とする細胞のレベルを、対象のサンプルにおいて、第1の時点で、検出するステップ；
b)後続の時点で、ステップa)を反復するステップ；並びに、
c)前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の進行をモニタリングするために、ステップa)及びステップb)において検出した、HA-1抗原又はHA-1を発現する関心とする細胞のレベルを比較するステップ、ここで、ステップa)と比較した、ステップb)において検出した、HA-1抗原又はHA-1を発現する関心とする細胞の、存在しない、又は減少したレベルは、前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の進行が、阻害されていることを示す。

【００３８】

本発明が包含する任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、前記第1の時点と前記後続の時点との間で、前記対象は、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を治療するための治療を受けたことがある。

【００３９】

更に別の態様では、

以下を含む、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する療法の有効性を評価する方法：

a)前記対象から得られたサンプルと、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する療法の少なくとも1部を提供する前に、対象から取得した第1のサンプルにおける、請求項１から３０の何れか一項に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、請求項４２から７３の何れか一項に記載の少なくとも1種の宿主細胞、又は請求項７４に記載の宿主細胞の集団、との間の、応答性の存在又はレベル、を決定するステップ、並びに、
b) 前記対象から得られたサンプルと、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する療法の少なくとも1部を提供した後に、対象から取得した第2のサンプルにおける、請求項１から３０の何れか一項に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、請求項４２から７３の何れか一項に記載の少なくとも1種の宿主細胞、又は請求項７４に記載の宿主細胞の集団、との間の、応答性の存在又はレベル、を決定するステップ、

ここで、前記第2のサンプルにおける応答性が、第1のサンプルと比較して、存在しないこと、又はレベルが減少していることは、前記療法が、前記対象におけるHA-1抗原の

発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を治療することに対して有効であることを示す、
を提供する。
【００４０】
本発明が包含する任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、応答性のレベルは、a)結合の存在、並びに／又はb)T細胞活性化、及び／若しくはエフェクター機能、によって示される。
別の実施形態では、T細胞活性化、又はエフェクター機能は、T細胞増殖、傷害、又はサイトカイン放出である。
更に別の実施形態では、T細胞結合、活性化、及び／又はエフェクター機能を、蛍光活性化細胞選別(fluorescence activated cell sorting)(FACS)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、放射性免疫アッセイ(RIA)、免疫化学的、ウェスタン・ブロット、又は細胞内フロー・アッセイ、を使用して検出する。
【００４１】
別の態様では、
対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を、予防する、及び／又は治療する方法、ここで、前記方法は、本出願に記載される少なくとも1種の結合タンパク質を発現する細胞を含む医薬組成物の治療有効量を、前記対象に投与するステップを含む。
【００４２】
本発明が包含する任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、細胞は、同種異系細胞、同系細胞、又は自己細胞、である。
別の実施形態では、細胞は、遺伝子改変をされている。
更に別の実施形態では、細胞は、TCR遺伝子の、HLA遺伝子の、又はTCR遺伝子及びHLA遺伝子の両方の、染色体遺伝子のノックアウトを含む。
更に別の実施形態では、細胞は、αlマクログロブリン遺伝子、α2マクログロブリン遺伝子、α3マクログロブリン遺伝子、β1ミクログロブリン遺伝子、β2ミクログロブリン遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるHLA遺伝子のノックアウトを含む。
【００４３】
別の実施形態では、細胞は、TCRα可変領域遺伝子、TCRβ可変領域遺伝子、TCR定常領域遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるTCR遺伝子のノックアウトを含む。
更に別の実施形態では、細胞は、CD8α及び／又はCD8βを発現する、任意選択的にここで、前記CD8α及び／又はCD8βは、CD34濃縮タグに融合している。
更に別の実施形態では、細胞は、CD34濃縮タグを用いて富化されている。
別の実施形態では、細胞は、造血始原細胞（progenitor cell）、末梢血単核細胞(peripheral blood mononuclear cell (PBMC))、臍帯血細胞、又は免疫細胞、である。
更に別の実施形態では、免疫細胞は、細胞傷害性リンパ球、細胞傷害性リンパ球前駆細胞（precursor cell）、細胞傷害性リンパ球始原細胞（progenitor cell）、細胞傷害性リンパ球幹細胞、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、CD4/CD8ダブル・ネガティブT細胞、ガンマ・デルタ(γδ)T細胞、ナチュラル・キラー(NK)細胞、NK-T細胞、樹状細胞、又はそれらの組み合わせ、である。
【００４４】
更に別の実施形態では、T細胞は、ナイーブT細胞, セントラル・メモリーT細胞(central memory T cell), エフェクタ・メモリーT細胞(effector memory T cell)、又はそれらの組み合わせ、である。
別の実施形態では、T細胞は、初代T細胞、又はT細胞株の細胞、である。

更に別の実施形態では、T細胞は、内因性のTCRを発現しない、又は内因性のTCRの細胞表面発現がより低い。

更に別の実施形態では、細胞は、MHC分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞と接触した場合に、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。

【００４５】

別の実施形態では、サイトカインは、TNF-α、IL-2、及び／又はIFN-γ、である。

更に別の実施形態では、細胞傷害性分子は、パーフォリン類及び／又はグランザイム類である、任意選択的にここで、前記細胞傷害性分子は、グランザイムBである。

【００４６】

更に別の実施形態では、細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。

別の実施形態では、細胞は、少なくとも1.05倍高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。

更に別の実施形態では、宿主細胞は、MHC分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞を傷害することができる。

【００４７】

更に別の実施形態では、宿主細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より多数のターゲット細胞を傷害することができる。

別の実施形態では、宿主細胞は、少なくとも1.05倍多数のターゲット細胞を傷害することができる。

更に別の実施形態では、HA-1免疫原性ペプチドは、アミノ酸配列VLHDDLLEAを含む。

更に別の実施形態では、MHC分子は、MHCクラスI分子である。

【００４８】

別の実施形態では、MHC分子は、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖を含む。

更に別の実施形態では、HLA対立遺伝子は、HLA-A*02:01、HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、及びHLA-A*02:07対立遺伝子、からなる群より選択される。

更に別の実施形態では、ターゲット細胞は、前記対象において前記HA-1抗原を発現する、非-悪性細胞又は過剰増殖性細胞、である。

【００４９】

別の実施形態では、組成物は、薬学的に許容可能な担体を更に含む。

更に別の実施形態では組成物は、前記対象において前記HA-1抗原を発現する、前記非-悪性細胞、又は前記過剰増殖性細胞、に対する、免疫応答を誘導する。

更に別の実施形態では、組成物は、前記対象において前記HA-1抗原を発現する、前記非-悪性細胞、又は前記過剰増殖性細胞、に対する、抗原-特異的なT細胞免疫応答を誘導する。

別の実施形態では、抗原-特異的なT細胞免疫応答は、$CD4^+$ヘルパーTリンパ球(Th)応答及びCD8+細胞傷害性Tリンパ球(CTL)応答のうちの少なくとも1種を含む。

更に別の実施形態では、過剰増殖性障害は、血液悪性腫瘍(hematological malignancy)を含む。

更に別の実施形態では、血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、白血病、リンパ腫、骨髄異形成障害、骨髄増殖性新生物、又は骨髄腫、を含む。

【００５０】

別の実施形態では、血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、白血病を含む。

更に別の実施形態では、白血病は、急性骨髄性白血病(acute myeloid leukemia (AML))、急性リンパ球性白血病(acute lymphocytic leukemia (ALL))、混合表現型急性白血病(mixed phenotype acute leukemia (MPAL))、慢性骨髄性白血病(chr

onic myeloid leukemia (CML))、B細胞前リンパ球性白血病(prolymphocytic leukemia)、ヘアリー細胞白血病(hairy cell leukemia)、又は慢性リンパ球性白血病(chronic lymphocytic leukemia (CLL))、より選択される。

【００５１】

更に別の実施形態では、血液障害は、リンパ腫を含む。

別の実施形態では、リンパ腫は、ホジキン・リンパ腫(Hodgkin's lymphoma (HL))、非-ホジキン・リンパ腫(non-Hodgkin's lymphoma (NHL))、中枢神経系リンパ腫、小リンパ球性細胞リンパ腫(small lymphocytic lymphoma (SLL))、CD37+樹状細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、粘膜関連（MALT）リンパ組織の節外辺縁帯B-細胞リンパ腫、節内辺縁帯B-細胞リンパ腫、濾胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B-細胞リンパ腫、縦隔（胸腺）大細胞型B-細胞リンパ腫、前駆B-リンパ芽球性リンパ腫、免疫芽球性大細胞リンパ腫、血管内大細胞型B-細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、又はバーキット・リンパ腫、より選択される。

【００５２】

更に別の実施形態では、血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄異形成障害(myelodysplastic disorder (MDS))を含む、任意選択的にここで、前記MDSは、単一血球系統の異形成を伴う不応性血球減少症(不応性貧血、不応性好中球減少症、及び不応性血小板減少症)、環状鉄芽球を伴う不応性貧血(refractory anemia with ring sideroblasts (RARS))、環状鉄芽球を伴う不応性貧血-血小板増加症(refractory anemia with ring sideroblasts - thrombocytosis (RARS-t))、多血球系異形成を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia (RCMD))、多血球系異形成と環状鉄芽球を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia and ring sideroblasts (RCMD-RS))、芽球増加を伴う不応性貧血(refractory anemia with excess blasts (RAEB))、分類不能型骨髄異形成症候群、小児不応性血球減少症、5番染色体長腕の単独欠失を伴う骨髄異形成症候群(MDS with isolated del(5q))、より選択される。

【００５３】

更に別の実施形態では、非-悪性障害は、免疫不全障害である、任意選択的にここで、前記免疫不全障害は、重度複合免疫不全症(SCID)、ウィスコット-アルドリッチ症候群(Wiskott-Aldrich syndrome)、オーメン症候群（Omenn syndrome）、X-連鎖リンパ増殖症候群、慢性肉芽腫病、白血球接着不全症、ディジョージ症候群(DiGeorge syndrome)、及び造血幹細胞移植(hematopoietic stem cell transplantation (HCT))の適応症、からなる群より選択される。

【００５４】

別の実施形態では、非-悪性障害は、非-悪性血液障害である、任意選択的にここで、前記非-悪性血液障害は、鎌状赤血球貧血, サラセミア、再生不良性貧血、血球貪食性リンパ組織症(hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH))、重度の再生不良性貧血、骨髄不全症候群、ファンコニ貧血(Fanconi anemia)、ダイアモンド-ブラックファン貧血(Diamond-Blackfan anemia)、及びシュワックマン・ダイアモンド症候群(Schwachman Diamond syndrome)、からなる群より選択される。

更に別の実施形態では、非-悪性障害は、自己免疫障害である、任意選択的にここで、前記自己免疫障害は、全身性硬化症又は多発性硬化症である。

【００５５】

更に別の実施形態では、対象は、造血細胞移植(HCT)を受けている、又は以前に受けた、任意選択的にここで、前記HCTは、HA-1抗原を発現しない、本出願に記載される結合タンパク質によって認識されない、血清型HLA-A*02の細胞ではない、及び／又はHLA-A*02:01対立遺伝子を発現しない、細胞を含む。

【００５６】

別の実施形態では、HCTは、HLA構成要素をコードする遺伝子の染色体ノックアウト、TCR構成要素をコードする遺伝子の染色体ノックアウト、又はその両方、を含むドナ

ー(donor)造血細胞を含む。
更に別の実施形態では、対象は、以前にリンパ球除去化学療法を受けていた。
【００５７】
別の実施形態では、リンパ球除去化学療法は、シクロフォスファミド、フルダラビン、抗-胸腺細胞グロブリン、又はそれらの組み合わせ、を含む。
更に別の実施形態では、方法は、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する少なくとも1種の追加的な治療を、前記対象に、処方するステップを更に含む。
【００５８】
更に別の実施形態では、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する前記少なくとも1種の追加的な治療は、前記組成物と、同時に、又は連続して、処方される。
別の実施形態では、対象は、HA-1の発現を特徴とする障害の動物モデル、及び／又は哺乳動物である、任意選択的にここで、前記哺乳動物は、ヒト、霊長類、又は齧歯類、である。
【００５９】
更に別の態様では、CD8α及び／又はCD8βをコードする核酸配列に作動可能に連結されたプロモーター、を含む発現ベクター、を提供する。
【００６０】
本発明が包含する任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、CD8α又はCD8βをコードする核酸配列は、タグをコードする核酸に作動可能に連結し、その結果、前記タグは、CD8α又はCD8βに融合している。
【００６１】
別の実施形態では、タグをコードする核酸は、前記CD8α又はCD8βをコードする核酸配列の5'上流にあり、その結果、前記タグは、CD8α又はCD8βのN末端で融合している。
【００６２】
更に別の実施形態では、タグは、CD34濃縮タグである。
更に別の実施形態では、ベクターは、TCRα及び／又はTCRβをコードする核酸配列を更に含む。
別の実施形態では、TCRα及び／又はTCRβは、変異を有する膜貫通ドメインを、及び／又は変異を有する定常ドメインを、含む。
更に別の実施形態では、変異を有する膜貫通ドメイン、及び／又は変異を有する定常ドメインは、内因性のTCRα及び／又はTCRβの発現を減少させながらも、TCRα及び／又はTCRβの細胞表面発現を増強する。
更に別の実施形態では、CD8α及び／又はCD8βをコードする核酸配列は、並びにTCRα及び／又はTCRβをコードする核酸配列は、配列内リボソーム進入部位(internal ribosome entry site)、又は自己切断ペプチドをコードする核酸配列によって、相互連結している。
【００６３】
別の実施形態では、自己切断ペプチドは、P2A、E2A、F2A、又はT2A、である。
更に別の実施形態では、ベクターは、表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸配列、又は表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸に対して、少なくとも約80%の相同性を有する配列、を更に含む、任意選択的にここで、前記単離された核酸分子は、1)表１に列挙されるTRAV、TRAJ、及びTRAC遺伝子の群より選択される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、並びに／又は2)表１に列挙されるTRBV、TRBJ、及びTRBC遺伝子の群より選択される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、を含む。

更に別の実施形態では、ベクターは、表３に記載の核酸配列を有する。

【００６４】

本特許出願書類には、カラーで作成された少なくとも1つの図面が含まれている。本出願に関する庁は、カラー図面を有する本特許又は特許出願公開の写しを、請求及び必要な手数料の納付に応じて、提供する。

【図面の簡単な説明】

【００６５】

【図１】図１は、TCR発見プラットフォームの模式図を示す。前記TCR発見プラットフォームによって、329種の新規HA-1 TCRが同定された。$CD14^+$単球を、-4日目に6つのHA-1-ネガティブ健常ドナー(donor)のPBMCから単離し、成熟DCに分化させた。-1日目に、ナイーブCD8 T細胞を自己PBMCから単離し、一晩静置した。1 μg/mLのHA-1ペプチド(VLHDDLLEA)でDCを3時間パルスした後、CD8 T細胞及びDCの共-培養を行い、その後11日間、細胞増殖相とした。A*02:01-特異的なHA-1デキストラマーを用いて、デキストラマー染色を実施して、クローンを同定し、次いで、前記クローンを、IL-2の存在下で、照射済みの一致しないPBMCを使用して、急速に増殖させた。7日間後、HA-1デキストラマー-ポジティブ細胞を選別し、単一細胞TCRシークエンシングを行った。

【図２】図２Ａ及び図２Ｂは、「あなたが行く際に検証する(“validate as you go”(VAYG))」スクリーニングによって、高い発現及び細胞傷害性を有する、11個の抗HA-1 TCRが同定されたことを示す。TScanの他の10個のTCRもまた、好ましい結合及び応答プロファイルを示すと考えられるが、TSC-100は、特にHA-1レベルが低い場合、ベンチマーク「フレッド・ハッチ（Fred Hutch）」TCR及びTScanの他の10個のTCRと比較して、優れた機能を一貫して示す。図２Ａは、pan-T細胞が、形質導入を受けて、329種のHA-1-特異的なTCRを発現するようになったことを示す。前記TCRの細胞表面発現を、HA-1(VLHDDLLEA)HLA-A*02:01デキストラマー染色によって、評価した。高発現TCRのうちの3つを、ベンチマーク「フレッド・ハッチ（Fred Hutch）」TCRとともに、代表的なデータとして示す。図２Ｂは、1 ng/mLのHA-1ペプチド(E:T=5:1)を負荷したNucLight Red標識をしたT2細胞と共-培養した、操作したT細胞の結果を示す。T2細胞の生存を、T細胞の細胞傷害を読み出しとして時間-依存的なイメージングによって、定量化した。非-形質導入の細胞をコントロールとした。

【図３】図３Ａから図３Ｄは、最適なベクターは、CD8α及びCD8β、CD34濃縮タグ、並びにHA-1 TCRの定常及び膜貫通ドメインにおける改変のうちの1種以上(例えば、全て)を含むことを示す。図３Ａは、CD4 T細胞を単離し、及び形質導入して、CD8αのみと一緒に、又はCD8αとCD8βの両方と一緒に、のどちらかによって、HA-1-特異的なTCRを発現するようにしたことを示す。操作したT細胞を、様々な濃度のHA-1(VLHDDLLEA)ペプチド(E:T=5:1)を負荷した標識済みのT2細胞と共に、共-培養した、そして、前記T2細胞の増殖（又はその欠如）を、前記T細胞の細胞傷害性の読み出しとして、IncuCyteで定量した。図３Ｂは、TSC-100送達ベクターが、CD8αのN末端に移植されたCD34タグを含み、GMP-準拠のMiltenyi CD34濃縮キットを使用して、操作したT細胞を富化することができることを示す。T細胞を、TSC-100で形質導入し、HA-1(VLHDDLLEA)HLA-A*02:01デキストラマー染色により、CD34発現及びTCR発現について、CD34による富化の前後で評価した。図３Ｃは、TSC-100の元の配列を、改変済み配列（定常ドメイン(CD)及び膜貫通ドメイン(TM)の中の、残基を最適化して、前記TCRの、表面発現及び適切なアルファ／ベータ対合、を確実にするように設計した）と比較したことを、示す。初代ヒトT細胞に、種々のTCRを形質導入し、適切に対合したTCRの表面発現を、HA-1(VLHDDLLEA)HLA-A*02:01デキストラマー染色によって評価した。図３Ｄは、典型的なベクターの構成を示す。星印は、CD及びTMの改変を示す。

【図４】図４Ａから図４Ｆは、特にHA-1及びHLA-A*02:01の発現が低い場合、TSC-100がフレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）よりも優れていることを示す。Pan-T細胞を、TSC-100及びFred Hutch HA-1-特異的なTCRを発現するように形質導入し

た、並びにHA-1及びHLA-A*02:01を発現するターゲット細胞に対する機能的な応答性について評価した。HA-1$^-$細胞は、VLRDDLLEAアイソフォームを発現し、HA-1$^+$は、HA-1タンパク質のVLHDDLLEAアイソフォームを発現する。図４Ａは、HA-1(VLHDDLLEA)HLA-A*02:01デキストラマー染色によって評価した場合の、TSC-100及びフレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）の発現を示すドット・プロットである。図４Ｂから４Ｆは、ターゲット細胞株に対する、TSC-100及びフレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）の機能的な応答性を示す。SUP-M2（HLA-A*02:01$^+$HA-1$^+$）（図４Ｂ），THP-1（HLA-A*02:01$^+$HA-1$^+$）（図４Ｃ），TF-1（HLA-A*02:01^{lo}HA-1^{lo}）（図４Ｄ），SU-DHL1（HLA-A*02:01$^+$HA-1$^-$）（図４Ｅ）及びT細胞のみ(図４Ｆ)の条件。左側の図は、操作したT細胞を、示されたE:T比率で、様々なレベルのHA-1を内因的に発現するNuclight Red標識したHLA-A*02:01+細胞株と共-培養したこと、そして、それらの生残を、前記T細胞の細胞傷害性の読み出しとして、IncuCyteで定量化したこと、を示す。中央の図は、24時間の共-培養上清における(E:T 1:1)、IFN-γ、IL-2、TNF-α及びグランザイムBの産生を示す。SUP-M2及びSU-DHL1細胞は、内因的にグランザイムBを産生する。T細胞のみの条件を用いて、サイトカイン産生のバックグラウンド・レベルを決定した。右側の図は、TSC-100-及びフレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）-発現T細胞の増殖を示す。操作したT細胞を、増殖色素で標識し、ターゲット細胞株と、96時間共-培養した(E:T 1:1)。色素希釈を用いて、CD8及びCD4 T細胞の増殖を評価した。フロー・サイトメトリーによる解析の前に、計数ビーズをサンプルに加え、分裂したCD8及びCD4 T細胞の絶対数を決定した。TCRを、一元配置ANOVA、続いてDunnettの多重比較検定によって比較した。* P〈0.05，** P〈0.005，*** P〈0.0005，**** P〈0.0001。これらの実験を、2から3ドナー(donor)で実施し、1つのドナー(donor)からの代表的なデータを示す。TF-1細胞について試験した2つのドナー(donor)のうちの1つにおいて、増殖の差異が観察された。

【図５】図５は、TSC-100が、104種のHLAに対して、同種応答を示さないことを、示す。TSC-100及びフレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）を、同種応答性アッセイにおいて試験した。内因性MHCを、CRISPR/Cas9-gRNAリボヌクレオタンパク質送達を用いてHEK293T細胞からノックアウトし、HA-1配列を含む90-残基のタンパク質フラグメントを安定的に発現する細胞株を調製した。次いで、104種の最も一般的なHLA型を表す個々のMHCを、レンチウイルス形質導入によって、HA-1$^+$細胞株及びHA-1$^-$細胞株の両方に導入した。96-ウェル・フォーマットの細胞を、TSC-100及びフレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）を発現するヒト初代CD8$^+$T細胞と共に、一晩、インキュベートし、上清中のIFN-γ濃度を、ELISAによって、測定した。20,000 pg/mLを超える濃度は、本アッセイの線形性がある検出範囲を超えた。

【図６】図６Ａ及び図６Ｂは、TScanのゲノム-ワイド・スクリーニングによって、TSC-100は、検出可能なオフ-ターゲットを有さないとして決定されたのに対し、CCDC114(例えば、CCDC114ペプチド抗原SMIDDLLGV等)は、フレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）のオフ-ターゲットとして同定された、ことを示す。TSC-100(図６Ａ)及びフレッド・ハッチ（Fred Hutch）（図６Ｂ)TCRを、T-Scanプラットホーム(Kula et al. (2019) Cell 178:1016-1028)を用いて、オフ-ターゲット応答性について、評価した。このゲノム-ワイドの安全性スクリーニングにおいて、TSC-100又はフレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）を発現するT細胞を、HLA-A*02:01$^+$ターゲット細胞のライブラリ（それぞれ異なった90-アミノ酸タンパク質フラグメントを発現する）と共-培養した。まとめると、前記ライブラリは、22-アミノ酸のステップで、全てのタンパク質を網羅するフラグメントを含む。フラグメントは、ターゲット細胞によって天然にプロセシングされたものであり、その得られたペプチドは、細胞表面のMHC上に提示される。T細胞がそのターゲットを認識すると、それはターゲット細胞を傷害しようと試み、それによって蛍光レポーターは、活性化される。蛍光を発している細胞を単離し、それらの発現カセットをシークエンシングすることによって、TCRの天然のターゲットは明らかになる。約600,000クローンのうち、前記HA-1エピトープを含むライブラリ中の3クロ

ーンのみが、TSC-100によるスクリーニングで有意に富化された。フレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）を用いた同様のスクリーニングにより、CCDC114は、オフ-ターゲットとして同定された。x-軸はTScanペプチド・ライブラリにおけるタンパク質フラグメントを表し、y-軸は、入力ライブラリにわたる個々のタイルの濃縮倍率を表す。

【図７】図７Ａから図７Ｑは、10種の他のTScan HA-1-特異的なTCRが、TSC-100と同様に機能的に活性であることを示す。TSC-100について上述したように、10種の更なるHA-1-特異的なTCRを、上記の説明において、TSC-100について提供されたデータと、同じ方法及び同じ実験、を用いて、解析した（例えば、図４に示したデータは、図７Ａから図７Ｑで提供したデータのサブグループである)。例えば、pan-T細胞は、11種のHA-1-特異的なTCR（例えば、TSC-100及びフレッド・ハッチ（Fred Hutch） を含む）、並びに非-機能的なコントロールTCR(TK-1)を発現するように、形質導入をし、HA-1及びHLA-A*02:01を発現するターゲット細胞に対する機能的な応答性について、評価した。HA-1^{-}細胞は、VLRDDLLEAアイソフォームを発現し、HA-1^{+}は、HA-1タンパク質のVLHDDLLEAアイソフォームを発現する。図７Ａから図７Ｃは、3つのユニークなドナー(donor)について、HA-1(VLHDDLLEA)HLA-A*02:01デキストラマー染色によって評価した場合の、HA-1 TCRの発現を示すドット・プロットである。図７Ｄから図７Ｑは、ターゲット細胞株に対するTCRの機能的な応答性を示す。SUP-M2 (HLA-A*02:01^{+}HA-1^{+}) 細胞 (図７Ｄ - 図7F), THP-1 (HLA-A*02:01^{+}HA-1^{+}) 細胞 (図７Ｇ - 図７Ｉ), TF-1 (HLA-A*02:01^{lo}HA-1^{lo}) 細胞 (図７Ｊ - 図７Ｌ), SU-DHL1 (HLA-A*02:01^{+}HA-1^{-}) 細胞 (図７Ｍ - 図７Ｏ), 及びT 細胞のみ(図７Ｐ及び図７Ｑ)を用いた条件の結果を示す。操作されたT細胞を、示したE:T比率で、様々なレベルのHA-1を内因性に発現するIncucyte(登録商標)NucLight Red-標識したHLA-A*02:01+細胞株と一緒に、共-培養し、それらの生残を、前記T細胞の細胞傷害性の読み出しとして、IncuCyte(登録商標)で、定量化した。24時間での、共-培養上清において(E:T 1:1)、IFN-γ、IL-2、TNF-α及びグランザイムBの産生を評価した。HA-1-特異的なTCR-発現T細胞の増殖を定量化するために、操作したT細胞を、増殖色素で標識し、前記ターゲット細胞株と、96時間、共-培養した(E:T 1:1)。色素希釈を用いて、CD8及びCD4 T細胞の増殖を評価した。フロー・サイトメトリーによる解析の前に、計数ビーズをサンプルに加え、分裂したCD8及びCD4 T細胞の絶対数を決定した。「T細胞のみ」の条件を用いて、サイトカイン産生の及び増殖の、バックグラウンド・レベルを決定した。SUP-M2及びSU-DHL1は、内因的にグランザイムBを産生する(データは示さず)。TF-1細胞によるIL-2の産生は、試験した全てのドナー(donor)について、T細胞のみの条件についてのバックグラウンド・レベルと同様であった。TF-1細胞に対して応答した細胞傷害性及びサイトカイン産生は、試験した3つのドナー(donor)のうち2つで観察された。TF-1細胞に対して応答したドナー(donor)1の増殖は、T細胞のみの条件に類似していた(データは示さず)。NDは、実験を行っていないことを示す。TCRを、一元配置ANOVA、続いてコントロールTCRとしてフレッド・ハッチ（Fred Hutch） を用いたDunnett’sの多重比較検定、によって比較した。* P〈0.05。

【図８】図８は、TSC-100がHA-1-ポジティブ細胞に対する特異的な細胞傷害活性を示すこと、を示す。フロー・サイトメトリーに基づく細胞傷害アッセイを実施した。TSC-100操作したT細胞、又は非-形質導入のコントロールT細胞(CellTrace^{TM} Violetで標識した)を、示した初代ターゲット細胞(CellTrace^{TM} FarRedで標識した)と一緒に、1:1の比率で、24時間、共-培養した。前記ターゲット細胞の相対的生存率（即ち、CellTrace^{TM}FarRedイベント)を、固定可能な生存率色素を用いたフロー・サイトメトリーによって、測定した。データを、非-形質導入のコントロールT細胞の共-培養条件に対する、ターゲット細胞の生存率として、表す。　凡例に関連付けられた棒グラフ、曲線、又は他のデータを示す任意の図について、各表示について左から右に提示された棒、曲線、又は他のデータは、前記凡例の上から下、又は左から右へのボックスに、直接的に、及び順番に、対応する。

【発明を実施するための形態】

【００６６】

[発明の詳細な説明]

本発明は、HA-1抗原(例えば、アミノ酸配列VLHDDLLEAを含む免疫原性ペプチド)を認識する、例えば、T細胞レセプター(TCR)等の、結合タンパク質の発見に、少なくとも部分的に基づく。

【００６７】

本発明は、部分的に、単離した結合タンパク質（例えば、TCR）、結合タンパク質（例えば、TCR）を発現する宿主細胞、結合タンパク質（例えば、TCR）及び結合タンパク質（例えば、TCR）を発現する宿主細胞を含む組成物、前記HA-1抗原を発現する細胞に対するT細胞応答を、診断する方法、予後予測する方法、及びモニタリングする方法、並びに結合タンパク質（例えば、TCR）を発現する宿主細胞を投与することによって、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を予防する、及び／又は治療する方法、に関する。

【００６８】

I. 定義

便宜上、本明細書、実施例、及び添付の特許請求の範囲において使用する、ある特定の用語を、本明細書にまとめる。

【００６９】

冠詞「a」及び「an」を、本冠詞の文法的の目的物の1つ又は2つ以上(即ち、少なくとも1つ)を指すために、本出願で使用する。例として、「an element」は、1つのelementを、又は2つ以上のelementを、意味する。

【００７０】

用語「投与する」は、対象に、医薬品を、又は医薬組成物を、提供することを意味する、及び、限定されるものではないが、医療専門家による投与、及び自己-投与、を含む。これには、当業者に既知の様々な方法及び送達システムのいずれかを用いて、治療薬剤を含む組成物を対象に、物理的に導入すること、が含まれる。いくつかの実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質のための投与経路としては、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、脊髄又は他の非経口投与経路、例えば、注射投与又は点滴、が挙げられる。本出願で使用される用語「非経口投与」は、経腸及び局所投与以外の投与様式、通常は注射投与による投与、を意味する、並びに、限定されるものではないが、静脈内、腹腔内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔(intrathecal)、リンパ内、病巣内、関節包内(intracapsular)、眼窩内、心臓内、皮内、経気管(transtracheal)、皮下、表皮下(subcuticular)、関節内(intraarticular)、被膜下(subcapsular)、くも膜下(subarachnoid)、髄腔内(intraspinal)、硬膜外及び胸骨内の注射投与及び点滴投与、並びにin vivo エレクトロポレーション、が挙げられる。或いは、本出願に記載される結合タンパク質を、非-非経口経路、例えば、局所、表皮又は粘膜投与経路、例えば、鼻腔内、経口、膣、直腸、舌下又は局所投与、により投与することがある。投与をまた、例えば、1回、複数回、及び／又は1つ以上の長期間にわたって、実施することもある。

【００７１】

本出願で使用する場合、用語「抗原」語は、任意の天然又は合成免疫原性物質、例えば、タンパク質、ペプチド、又はハプテンなど、を指す。抗原は、HA-1抗原、又はそのフラグメントであってよく、それに対して、防御的な免疫応答又は治療的な免疫応答、が望まれる。

【００７２】

本出願で使用する場合、用語「アジュバント」は、抗原の投与の前に又は後に投与すると、前記抗原単独の投与と比較して、前記抗原に対する免疫応答の、質を及び／又は強度を、加速する、延長する、及び／又は増強する、物質を指す。アジュバントは、ワクチン接種によって誘導される免疫応答の、強度を及び持続時間を、増加させることができる。

【００７３】

本出願で使用する場合、用語「抗体」は、全抗体、及び任意の抗原結合フラグメント(

即ち、「抗原-結合部分」)、又はその単鎖、を含む。「抗体」は、1つの実施形態では、ジスルフィド結合によって相互に連結した、少なくとも2つの重(H)鎖及び2つの軽(L)鎖、又はその抗原結合部位、を含む糖タンパク質を指す。それぞれの重鎖は、重鎖可変領域(本出願ではV_Hと略記する)及び重鎖定常領域から構成される。ある特定の天然に存在する抗体では、重鎖定常領域は、3つのドメイン、CH1、CH2及びCH3、から構成される。ある特定の天然に存在する抗体では、それぞれの軽鎖は、軽鎖可変領域(本出願ではV_Lと略記される)及び軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、1つのドメイン、CL、で構成される。前記V_H及びV_L領域を、相補性決定領域(complementarity determining regions (CDR))と呼ぶ超可変性の領域に更に細分することがあり、骨格領域(FR)と呼ばれる、より保存された領域が散在することがある。それぞれのV_H及びV_Lは、3つのCDR及び4つのFRから構成され、アミノ末端からカルボキシ末端まで、以下の順序で配列する：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。本抗体の定常領域は、免疫グロブリンの宿主組織又は因子（例えば、免疫系の様々な細胞 (例えば、エフェクター細胞)、及び古典的補体システムの第1成分(Clq)等）への結合を、媒介することがある。

【００７４】

用語「抗原提示細胞」又は「APC」は、専門の抗原提示細胞(例えば、Bリンパ球、単球、樹状細胞、ランゲルハンス細胞)、並びに他の抗原提示細胞(例えば、ケラチノサイト、内皮細胞、星状細胞株維芽細胞、及びオリゴデンドロサイト)、を含む。

【００７５】

本出願で使用する場合、結合タンパク質（例えば、TCR等）の用語「抗原-結合部分」は、抗原(例えば、HA-1抗原及び同族MHC/HLA)に(例えば、特異的に、及び／又は選択的に)結合する能力を保持するTCRの1つ以上の部分を指す。そのような部分は、例えば、約8アミノ酸長と約1500アミノ酸長の間、好適には約8アミノ酸長と約745アミノ酸長との間、好適には約8アミノ酸長と約300アミノ酸長との間、例えば約8アミノ酸長から約200アミノ酸長、又は約10アミノ酸長から約50アミノ酸長若しくは100アミノ酸長、である。TCRの抗原-結合機能を、全長TCRのフラグメントによって行うことができることが示されている。TCRの用語「抗原-結合部分」内に包含される結合部分の例としては、 (i)TCRのV_α及びV_βドメインからなるFvフラグメント、(ii)単離された相補性決定領域(CDR)、又は(iii)合成リンカーによって任意選択的に連結した2つ以上の単離されたCDRの組み合わせ、が挙げられる。更に、V_α及びV_βは別々の遺伝子によってコードされているが、組み換え方法を用いて、V_α及びV_βが、V_α及びV_β領域が対合して一価の分子(一本鎖TCR(scTCR)として知られる)を形成する単一のタンパク質鎖になること、を可能にする合成リンカーによって、V_α及びV_βを連結することがある。そのような単鎖TCRはまた、TCRの用語「抗原結合部分」内に、包含されることも意図される。これらのフTCRフラグメントを、当業者に既知の従来の技術を用いて得ることができる、及び前記フラグメントを、完全な結合タンパク質と同じ様式で、有用性についてスクリーニングする。抗原-結合部分を、組み換えDNA技術によって、又はインタクトな免疫グロブリンを酵素的に若しくは化学的に切断することによって、産生することがある。

【００７６】

用語「相補性決定領域」及び「CDR」は、「超可変領域」又は「HVR」、と同義である、及び抗原特異性及び／又は結合親和性を付与する、ある特定の結合タンパク質（例えば、TCR可変領域等）内のアミノ酸の非連続配列を指すことが、当技術分野では知られている。TCRについては、概して、各α鎖可変領域に3つのCDR(αCDRl、αCDR2、及びαCDR3)があり、各β鎖可変領域に3つのCDR(βCDRl、βCDR2、及びβCDR3)がある。CDR3は、プロセシングされた抗原を認識することに関与する、主なCDRであると考えられている。CDR1及びCDR2は、主に、MHCと相互作用する。

【００７７】

用語「体液」は、身体から、排泄される、又は分泌される、流体、並びに身体から、通常、排泄されない、又は分泌されない、流体(例えば、羊膜流体、房水、胆汁、血液及び

血漿、脳脊髄流体、耳垢(cerumen and earwax)、カウパー流体又は尿道球腺液、乳糜、糜粥、糞便、雌射精液（潮吹き）、間質液、細胞内流体、リンパ液、月経、母乳、粘液、胸膜液、膿、唾液、皮脂、精液、血清、汗、滑膜流体、涙、尿、膣潤滑、硝子体液、嘔吐物)を指す。いくつかの実施形態では、体液は免疫細胞を含む、任意選択的にここで、前記免疫細胞は、細胞傷害性リンパ球、例えば、細胞傷害性T細胞、及び／又はNK細胞、CD4+ T細胞などである。

【００７８】

用語「コーディング領域(coding region)」は、アミノ酸残基に翻訳されるコドンを含むヌクレオチド配列の領域を指す、一方、用語「ノン-コーディング領域(non-coding region)」用語は、アミノ酸に翻訳されないヌクレオチド配列の領域(例えば、5'及び3'非翻訳領域)を指す。

【００７９】

用語「相補的」は、2本の核酸鎖の領域間の、又は同じ核酸鎖の2つの領域間の、配列相補性に関する広範な概念を指す。第1の核酸領域のアデニン残基は、第1の領域と逆-平行である第2の核酸領域の残基と、その残基がチミン又はウラシルである場合、特異的な水素結合(「塩基対合」)を形成することができることが知られている。同様に、第1の核酸鎖のシトシン残基は、第1の領域と逆-平行である第2の核酸領域の残基と、その残基がグアニンである場合、特異的な水素結合(「塩基対合」)を形成することができることが知られている。核酸の第1の領域は、同じ又は異なる核酸の第2の領域に対して、その2つの領域が逆平行に配置していて、前記第1の領域の少なくとも1つのヌクレオチド残基が前記第2の領域の残基と塩基対合することができる場合、相補的である。いくつかの実施形態では、前記第1の領域は第1の部分を含む、及び前記第2の領域は第2の部分を含む、それによって、前記第1の部分及び前記第2の部分が逆平行に配置している場合、第1の部分のヌクレオチド残基の少なくとも約50%、及び他の実施形態では、少なくとも約75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくはそれを超えた、又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、少なくとも約80%-100%等、は、前記第2の部分のヌクレオチド残基と、塩基対合することができる。

【００８０】

本出願で使用する場合、活性化した免疫細胞に関して、用語「共-刺激する」は、共-刺激性分子が、増殖又はエフェクター機能を誘導する、第2の、非-活性化レセプター媒介シグナル(「共-刺激シグナル」)、を提供することができること、を含む。例えば、共-刺激シグナルは、例えば、T細胞-レセプター-媒介シグナルを受けたT細胞において、サイトカイン分泌をもたらすことがある。本明細書において、「活性化免疫細胞」とは、例えば、本出願で参照される活性化レセプターを介して、細胞-レセプター媒介シグナルを受けた免疫細胞、を指す。

【００８１】

「CD3」は、6本の鎖の多-タンパク質複合体として、当技術分野で既知である(Abbas and Lichtman, Cellular and Molecular Immunology (9th Edition) (2018); Janeway et al. (Immunobiology) (9th Edition) (2016)を参照のこと)。哺乳動物では、前記複合体は、CD3γ鎖、CD3δ鎖、2本のCD3ε鎖、及びCD3ζ鎖のホモ二量体、を含む。前記CD3γ、CD3δ、及びCD3ε鎖は、単一の免疫グロブリン・ドメインを含む免疫グロブリン・スーパーファミリーの、関連する細胞面タンパク質である。前記CD3γ、CD3δ、及びCD3ε鎖の膜貫通領域は負に荷電している、この特徴により、これらの鎖が、T細胞レセプター鎖の正に荷電した領域又は残基と、会合することを可能になると考えられている。前記CD3γ、CD3δ、及びCD3ε鎖の細胞内尾部は、それぞれ、免疫レセプター・チロシン-ベースの活性化モチーフ又はITAMとして知られる単一の保存されたモチーフを含有し、一方、各CD3ζ鎖は、3つのITAMを有する。理論に拘束されることを望むものではないが、前記ITAMは、TCR複合体のシグナリング容量にとって重要であると考えられる。本発明に従って使用されるCD3は、例えば、ヒト、マウ

ス、ラット、又は他の哺乳動物等の、様々な動物種に由来することがある。

【００８２】

本出願で使用する場合、「TCR複合体の構成要素」は、TCR鎖(即ち、TCRα、TCRβ、TCRγ又はTCRδ)、CD3鎖(即ち、CD3γ、CD3δ、CD3ε又はCD3ζ)、又は2つ以上のTCR鎖若しくはCD3鎖によって形成される複合体(例えば、TCRα及びTCRβの複合体、TCRγ及びTCRδの複合体、CD3ε及びCD3δの複合体、CD3γ及びCD3εの複合体、若しくはTCRα、TCRβ、CD3γ、CD3δ及び2つのCD3ε鎖のサブ-TCR複合体)を指す。

【００８３】

「キメラ抗原レセプター(chimeric antigen receptor)」又は「CAR」は、天然には存在しない様式で、又は宿主細胞中に天然には存在しない様式で、互いに連結した、2つ以上のアミノ酸配列を含むように操作された融合タンパク質、を指す、その融合タンパク質は、細胞の表面上に存在する場合に、レセプターとして機能することができる。本発明が包含するCARは、膜貫通ドメイン、及び1つ以上の細胞内シグナリング・ドメイン(例えば、エフェクター・ドメイン、任意選択的に、共-刺激ドメインを含む)に連結した、（即ち、免疫グロブリン、又は免疫グロブリン-様分子、例えば、HA-1抗原に特異的なTCR、単鎖TCR-由来の結合タンパク質、抗体に由来するscFv、NK細胞のキラー免疫レセプターから、派生する、若しくは取得する、抗原結合ドメイン、等、から、取得する、又は派生する）抗原-結合ドメインを含む、細胞外部分を含む(例えば、Sadelain et al. (2013) Cancer Discov. 3:388を参照; Harris and Kranz (2016) Trends Pharmacol. Sci. 37: 220; Stone et al. (2014) Cancer Immunol. Immunother. 63:1163も参照)。

【００８４】

本出願で使用する場合、用語「細胞傷害性Tリンパ球(cytotoxic T lymphocyte (CTL))の応答」は、細胞傷害性T細胞によって誘導される免疫応答を指す。CTL応答は主に$CD8^+$ T細胞によって媒介される。

【００８５】

用語「から本質的になる」は、「含む」と均等ではない、及びある請求項の特定の材料若しくはステップ、又は特許請求される主題の基本的特徴に実質的に影響を及ぼさない材料若しくはステップ、を指す。例えば、タンパク質のドメイン、領域、又はモジュール(例えば、結合ドメイン、ヒンジ領域、リンカー・モジュール)又はタンパク質(これは、1つ以上のドメイン、領域、又はモジュールを有することがある)は、特定のアミノ酸配列（ドメイン、領域、モジュール、又はタンパク質の前記アミノ酸配列が、伸長、欠失、変異、又はそれらの組み合わせ(例えば、アミノ末端の、若しくはカルボキシ末端の、又はドメイン間の、アミノ酸)（これらは、組み合わせで、ドメイン、領域、モジュール、又はタンパク質の長さの最大20%で［例えば、最大15%、10%、8%、6%、5%、4%、3%、2%又は1%で］寄与する、及びドメイン、領域、モジュール、又はタンパク質の活性［例えば、結合タンパク質のターゲット結合親和性］に実質的に影響しない［即ち、50%、例えば、40%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、又は1%以下、を超えて、前記活性を減少させない］）、を含む場合）から本質的になる。

【００８６】

用語「CCDC114」は、Coiled-Coil Domain Containing 114、繊毛細胞における外側ダイニン腕ドッキング複合体（outer dynein arm docking complex）の構成要素であるコイルド-コイル含有タンパク質、を指す。この遺伝子における変異は、原発性線毛運動不全症20(primary ciliary dyskinesia 20)を引き起こすことがある。1つの実施形態では、CCDC114は、670個のアミノ酸と75046 Daの分子量を有する。CCDC114の代表的なmRNA及びタンパク質配列を下記の表４に示す。

【００８７】

用語「対象のための好適な治療レジメンを決定すること（determining a suitable treatment regimen for the subject）」は、本発明による、解析の結果に基づいて

、又は本質的に基づいて、若しくは少なくとも部分的に基づいて、開始する、改変する、及び／又は終了する、対象のための治療レジメン(即ち、対象におけるウイルス感染を、予防する、及び／又は治療する、ために使用する、単一の療法、又は様々な療法の組み合わせ)を決定することを、意味すると解釈される。
例えば、術後にアジュバント療法を開始し、再発のリスクを減らすことも、特定の化学療法の用量を変更することも、挙げられる。前記決定は、本発明による、解析の結果に加えて、治療するべき対象の個人的特徴に基づくことがある。ほとんどの場合、前記対象に適した治療レジメンの実際の決定は、担当医又は医師によって行われるであろう。

【００８８】

「Fred Hutch T-細胞レセプター」は、PCT公開公報WO 2018/058002、米国特許No.第10,538,574号及び米国特許公開2020/0231649に報告されている、少なくとも1つのベンチマークT-細胞レセプターを指す。.いくつかの実施形態では、Fred Hutch T-細胞レセプターは、表２に示される配列を有する。

【００８９】

本出願で使用する場合、「造血始原細胞(progenitor cell)」は、造血幹細胞又は胎児組織に由来することがある、及び成熟細胞型(例えば、免疫系細胞)に更に分化することができる、細胞である。例示的な造血始原細胞(progenitor cell)としては、$CD24^{Lo}$ $LinCD117^{+}$表現型を有するもの、又は胸腺において見出されるもの(始原胸腺細胞と呼ばれる)、が挙げられる。

【００９０】

本出願で使用される「相同」は、同じ核酸鎖の2つの領域間の、又は2つの異なった核酸鎖の領域間の、ヌクレオチド配列の類似性を指す。両方の領域のヌクレオチド残基の位置が同じヌクレオチド残基によって占められる場合、その領域はその位置で相同である。第1の領域は、第2の領域に対して、各領域の少なくとも1つのヌクレオチド残基の位置が同じ残基によって占められている場合、相同である。2つの領域間の相同性は、同じヌクレオチド残基によって占められる、2つの領域のヌクレオチド残基の位置の割合として、表される。例えば、ヌクレオチド配列5'-ATTGCC-3'を有する領域とヌクレオチド配列5'-TATGGC-3'を有する領域とは、50%の相同性を共有する。いくつかの実施形態では、第1の領域は第1の部分を含む、及び第2の領域は第2の部分を含む、それによって、各々の前記部分の核酸残基の位置の少なくとも約50%、及び他の実施形態では、少なくとも約75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくはそれ以上は、又は少なくとも約80%-100%など、間の、包含的な、任意の範囲、を同じヌクレオチド残基が占める。いくつかの実施形態では、各々の前記部位の全てのヌクレオチド残基の位置を、同じヌクレオチド残基が占める。

【００９１】

本出願で使用される場合、用語「HA-1抗原」又は「HA-1ペプチド抗原」又は「HA-1含有ペプチド抗原」又は「HA-1エピトープ」又は「HA-1ペプチド・エピトープ」又は「HA-1ペプチド」は、HMHA1タンパク質の、天然に産生される、又は合成的に産生される、ペプチド部分（これは、ARHGAP45としても知られる）を指す、及び全ての血中細胞の中で高いレベルで発現するが、他の組織では発現しない、細胞内タンパク質である。ARHGAP45には2つの形態がある。HA-1-ポジティブの個体では、前記ペプチドは、配列VLHDDLLEAを有する、及び前記個体が、例えば、HLAタイプA*02:01又はHLAタイプA*02:06等のHLA A*02血清型を有する場合(Torikai et al. (2007) Bone Marrow Transplant. 40:165-174)、前記抗原は、細胞の表面上に効率的に提示される。HA-1-ネガティブの個体では、前記ペプチドは配列VLRDDLLEAを有する、及び前記HA-1抗原は、提示されない。約60%の人がVLHDDLLEA配列を有する、並びに米国の人々の約42%がHLAタイプA*02:01を有し、これは、米国の約25%の個人がHA-1-ポジティブ及びHLAタイプA*02:01ポジティブ、であることを意味する。HCTを受けている患者に関する研究によって、HA-1-ネガティブ・ドナー(donor)のT細胞が、HA-1-

ポジティブの患者において、HA-1に対する応答を自然に発症する場合、前記T細胞は、特異的な移植片-対-白血病(graft-versus-leukemia (GvL))作用を媒介し、前記患者は、しばしば長期寛解を経験する、ことが示された。いくつかの実施形態では、本出願に記載される組成物及び治療方法は、この臨床的な観察に基づく、並びにHCTを受けている患者において、特異的にこのGvL効果を引き起こすように設計されている。HA-1抗原タンパク質は、約7アミノ酸、約8アミノ酸、約9アミノ酸、約10アミノ酸、最大約20アミノ酸まで、の長さの範囲であることがある、及びR139H置換多型を含む）、MHC（例えば、HLA）分子と複合体を形成することがある、HA-1ペプチド：MHC（例えば、HLA）複合体に対して特異的な本開示の結合タンパク質は、このような複合体と結合（例えば、特異的に結合）することがある。例示的なHA-1ペプチド抗原は、アミノ酸VLHDDLLEAを有するペプチドを含む、ここで、その配列中の太字のヒスチジンは、R139H多型を表す。用語 "HA-1^{R}" または "HA-1- H" は、R139Hを有するHA-1抗原を意味する。MHC(例えば、HLA)分子と複合体を形成することができ、HA-1ペプチド:MHC(例えば、HLA)複合体に比本発明の結合タンパク質はそのような複合体に結合(例えば、特異的に結合)することができる。例示的なHA-1ペプチド抗原は、アミノ酸

【化１】

VLHDDLLEA

を有するペプチドを含み、配列中の太字のヒスチジンは、R139H多型を表す。「HA-1^{R}」又は「HA-1^{-H}」は、R139Hを有するHA-1抗原を指す。

【００９２】

用語「HA-1抗原の発現を特徴とする過剰増殖性障害」は、前記HA-1抗原が、対象において、少なくともいくつかの過剰増殖している細胞が発現するMHC(例えば、HLA)複合体の中に存在する、任意の過剰増殖性障害であることがある。HA-1:HLA複合体を特徴とする過剰増殖性障害としては、血液悪性腫瘍(hematological malignancy)、が挙げられる。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)としては、白血病(例えば、急性白血病又は慢性白血病)、が挙げられる。特定の実施では、前記白血病としては、急性骨髄性白血病(AML)、急性リンパ球性白血病(ALL)、混合表現型急性白血病(MPAL)、慢性骨髄性白血病(CML)、B細胞前リンパ球性白血病(prolymphocytic leukemia), ヘアリー細胞白血病(hairy cell leukemia)、又は慢性リンパ球性白血病(CLL)、が挙げられる。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、リンパ腫を含む。ある特定の実施形態では、前記リンパ腫としては、ホジキン・リンパ腫(Hodgkin's lymphoma(HL))、非-ホジキン・リンパ腫(non-Hodgkin's lymphoma(NHL))、中枢神経系リンパ腫、小リンパ球性リンパ腫(small lymphocytic lymphoma(SLL))、CD37+樹状細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、形質細胞骨髄腫、髄外性形質細胞腫、粘膜関連（MALT）リンパ組織の節外辺縁帯B-細胞リンパ腫、節内辺縁帯B-細胞リンパ腫、濾胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B-細胞リンパ腫、縦隔（胸腺）大細胞型B-細胞リンパ腫、前駆B-リンパ芽球性リンパ腫、免疫芽球性大細胞リンパ腫、血管内大細胞型B-細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、又はバーキット・リンパ腫／白血病、悪性度不明なB-細胞増殖症、リンパ腫様肉芽腫症(lymphomatoid granulomatosis)、及び移植後リンパ球増殖性障害、が挙げられる。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄異形成障害(MDS)、例えば、単一血球系統の異形成を伴う不応性血球減少症(不応性貧血、不応性好中球減少症、及び不応性血小板減少症)、環状鉄芽球を伴う不応性貧血(refractory anemia with ring sideroblasts (RARS))、環状鉄芽球を伴う不応性貧血-血小板増加症(refractory anemia with ring sideroblasts - thrombocytosis (RARS-t))、多血球系異形成を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia (RCMD))、多血球系異形成と環状鉄芽球を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia and ring sideroblasts (RCMD-RS))、芽球増加を伴

う不応性貧血(refractory anemia with excess blasts (RAEB))、分類不能型骨髄異形成症候群、及び小児不応性血球減少症、5番染色体長腕の単独欠失を伴う骨髄異形成症候群(MDS with isolated del(5q))、並びに他の既知のMDSサブタイプ（例えば、nbci.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC655460/、のWorld Wide Web で、利用可能な、2016 World Health Organization MDS classificationを参照）、を含む。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄増殖性新生物(myeloproliferative neoplasms (MPN))（例えば、骨髄線維症、真性赤血球増加症、本態性血小板血症(essential thrombocythemia)、慢性骨髄単球性白血病、慢性骨髄増殖性疾患-分類不能、慢性好中球性白血病、慢性好酸球性白血病、及びMPN-その他に特定されないなど）を含む。更なる実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄腫を含む。

【００９３】

用語「免疫応答」としては、T細胞媒介性の、及び／又はB細胞媒介性の免疫応答、が挙げられる。例示的な免疫応答としては、T細胞応答、例えば、サイトカイン産生及び細胞傷害性、が挙げられる。加えて、用語免疫応答としては、T細胞活性化によって間接的に有効となる免疫応答、例えば、抗体産生(体液性応答)、及びサイトカイン応答性細胞（例えば、マクロファージ）の活性化）によって間接的に有効となる免疫応答、が挙げられる。

【００９４】

免疫応答又は免疫系を刺激する能力が増加すると、T細胞共-刺激レセプターのアゴニスト活性が高まることがある、及び／又は阻害レセプターのアンタゴニスト活性が高まることがある。免疫応答又は免疫系を刺激する能力が増加することは、免疫応答を測定するアッセイ、例えば、サイトカイン又はケモカイン放出、細胞溶解活性(ターゲット細胞について直接的に、又はCD107aの、若しくはグランザイムの検出を介して間接的に、測定される)及び増殖、の変化を測定するアッセイ、における、EC_{50}の倍数増加によって、又は活性の最大レベルによって、反映されることがある。免疫応答又は免疫系活性を刺激する能力は、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、250%、300%、350%、400%、500%、又はそれ以上、高まることがある。

【００９５】

用語「免疫療法剤」としては、宿主の免疫系を刺激して、対象におけるウイルス感染に対する免疫応答を生じさせることができる、任意の分子、ペプチド、抗体又は他の薬剤、を挙げることができる。様々な免疫療法剤が、本出願に記載される組成物及び方法において、有用である。

【００９６】

用語「免疫細胞」は、骨髄における造血幹細胞から生じる、前記免疫系の任意の細胞、を指し、2つの主要な系統：骨髄性始原細胞(progenitor cell)(例えば、単球、マクロファージ、樹状細胞、巨核球及び顆粒球、等の骨髄性細胞を生じる);；及びリンパ系始原細胞(progenitor cell)(例えば、T細胞、B細胞、及びナチュラル・キラー(NK)細胞、等のリンパ細胞を生じる)、を生じる。例示的な免疫系細胞としては、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$T細胞、CD4 CD8ダブル・ネガティブT細胞、gd T細胞、調節性T細胞、ナチュラル・キラー細胞、及び樹状細胞、が挙げられる。マクロファージ及び樹状細胞は、「抗原提示細胞」又は「APC」と呼ばれることがあり、これらは、ペプチドと複合体を形成したAPCの表面上の主要組織適合性遺伝子複合体(MHC)レセプターが、T細胞の表面上のTCRと相互作用する場合に、T細胞を活性化することができる特殊化した細胞、である。

【００９７】

「単離されたタンパク質」は、細胞から単離された場合、若しくは組み換えDNA技術によって産生された場合、他のタンパク質、細胞物質、分離培地、及び培養培地、を実質的に含まない、又は化学的に合成された場合、化学的前駆体、若しくは他の化学物質、を実質的に含まない、タンパク質を指す。「単離された」、又は「精製された」、タンパク

質、又はその生物学的に活性な部分は、前記結合タンパク質、抗体、ポリペプチド、ペプチド又は融合タンパク質の由来源である、前記細胞、若しくは組織、に由来する、細胞物質若しくは他の混入タンパク質を、実質的に含まない、又は化学的に合成された場合に、化学的前駆体若しくは他の化学物質を、実質的に含まない。

【００９８】

「細胞物質を実質的に含まない」という言葉は、前記タンパク質を、前記タンパク質を単離する細胞の、又は組み換えにより産生する細胞の、細胞構成要素から分離する、という、バイオマーカー・ポリペプチドの調製、又はそのフラグメントの調製、を含む。1つの実施形態では、「細胞物質を実質的に含まない」という言葉は、約30%(乾燥重量で)未満の非-バイオマーカー・タンパク質(本出願では、「混入タンパク質」とも呼ばれる)、若しくは、いくつかの実施形態では、約25%、20%、15%、10%、5%、1%未満、若しくは約1%から5%未満など、間の、包含的な、任意の範囲の、非-バイオマーカー・タンパク質、を有する、バイオマーカー・タンパク質、又はそのフラグメント、の調製、を含む。結合タンパク質、抗体、ポリペプチド、ペプチド若しくは融合タンパク質、又はそれらのフラグメント、例えば、生物学的に活性なそれらのフラグメント、を組み換えにより生成する場合、それは、培養培地を実質的に含まないことがある、即ち、培養培地は、前記タンパク質調製物の体積の、約20%、15%、10%、5%、1%未満、若しくはそれ未満、若しくは約1%から5%未満など、間の、包含的な、任意の範囲、を表す。

【００９９】

本出願で使用する場合、用語「アイソタイプ」は、重鎖定常領域によってコードされる抗体のクラス(例えば、IgM、IgG1、IgG2C等)を指す。

【０１００】

本出願で使用する場合、用語「K_D」は、特定の結合タンパク質-抗原相互作用の解離平衡定数を指すことが意図される。本発明によって包含される結合タンパク質の結合親和性を、標準的な結合タンパク質-ターゲット結合アッセイ、例えば、競合アッセイ、飽和アッセイ、又は標準的なイムノアッセイ、例えば、ELISA若しくはRIA等、によって、測定することがある、又は決定することがある。相対的により低いKd値は、相対的により高い結合親和性を示す(例えば、約$5x10^{-4}$ M(500 uM)以下のKd値は、$1x10^{-4}$M(100 uM)のKd値を含み、100 uMのKdは、500 uMのKdと比較して、相対的により高い結合親和性を示す)。

【０１０１】

「キット」は、少なくとも1種の試薬（例えば、本発明によって包含されるマーカーの発現、を特異的に検出するための、及び／又はに影響を及ぼすための、プローブ又は低分子）を含む任意の製造物（例えば、パッケージ、又は容器）である。前記キットは、本発明が包含する方法を実施するためのユニットとして、販売促進される、流通される、又は販売される、ことがある。前記キットは、本発明が包含する方法において有用な組成物を発現するのに必要な、1種以上の試薬を、含むことがある。いくつかの実施形態では、前記キットは、参照基準（例えば、細胞増殖、分割、移動、生残又はアポトーシス、を制御するシグナル伝達経路に影響を及ぼさない、又は調節しない、タンパク質をコードする核酸）を更に含むことがある。当業者は、例えば、限定されるものではないが、一般的な分子タグ(例えば、緑色蛍光タンパク質及びベータ-ガラクトシダーゼ)、GeneOntology参照によって、細胞増殖、分割、移動、生残若しくはアポトーシス、を包含する任意の経路において、分類されないタンパク質類、又はユビキタスなハウスキーピング・タンパク質（ubiquitous housekeeping proteins）等の、多くのそのようなコントロール・タンパク質を、想定することができる。前記キット中の試薬を、個々のコンテナに入れて、又は単一の容器中の2種以上の試薬の混合物として、提供することがある。更に、キット内に、前記組成物の使用を記載する、説明物、が含まれることがある。

【０１０２】

本出願で使用する場合、用語「連結した」は、2つ以上の分子の会合を指す。その結合は、共有結合であっても非共有結合であってもよい。前記結合はまた、遺伝的(即ち、組

み換え的に融合した)であってもよい。そのような結合は、例えば、化学的な共役、及び組み換えタンパク質の産生などの、当技術分野で認識されている、多種多様な技術を用いて達成することができる。

【０１０３】

「リンカー」は、いくつかの実施形態では、2つの、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、ドメイン、領域、又はモチーフ、を連結する、アミノ酸配列を指すことがある、及び2つのサブ-結合ドメインの相互作用に適合するスペーサー機能を提供することがあり、その結果、得られるポリペプチドは、ターゲット分子に対する特異的な結合親和性(例えば、scTCR)を保持する、又はシグナル伝達活性(例えば、TCR複合体)を保持する。いくつかの実施形態では、リンカーは、約2から約35個のアミノ酸、例えば、約4から約20個のアミノ酸、若しくは約8から約15個のアミノ酸、又は約15から約25個のアミノ酸、から構成される。

【０１０４】

「主要組織適合性遺伝子複合体」(MHC)は、ペプチド抗原を細胞表面に送達する糖タンパク質を指す。MHCクラスI分子は、鎖を貫通する膜(3つのドメインを有する)及び非-共有結合的に会合したb2ミクログロブリン、を有するヘテロ二量体である。MHCクラスII分子は、2つの膜貫通糖タンパク質、a及びbから構成され、両方とも膜を貫通する。それぞれの鎖には2つのドメインがある。MHCクラスI分子は、細胞質ゾルに由来するペプチドを細胞表面に送達し、その細胞表面で、ペプチド抗原-MHC(pMHC)複合体は、$CD8^+$ T細胞によって認識される。MHCクラスII分子は、小胞システムに由来するペプチドを細胞表面に送達し、その細胞表面で、それらは、$CD4^+$ T細胞によって認識される。ヒトMHCは、ヒト白血球抗原(human leukocyte antigen (HLA))と呼ばれる。

【０１０５】

用語「予防する」、「予防すること」、「予防」、「予防的治療」等は、疾患、障害、又は症状、を発症する可能性を、対象（この対象は、疾患、障害、又は症状、を有さないが、疾患、障害、又は症状、を発症するリスクがある、又は発症しやすい）において、低下させることを指す。

【０１０６】

用語「予後(prognosis)」は、ウイルス感染症の可能性のある経過及び結果、又はその疾患からの回復の可能性、に関する予測を含む。いくつかの実施形態では、統計的アルゴリズムを使用することで、個体におけるウイルス感染の予後が分かる。例えば、前記予後は、手術、ウイルス感染症の臨床的なサブタイプの発症、1種以上の臨床的な因子の発症、又はその疾患からの回復、であることがある。

【０１０７】

本出願で使用する場合、アミノ酸配列間の「同一性パーセント」は「相同性パーセント」と同義であり、これを、Karlin and Altschul (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268の、Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877によって改変を受けた、アルゴリズムを用いて、決定する。この記載されたアルゴリズムは、Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410の、NBLAST及びXBLAST、のプログラムに組み込まれている。BLASTヌクレオチド検索は、NBLASTプログラム、スコア=100、ワード長=12、を用いて行い、本出願に記載されるポリヌクレオチドに相同なヌクレオチド配列が得られる。BLASTタンパク質検索は、XBLASTプログラム、スコア=50、ワード長=3、を用いて行い、参照ポリペプチドに相同なアミノ酸配列が得られる。比較のためのギャップ・アラインメント(gapped alignment)を得るためには、Altschul et al. (1997) Nuc. Acids Res. 25:3389-3402に記載されているように、Gapped BLASTを利用する。BLAST及びGapped BLASTプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム(例えば、XBLAST及びNBLAST)の既定パラメーターを、使用しても良い。

【０１０８】

語句「薬学的に許容される担体」は、薬学的に許容される物質、組成物又は媒体、例え

ば、身体のある臓器、又は部分から、身体の別の臓器、又は部分に、対象化合物を運搬すること、又は輸送すること、に関与する、物質を封入する、液状又は固形の充填剤、希釈剤、賦形剤、又は溶媒、等、を意味する。

【０１０９】

用語「組み換え宿主細胞」(又は、単に「宿主細胞」)は、細胞中に天然に存在しない核酸を含む細胞、例えば、組み換え発現ベクターを導入した細胞等、を指す。当然のことながら、本発明に係る細胞は、特定の対象細胞だけでなく、そのような細胞の後代も含む。ある特定の改変は、変異又は環境の影響のいずれかにより、後の世代において起こることがあるので、そのような後代は、実際には、その親細胞と同一ではないかもしれないが、依然として本発明に係る細胞の範囲内に含まれる。

【０１１０】

用語「がん応答」、「免疫療法に対する応答」、又は「T-細胞媒介性の細胞傷害の調節剤／免疫療法の併用療法に対する応答（response to modulators of T-cell mediated cytotoxicity/immunotherapy combination therapy）」は、がん薬剤、例えば、T-細胞媒介性の細胞傷害の調節剤、及び免疫療法、に対する、過剰増殖性障害(例えば、がん)の任意の応答、好ましくは、ネオアジュバント又はアジュバント療法を開始した後の、腫瘍重量及び／又は体積の変化、に関する。用語「ネオアジュバント療法」は、一次治療の前に与えられる治療を指す。ネオアジュバント療法の例としては、化学療法、放射線療法、及びホルモン療法、を挙げることができる。

【０１１１】

過剰増殖性障害の応答性を、例えば、有効性について、又はネオアジュバント、若しくはアジュバント、の状況において、評価することがあるが、そこでは、CT、PET、マンモグラム、超音波又は触診、によって測定するように、全身性に介入を行った後の腫瘍のサイズを、初期のサイズ及び寸法と、比較することがある。応答はまた、生検又は外科的切除後の腫瘍を、キャリパー測定することによって、又は病理学的な検査をすることによって、評価することもある。応答を、腫瘍体積におけるパーセンテージ変化のような定量的様式で、又は「病理学的完全奏功」(“pathological complete response”(pCR))、「臨床的完全寛解」(“clinical complete remission”(cCR))、「臨床的部分寛解」(“clinical partial remission”(cPR))、「臨床的安定」(“clinical stable disease”(cSD))、「臨床的進行」(“clinical progressive disease”(cPD))、若しくは他の定性的基準のような定性的様式で、記録することがある。過剰増殖性障害への応答性の評価を、ネオアジュバント療法又はアジュバント療法、の開始後早期に、例えば、数時間後、数日後、数週間後、又は好ましくは数ヶ月後に、行うことがある。応答評価のための典型的なエンドポイントは、ネオアジュバント化学療法の終了時、又は残存腫瘍細胞、及び／若しくは腫瘍床、を外科的に切除した時、である。これは、典型的には、ネオアジュバント療法の開始後3ヶ月である。いくつかの実施形態では、本出願に記載される治療的処置の臨床的な有効性を、臨床的有用率(clinical benefit rate (CBR))を測定することによって、決定することがある。臨床的有用率は、治療終了から少なくとも6ヶ月の時点で、完全寛解(complete remission (CR))にある患者のパーセンテージ、部分寛解(partial remission (PR))にある患者の数、及び安定 (stable disease (SD))を有する患者の数、の合計を決定することによって、測定する。この式の省略形は、6ヶ月にわたるCBR=CR+PR+SDである。いくつかの実施形態では、ある特定のがん治療レジメンのCBRは、少なくとも25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、又はそれ以上である。がん療法に対する応答を評価するための更なる基準は、「生残」に関する、これは、以下の全てを含む：死亡までの生存、全生残としても知られる（ここで、前記死亡は、因果関係又は腫瘍関連のいずれかにもよらない)；「無再発生存」(ここで、用語再発は、局所再発及び遠隔再発、の両方を含む)；無転移生存；無病生存(ここで、用語疾患は、がん及びそれに関連する疾患、を含む)。前記生存の長さを、定義した開始点(例えば、診断の時間又は治療の開始)及び終了点(例えば、死亡、再発又は転移)を参照することによって、計算することがある。更に、治療の有

効性の基準を、化学療法に対する応答、生存の確率、所与の時間期間内での転移の確率、及び腫瘍再発の確率、を含むように、拡張することがある。例えば、適切な敷居値を決定するために、ある特定のがん治療レジメンを、対象の集団に処方することがある、及びそのアウトカム(outcome)を、任意のがん治療を処方する前に決定したバイオマーカー測定値と、相関させることがある。アウトカムの測定は、ネオアジュバントの設定において、処方される治療に対する病理学的な応答であることがある。或いは、例えば、全生存及び無病生存等の、アウトカムの測定値を、バイオマーカー測定値が知られているがん療法後の対象について、ある期間にわたってモニタリングすることがある。ある特定の実施形態では、投与する用量は、がん治療薬剤について、当技術分野で既知の、標準的な用量である。対象をモニタリングする時間の期間は、変動することがある。例えば、対象を、少なくとも2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、45、50、55、又は60ヶ月間、モニタリングすることがある。がん療法のアウトカムと相関するバイオマーカー測定の閾値は、実施例のセクションに記載されているものなど、当技術分野で周知の方法を用いて、決定することがある。

【０１１２】

示されるように、これらの用語はまた、例えば、再発までの時間（これは、再発のエビデンスを伴わないで、最初のイベントとしての二次原発がん若しくは死亡、によって打ち切られる、最初の再発までの期間、である）の増加が反映するような、又は全生存（これは、治療から任意の要因による死亡までの期間である）の増加が反映するような、改善した予後、を指すこともある。応答すること、又は応答性があることは、刺激に曝露されたときに、達成される有益なエンドポイントが存在すること、を意味する。或いは、刺激への曝露時に、ネガティブな又は有害な症状(symptom)は、最小化する、緩和する、又は減弱する。腫瘍又は対象が好ましい応答を示す可能性を評価することは、腫瘍又は対象が好ましい応答を示さない(即ち、応答の欠如を示すか、又は非-応答性、を示す)可能性を評価することと、均等であることが理解される。

【０１１３】

用語「抵抗性」は、がん療法に対する、がんサンプル又は哺乳動物の、後天的な又は自然の、抵抗性(即ち、治療的処置に応答しないか、又は治療的処置への応答が減少している、若しくは限定的である)を指し、例えば、5%，10%，15%，20%，25%，30%，35%，40%，45%，50%，55%，60%，65%，70%，75%，80%，85%，90%，95%，100%，若しくはそれ以上、例えば、2-倍，3-倍，4-倍，5-倍，10-倍，15-倍，20-倍 若しくはそれ以上，又は間の、包含的な、任意の範囲、で．治療的処置への応答が減少する。応答性の低下を、抵抗性が獲得される前の、同じがんサンプル若しくは哺乳動物、と比較することによって、又は前記治療的処置に対して抵抗性を有さないことが知られている、種々のがんサンプル若しくは哺乳動物、と比較することによって、測定することがある。化学療法に対する典型的な後天的な抵抗性は「多剤耐性」と呼ばれる。多剤耐性は、P-糖タンパク質によって媒介されることがある、若しくは他のメカニズムによって媒介されることがある、又は哺乳動物が、多剤耐性微生物若しくは微生物の組み合わせ、に感染した場合に生じることがある。治療的処置に対する抵抗性を判定することは、当技術分野において日常的である、及び当業者である臨床医の技術の範囲内である、例えば、「感作(sensitizing)」として、本出願に記載されるような、細胞増殖アッセイ及び細胞死アッセイ、によって測定することがある。いくつかの実施形態では、用語「抵抗性を逆転させる(reverses resistance)」は、1次がん療法(例えば、化学療法又は放射線療法)と併せて、第2の薬剤を使用することによって、一次がん療法(例えば、化学療法又は放射線療法)単独では、非処置の腫瘍の腫瘍体積と比較して、腫瘍体積を統計的有意に減少させることができない状況において、非処置の腫瘍の腫瘍体積と比較して、統計的有意なレベル(例えば、p〈0.05)で、腫瘍体積を有意に減少させることができること、を意味する。これを、一般に、未処置の腫瘍が対数的に成長しているときに、腫瘍体積の測定を行うことに、適用する。

【０１１４】

少なくとも1種のバイオマーカーの有無、又はレベルを、検出する、又は決定する、ために使用される「サンプル」という用語は、典型的には、脳組織、脳脊髄流体、全血、血漿、血清、唾液、尿、糞便(stool)(例えば、糞便(feces))、涙、及び任意の他の身体の流体(例えば、「体液」としての定義のもとで上述される)、又は組織サンプル(例えば、生検)、例えば、小腸、大腸サンプル、又は外科的切除組織である。いくつかの実施形態では、本発明が包含する方法は、前記サンプル中の少なくとも1種のマーカーの有無、又はレベルを、検出する、又は決定する、前に、その個体から前記サンプルを得ること、を更に含む。

【０１１５】

用語「感受性にする」は、がん細胞又は腫瘍細胞を、がん療法(例えば、抗-免疫チェックポイント、化学療法、及び／又は放射線療法)を使って、その関連がんを、より効果的に治療することができるようにする方法で、変化させることを意味する。いくつかの実施形態では、前記治療によって、正常な細胞が過度に傷つく程度には、前記正常な細胞は、影響を受けない。治療的処置に対する、感受性の増加を、又は感受性の減少を、例えば、限定されるものではないが、細胞増殖アッセイ(Tanigawa et al. (1982) Cancer Res. 42:2159-2164)、及び細胞死アッセイ(Weisenthal et al. (1984) Cancer Res. 94:161-173; Weisenthal et al. (1985) Cancer Treat Rep. 69:615-632; Weisenthal et al., In: Kaspers G J L, Pieters R, Twentyman P R, Weisenthal L M, Veerman A J P, eds. Drug Resistance in Leukemia and Lymphoma. Langhorne, P A: Harwood Academic Publishers, 1993:415-432; Weisenthal (1994) Contrib. Gynecol. Obstet. 19:82-90) 等、本出願において以下に記載する、特定の治療及び方法のための、当技術分野における既知の方法に従って、測定する。感受性又は抵抗性をまた、例えば、ヒトについては6ヶ月、及びマウスについては4～6週、のある期間での腫瘍サイズの減少を測定することによって、動物において測定することもある。組成物は又は方法は、そのような組成物が又はそのような方法が無い場合での治療への感受性又は抵抗性と比較して、治療への感受性の増加が、又は抵抗性の減少が、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、若しくはそれ以上、例えば、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、15倍、20倍、若しくはそれ以上、又は間の、包含的な、任意の範囲、である場合、治療的処置への応答性を感受性にする。治療的処置に対する、感受性の決定は、又は抵抗性の決定は、当技術分野において、日常的である、及び通常の技術を有する臨床医の技術の範囲内である。がん療法の有効性を高めるための、本出願に記載される任意の方法を、過剰増殖性の細胞を、或いはその他のがん性細胞（例えば、抵抗性細胞）を、前記がん療法に対して感受性にさせるための方法に、等しく適用することができることを、理解されたい。

【０１１６】

用語「低分子」は、当技術分野の用語である、及び約1000分子重量未満の分子、又は約500分子重量未満の分子、を含む。1つの実施形態では、低分子は、ペプチド結合だけで構成されているわけではない。別の実施形態では、低分子は、オリゴマーではない。活性をスクリーニングすることがある例示的な低分子化合物としては、限定されるものではないが、ペプチド、ペプチドミメティック（peptidomimetics）、核酸、糖類(carbohydrates)、有機低分子(例えば、ポリケチド(polyketides))(Cane et al. (1998) Science 282:63-68)、及び天然物抽出ライブラリ、が挙げられるが、これらに限定されない。別の実施形態では、前記化合物は、低分子有機非-ペプチド化合物である。更なる実施形態では、低分子は、生合成ではない。

【０１１７】

用語「特異的結合」は、結合タンパク質が所定の抗原に結合することを指す。典型的には、結合アッセイ、例えば、対象の抗原を分析物として、結合タンパク質をリガンドとして使用する、BIAcore^{TM} アッセイ装置での表面プラズモン共鳴(SPR)技術、で測定した場合、前記結合タンパク質は、約$5x10^{-4}$ M以下、約$1x10^{-4}$ M以下、約$5x10^{-5}$M以

下、約1x10^{-5} M以下、約5x10^{-6} M以下、約1x10^{-6}M以下、約5x10^{-7} M以下、約1x10^{-7} M以下、約5x10^{-8}M以下、約1x10^{-8} M以下、約5x10^{-9} M以下、約1x10^{-9}M以下、約5x10^{-10} M以下、約1x10^{-10} M以下、約5x10^{-11}M以下、約1x10^{-11} M以下、約5x10^{-12} M以下、約1x10^{-12}M以下、若しくは更により小さな値の、又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、約1-50 μM（マイクロモラ）、1-100 μM（マイクロモラ）、0.1-500 μM（マイクロモラ）等、凡その親和性（K_D）で結合する。いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、所定の抗原以外の、又は密接に関連する抗原以外の、非-特異的抗原(例えば、BSA、カゼイン)への結合に対するその親和性よりも、少なくとも1.1-、1.2-、1.3-、1.4-、1.5-、1.6-、1.7-、1.8-、1.9-、2.0-、2.5-、3.0-、3.5-、4.0-、4.5-、5.0-、6.0-、6.0-、7.0-、8.0-、9.0-、若しくは10.0-倍、又はより大きい、親和性で、所定の抗原に結合する。語句「抗原を認識する結合タンパク質」及び「抗原に特異的な結合タンパク質」を、本出願では、用語「抗原に特異的に結合する結合タンパク質」と互換的に使用する。選択的な結合は、ある抗原の結合を別の抗原の結合と（例えば特定のファミリーのメンバー又は抗原ターゲットの結合を、関連するファミリーのメンバー又は抗原ターゲットの結合と）識別する結合タンパク質の能力を指す、関連する用語である例えば、実施例のセクションで提供する解析データによって、本出願に記載される結合タンパク質が、HA-1免疫原性エピトープに特異的に結合する、及び／又は多くの関連するエピトープ(例えば、HA-1免疫原性エピトープ及び密接な関連する配列)に選択的に結合する、そして、そのようなターゲットを、大多数の、ヒト・ゲノムにおいて利用可能な他の考えられるエピトープと区別する、ことが実証される。

【０１１８】

用語「対象」は、任意の健常な動物、哺乳動物若しくはヒト、又はHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に罹患している、任意の動物、哺乳動物若しくはヒト、を指す。用語「対象」は、「患者」と互換である。

【０１１９】

用語「生残する／生存する（survive）」は、以下の全てを含む：全生存としても知られる、死亡までの生存（ここで、前記死亡は、原因又は腫瘍関連のいずれとも無関係であっても良い）;「無再発生存(recurrence-free survival)」（ここで、再発という用語は、局所での再発及び遠隔での再発、の両方を含む）；無転移生存（metastasis free survival）；無疾患生存（disease free survival）（ここで、疾患という用語は、がん及びそれに関連する疾患、を含む）。前記生存の長さを、定義した開始点（例えば、診断又は治療の開始、の時間）及び終了点（例えば、死亡、再発又は転移）を参照することによって、計算することができる。更に、治療の有効性の基準を、拡張して、化学療法に対する応答性、生存の確率、所与の時間期間内での転移の確率、及び腫瘍再発の確率、が挙げられることがある。

【０１２０】

用語「相乗効果」は、がん薬剤／療法単独の別個の効果の合計よりも大きい、2種以上の薬剤（例えば、本出願に記載されるHA-1-関連薬剤、及びHA-1の発現を特徴とする障害を治療するための別の療法）の併用効果、を指す。

【０１２１】

本出願で使用される場合、用語「T細胞-媒介性応答（T cell-mediated response）」は、T細胞、例えば、エフェクターT細胞(例えば、CD8$^+$細胞)及びヘルパーT細胞(例えば、CD4$^+$細胞)等、によって媒介される応答を指す。T細胞-媒介性応答としては、例えば、T細胞の細胞傷害及び増殖、が挙げられる。

【０１２２】

「転写されたポリヌクレオチド」又は「ヌクレオチド転写物」は、バイオマーカー核酸の転写、及び、もしあれば、RNA転写物の正常な転写後プロセシング(例えば、スプライシング)、並びに前記RNA転写物の逆転写、によって作製される、成熟mRNAの、全部と

又は一部と、相補的である又は相同的である、ポリヌクレオチド(例えば、mRNA、hnRNA、cDNA、又はそのようなRNAの若しくはcDNAのアナログ)である。

【０１２３】

「T細胞」は、胸腺において成熟する、及びT細胞レセプター(TCR)を産生する、免疫系細胞である。T細胞は、ナイーブ(抗原に曝露されていない；T_{CM}と比較して、CD62L、CCR7、CD28、CD3、CD127、及びCD45RAの発現が増加している、並びにCD45ROの発現が減少している)、メモリーT細胞(T_M)(抗原-経験済み、及び長く生存している)、並びにエフェクター細胞(抗原-経験済み、細胞傷害性)、であることがある。T_Mは、セントラル・メモリーT細胞(central memory T cell)(T_{CM}、ナイーブT細胞と比較した場合、CD62L、CCR7、CD28、CD127、CD45RO、及びCD95の発現が増加している、並びにCD54RAの発現が減少している)、並びにエフェクタ・メモリーT細胞(effector memory T cell)(T_{EM}、ナイーブT細胞又はT_{CM}と比較した場合、CD62L、CCR7、CD28、CD45RAの発現が減少している、並びにCD127の発現が増加している)、のサブセットに、更に分けることができる。エフェクターT細胞(T_E)は、T_{CM}と比較して、CD62L、CCR7、CD28の発現が減少している、並びにグランザイム及びパーフォリンについてポジティブである、抗原-経験済みのCD8+細胞傷害性Tリンパ球、を指す。他の例示的なT細胞としては、調節性T細胞、例えば$CD4^+$ $CD25^+$($Foxp3^+$)調節性T細胞、及びTregl7細胞、並びにTrl、Th3、$CD8^+$ CD28、及びQa-1拘束性T細胞（Qa-1 restricted T cell）、が挙げられる。

【０１２４】

従来のT細胞は、Tconv又はTeffとしても知られ、エフェクター機能（例えば、サイトカイン分泌、細胞傷害活性、抗-自己-認識、等）を有し、1種以上のT細胞レセプターが発現することによって、免疫応答を増大させる。Tcon又はTeffは、一般に、Tregではない任意のT細胞集団として定義され、例えば、ナイーブT細胞、活性化T細胞、メモリーT細胞、休止Tcon（resting Tcon）、又は、例えば、Th1の若しくはTh2の系統に向かって分化したTcon、が挙げられる。いくつかの実施形態では、Teffは、非Treg T細胞のサブセットである。いくつかの実施形態では、Teffは、CD4+ Teff、又はCD8+ Teff、例えばCD4+ヘルパーTリンパ球（例えば、Th0、Th1、Tfh、若しくはTh17）、及びCD8+細胞傷害性Tリンパ球、である。本出願で更に記載されるように、細胞傷害性T細胞は、CD8+ Tリンパ球である。「ナイーブTcon」は、骨髄で分化した$CD4^+$ T細胞である、並びに胸腺における中心選択（central selection）の、ポジティブ・プロセス及びネガティブ・プロセスを、首尾よく経たが、抗原への曝露によってまだ活性化されていない。ナイーブTconは、一般に、L-セレクチン(CD62L)の表面発現、CD25、CD44又はCD69等の活性化マーカーが存在しないこと、及びCD45ROなどのメモリー・マーカーが存在しないこと、を特徴とする。従って、ナイーブTconは、静止している、及び非-分裂である、ホメオスタシス生存のために、インターロイキン-7(IL-7)及びインターロイキン-15(IL-15)、を必要とすると考えられている（少なくとも、WO 2010/101870を参照されたい)。そのような細胞の、存在及び活性は、免疫応答を抑制する文脈において、望ましくない。Tregとは異なり、Tconは、アネルギー性(anergic)ではない、及び抗原に基づくT細胞レセプター活性化に応じて、増殖することがある(Lechler et al. (2001) Philos. Trans. R. Soc. Lond. Biol. Sci. 356:625-637).

【０１２５】

「Tエフェクター」(「T_{eff}」又は「T_E」)細胞は、細胞溶解活性を有するT細胞(例えば、CD4+及びCD8+ T細胞)、並びにサイトカインを分泌する、並びに他の免疫細胞を活性化及び指向する、Tヘルパー(Th)細胞を指すが、調節性T細胞(Treg細胞)、を含まない。

【０１２６】

「T細胞レセプター」又は「TCR」は、MHCレセプターに結合した抗原ペプチドに（例えば、特異的に、及び／又は選択的に）結合することができる、免疫グロブリン・スーパーファミリーのメンバー（可変結合ドメイン、定常ドメイン、膜貫通領域、及び短い細

胞質尾部、を有する；例えば、Janeway et al. (1997) Curr. Biol. Publ. 4:33、を参照)である。TCRは、細胞の表面上に、又は可溶型として、見出すことができる、及び一般的に、アルファ鎖及びベータ鎖（それぞれ、TCRα及びTCRβ、としても知られる）を、又はγ鎖及びδ鎖（それぞれ、TCRγ及びTCRδ、としても知られる）を、有するヘテロ二量体からなる。免疫グロブリン（例えば、抗体）のように、TCR鎖（例えば、α鎖及びβ鎖）の細胞外部分は、2つの免疫グロブリン・ドメイン：N-末端に、可変ドメイン（例えば、α-鎖可変ドメイン又はV_α、及びβ鎖可変ドメイン又はV_β；典型的には、Kabat番号付けに基づいたアミノ酸1から116（Kabat et al. (1991) "Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, Public Health Service National Institutes of Health, 第5版)）、並びにC-末端に及び細胞膜に近接して、1つの定常ドメイン（例えば、α-鎖定常ドメイン又はC_α、典型的には、Kabatに基づいたアミノ酸117から259、及びβ鎖定常ドメイン又はC_β、典型的には、Kabatに基づいたアミノ酸117から295）、を含む。免疫グロブリンとまた同様に、前記可変ドメインは、骨格領域(「FR」)によって分離された、相補的決定領域（「CDR」、超可変領域又は「HVR」とも呼ばれる）を含む（例えば、Fores et al. (1990) Proc. Natl. Acad Sci. US.A. 87:9138; Chothia et al. (1988) EMBO J. 7:3745; Lefranc et al. (2003) Dev. Comp. Immunol. 27:55、を参照）。いくつかの実施形態では、TCRは、T細胞（又はTリンパ球）の表面上に見出され、CD3複合体と会合する。本発明によって包含されるTCRの供給源は、様々な動物種、例えば、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、又は他の哺乳動物等、に由来することがある。

【０１２７】

用語「T細胞レセプター」又は「TCR」語は、完全なTCR、並びにその抗原-結合部分又は抗原-結合フラグメント、を包含すると理解されるべきである。いくつかの実施形態では、前記TCRは、インタクトな又は完全長のTCR、例えば、αβ型のTCR又はγδ型のTCR等、である。いくつかの実施形態では、前記TCRは、完全長TCRよりも短いが、MHC分子中に結合した特定のペプチドに結合する、例えば、MHC-ペプチド複合体に結合する等、抗原-結合部分である。いくつかの場合では、TCRの抗原-結合部分又はフラグメントは、完全長の又はインタクトなTCRの、構造ドメインの一部のみを含むことがあるが、完全長のTCRが結合する、ペプチド・エピトープ（例えば、MHC-ペプチド複合体等）に、依然として結合することができる。いくつかの場合では、抗原-結合部分は、特定MHC-ペプチド複合体への結合のための結合部位を形成するのに充分な、TCRの可変ドメイン（例えば、TCRの、可変α鎖及び可変β鎖等）を含む。一般的に、TCRの可変鎖は、ペプチド、MHC及び／又はMHC-ペプチド複合体の認識に関与する、相補性決定領域(CDR)、を含む。

【０１２８】

命名法は、国際免疫遺伝学情報システム(International Immunogenetics Information System (IMGT))によって確立された(Scaviner and Lefranc (2000) Exp. Clin. Immunogenet. 17:83-96 and 97-106; Folch and Lefranc (2000) Exp. Clin. Immunogenet, 17:107-114; T Cell Receptor Factsbook", (2001) LeFranc and LeFranc, Academic Press, ISBN 0-12-441352-8も参照)。前記IMGTは、TCRを記載するために使用されるユニーク配列を提供する、及び本出願で記載される配列を、本出願で提供されるそのようなユニーク配列を参照することによって、同定することがある。TCR配列は、imgt.orgのIMGTデータベースで、公に入手可能である。

【０１２９】

上記のように、天然のアルファ／ベータ・ヘテロ二量体TCRは、アルファ鎖及びベータ鎖を有する。概して、それぞれの鎖は、可変領域、連結領域（joining region）、及び定常領域を含む、並びに前記ベータ鎖はまた、通常、可変領域と連結領域との間に、短い多様性領域（diversity region）を含む、しかし、この多様性領域は、しばしば、連

結領域の一部とみなされる。各々の可変領域は、骨格配列に埋め込まれた、3つの超可変CDR(相補性決定領域)を含む。CDR3は、抗原認識の主なメディエーター(mediator)であることがよく知られている。いくつかのタイプのアルファ鎖可変(Vα)領域、及びいくつかのタイプのベータ鎖可変(Vβ)領域があり、これらは、それらの骨格、CDR1及びCDR2配列によって、並びに部分的に定義されたCDR3配列によって、区別される。前記Vαタイプを、IMGT命名法において、固有のTRAV番号によって、参照する。例えば、「TRAV4」は、固有の骨格、並びにCDR1及びCDR2配列、を有する、並びにTCRからTCRまで保存されるアミノ酸配列によって部分的に定義されるが、TCRからTCRまで変化するアミノ酸配列も含む、CDR3配列を有する、TCR Vα領域を定義する。同様に、「TRBV2」は、固有の骨格、並びにCDR1及びCDR2配列、を有するが、部分的に定義されたCDR3配列のみを有する、TCR Vβ領域を定義する。それぞれ、アルファ遺伝子座内に、及びベータ遺伝子座内に、54種のアルファ可変遺伝子が存在すること（そのうち44種が機能的である）、及び67種のベータ可変遺伝子が存在すること（そのうち42種が機能的である）、が知られている。

【０１３０】

同様に、前記TCRの連結領域は、固有のIMGT TRAJ及びTRBJ命名法によって、定義される、並びに前記定常領域は、IMGT TRAC及びTRBC命名法によって、定義される。ベータ鎖多様性領域は、IMGT命名法では、略語TRBDと呼ばれる、及び、記載したように、連結したTRBD/TRBJ領域は、しばしば、一緒に連結領域とみなされる。

【０１３１】

TCRアルファ及びベータ鎖をコードする遺伝子プールは、種々の染色体上に位置し、別個のV、(D)、J及びC遺伝子セグメントを含み、これらは、T細胞発生の過程での再配列によって、一緒になる。これは、54種のTCRアルファ可変遺伝子と61種のアルファJ遺伝子との間、又は67種のベータ可変遺伝子、2種のベータD遺伝子及び13種のベータJ遺伝子との間、で起こる得る多数の組み換え事象のために、T細胞アルファ及びベータ鎖に対して、非常に高度な多様性をもたらす。組み換えプロセスは正確ではなく、前記CDR3領域内に更なる多様性を導入する。各々のアルファ及びベータ可変遺伝子はまた、IMGT命名法において、それぞれTRAVxx*01及び*02、又はTRBVx-x*01及び*02、と命名される対立遺伝子バリアントを含むこともあり、それ故に、多様性の量が更に増加する。同様に、TRBJ配列のいくつかは、2種の既知の多様性を有する。(なお、「*」修飾子がないことは、関連する配列について、1種の対立遺伝子のみが知られていることを意味する)。組み換え及び胸腺選択から生じるヒトTCRの天然のレパートリーは、CDR3多様性から決定される、約10^6種の固有のベータ鎖配列を含むと推定されており(Arstila et al. (1999) Science 286:958-961)、更に高くなることすらあり得る(Robins et al. (2009) Blood 114:4099-4107)。各々のベータ鎖は、少なくとも25種の異なったアルファ鎖と対合すると推定され、それ故に、種々の多様性が生じる(Arstila et al. (1999) Science286:958-961))。

【０１３２】

従って、用語「TCRアルファ可変ドメイン」は、TRAV及びTRAJ領域が連結したもの；TRAV領域のみ；又はTRAV及び一部のTRAJ領域、を指す、並びに用語TCRアルファ定常ドメインは、細胞外TRAC領域、又はC-末端が切り取られた若しくは全長のTRAC配列、を指す。同様に、用語「TCRベータ可変ドメイン」は、TRBV及びTRBD/TRBJ領域が連結したもの；TRBV及びTRBD領域のみ；TRBV及び一部のTRBJ領域のみ；又はTRBV及び一部のTRBD及び／又はTRBJ領域、を指す。並びに、用語TCRベータ定常ドメインは、細胞外TRBC領域、又はC-末端が切り取られた若しくは全長のTRBC配列、を指す。これらのTCRアルファ可変ドメイン及びTCRベータ可変ドメインの命名法は、ガンマ／デルタTCRについて、それぞれ、TCRガンマ及びTCRデルタ鎖の可変ドメインに、同様に、適用される。当業者は、例えば、公的に利用可能なIMGTデータベースを介して等、TRAV、TRAJ、TRAC、TRBV、TRBJ、及びTRBCの遺伝子配列を、得ることができる。

【０１３３】
用語「TCR複合体」は、CD3とTCRとの会合によって形成される複合体を指す。例えば、TCR複合体は、CD3γ鎖、CD3δ鎖、2つのCD3ε鎖、CD3ζ鎖のホモ二量体、TCRα鎖、及びTCRβ鎖、から構成され得る。或いは、TCR複合体は、CD3γ鎖、CD3δ鎖、2つのCD3ε鎖、CD3ζ鎖のホモ二量体、TCRγ鎖、及びTCRδ鎖、から構成され得る。
【０１３４】
用語「治療効果」は、薬学的に活性な物質によって引き起こされる、動物、特に哺乳動物、より具体的にはヒト、における、局所的な又は全身的な効果、を指す。それ故に、その用語は、疾患の診断、治癒、軽減、治療又は予防、の際に、又は動物若しくはヒトにおける、望ましい、身体的な若しくは精神的な、発達及び状態、を向上させる際に、使用することを意図した任意の物質、を意味する。
【０１３５】
用語「治療有効量」及び「有効量」は、任意の治療に適用可能な合理的な利益／リスク比で、少なくともサブ集団の細胞において、何らかの所望の効果（例えば、所望の局所的な又は全身的な治療効果等）をもたらす物質の量を意味する。いくつかの実施形態では、物質の治療有効量は、前記物質の、治療指数、溶解性、薬物動態、半減期、等に依存する。対象化合物の毒性及び治療有効性を、細胞培養又は実験動物における、標準的な薬学的な方法（例えば、LD_{50}及びED_{50}を決定するための方法）によって、決定することがある。いくつかの実施形態では、大きな治療指数を示す化合物を使用する。いくつかの実施形態では、LD_{50}(致死量)を、測定することがあり、例えば、前記薬剤を投与しない場合と比較して、前記薬剤について、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%又はそれ以上、減少することがある。同様に、ED_{50}(即ち、症状(symptom)を、最大の半分で、阻害することができる濃度)を、測定することがあり、例えば、前記薬剤を投与しない場合と比較して、前記薬剤について、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%又はそれ以上、増加することがある。また、同様に、IC_{50}を測定することがあり、例えば、前記薬剤を投与しない場合と比較して、前記薬剤について、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%又はそれ以上、増加することがある。いくつかの実施形態では、アッセイにおけるT細胞免疫応答は、少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又は更に100%、増加することがある。別の実施形態では、ウイルス負荷が、少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又は100%すら、減少することがある。
【０１３６】
用語「治療する」は、関心とする状態（例えば、疾患又は障害）の、治療的な管理又は改善、を指す。治療としては、限定されるものではないが、薬剤又は組成物（例えば、医薬組成物）を対象に投与すること、が挙げられる。治療は、典型的には、前記対象に有益な様式で、疾患（この用語は、任意の疾患、障害、症候群、又は療法を正当化するか若しくは潜在的に正当化する望ましくない症状、を示すために使用される）の経過を変えるために行われる。治療の効果としては、疾患の発症若しくは再発の可能性を、又は疾患の1つ以上の症状(symptom)若しくは兆候(manifestation)を、逆転、軽減、重症度の低減、発症の遅延、治癒、進行の阻害、及び／又は低減、することが挙げられる。治療の望ましい効果としては、限定されるものではないが、疾患の発症又は再発の予防、症状(symptom)の緩和、疾患に関する任意の直接的な又は間接的な病態結果の減少、転移の予防、疾患進行の速度の減少、疾患状態の改善又は緩和、及び寛解又は予後の改善、が挙げられる。治療薬剤を、一般集団のメンバーと比較して、疾患を有する、又は疾患を発症す

るリスクが高い、対象に投与することがある。いくつかの実施形態では、治療薬剤を、疾患を有していたが、もはや疾患のエビデンスを示さない、対象に投与することがある。前記薬剤を、例えば、疾患がはっきりと再発する可能性を低減するために、投与することがある。治療薬剤を、予防的に、即ち、疾患の任意の症状(symptom)又は兆候(manifestation)を発症する以前に、投与することがある。「予防的治療」とは、例えば、疾患が発生する可能性を減らすため、又は疾患が発生した場合に疾患の重症度を減らすために、疾患を発症していないか、又は疾患の証拠を示さない、対象に内科的な及び／又は外科的な治療を提供すること、を指す。前記対象は、前記疾患を発症するリスクがあるとして(例えば、一般集団と比較してリスクが高い、又は疾患を発症する可能性を増大させるリスク・ファクターを有する、として)、同定されていることがある。

【０１３７】

用語「不応答性」としては、治療に対するがん細胞の不応答性、又は刺激（例えば、活性化レセプター又はサイトカインを介する刺激）に対する治療用細胞（例えば、免疫細胞等）の不応答性、が挙げられる。不応答性は、例えば、免疫抑制剤への暴露、又は高用量の抗原への暴露のために、生じることがある。本出願で使用する場合、用語「アネルギー」又は「寛容」としては、活性化レセプター媒介性刺激に対する不応答性、が挙げられる。そのような不応答性は、広く抗原特異的であり、寛容化抗原への曝露が止んだ後も持続する。例えば、T細胞におけるアネルギー（不応答性とは対照的に）は、サイトカイン（例えば、IL-2）産生の欠如、を特徴とする。T細胞アネルギーは、T細胞が抗原に曝露され、且つ第2のシグナル(共-刺激シグナル)の非存在下で第1のシグナル(T細胞レセプター又はCD-3媒介シグナル)を受ける場合に、起こる。これらの条件下では、同じ抗原に前記細胞が再曝露されると（たとえ共-刺激ポリペプチドの存在下で再曝露が起こったとしても)、サイトカインを産生することができず、それ故に増殖することができない。しかしながら、アネルギー性T細胞は、サイトカイン(例えば、IL-2)と共に培養した場合、増殖することがある。例えば、T細胞アネルギーはまた、ELISA又は指標細胞株を使用する増殖アッセイによって測定する場合、Tリンパ球によるIL-2産生の欠如によって、観察されることもある。或いは、レポーター遺伝子構築物を使用してもよい。例えば、アネルギー性T細胞は、5' IL-2遺伝子エンハンサーの制御下で異種プロモーターによって、又は前記エンハンサー内に見出され得るAP1配列の多量体によって、誘導されるIL-2遺伝子の転写を、開始することができない(Kang et al. (1992) Science 257:1134)。

【０１３８】

用語「可変領域」又は「可変ドメイン」は、免疫グロブリン・スーパーファミリー結合タンパク質(例えば、TCR)が抗原に結合することに関与する、免疫グロブリン・スーパーファミリー結合タンパク質（例えば、TCR α-鎖若しくはβ-鎖(又はγδ TCRのγ鎖及びδ鎖)）のドメインを指す。天然TCRのα鎖及びβ鎖の可変ドメイン(それぞれ、Vα及びVβ)は、一般に、類似した構造を有し、各々のドメインは、4つの保存された骨格領域(FR)及び3つのCDR、を含む。Vαドメインは、2つの別々のDNAセグメント、可変遺伝子セグメント及び連結遺伝子セグメント(V-J)によってコードされる；Vβドメインは、3つの別々のDNAセグメント、可変遺伝子セグメント、多様性遺伝子セグメント、及び連結遺伝子セグメント(V-D-J)によってコードされる。単一のVα又はVβドメインは、抗原-結合特異性を付与するのに充分であり得る。更に、特定の抗原に結合するTCRを、相補的なVα又はVβドメインのライブラリをスクリーニングするために、それぞれ、前記抗原に結合するTCRに由来するVα又はVβドメインを使用して、単離することがある。

【０１３９】

用語「ベクター」は、それに連結している別の核酸を輸送することができる核酸分子を指す。いくつかの実施形態では、ベクターは、エピソーム、即ち、染色体-外の複製が可能な核酸である。いくつかの実施形態では、ベクターは、それに連結している核酸の自律的な複製が及び／又は発現が可能なベクター、である。遺伝子の発現を指示することができるベクター（遺伝子は、ベクターに、作動可能に、連結している）を、本出願において

、「発現ベクター」と呼ぶ。概して、組み換えDNA技術において有用な発現ベクターは、しばしば、「プラスミド」（一般に環状二本鎖DNAループを指し、それらのベクターの形態では、染色体に結合していない）の形態である。本明細書において、プラスミドがベクターの最も一般的に使用される形態であるので、「プラスミド」及び「ベクター」を、互換的に使用する。しかし、当業者によって理解されるように、本発明は、均等な機能を果たし、その後当技術分野で既知になるような、他の形態の発現ベクター、を含むことが意図される。

【０１４０】

特定のタンパク質のアミノ酸配列と、前記タンパク質をコードすることができるヌクレオチド配列との間には、遺伝コードによって定義されるように(以下に示す)、既知の明確な対応がある。同様に、特定の核酸のヌクレオチド配列と、その核酸によってコードされるアミノ酸配列との間には、遺伝コードによって定義されるように、既知の明確な対応がある。

【０１４１】

遺伝コード

アラニン(Ala、A)	GCA、GCC、GCG、GCT
アルギニン(Arg、R)	AGA、ACG、CGA、CGC、CGG、CGT
アスパラギン(Asn、N)	AAC、AAT
アスパラギン酸(Asp, D)	GAC、GAT
システイン(Cys、C)	TGC, TGT
グルタミン酸(Glu, E)	GAA、GAG
グルタミン(Gln、Q)	CAA、CAG
グリシン(Gly、G)	GGA、GGC、GGG、GGT
ヒスチジン(His、H)	CAC、CAT
イソロイシン(Ile、I)	ATA、ATC、ATT
ロイシン(Leu、L)	CTA、CTC、CTG、CTT、TTA、TTG
リジン(Lys、K)	AAA、AAG
メチオニン(Met、M)	ATG
フェニルアラニン(Phe、F)	TTC, TTT
プロリン(プロ、P)	CCA、CCC、CCG、CCT
セリン(Ser、S)	AGC、AGT、TCA、TCC、TCG、TCT
スレオニン(Thr、T)	ACA、ACC、ACG、ACT
トリプトファン(Trp、W)	TGG
チロシン(Tyr、Y)	TAC、TAT
バリン(Val、V)	GTA、GTC、GTG、GTT
終止シグナル(終止)	TAA、TAG、TGA

【０１４２】

遺伝コードの、重要な且つ既知の特徴は、その冗長性であり、それによって、タンパク質を作製するために使用されるアミノ酸の大部分について、2つ以上のコーディング・ヌクレオチド・トリプレットが使用され得る（上記した）。従って、いくつかの様々なヌクレオチド配列が、所与のアミノ酸配列をコードし得る。そのようなヌクレオチド配列は、すべての生物において、同じアミノ酸配列の産生をもたらすので、機能的に均等であると考えられる（しかし、ある種の生物は、ある種の配列を、他の生物よりも効率的に、翻訳することができる）。更に、時折、プリン又はピリミジンのメチル化バリアントが、所与のヌクレオチド配列中に見出されることがある。そのようなメチル化は、トリヌクレオチド・コドンとその対応するアミノ酸との間のコード関係に、影響を及ぼすことは無い。

【０１４３】

上記を考慮して、バイオマーカー核酸（又はその任意の一部）をコードするDNA又はRNAのヌクレオチド配列は、DNA又はRNAをアミノ酸配列に翻訳するために遺伝コードを使用して、ポリペプチドアミノ酸配列を誘導するために使用され得る。同様に、ポリペプ

チド・アミノ酸配列について、前記ポリペプチドをコードすることがある対応するヌクレオチド配列を、前記遺伝コードから推定することができる（これは、その冗長性のために、任意の所与のアミノ酸配列について、複数の核酸配列が生成される）。従って、ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列に関する本出願における記載及び／又は開示は、前記ヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列の記載及び／又は開示も含む、と考えるべきである。同様に、本出願におけるポリペプチド・アミノ酸配列の記載及び／又は開示は、前記アミノ酸配列をコードすることができる、全ての考えられるヌクレオチド配列の記載及び／又は開示も含む、と考えるべきである。

【０１４４】

II.結合タンパク質

本発明によって包含される態様では、本出願は、MHC分子(例えば、MHCクラスI分子)に関連してHA-1免疫原性ペプチドを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体に、（例えば、特異的に及び／又は選択的に）結合する、結合タンパク質を提供する。いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、約$5x10^{-4}$ M以下、約$1x10^{-4}$ M以下、約$5x10^{-5}$M以下、約$1x10^{-5}$ M以下、約$5x10^{-6}$ M以下、約$1x10^{-6}$M以下、約$5x10^{-7}$ M以下、約$1x10^{-7}$ M以下、約$5x10^{-8}$M以下、約$1x10^{-8}$ M以下、約$5x10^{-9}$ M以下、約$1x10^{-9}$M以下、約$5x10^{-10}$ M以下、約$1x10^{-10}$ M以下、約$5x10^{-11}$M以下、約$1x10^{-11}$ M以下、約$5x10^{-12}$ M以下、約$1x10^{-12}$M以下、又は、間の、包含的な、任意の範囲、例えば、約1-50 μM、1-100 μM、0.1-500 μM、の間等の、Kdで、HA-1ペプチド-MHC(pMHC)複合体に、（例えば、特異的に及び／又は選択的に）結合することができる。いくつかの実施形態では、前記MHC分子は、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖、を含む。いくつかの実施形態では、HLA対立遺伝子を、HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*0203、HLA-A*0205、HLA-A*0206、及びHLA-A*207対立遺伝子からなる群より選択する。特定の実施形態では、HLA対立遺伝子は、HLA-A*0201である。いくつかの実施形態では、本出願で提供される結合タンパク質は、遺伝子操作されている、単離されている、及び／又は精製されている。

【０１４５】

いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、HA-1ペプチド-MHC(pMHC)に対して、既知のT-細胞レセプター（例えば、本出願に記載されるフレッド・ハッチンソンTCR [Fred Hutchinson TCR])が有しているよりも、より高い結合親和性を有する。例えば、前記結合タンパク質は、HA-1ペプチド-MHC(pMHC)に対して、既知のT-細胞レセプター（例えば、本出願に記載されるフレッド・ハッチンソンTCR [Fred Hutchinson TCR])が有しているよりも、少なくとも1.2倍、1.5倍、1.8倍、2.0倍、2.2倍、2.5倍、2.8倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、5.5倍、6倍、6.5倍、7倍、7.5倍、8倍、8.5倍、9倍、9.5倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍、1000倍、5000倍、10000倍、50000倍、100000倍、500000倍、1000000倍、若しくはそれを越えて、又は、間の、包含的な、任意の範囲、例えば、1.2倍から2倍、等、より高い結合親和性を有する。

【０１４６】

いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、HA-1の発現が一定以下であるターゲット細胞と接触させた場合、既知のT-細胞レセプター（例えば、本出願に記載されるフレッド・ハッチンソンTCR [Fred Hutchinson TCR])が有しているよりも、より高いT細胞増殖、サイトカイン放出、及び／又は細胞傷害性傷害(cytotoxic killing)、を誘導する。例えば、本出願に記載される任意の態様の実施形態では、HA-1レベルを、100万当たりの転写物(transcript per million transcripts (TPM))、として、表すことがある、並びに、例えば、約1000 TPM以下、950 TPM、900 TPM、850 TPM、800 TPM、750 TPM、700 TPM、650 TPM、600 TPM、550 TPM、500 TPM、450 TPM、400 TPM、350 TPM、300 TPM、250 TPM、200 TPM、150 TPM、100 TPM、95 TPM、90 TPM、85 TPM、80 TPM、75 TPM、70 TPM、6

5 TPM、60 TPM、55 TPM、50 TPM、45 TPM、40 TPM、35 TPM、34 TPM、33 TPM、32 TPM、31 TPM、30 TPM、29 TPM、28 TPM、27 TPM、26 TPM、25 TPM、24 TPM、23 TPM、22 TPM、21 TPM、20 TPM、19 TPM、18 TPM、17 TPM、16 TPM、15 TPM、14 TPM、13 TPM、12 TPM、11 TPM、10 TPM、9 TPM、8 TPM、7 TPM、6 TPM、5 TPM、4 TPM、3 TPM、2 TPM、及び1 TPM、又は、間の、包含的な、任意の範囲、例えば、約1000 TPM以下から約35TPM以下、であることがある。いくつかの実施形態では、低いHA-1発現レベルは、「ヘテロ接合性発現」と呼ばれ、約1TPMと約35 TPMとの間、又は、間の、包含的な、任意の範囲、例えば、32 TPM若しくは1-32TPM、等、を意味する。より高い発現は、36 TPM以上である。本出願に更に記載されるように、TPMを、周知の技術（例えば、RNA-Seq等）に従って測定する、及び遺伝子発現TPMデータは、様々な細胞株、組織型、等について、当技術分野で周知である（例えば、portals.broadinstitute.orgのワールド・ワイド・ウェブ上にある、he Broad Institute Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE)を参照されたい)。いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、HA-1がヘテロ接合性に発現しているターゲット細胞と接触させた場合、T細胞の増殖、サイトカインの放出、及び／又は細胞傷害性傷害は、既知のT-細胞レセプター（例えば、本出願に記載されるフレッド・ハッチンソンTCR [Fred Hutchinson TCR])が増加させるよりも、少なくとも1.2倍、1.5倍、1.8倍、2.0倍、2.2倍、2.5倍、2.8倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、5.5倍、6倍、6.5倍、7倍、7.5倍、8倍、8.5倍、9倍、9.5倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍、1000倍、若しくはそれを越えて、又は、間の、包含的な、任意の範囲、例えば、1.2倍から2倍まで、増加させる。

【０１４７】

いくつかの実施形態では、HA-1の発現を、RNA-シークエンシング(RNA-seq)を用いて、検出する。RNA-seqは、一般に、以下のステップを含む：遺伝物質を含むサンプルを得るステップ、得られたサンプルから全RNAを単離するステップ、前記全RNAから増幅済みcDNAライブラリを調製するステップ、前記増幅済みcDNAライブラリをシークエンシングするステップ、及び様々な転写物の発現レベルを評価するために、前記増幅済みcDNAを、解析するステップ及びプロファイリングするステップ。前記サンプルは、細胞の集団、組織サンプル、生検サンプル、細胞培養物、又は単一の細胞、であることがある。全RNAを、当技術分野で既知の任意の方法を用いて、生物学的サンプルから単離することができる。ある特定の実施形態では、全RNAを、血漿から抽出する。血漿RNAの抽出は、Enders et al., “The Concentration of Circulating Corticotropin-Releasing Homer mRNA in Material Plasma Is Inclined in Preclampsia,” Clinr、に記載されている。そこに記載されているように、遠心分離ステップ後に回収された血漿を、Trizol LS試薬(Invitrogen)及びクロロホルムと、混合する。その混合物を、遠心分離し、水層を新しいチューブに移す。この水層に、エタノールを加える。次いで、その混合物を、RNeasyミニカラム(Qiagen)に入れ、製造業者の推奨に従って、処理する。

【０１４８】

いくつかの実施形態では、本出願に記載されるRNA-seqは、全RNAから増幅済みcDNAを調製するステップを含む。例えば、cDNAを調製し、単離したRNAサンプルを希釈せずに無作為に増幅する、又は単離したRNA中の遺伝物質の混合物を、個々の反応サンプルの中に分散させる。ある特定の実施形態では、mRNA及び非-ポリアデニル化転写物の両方を増幅するために、前記サンプル中の、転写物の3'末端で、及び転写物全体にわたって、増幅を、無作為に開始させる。このようにして、次世代シークエンシング・プラットフォームのためのシークエンシング・ライブラリを生成するために、二本鎖cDNA増幅産物を、最適化する。本発明が包含する方法による、cDNAの増幅に適したキットとしては、例えば、Ovation（登録商標） RNA-Seqシステム、が挙げられる。

【０１４９】
いくつかの実施形態では、本出願に記載されるRNA-seqは、前記増幅済みcDNAをシークエンシングするステップを含む。任意の既知のシークエンシング方法を用いて、増幅済みcDNA混合物をシークエンシングすることがあり、例えば、単一分子シークエンシング法、等が挙げられる。ある特定の実施形態では、前記増幅済みcDNAを、全トランスクリプトーム・ショットガン・シークエンシング（whole transcriptome shotgun sequencing）によって、シークエンシングする。全トランスクリプトーム・ショットガン・シークエンシングを、様々な次世代シークエンシング・プラットフォーム（例えば、Illumina(登録商標)Genome Analyzerプラットフォーム、ABI SOLiD^{TM}シークエンシング・プラットフォーム、又はLife Scienceの454シークエンシング・プラットフォーム、等）を使用して、行うことがある。
【０１５０】
いくつかの実施形態では、本出願に記載されるRNA-seqは、更に、cDNAに対して、デジタル計数を行うことを、及び解析を行うことを、含む。増幅済みサンプル中の各々の転写物についての増幅済み配列の数を、配列の読み取り（増幅済みストランド（strand）当たりの1つの読み取り）によって、定量化することがある。いくつかの実施形態では、100万当たりの転写物(transcript per million transcripts (TPM))を使用して、特定の転写物の発現レベルを、定量化する。TPMを、Wagner et al. (2012) Theory in Biosciences 131:281-285に示されるように、計算することができ、その内容は、その全体が本出願に参照により取り込まれる
【０１５１】
いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、HA-1^{R}ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合しない、一方、前記HA-1^{R}ペプチドは、アミノ酸配列VLRDDLLEAを含む。
【０１５２】
いくつかの実施形態では、結合タンパク質がCCDC114ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合しない。
【０１５３】
いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、以下を含む（例えば、以下を含む、以下から本質的になる、又は以下からなる）：a)表１に列挙されるTCRアルファ配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを越えて、の同一性を有する、TCRアルファ鎖配列；及び／又はb) 表１に列挙されるTCRベータ配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを越えて、の同一性を有する、TCRベータ配列。
【０１５４】
いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、以下を含む（例えば、以下を含む、以下から本質的になる、又は以下からなる）： a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖配列；及び／又はb)表１に列挙されるTCRベータ鎖配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖配列。
【０１５５】
いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、以下を含む（例えば、以下を含む、以下から本質的になる、又は以下からなる）： a)表１に列挙されるTCR Vαドメイン配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖可変(Vα)ドメイン配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えた同一性を有するTCRアルファ鎖可変(Vα)ドメイン配列；及び／又はb) 表１に列挙されるTCR Vβドメイン配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖可変(Vβ)ドメイン配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、

89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えた同一性を有するTCRベータ鎖可変(Vβ)ドメイン配列。

【0156】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、以下を含む（例えば、以下を含む、以下から本質的になる、又は以下からなる）：a)表1に列挙されるTCR Vαドメイン配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖可変(Vα)ドメイン配列；及び／又はb)表1に列挙されるTCR Vβドメイン配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖可変(Vβ)ドメイン配列。

【0157】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、表1に列挙されるTCRアルファ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖CDR配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを越えた同一性を有する、少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ又は3つ、例えば、CDR3単独、又はCDR1及びCDR2との組み合わせ）のTCRアルファ鎖相補性決定部位(CDR)配列、を含む（例えば、を含む、から本質的になる、又はからなる）。CDR3は、プロセシングを受けた抗原を認識することを担う主要なCDRであると考えられる、並びにCDR1及びCDR2は、MHCと主に相互作用する。そうして、いくつかの実施形態では、表1に列挙される、TCRアルファ鎖由来のCDR3単独、及び／又はTCRベータ鎖由来のCDR3単独、を含む結合タンパク質、が提供され、各々のCDR3は、この段落に列挙されるような配列相同性を有する。

【0158】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質はまた、表1に列挙されるTCRベータ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖CDR配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを越えた同一性を有する、少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ又は3つ、例えば、CDR3単独、又はCDR1及びCDR2との組み合わせ）のTCRベータ鎖相補性決定部位(CDR)配列、を含むこともある（例えば、を含むこともある、から本質的になることもある、又はからなることもある）。上記のように、CDR3は、プロセシングを受けた抗原を認識することを担う主要なCDRであると考えられる、並びにCDR1及びCDR2は、MHCと主に相互作用する。そうして、いくつかの実施形態では、表1に列挙される、TCRベータ鎖由来のCDR3単独、及び／又はTCRアルファ鎖由来のCDR3単独、を含む結合タンパク質、が提供され、各々のCDR3は、この段落に列挙されるような配列相同性を有する。

【0159】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、表1に列挙される、少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ又は3つ）のアルファ鎖相補性決定部位、を含む（例えば、を含む、から本質的になる、又はからなる）。

【0160】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質はまた、表1に列挙される、少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ又は3つ）のベータ鎖相補性決定部位、を含むこともある（例えば、を含むこともある、から本質的になることもある、又はからなることもある）。

【0161】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、表1に列挙される、TCR Cα配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えた、同一性を有する、TCRアルファ鎖定常領域(Cα)配列、を含む（例えば、を含む、から本質的になる、又はからなる）。

【0162】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、表１に列挙される、TCR Cβ配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えた、同一性を有する、TCRベータ鎖定常領域(Cβ)配列、を含むこともある（例えば、を含むこともある、から本質的になることもある、又はからなることもある）。

【０１６３】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、表１に列挙される、TCR Cα 配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖定常領域(Cα)配列、を含む（例えば、を含む、から本質的になる、又はからなる）。

【０１６４】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、表１に列挙される、TCR Cβ 配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖定常領域(Cβ)配列、を含むこともある（例えば、を含むこともある、から本質的になることもある、又はからなることもある）。

【０１６５】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、キメラ、ヒト化、ヒト、霊長類、又はげっ歯類（例えば、ラット又はマウス）である、定常領域を含む。例えば、ヒト可変領域を、マウス定常領域と、キメラ化することがある、又はマウス可変領域を、ヒト定常領域及び／又はヒト骨格領域と、ヒト化することがある。いくつかの実施形態では、前記定常領域に変異を入れて、機能を改変することがある（例えば、TCRアルファとベータ鎖との間の親和性を増大させるのに有用なジスルフィド結合を提供するために、TCRアルファ及びベータ鎖において、対向する残基位置における非-天然のシステイン置換を導入する）。同様に、前記定常領域の膜貫通ドメインに変異を入れて、機能を改変することがある（例えば、ある残基を、疎水性アミノ酸に、天然に存在しない置換をすることによって、疎水性を増大させる）。いくつかの実施形態では、変異を前記定常領域に入れて、細胞表面での発現を増大させることがある。

【０１６６】

［表１］

表１

HA1-TSC-100 野生型配列(「TCR-100a」と同じCDR)：

アルファ鎖：

TRAV21/TRAJ40/TRAC

METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTQIPAALSVPEGENLVLNCSFTDSAIYNLQWFRQDPGKGLTSLLLIQSSQREQTSGRLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYLCAVRGGTSGTYKYIFGTGTRLKVLANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpspesscdvklveksfetdtnlnfqnlsvigfrilllkvagfnllmtlrlws

（配列番号：1(SEQ ID NO: 1)）

ベータ鎖:

TRBV7-9/TRBJ2-3/TRBC1

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASSRTAGDTQYFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepseaeishtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgftsvsyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf

（配列番号：2(SEQ ID NO: 2)）

HA1-TSC-100 CDTM配列(「TCR-100a」としても知られる):

アルファ鎖:

TRAV21/TRAJ40

METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTQIPAALSVPEGENLVLNCSFTDSAIYNLQWFRQ
DPGKGLTSLLLIQSSQREQTSGRLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYLCAVRGGT
SGTYKYIFGTGTRLKVLANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitd
ktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfq
nllvivlrilllkvagfnllmtlrlws

（配列番号：3(SEQ ID NO: 3)）

ベータ鎖:

TRBV7-9/TRBJ2-3

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYR
QTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCAS
SRTAGDTQYFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelsw
wvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtq
drakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf

（配列番号：4(SEQ ID NO: 4)）

HA1-1-12 CDTM 配列:

アルファ鎖:

TRAV20/TRAJ52

MEKMLECAFIVLWLQLGWLSGEDQVTQSPEALRLQEGESSSLNCSYTVSGLRGLFW
YRQDPGKGPEFLFTLYSAGEEKEKERLKATLTKKESFLHITAPKPEDSATYLCAVHLN
AGGTSYGKLTFGQGTILTVHPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdv
yitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtn
lnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws

（配列番号：5(SEQ ID NO: 5)）

ベータ鎖:

TRBV5-5/TRBJ1-2

MGPGLLCWVLLCLLGAGPVDAGVTQSPTHLIKTRGQHVTLRCSPISGHKSVSWYQQ
VLGQGPQFIFQYYEKEERGRGNFPDRFSARQFPNYSSELNVNALLLGDSALYLCASSF
DRGTNGYTFGSGTRLTVVedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelsww
vngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdr
akpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf

（配列番号：6(SEQ ID NO: 6)）

HA1-9-46 CDTM 配列:

アルファ鎖:

TRAV13-1/TRAJ43

MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQ
ELGKRPQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYFCAASIMRF
GAGTRLTVKPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsm
dfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilll
kvagfnllmtlrlws

（配列番号：7(SEQ ID NO: 7)）

ベータ鎖:

TRBV7-9/TRBJ2-1

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQNPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYR
QTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCAS
SLSVVDEQFFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelsw
wvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtq
drakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf

（配列番号：8(SEQ ID NO: 8)）

HA1-9-105 CDTM 配列:

アルファ鎖:

TRAV13-1/TRAJ26
MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQ
ELGKRPQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYFCAVGQNF
VFGPGTRLSVLPYiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmr
smdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlr
illlkvagfnllmtlrlws
(配列番号：9(SEQ ID NO: 9))
ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ1-1
MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYR
QTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCAS
SPTTINEAFFGQGTRLTVVedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelsw
wvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtq
drakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf
(配列番号：10(SEQ ID NO: 10))
HA1-10-104 CDTM 配列:
アルファ鎖:
TRAV8-3/TRAJ52
MLLELIPLLGIHFVLRTARAQSVTQPDIHITVSEGASLELRCNYSYGATPYLFWYVQS
PGQGLQLLLKYFSGDTLVQGIKGFEAEFKRSQSSFNLRKPSVHWSDAAEYFCAVANA
GGTSYGKLTFGQGTILTVHPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyi
tdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnln
fqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws
(配列番号：11(SEQ ID NO: 11))
ベータ鎖:
TRBV6-2/TRBJ2-1
MSLGLLCCGAFSLLWAGPVNAGVTQTPKFRVLKTGQSMTLLCAQDMNHEYMYWYR
QDPGMGLRLIHYSVGEGTTAKGEVPDGYNVSRLKKQNFLLGLESAAPSQTSVYFCAS
GRSGTKFFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwv
ngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdra
kpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf
(配列番号：12(SEQ ID NO: 12))
HA1-10-93 CDTM 配列:
アルファ鎖:
TRAV13-1/TRAJ49
MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQ
ELGKRPQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYFCPIRQFYF
GTGTSLTVIPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsm
dfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilll
kvagfnllmtlrlws
(配列番号：13(SEQ ID NO: 13))
ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ2-3
MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYR
QTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCAS
SLVVVDTQYFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelsw
wvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtq
drakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf
(配列番号：14(SEQ ID NO: 14))
HA1-2-23 CDTM 配列:

アルファ鎖:

TRAV21/TRAJ40

METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTQIPAALSVPEGENLVLNCSFTDSAIYNLQWFRQ
DPGKGLTSLLLIQSSQREQTSGRLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYLCAVRPTT
SGTYKYIFGTGTRLKVLANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitd
ktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfq
nllvivlrilllkvagfnllmtlrlws

（配列番号：15(SEQ ID NO: 15)）

ベータ鎖:

TRBV7-9/TRBJ1-1

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYR
QTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCAS
ILVGGTEAFFGQGTRLTVVedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelsw
wvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtq
drakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf

（配列番号：16(SEQ ID NO: 16)）

HA1-10-34 野生型配列（“TCR-100b”と同じCDR):

アルファ鎖:

TRAV13-1/TRAJ40

MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQ
ELGKRPQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYFCAARGPG
TYKYIFGTGTRLKVLANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktv
ldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpspesscdvklveksfetdtnlnfqnls
vigfrilllkvagfnllmtlrlws

（配列番号：17(SEQ ID NO: 17)）

ベータ鎖:

TRBV7-9/TRBJ2-1

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYR
QTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASV
AGTVYNEQFFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepseaeishtqkatlvclatgffpdhvelsw
wvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtq
drakpvtqivsaeawgradcgftsvsyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf

（配列番号：18(SEQ ID NO: 18)）

HA1-10-34 CDTM 配列（“TCR-100b”としても知られる): TCR-100b

アルファ鎖:

TRAV13-1/TRAJ40

MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQ
ELGKRPQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYFCAARGPG
TYKYIFGTGTRLKVLANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktv
ldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnll
vivlrilllkvagfnllmtlrlws

（配列番号：19(SEQ ID NO: 19)）

ベータ鎖:

TRBV7-9/TRBJ2-1

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYR
QTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASV
AGTVYNEQFFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelsw
wvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtq
drakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf

（配列番号：20(SEQ ID NO: 20)）

HA1-10-26 wild type 配列 (“TCR-100c”と同じCDR):
アルファ鎖:
TRAV13-1/TRAJ28
MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQ
ELGKRPQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYFCAASGLG
SGAGSYQLTFGKGTKLSVIPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyi
tdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpspesscdvklveksfetdtnln
fqnlsvigfrilllkvagfnllmtlrlws
(配列番号：21(SEQ ID NO: 21))
ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ1-4
MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYR
QTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCAS
SLLAGEKLFFGSGTQLSVLedlnkvfppevavfepseaeishtqkatlvclatgffpdhvelsww
vngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdr
akpvtqivsaeawgradcgftsvsyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf
(配列番号：22(SEQ ID NO: 22))
HA1-10-26 CDTM 配列 (“TCR-100c”としても知られる):
アルファ鎖:
TRAV13-1/TRAJ28
MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQ
ELGKRPQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYFCAASGLG
SGAGSYQLTFGKGTKLSVIPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyi
tdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnln
fqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws
(配列番号：23(SEQ ID NO: 23))
ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ1-4
MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYR
QTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCAS
SLLAGEKLFFGSGTQLSVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelsww
vngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdr
akpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf
(配列番号：24(SEQ ID NO: 24))
HA1-2-21 CDTM 配列:
アルファ鎖:
TRAV25/TRAJ29
MLLITSMLVLWMQLSQVNGQQVMQIPQYQHVQEGEDFTTYCNSSTTLSNIQWYKQ
RPGGHPVFLIQLVKSGEVKKQKRLTFQFGEAKKNSSLHITATQTTDVGTYFCAGPSG
NTPLVFGKGTRLSVIANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktv
ldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnll
vivlrilllkvagfnllmtlrlws
(配列番号：25(SEQ ID NO: 25))
ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ2-1
MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYR
QTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCAS
SLLTTNEQFFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelsw
wvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtq
drakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf

（配列番号：26(SEQ ID NO: 26)）
HA1-6-2 CDTM 配列:
アルファ鎖:
TRAV38-1/TRAJ28
MTRVSLLWAVVVSTCLESGMAQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCTYDTSESNYYLFW
YKQPPSRQMILVIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAAKSFSLKISDSQLGDTAMYFCA
LYSGAGSYQLTFGKGTKLSVIPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdv
yitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtn
lnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws
（配列番号：27(SEQ ID NO: 27)）
ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ2-1
MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYR
QTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCAS
FELAGGYEQFFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvels
wwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewt
qdrakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf
（配列番号：28(SEQ ID NO: 28)）
【０１６７】
［表２］
表２
HA1-フレッド・ハッチ（Fred Hutch） 配列:
アルファ鎖（T48C改変を有する）
TRAV21/TRAJ40/TRAC
METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTQIPAALSVPEGENLVLNCSFTDSAIYNLQWFRQ
DPGKGLTSLLLIQSSQREQTSGRLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYLCAVIGLG
GTYKYIFGTGTRLKVLANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdk
cvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpspesscdvklveksfetdtnlnfqn
lsvigfrilllkvagfnllmtlrlws
（配列番号：29(SEQ ID NO: 29)）
ベータ鎖（S57C改変を有する）
TRBV7-9/TRBJ2-3/TRBC1
MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYR
QTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCAS
SLVKGEKLFFGSGTQLSVLedlnkvfppevavfepseaeishtqkatlvclatgffpdhvelsww
vngkevhsgvctdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdr
akpvtqivsaeawgradcgftsvsyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf
（配列番号：30(SEQ ID NO: 30)）
【０１６８】
* 表１が提供する代表的なTCR配列は、グループ分けされている（MHC血清型提示に従ってグループ分けされている）、及びサブ-グループ分けされている（MHC血清型が提示する、及びそのサブグループ分けされたTCRが結合する、種々のペプチド、に従ってサブ-グループ分けされている）。個々のTCR（例えば、表中に代表的に例示されているもの）が、記載される、及び特許請求がされる、並びに、単独である、又はMHC（例えば、本出願で提供される表中でグループ分けされているMHC等）との複合体である、本出願に記載されるペプチド・エピトープ配列、に結合する結合タンパク質の属も同様に、記載される、及び特許請求がされる。更に、本出願に記載される各々のTCRアルファ鎖に対する、TRAV、TRAJ、及びTRAC遺伝子、並びに本出願に記載される各々のTCRベータ鎖に対する、TRBV、TRBJ、及びTRBC遺伝子、が提供される。本出願に記載される各々のTCRの配列は、命名されているTCRの各々について、同族のアルファ鎖及びベー

タ鎖の一対として、提供される。本出願に記載されるTCR配列には、注釈がつけられている。可変ドメイン配列は、大文字にしてある。定常ドメイン配列は、小文字である。CDR1、CDR2、及びCDR3配列は、太字及び下線付きのテキストを使用して、注釈が付けられている。CDR1、CDR2、及びCDR3を、左側(N末端)から右側(C末端)への体裁、という標準的な順序で示す。本出願に記載される各々のTCRアルファ鎖のTRAV、TRAJ、及びTRAC遺伝子、並びに本出願に記載される各々のTCRベータ鎖のTRBV、TRBJ、及びTRBC遺伝子は、本出願に記載される既知のIMGT命名法に従って、注釈が付けられている。

【０１６９】

［表３］

表3

ベクター：pTSLV102-MSCV-HA1-10-30-MGTM-Q-CD8：
(配列番号(SEQ ID NO): 31)

tggaagggctaattcactcccaaagaagacaagatatccttgatctgtggatctaccacacacaaggc
tacttccctgattagcagaactacacaccagggccaggggtcagatatccactgacctttggatggtg
ctacaagctagtaccagttgagccagataaggtagaagaggccaataaaggagagaacaccagcttg
ttacaccctgtgagcctgcatgggatggatgacccggagagagaagtgttagagtggaggtttgaca
gccgcctagcatttcatcacgtggcccgagagctgcatccggagtacttcaagaactgctgatatcga
gcttgctacaagggactttccgctggggactttccagggaggcgtggcctgggcgggactggggagt
ggcgagccctcagatcctgcatataagcagctgctttttgcctgtactgggtctctctggttagaccag
atctgagcctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttga
gtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagt
cagtgtggaaaatctctagcagtggcgcccgaacagggacttgaaagcgaaagggaaaccagaggga
gctctctcgacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgaggggcggcgactggt
gagtacgccaaaaattttgactagcggaggctagaaggagagagatgggtgcgagagcgtcagtatt
aagcgggggagaattagatcgcgatgggaaaaaattcggttaaggccaggggaaagaaaaaatat
aaattaaaacatatagtatgggcaagcagggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttaga
aacatcagaaggctgtagacaaatactgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaa
cttagatcattatataatacagtagcaaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacacc
aaggaagctttagacaagatagaggaagagcaaaacaaaagtaagaccaccgcacagcaagcggcc
ggccgctgatcttcagacctggaggaggagatatgagggacaattggagaagtgaattatataaatat
aaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcacccaccaaggcaaagagaagagtggtgcagaga
gaaaaaagagcagtgggaataggagctttgttccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgg
gcgcagcgtcaatgacgctgacggtacaggccagacaattattgtctggtatagtgcagcagcagaa
caatttgctgagggctattgaggcgcaacagcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagc
tccaggcaagaatcctggctgtggaaagatacctaaaggatcaacagctcctggggatttggggttgc
tctggaaaactcatttgcaccactgctgtgccttggaatgctagttggagtaataaatctctggaacag
atttggaatcacacgacctggatggagtgggacagagaaattaacaattacacaagcttaatacactc
cttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaattattggaattagataaatggg
caagtttgtggaattggtttaacataacaaattggctgtggtatataaaattattcataatgatagtagg
aggcttggtaggtttaagaatagttttgctgtactttctatagtgaatagagttaggcagggatattca
ccattatcgtttcagacccacctcccaaccccgaggggacccgacaggcccgaaggaatagaagaag
aaggtggagagagagacagagacagatccattcgattagtgaacggatctcgacggtatcgccgaat
taattcacaaatggcagtattcatccacaattttaaaagaaaaggggggattgggggtacagtgcag
gggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaactaaagaattacaaaaacaaattacaaa
aattcaaaattttcgggtttattacaggCGcGCcagagatccagtttggacCTgcAGGTGAAAGA
CCCCACCTGTAGGTTTGGCAAGtTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCATGGAA
AATACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTTAGGAACAGAGAGACAGCA
GAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCC
AAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGCGAACCATC

AGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTA
ACCAATCAGTTtGCTTCTTtGCTTCTGTTTtGtGtGCTTCTGCTCCCtGAGCTCAATAAA
AGAGCCCACAACCCCTCACTTtGGtGgGCCAGTCCTCtGATAGACTGtGTCcCCtGGaT
ACCCGTAcggtaccgctagcgccaccATGGGCACCAGCCTCCTCTGCTGGATGGCCCTG
TGTCTCCTGGGGGCAGATCACGCAGATACTGGAGTCTCCCAGGACCCCAGACACAA
GATCACAAAGAGGGGACAGAATGTTACTTTCAGGTGTGATCCAATTTCTGAACACA
ACCGCCTTTATTGGTACCGCCAGACCCTGGGGCAGGGCCCAGAGTTTCTGACTTAC
TTCCAGAATGAAGCTCAACTTGAAAAATCAAGGCTGCTCAGTGATCGGTTCTCTGC
AGAGAGGCCTAAGGGATCTTTCTCCACCTTGGAGATCCAGCGCACAGAGCAGGGGG
ACTCTGCCATGTATCTCTGTGCCAGCAGCCGCACTGCTGGAGATACTCAGTATTTT
GGCCCAGGCACCCGGCTGACAGTGCTCGAAGATCTGAACAAGGTGTTCCCTCCAGA
GGTGGCCGTGTTCGAGCCTTCTaAGGCCGAGATCgccCACACaCAaAAAGCCACCCT
CGTGTGCCTGGCCACCGGCTTTTTCCCCGACCACGTGGAACTGTCTTGGTGGGTCA
ACGGCAAAGAGGTGCACTCCGGCGTGtcAACgGATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGC
CTGCCCTGAACGACAGCCGGTACTGCCTGAGCTCCAGACTGAGAGTGTCCGCCACC
TTCTGGCAGAACCCCCGGAACCACTTCAGATGCCAGGTGCAGTTTTACGGCCTGAG
CGAGAACGACGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACACAAATCGTGTCTG
CCGAAGCCTGGGGAAGAGCCGATTGCGGCATCACCAGCGCCTCCTATCACCAGGGC
GTGCTGAGCGCCACAATCCTGTACGAAATCCTGCTGGGCAAGGCCACCCTGTACGC
CGTGCTGGTGTCTGCTCTGGTGCTGATGGCCATGGTCAAGCGGAAGGACTTTGGCA
GCGGCAGAGCCAAAAGGTCCGGGAGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAACAA
GCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCGGACCTATGGAAACCCTcTTGGGCCTGCTTAT
CCTTTGGCTGCAGCTGCAATGGGTGAGCAGCAAACAGGAGGTGACTCAGATTCCTG
CAGCTCTGAGTGTCCCAGAAGGAGAAAACTTGGTTCTCAACTGCAGTTTCACTGAT
AGCGCTATTTACAACCTCCAGTGGTTTAGGCAGGACCCTGGGAAAGGCCTCACATC
TCTGTTGCTTATTCAGTCAAGTCAGAGAGAGCAAACAAGTGGACGCCTTAATGCCT
CTCTGGATAAATCATCAGGACGCAGTACTCTTTACATTGCAGCTTCTCAGCCTGGT
GATTCAGCCACCTACCTGTGCGCTGTGAGGGGTGGTACCTCAGGAACCTACAAATA
CATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGTTCTTGCAAACATCCAGAACCCCGACC
CCGCCGTGTACCAGCTGAGGGACTCCAAGTCCAGCGACAAGAGCGTGTGTCTGTTT
ACGGACTTCGACAGCCAGACCAACGTGAGTCAAAGCAAGGACAGCGACGTCTACAT
AACGGATAAGACCGTGCTGGACATGCGGAGCATGGACTTCAAGAGCAACAGCGCCG
TGGCCTGGTCCAACAAGAGCGACTTCGCCTGCGCCAACGCCTTCAACAACAGCATC
ATCCCCGAGGACACCTTCTTCCCCAGCAGCGACGTGCCCTGCGACGTGAAACTGGT
GGAGAAGTCCTTCGAGACAGACACCAATCTGAACTTTCAGAACCTGCTGGTGATCG
TGCTGCGGATTCTGCTGCTGAAAGTGGCCGGCTTCAATCTGCTGATGACCCTGCGG
CTGTGGAGCAGCAGGGCTAAGAGGTCCGGCAGCGGAGCCACCAATTTTTCCCTGCT
GAAACAGGCTGGTGACGTGGAAGAAAACCCTGGCCCCATGGCGCTGCCCGTCACCG
CGCTGCTGCTGCCCCTGGCGCTGCTGTTACACGCCGCTCGGCCAGAGCTTCCCACC
CAGGGCACATTCTCCAACGTGTCCACCAATGTGTCGGGAGGCGGCGGATCGTCCCA
GTTCAGAGTGTCCCCTCTGGACCGCACCTGGAACCTGGGCGAGACCGTGGAGCTGA
AATGTCAGGTCCTGCTGAGCAACCCGACCTCCGGGTGCAGTTGGCTGTTCCAGCCG
CGTGGTGCTGCCGCAAGCCCTACGTTCCTGCTTTACCTGAGCCAGAACAAGCCCAA
GGCGGCCGAGGGCCTGGACACCCAGAGATTCTCCGGCAAGCGCCTGGGGGACACAT
TCGTGCTTACTTTGAGCGATTTCCGCAGAGAGAACGAGGGCTACTATTTCTGTTCG
GCGCTGAGCAATTCCATCATGTATTTCAGCCACTTTGTGCCAGTGTTCCTGCCTGCC
AAGCCTACCACAACACCAGCTCCCCGTCCCCCGACTCCGGCGCCTACCATCGCGAG
TCAACCGTTGAGCCTGAGGCCTGAGGCTTGTCGGCCCGCTGCGGGGGGTGCCGTCC
ACACCAGGGGCCTCGACTTTGCGTGCGACATCTATATTTGGGCGCCTCTGGCGGGT
ACCTGCGGGGTGCTGCTGCTGTCATTGGTGATTACCCTGTACTGCAATCACCGCAA

CCGCCGGCGGGTCTGTAAGTGCCCACGGCCTGTGGTCAAGTCCGGTGACAAACCGT
CGCTCTCGGCTCGCTACGTGCGCGCTAAGCGCAGCGGTTCCGGGGCCACCAACTTT
TCATTGCTGAAGCAGGCCGGTGATGTGGAGGAGAATCCAGGGCCCATGCGCCCCAG
GCTTTGGCTCCTTCTTGCTGCTCAGCTCACTGTCTTGCATGGCAACTCCGTTCTGCA
GCAGACTCCCGCCTACATCAAGGTGCAGACGAACAAGATGGTGATGCTGTCATGCG
AGGCCAAGATCTCTCTTTCAAATATGAGAATTTATTGGCTACGACAGCGCCAGGCC
CCCTCCAGCGACAGCCACCACGAGTTCCTGGCGCTTTGGGATTCTGCTAAAGGCAC
CATCCATGGAGAGGAGGTGGAACAGGAGAAGATAGCTGTCTTCCGCGACGCATCCC
GCTTCATCCTGAACCTGACCAGCGTGAAGCCGGAGGACAGCGGCATCTACTTCTGT
ATGATCGTTGGCTCCCCCGAGCTGACCTTCGGCAAAGGCACCCAGCTGTCCGTGGT
GGACTTCCTGCCCACCACAGCCCAGCCAACCAAGAAATCCACCCTCAAGAAGCGCG
TGTGCCGACTGCCCCGCCCTGAAACCCAGAAGGGCCCTCTGTGCTCCCCCATCACC
CTTGGACTGCTGGTGGCGGGAGTCCTGGTGCTGCTCGTATCTCTGGGTGTCGCCAT
CCACCTGTGCTGCCGCCGCCGCCGCGCCCGCCTGAGGTTTATGAAACAGTTTTACA
AGTGATAAatcgatagatcctaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaagattgactggtattct
taactatgttgctccttttacgctatgtggatacgctgctttaatgcctttgtatcatgctattgcttcccg
tatggctttcattttctcctccttgtataaatcctggttgctgtctctttatgaggagttgtggcccgttgt
caggcaacgtggcgtggtgtgcactgtgtttgctgacgcaacccccactggttggggcattgccacca
cctgtcagctcctttccgggactttcgctttcccccctccctattgccacggcggaactcatcgccgcctg
ccttgcccgctgctggacaggggctcggctgttgggcactgacaattccgtggtgttgtcggggaaat
catcgtcctttccttggctgctcgcctgtgttgccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgt
ccccttcggccctcaatccagcggaccttccttcccgcggcctgctgccggctctgcggcctcttccgcg
tcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctccctttgggccgcctccccgcctgagatcctttaaga
ccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccacttttaaaagaaaaggggggactggaagggct
aattcactcccaacgaagacaagatctgctttttgcttgtactgggtctctctggttagaccagatctga
gcctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgctt
caagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgt
ggaaaatctctagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagtatttataacttgcaaagaaatgaat
atcagagagtgagaggcccgggttaattaaggaaagggctagatcattcttgaagacgaaagggcct
cgtgatacgcctatttttataggttaatgtcatgataataatggtttcttagacgtcaggtggcacttttc
ggggaaatgtgcgcggaacccctatttgtttatttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgag
acaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgt
cgcccttattcccttttttgcggcattttgccttcctgtttttgctcacccagaaacgctggtgaaagtaa
aagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtgggttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatc
cttgagagttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaaagttctgctatgtggcgcg
gtattatcccgtgttgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttg
gttgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgc
tgccataaccatgagtgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggag
ctaaccgcttttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaaccggagctgaat
gaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaac
tattaactggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggcggataaa
gttgcaggaccacttctgcgctcggcccttccggctggctggtttattgctgataaatctggagccggt
gagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtagttat
ctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctca
ctgattaagcattggtaactgtcagaccaagtttactcatatatactttagattgatttaaaacttcattt
ttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctcatgaccaaaatcccttaacgtgagtttt
cgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatccttttttctgcgcgt
aatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagctac
caactctttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcagataccaaatactgttcttctagtgtagc
cgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgctctgctaatcctgttac

cagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttggactcaagacgatagttaccggat
aaggcgcagcggtcgggctgaacgggggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctac
accgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggcg
gacaggtatccggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccagggggaaa
cgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgt
caggggggcggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttacggttcctggccttttgctgg
ccttttgctcacatgttctttcctgcgttatcccCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCT
TTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTG
AGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCC
GATTCATTAATGCAGCAAGCTCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGC
CGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAG
GCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTCCCCGTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGC
GGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGG
CTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAA
TTTCACACAGGAAACAGCTATGACATGATTACGAATTTCACAAATAAAGCATTTTTT
TTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCATGTCTG
GATCAACTGGATAACTCAAGCTAACCAAAATCATCCCAAACTTCCCACCCCATACC
CTATTACCACTGCCAATTACCTGTGGTTTCATTTACTCTAAACCTGTGATTCCTCTG
AATTATTTTCATTTTAAAGAAATTGTATTTGTTAAATATGTACTACAAACTtagtagt

【０１７０】

*MSCVプロモーターは太字である。ベータ鎖には、太字及びイタリック体のテキストを使用して、注釈が付けられている。アルファ鎖には、太字及び下線付きのテキストを使用して、注釈が付けられている。Qタグは、イタリック体及び下線付きのテキストを使用して、注釈が付けられている。CD8-アルファは、イタリック体である。CD8-ベータには、下線が付けられている。

【０１７１】

ベクター：TSC-100 npDNAトランスポゾン：

(配列番号(SEQ ID NO): 32)

AATTAATTGCTTGCAATTAACCCTTTAACGGTTATAAGGATCTAGATGAGATAGAA
AGATTTGGTTTTCGGATTTGTGTTACATAAGATGCCTAAAATAAAAATTGAGATTC
AATTTTTTTTTAAACTTTTTTTTAATTGGTGGTAAGAATATTCCCTCTACCTGTTTGA
GAGTAATGAAATTGTAGTATGATTTTTCAACAAACTAAAAAAACAACATAAATCTC
ACATAATAACTTTATTTCAATCACACAATTGAATACCAATATTAATTAATGGTTGA
CAGTACTTACCAGCCTGCAGGTGAAAGACCCCACCTGTAGGTTTGGCAAGTTAGCT
TAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCATGGAAAATACATAACTGAGAATAGAGAAGTTC
AGATCAAGGTTAGGAACAGAGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTG
GTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTC
CCGCCCTCAGCAGTTTCTAGCGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACC
TGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTTGCTTCTTGCTTCTGTT
TGTGTGCTTCTGCTCCCTGAGCTCAATAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTTGGTGG
GCCAGTCCTCTGATAGACTGTGTCCCCTGGATACCCGTACGGTACCGCTAGCGCCA
CCATGGGCACCAGCCTCCTCTGCTGGATGGCCCTGTGTCTCCTGGGGGCAGATCAC
GCAGATACTGGAGTCTCCCAGGACCCCAGACACAAGATCACAAAGAGGGGACAGAA
TGTTACTTTCAGGTGTGATCCAATTTCTGAACACAACCGCCTTTATTGGTACCGCCA
GACCCTGGGGCAGGGCCCAGAGTTTCTGACTTACTTCCAGAATGAAGCTCAACTTG
AAAAATCAAGGCTGCTCAGTGATCGGTTCTCTGCAGAGAGGCCTAAGGGATCTTTC
TCCACCTTGGAGATCCAGCGCACAGAGCAGGGGGACTCTGCCATGTATCTCTGTGC
CAGCAGCCGCACTGCTGGAGATACTCAGTATTTTGGCCCAGGCACCCGGCTGACAG
TGCTCGAAGATCTGAACAAGGTGTTCCCTCCAGAGGTGGCCGTGTTCGAGCCTTCT
AAGGCCGAGATCGCCCACACACAAAAAGCCACCCTCGTGTGCCTGGCCACCGGCTT

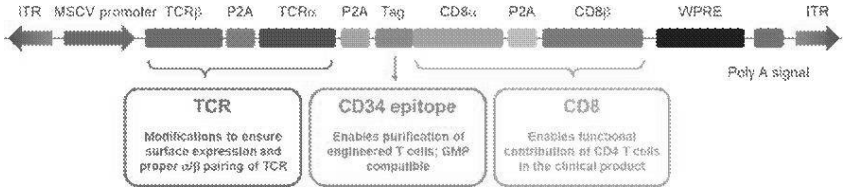
TTTCCCCGACCACGTGGAACTGTCTTGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACTCCG
GCGTGTCAACGGATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGCCTGCCCTGAACGACAGCCGG
TACTGCCTGAGCTCCAGACTGAGAGTGTCCGCCACCTTCTGGCAGAACCCCCGGAA
CCACTTCAGATGCCAGGTGCAGTTTTACGGCCTGAGCGAGAACGACGAGTGGACCC
AGGACAGAGCCAAGCCCGTGACACAAATCGTGTCTGCCGAAGCCTGGGGAAGAGCC
GATTGCGGCATCACCAGCGCCTCCTATCACCAGGGCGTGCTGAGCGCCACAATCCT
GTACGAAATCCTGCTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCTGCTCTGG
TGCTGATGGCCATGGTCAAGCGGAAGGACTTTGGCAGCGGCAGAGCCAAAAGGTCC
GGGAGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGAA
CCCCGGACCTATGGAAACCCTCTTGGGCCTGCTTATCCTTTGGCTGCAGCTGCAAT
GGGTGAGCAGCAAACAGGAGGTGACTCAGATTCCTGCAGCTCTGAGTGTCCCAGAA
GGAGAAAACTTGGTTCTCAACTGCAGTTTCACTGATAGCGCTATTTACAACCTCCA
GTGGTTTAGGCAGGACCCTGGGAAAGGCCTCACATCTCTGTTGCTTATTCAGTCAA
GTCAGAGAGAGCAAACAAGTGGACGCCTTAATGCCTCTCTGGATAAATCATCAGGA
CGCAGTACTCTTTACATTGCAGCTTCTCAGCCTGGTGATTCAGCCACCTACCTGTGC
GCTGTGAGGGGTGGTACCTCAGGAACCTACAAATACATCTTTGGAACAGGCACCAG
GCTGAAGGTTCTTGCAAACATCCAGAACCCCGACCCCGCCGTGTACCAGCTGAGGG
ACTCCAAGTCCAGCGACAAGAGCGTGTGTCTGTTTACGGACTTCGACAGCCAGACC
AACGTGAGTCAAAGCAAGGACAGCGACGTCTACATAACGGATAAGACCGTGCTGGA
CATGCGGAGCATGGACTTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTGGTCCAACAAGAGCG
ACTTCGCCTGCGCCAACGCCTTCAACAACAGCATCATCCCCGAGGACACCTTCTTC
CCCAGCAGCGACGTGCCCTGCGACGTGAAACTGGTGGAGAAGTCCTTCGAGACAGA
CACCAATCTGAACTTTCAGAACCTGCTGGTGATCGTGCTGCGGATTCTGCTGCTGA
AAGTGGCCGGCTTCAATCTGCTGATGACCCTGCGGCTGTGGAGCAGCAGGGCTAAG
AGGTCCGGCAGCGGAGCCACCAATTTTTCCCTGCTGAAACAGGCTGGTGACGTGGA
AGAAAACCCTGGCCCCATGGCGCTGCCCGTCACCGCGCTGCTGCTGCCCCTGGCGC
TGCTGTTACACGCCGCTCGGCCAGAGCTTCCCACCCAGGGCACATTCTCCAACGTG
TCCACCAATGTGTCGGGAGGCGGCGGATCGTCCCAGTTCAGAGTGTCCCCTCTGGA
CCGCACCTGGAACCTGGGCGAGACCGTGGAGCTGAAATGTCAGGTCCTGCTGAGCA
ACCCGACCTCCGGGTGCAGTTGGCTGTTCCAGCCGCGTGGTGCTGCCGCAAGCCCT
ACGTTCCTGCTTTACCTGAGCCAGAACAAGCCCAAGGCGGCCGAGGGCCTGGACAC
CCAGAGATTCTCCGGCAAGCGCCTGGGGGACACATTCGTGCTTACTTTGAGCGATT
TCCGCAGAGAGAACGAGGGCTACTATTTCTGTTCGGCGCTGAGCAATTCCATCATG
TATTTCAGCCACTTTGTGCCAGTGTTCCTGCCTGCCAAGCCTACCACAACACCAGCT
CCCCGTCCCCCGACTCCGGCGCCTACCATCGCGAGTCAACCGTTGAGCCTGAGGCC
TGAGGCTTGTCGGCCCGCTGCGGGGGGTGCCGTCCACACCAGGGGCCTCGACTTTG
CGTGCGACATCTATATTTGGGCGCCTCTGGCGGGTACCTGCGGGGTGCTGCTGCTG
TCATTGGTGATTACCCTGTACTGCAATCACCGCAACCGCCGGCGGGTCTGTAAGTG
CCCACGGCCTGTGGTCAAGTCCGGTGACAAACCGTCGCTCTCGGCTCGCTACGTGC
GCGCTAAGCGCAGCGGTTCCGGGGCCACCAACTTTTCATTGCTGAAGCAGGCCGGT
GATGTGGAGGAGAATCCAGGGCCCATGCGCCCCAGGCTTTGGCTCCTTCTTGCTGC
TCAGCTCACTGTCTTGCATGGCAACTCCGTTCTGCAGCAGACTCCCGCCTACATCA
AGGTGCAGACGAACAAGATGGTGATGCTGTCATGCGAGGCCAAGATCTCTCTTTCA
AATATGAGAATTTATTGGCTACGACAGCGCCAGGCCCCCTCCAGCGACAGCCACCA
CGAGTTCCTGGCGCTTTGGGATTCTGCTAAAGGCACCATCCATGGAGAGGAGGTGG
AACAGGAGAAGATAGCTGTCTTCCGCGACGCATCCCGCTTCATCCTGAACCTGACC
AGCGTGAAGCCGGAGGACAGCGGCATCTACTTCTGTATGATCGTTGGCTCCCCCGA
GCTGACCTTCGGCAAAGGCACCCAGCTGTCCGTGGTGGACTTCCTGCCCACCACAG
CCCAGCCAACCAAGAAATCCACCCTCAAGAAGCGCGTGTGCCGACTGCCCCGCCCT
GAAACCCAGAAGGGCCCTCTGTGCTCCCCCATCACCCTTGGACTGCTGGTGGCGGG

AGTCCTGGTGCTGCTCGTATCTCTGGGTGTCGCCATCCACCTGTGCTGCCGCCGCCG
CCGCGCCCGCCTGAGGTTTATGAAACAGTTTTACAAGTGATAAATCGATAGATCCT
AATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGT
TGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGC
TTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTA
TGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTG
ACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACT
TTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGC
TGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTTGTCGGGGAA
ATCATCGTCCTTTCCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGAC
GTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCT
GCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGAT
CTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCCTGAGATCCTTTAAGACCAATGCTGGAGTTCTTC
GCCCACCCCAACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCAT
CACAAATTTCACAAATAAAGCATTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAA
ACTCATCAATGTATCTTATCATGTCTGTATACAGGTTACCTCAGTCTCCTAGGTACG
TCTTATATCTATGAAAAAACATTCAAAAGCACAACATCTAGAAGAACTTACCTTTT
TTCACCACTCTATTGCAAAGATATGTACCGATTTCTCTCGAAGTACAAAAAACCGC
TAGTTTTCAAATTCACCTCAAGACTTTGAAAAAAAATTGAATCTGTCAATGTCAAA
TAAAATCAGAAACAAATGTCATAATGTTACGTTAATGTTGTCAGGTCGAAAAATAA
AATTGCAAATAGAAATTTTGTTCCTTTTTTATTGGTTTTTATTGGTGGGAAAAATAT
TCCCTCTAACTGCAAAAGGGTTAATTATGTTAGAGGTAGAGTCGACGCTAGCTGGC
TTGTTGTCCACAACCATTAAACCTTAAAAGCTTTAAAAGCCTTATATATTCTTTTTT
TTCTTATAAAACTTAAAACCTTAGAGGCTATTTAAGTTGCTGATTTATATTAATTTT
ATTGTTCAAACATGAGAGCTTAGTACGTGAAACATGAGAGCTTAGTACATTAGCCA
TGAGAGCTTAGTACATTAGCCATGAGGGTTTAGTTCATTAAACATGAGAGCTTAGT
ACATTAAACATGAGAGCTTAGTACATACTATCAACAGGTTGAACTGCTGATCTGTA
CAGTAGAATTGGTAAAGAGAGTTGTGTAAAATATTGAGTTCGCACATCTTGTTGTC
TGATTATTGATTTTTGGCGAAACCATTTGATCATATGACAAGATGTGTATCTACCT
TAACTTAATGATTTTGATAAAAATCATTAGGTACC

【０１７２】

［化２］

TSC-100 npDNAトランスポゾン・ベクター・カセットの模式図：



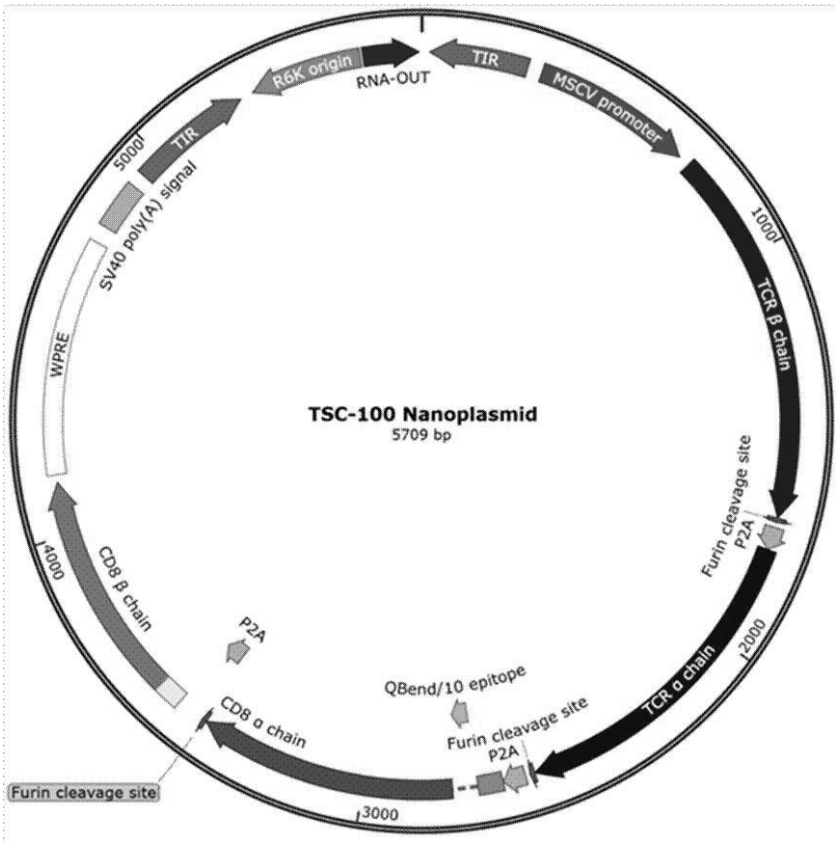
【０１７３】

キー(Key)： CD: 分化クラスター(cluster of differentiation)、ITR: 逆方向末端反復(inverted terminal repeat)、npDNA: ナノプラスミド、MSCV: マウス幹細胞ウイルス、TBD: 測定予定(To be Determined)、TCR: T細胞レセプター、WPRE: ウッドチャック肝炎ウイルス

【０１７４】

［化３］

TSC-100 npDNAトランスポゾン・ベクター・カセットの地図：



【０１７５】

キー(Key)： CD: 分化クラスター(cluster of differentiation)、RNA-OUT: sacBによってコードされるバクテリア・レバンスクラーゼ(bacterial levansucrase)に対するアンチ-センスRNA、SV: サルウイルス、TCR: T細胞レセプター、TIR: 末端逆方向反復(terminal inverted repeat)、QBend: マウス抗ヒトCD34抗体、WPRE: ウッドチャック肝炎ウイルス

【０１７６】

TSC-100 npDNAトランスポゾンは、5,709-bpのスーパーコイル状の、最小限R6Kバクテリア複製起点を、及びアンチ-センスRNAベースの抗生物質フリー選択マーカー(RNA-OUT)を、有する、Nanoplasmid^{TM} DNA(npDNA)である。アワヨトウの幼虫(armyworm)のスポドプテラ・フルギペルダ(Spodoptera frugiperda)トランスポゾンの末端逆方向反復(TIR) (トランスポザーゼ-媒介の組み込みに必要)を、外因性DNA配列の2つの末端に、接続する。TSC-100 HA-1-特異的なTCR α-及びβ-鎖遺伝子、並びにコドン多様化CD8 α-及びβ-鎖遺伝子を、マウス幹細胞ウイルス(MSCV)プロモーターの制御下に置く。TCR α-及びβ-鎖の定常領域は、操作したT細胞の表面上でのそれらの発現を安定化するアミノ酸置換を含む。これらの4つのオープン・リーディング・フレームは、遺伝子発現を増強することが知られているウッドチャック転写後調節エレメント(woodchuck post-transcriptional regulatory element (WPRE))と共に、単一のmRNA分子上にコードされる(Loeb、1999)。自己-切断ペプチドP2A上で起こるリボソーム・スキッピングによって、4つの別々のポリペプチドが産生するようになる。マウス・モノクローナル抗体QBend/10によって認識されるCD34エピトープを、外因性のCD8 α-鎖のN末端に融合し、これにより、導入遺伝子を発現する細胞を精製することが可能になり、その結果、製剤原料の安全性及び効力が増大する。ナノプラスミド・ベクターのバックボーン(〈500塩基対)は、従来のプラスミド(〉1500塩基対)よりも実質的に小さい。抗生物質抵抗性遺伝子を含まない、及びプラスミド調製に必要な複製起点(R6K)によって、一般的に使用される起点(pUC)よりも狭いバクテリア種での伝搬がサポー

トされ得る。

【０１７７】

［表４］

表４

配列番号(SEQ ID NO):33　ヒトCCDC114 cDNA配列バリアント1
(NM_001364171.2; CDS: 358-2481)

```
   1 ccgccctcca gcgcgcggac gtggtaggcg gccaagcgtt tttggctgct tcccgggaag
  61 ccgttggtcg cgcttgcgta gtgaaccgct gaggctgtgt tgagcgctcc ttctccgcgc
 121 aactcccggc ttcgacaccg ccttccttcc tatgaatcct taatttaacg tggtcacagt
 181 cagcttaaga ccggcacctc tcgggctccg tcttgtagga cctcggcctg gcttcgaggg
 241 cttccataca ggtcaccgca ggctctttca actcccgccg cttccaggcc cgcgtaacca
 301 gaccacaaca ctgaacttgg agcaccaaga acaggagccc caccctgttt ggccaggatg
 361 cctttgggac gcttggcagg gagcgcccgc tccgaggagg gaagcgaggc atttctggag
 421 ggaatggtgg attgggagct gagtaggctg cagcgacaat gcaaagtgat ggaaggggag
 481 aggcgggcct acagcaagga agtccaccag cgcatcaaca agcaacttga ggagatccgg
 541 cgcttggagg aggtacgggg cgatctccag gtgcagatca gcgcagccca gaaccaggtc
 601 aagcggcttc gggacagtca gcggctggag aacatggacc gcctgctgaa gggccgggcc
 661 caggtgcagg cggagatcga ggagctgcag gagcagacca gggccctgga caagcagatc
 721 caggagtggg agacgcggat ctttacccac agtaagaatg tcaggtcccc gggattcatc
 781 ctggatcaga aggtcaagat caggcgaagg atcaggatcc tagaaaacca gttggacagg
 841 gtcacctgtc actttgacaa ccagctggta cggaatgcgg ccctgcggga ggagctggat
 901 ctgctgcgga tcgacaggaa ccgctatctg aacgtggacc gcaagctgaa gaaggagatc
 961 caccacctgc atcacctggt cagcaccctt atcctctcct ccacctctgc ctacgccgtc
1021 agggaggagg cgaaggccaa gatgggcttg ctgcgggagc gcgcggagaa agaggaggcc
1081 cagagcgaga tggaggcgca ggtcctgcag cggcagatct tgcacctgga gcagctgcac
1141 cacttcctca agctcaagaa caacgaccgg cagccggatc ccgatgtcct ggagaagcgt
1201 gaaaagcagg ccgggggaggt ggccgagggc gtctggaaga cctcccagga gaggctggtg
1261 ctttgctacg aggacgccct gaataaactg tcccagctga tgggggagag tgaccctgac
1321 ctgttggtgc agaagtatct ggagatcgag gagcgcaact ttgctgagtt caacttcatc
1381 aacgagcaga acttggagct ggagcatgtg caggaagaga tcaaggagat gcaggaggct
1441 ttggtgagcg cacgtgccag caaggatgac cagcatttgc tgcaggagca gcagcagaag
1501 gtgttgcagc agcgcatgga caaggtgcac tcggaggctg agcgccttga ggcccgcttc
1561 caggatgtgc ggggacagct ggagaagctc aaggctgata tccagctcct cttcaccaag
1621 gcccattgcg acagcagcat gatcgatgac ctccttgggg tcaagaccag catgggagac
1681 cgggacatgg gcctcttcct gagcctcatt gagaagcggc tggtggagct cctgacagtg
1741 caggccttcc tacatgccca gagcttcacc tccctggccg acgctgccct cctagtgctg
1801 ggccagagcc tggaggacct tccgaagaag atggccccac ttcagccccc tgacactcta
1861 gaagaccccc cgggttttga ggccagcgat gactacccca tgagcaggga ggagctgctg
1921 agccaagtgg agaagctggt ggagctccag gagcaggcgg aggcgcagcg ccagaaggac
1981 ctggccgccg ccgccgcgaa gctggacggc accctgagcg tggacctggc cagcacccag
2041 agggccggct ccagtaccgt cctggtgccc accaggcacc cccatgccat ccccgggtcc
2101 attttgagcc acaagactag cagagaccgt ggctctcttg gccacgtcac ttttggcggc
2161 ctcagctcca gcactgggca tttgcccagc cacatcacgc acggtgaccc caacactggc
2221 cacgtgacct tcggctccac cagtgcctcg agtgggggcc acgtgacctt cagacccgtc
2281 agcgccagca gctacctggg ctccactgga tacgtggggt ccagcagggg cggagaaaac
2341 acagagggtg gtgtggagag cggaggcaca gcgtctgatt cgagcggagg cctcgggtcc
2401 agcagagacc acgtctccag caccggccct gcctccagca ctggcccggg ctcctccacc
```

2461 agcaaagact cccgggggcta acacgagggg cacgcagccc ccaccctgcc ctggctctct
2521 gtggggtctt tttttgtgtc tctacttccc ctgtttgcct tgtgggtctc tgtctttttc
2581 tcccagtggc aggcctctgt ctttttgccc cttcaactgt tttcatctgc ccttcatcac
2641 cgcctcacct gtgtctcccg gttcctttct ctctgctcct gacactgctt ttccctctga
2701 ctcctgatct cctgttctct gggcttcctg gtcagtgtct gtccgtcttg tctccatatc
2761 tgccccttcc ctgtctgctg agccctggcc ccctgtggat cccccacctc ctgtttccgg
2821 ctctctctcc tcatctccat ctcccaggct ctccacgcat cctgtgtccc tgtctctgta
2881 gctccttact ccccaagagc cccccagtgc tgacaggtgt gggaaaagtc agggcgaaga
2941 cgccaggttc agcatgggaa aatgggactg tggaaataaa gtatatgtgt ggaga

配列番号(SEQ ID NO):34　ヒトCCDC114 cDNA配列バリアント2
(NM_144577.4; CDS: 108-2120)

1 aatcacccgc tgattgaaaa ctactgggcc tttggagatg gggagcatac gggcaagact
61 ggagagtgga ttgggagctg agtaggctgc agcgacaatg caaagtgatg gaaggggaga
121 ggcgggccta cagcaaggaa gtccaccagc gcatcaacaa gcaacttgag gagatccggc
181 gcttggagga ggtacggggc gatctccagg tgcagatcag cgcagcccag aaccaggtca
241 agcggcttcg ggacagtcag cggctggaga acatggaccg cctgctgaag ggccgggccc
301 aggtgcaggc ggagatcgag gagctgcagg agcagaccag ggccctggac aagcagatcc
361 aggagtggga gacgcggatc tttacccaca gtaagaatgt caggtccccg ggattcatcc
421 tggatcagaa ggtcaagatc aggcgaagga tcaggatcct agaaaaccag ttggacaggg
481 tcacctgtca ctttgacaac cagctggtac ggaatgcggc cctgcgggag gagctggatc
541 tgctgcggat cgacaggaac cgctatctga acgtggaccg caagctgaag aaggagatcc
601 accacctgca tcacctggtc agcaccctta tcctctcctc cacctctgcc tacgccgtca
661 gggaggaggc gaaggccaag atgggcttgc tgcgggagcg cgcggagaaa gaggaggccc
721 agagcgagat ggaggcgcag gtcctgcagc ggcagatctt gcacctggag cagctgcacc
781 acttcctcaa gctcaagaac aacgaccggc agccggatcc cgatgtcctg gagaagcgtg
841 aaaagcaggc cggggaggtg gccgagggcg tctggaagac ctcccaggag aggctggtgc
901 tttgctacga ggacgccctg aataaactgt cccagctgat gggggagagt gaccctgacc
961 tgttggtgca gaagtatctg gagatcgagg agcgcaactt tgctgagttc aacttcatca
1021 acgagcagaa cttggagctg gagcatgtgc aggaagagat caaggagatg caggaggctt
1081 tggtgagcgc acgtgccagc aaggatgacc agcatttgct gcaggagcag cagcagaagg
1141 tgttgcagca gcgcatggac aaggtgcact cggaggctga gcgccttgag gcccgcttcc
1201 aggatgtgcg gggacagctg gagaagctca aggctgatat ccagctcctc ttcaccaagg
1261 cccattgcga cagcagcatg atcgatgacc tccttggggt caagaccagc atgggagacc
1321 gggacatggg cctcttcctg agcctcattg agaagcggct ggtggagctc ctgacagtgc
1381 aggccttcct acatgcccag agcttcacct ccctggccga cgctgccctc ctagtgctgg
1441 gccagagcct ggaggacctt ccgaagaaga tggccccact tcagcccccc gacactctag
1501 aagacccccc gggttttgag gccagcgatg actaccccat gagcagggag gagctgctga
1561 gccaagtgga gaagctggtg gagctccagg agcaggcgga ggcgcagcgc cagaag
gacc
1621 tggccgccgc cgccgcgaag ctggacggca ccctgagcgt ggacctggcc agcacccaga
1681 gggccggctc cagtaccgtc ctggtgccca ccaggcaccc ccatgccatc cccgggtcca
1741 ttttgagcca caagactagc agagaccgtg gctctcttgg ccacgtcact tttggcggcc
1801 tcagctccag cactgggcat ttgcccagcc acatcacgca cggtgacccc aacactggcc
1861 acgtgacctt cggctccacc agtgcctcga gtgggggcca cgtgaccttc agacccgtca
1921 gcgccagcag ctacctgggc tccactggat acgtggggtc cagcaggggc ggagaaaaca
1981 cagagggtgg tgtggagagc ggaggcacag cgtctgattc gagcggaggc ctcgggtcca
2041 gcagagacca cgtctccagc accggccctg cctccagcac tggcccgggc tcctccacca
2101 gcaaagactc ccggggctaa cacgaggggc acgcagcccc caccctgccc tggctctctg
2161 tggggtcttt ttttgtgtct ctacttcccc tgtttgcctt gtgggtctct gtctttttct
2221 cccagtggca ggcctctgtc tttttgcccc ttcaactgtt ttcatctgcc cttcatcacc

2281 gcctcacctg tgtctcccgg ttcctttctc tctgctcctg acactgcttt tccctctgac
2341 tcctgatctc ctgttctctg ggcttcctgg tcagtgtctg tccgtcttgt ctccatatct
2401 gccccttccc tgtctgctga gccctggccc cctgtggatc ccccacctcc tgtttccggc
2461 tctctctcct catctccatc tcccaggctc tccacgcatc ctgtgtccct gtctctgtag
2521 ctccttactc cccaagagcc ccccagtgct gacaggtgtg ggaaaagtca gggcgaagac
2581 gccaggttca gcatgggaaa atgggactgt ggaaataaag tatatgtgtg gagagctggc
2641 ttcaaaaaaa aaaaaaaa

配列番号(SEQ ID NO):35　ヒトCCDC114アミノ酸配列アイソフォーム1 (NP_001351100.1)

1 mplgrlagsa rseegseafl egmvdwelsr lqrqckvmeg errayskevh qrinkqleei
61 rrleevrgdl qvqisaaqnq vkrlrdsqrl enmdrllkgr aqvqaeieel qeqtraldkq
121 iqewetrift hsknvrspgf ildqkvkirr ririlenqld rvtchfdnql vrnaalreel
181 dllridrnry lnvdrklkke ihhlhhlvst lilsstsaya vreeakakmg llreraekee
241 aqsemeaqvl qrqilhleql hhflklknnd rqpdpdvlek rekqagevae gvwktsqerl
301 vlcyedalnk lsqlmgesdp dllvqkylei eernfaefnf ineqnleleh vqeeikemqe
361 alvsaraskd dqhllqeqqq kvlqqrmdkv hseaerlear fqdvrgqlek lkadiqllft
421 kahcdssmid dllgvktsmg drdmglflsl iekrlvellt vqaflhaqsf tsladaallv
481 lgqsledlpk kmaplqppdt ledppgfeas ddypmsreel lsqveklvel qeqaeaqrqk
541 dlaaaaakld gtlsvdlast qragsstvlv ptrhphaipg silshktsrd rgslghvtfg
601 glssstghlp shithgdpnt ghvtfgstsa ssgghvtfrp vsassylgst gyvgssrgge
661 nteggvesgg tasdssgglg ssrdhvsstg passtgpgss tskdsrg

配列番号(SEQ ID NO):36　ヒトCCDC114アミノ酸配列アイソフォーム2 (NP_653178.3)

1 megerraysk evhqrinkql eeirrleevr gdlqvqisaa qnqvkrlrds qrlenmdrll
61 kgraqvqaei eelqeqtral dkqiqewetr ifthsknvrs pgfildqkvk irrririlen
121 qldrvtchfd nqlvrnaalr eeldllridr nrylnvdrkl kkeihhlhhl vstlilssts
181 ayavreeaka kmgllrerae keeaqsemea qvlqrqilhl eqlhhflklk nndrqpdpdv
241 lekrekqage vaegvwktsq erlvlcyeda lnklsqlmge sdpdllvqky leieernfae
301 fnfineqnle lehvqeeike mqealvsara skddqhllqe qqqkvlqqrm dkvhseaerl
361 earfqdvrgq leklkadiql lftkahcdss middllgvkt smgdrdmglf lsliekrlve
421 lltvqaflha qsftsladaa llvlgqsled lpkkmaplqp pdtledppgf easddypmsr
481 eellsqvekl velqeqaeaq rqkdlaaaaa kldgtlsvdl astqragsst vlvptrhpha
541 ipgsilshkt srdrgslghv tfgglssstg hlpshithgd pntghvtfgs tsassgghvt
601 frpvsassyl gstgyvgssr ggenteggve sggtasdssg glgssrdhvs stgpasstgp
661 gsstskdsrg

【０１７８】

＊本出願の表１、表２及び表４には、表１、表２及び表４に列挙した任意の配列番号のアミノ酸配列との、又はその一部との、それらの全長にわたって、少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、又はそれを超えた同一性を有するアミノ酸配列、を含む、ペプチド・エピトープ、並びにポリペプチド分子、が含まれる。そのようなポリペプチドは、本出願において更に記載されるような、全長ペプチドの、又はポリペプチドの、機能を有することがある。

【０１７９】

＊表３及び４には、RNA核酸分子（例えば、チミンがウレジンで置換されている）、そのコードされたタンパク質のオルソログをコードする核酸分子、並びに表３及び４に列挙した任意の配列の、核酸配列との、又はその一部との、それらの全長にわたって、少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、又はそれを超えた同一性を有する核酸配列、を含む、DNA又はRNA核酸配列、が含まれる。そのような核酸

分子は、本出願において更に記載されるような、全長核酸の機能を有することがある。
【０１８０】
いくつかの実施形態では、本出願に開示される結合タンパク質は、T細胞レセプター(TCR)、TCRの抗原-結合フラグメント、又はキメラ抗原レセプター(CAR)、を含むことがある。いくつかの実施形態では、本出願に開示される結合タンパク質は、2つのポリペプチド鎖を含むことがある、その各々は、TCRアルファ鎖のCDR3及びTCRベータ鎖のCDR3、又はTCRアルファ鎖及びTCRベータ鎖の両方のCDR1、CDR2、及びCDR3、を含む可変領域、を含む。いくつかの実施形態では、結合タンパク質は、単鎖TCR(scTCR)を含む、それは、TCR Vα及びTCR Vβドメインの両方を含むが、TCR定常ドメインは1つだけ(Cα又はCβ)を含む。用語「キメラ抗原レセプター(chimeric antigen receptor)」(CAR)は、天然に存在しない方法で、又は宿主細胞中に天然に存在しない方法で、一緒に連結した、2つ以上の天然に存在するアミノ酸配列、を含むように操作した融合タンパク質を指す、ここで、その融合タンパク質は、細胞の表面上に存在する場合に、レセプターとして機能することがある。本発明によって包含されるCARは、膜貫通ドメイン及び1つ以上の細胞内シグナリング・ドメイン（任意選択的に、共-刺激ドメインを含む)、に連結した、抗原結合ドメイン（即ち、免疫グロブリン若しくは免疫グロブリン様分子、例えば、抗体若しくはTCR、又はNK細胞由来のキラー免疫レセプター、に由来する、若しくはから取得した、抗原結合ドメイン）を含む細胞外部分、を含むことがある（例えば、Sadelain et al. (2013) Cancer Discov. 3:388, Harris and Kranz (2016) Trends Pharmacol. Sci. 37:220, 及び Stone et al. (2014) Cancer Immunol. Immunother. 63:1163、を参照）。
【０１８１】
いくつかの実施形態では、1)TCRアルファ鎖CDR、TCR Vαドメイン、及び／若しくはTCRアルファ鎖は、表１に列挙される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、の群より選択される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、によってコードされる、並びに／又は2) TCRベータ鎖CDR、TCR Vβドメイン、及び／若しくはTCRベータ鎖は、表１に列挙される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、の群より選択される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、によってコードされる、並びに／又は3)前記結合タンパク質の各々のCDRは、表１に列挙される同族の参考CDR配列と比較して、最大5個のアミノ酸置換、挿入、欠失、若しくはそれらの組み合わせ、を有する。
【０１８２】
いくつかの実施形態では、本出願に開示される結合タンパク質（例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、又はキメラ抗原レセプター(chimeric antigen receptor)(CAR))は、キメラ（例えば、2つ以上のドナー(donor)由来の、又は種由来の、アミノ酸残基又はモチーフ、を含む)、ヒト化（例えば、ヒトにおける免疫原性のリスクを低減するように、改変又は置換された、非-ヒト生物由来の残基を含む)、又はヒト、である。
【０１８３】
操作した結合タンパク質（例えば、TCR、CAR、及びそれらの抗原-結合フラグメント、等）を産生するための方法は、当技術分野において周知である（例えば、Bowerman et al. (2009) Mol. Immunol. 5:3000; U.S. Pat. No. 6,410,319; U.S. Pat. No. 7,446,191; U.S. Pat. Publ. No. 2010/065818; U.S. Pat. No. 8,822,647; PCT Publ. No. WO 2014/031687; U.S. Pat. No. 7,514,537; 及びBrentjens et al. (2007) Clin. Cancer Res. 73:5426）.
【０１８４】
いくつかの実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質は、細胞表面上に発現する、TCR、又はその抗原結合フラグメント、である、ここで、その細胞表面上に発現するTCRは、内因性のTCRと比較して、CD3プロテインと、より効率的に会合することができる。本発明によって包含される結合タンパク質（例えば、TCR等）は、T細胞のような細胞の表面上に発現させた場合、内因性の結合タンパク質（例えば、内因性のTCR等

）と比較して、前記細胞上で、より高く表面発現をする。いくつかの実施形態では、本出願において、CARが提供される、ここで、前記CARの結合ドメインは、抗原-特異的TCR結合ドメインを含む（例えば、Walseng et al. (2017) Scientific Reports 7:10713を参照されたい）。

【０１８５】

また、出発結合タンパク質から特性が変更していることがある、改変済み結合タンパク質を操作するための出発材料として、本出願に開示されるＶα及び／又はＶβ配列の1つ以上を有する結合タンパク質を使用して、周知の方法に従って、調製することがある。改変済み結合タンパク質(例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、又はCAR)も提供される。1つ又は両方の可変領域(即ち、Ｖα及び／又はＶβ)内の、例えば、1つ以上のCDR領域内の、及び／又は1つ以上の骨格領域内の、1つ以上の残基を改変することによって、結合タンパク質を操作することがある。追加的に又は代替的に、結合タンパク質を、前記定常領域内の残基を改変することによって、操作することがある。

【０１８６】

別のタイプの可変領域の改変は、Ｖα及び／又はＶβのCDR1、CDR2及び／又はCDR3領域内のアミノ酸残基を変異させて、それによって、関心とする結合タンパク質の1つ以上の結合特性（例えば、親和性）を改善すること、である。部位-指向的な変異誘発、又はPCR-媒介の変異誘発を、実施して、変異を導入することがある、並びにタンパク質結合に対する効果を、又は関心とする他の機能的な特性を、本出願に記載されるように、及び実施例において提供されるように、in vitro、ex vivo、又はin vivoアッセイにおいて、評価することがある。いくつかの実施形態では、(上述のような)保存的な改変を導入することがある。前記変異は、アミノ酸置換、付加又は欠失であってもよい。いくつかの実施形態では、前記変異は、置換である。更に、典型的には、CDR領域内の1、2、3、4又は5個以下の残基を、改変する。

【０１８７】

いくつかの実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質(例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、又はCAR)は、天然に存在するTCRと比較して、1つ以上のアミノ酸置換、欠失、又は付加、を有することがある。いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質の各々のCDRは、表１に列挙した同族の参考CDR配列と比較して、最大5個の、アミノ酸置換、挿入、欠失、又はそれらの組み合わせ、を有する。アミノ酸の保存的な置換は、既知である、及び、天然に存在しても良い、又は前記結合タンパク質を組み換えにより産生する場合に、導入されてもよい。

アミノ酸置換、欠失、及び付加を、当技術分野で既知の変異誘発法を使用して、タンパク質に導入することがある（例えば、Sambrook et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第3版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY）オリゴヌクレオチド-指向性の部位-特異的(又は、セグメント-特異的)変異誘発法を用いて、所望の置換、欠失、又は挿入に従って改変した特定のコドン、を有する改変したポリヌクレオチド、を提供することがある。或いは、ランダム変異誘発技術又は飽和変異誘発技術、例えば、アラニン・スキャニング変異誘発、エラーを引き起こしやすいポリメラーゼ連鎖反応変異誘発、及びオリゴヌクレオチド-指向性の変異誘発、などを使用して、免疫原ポリペプチド・バリアントを調製することがある（例えば、前掲のSambrook et al. を参照）。

【０１８８】

当業者に既知の様々な基準によって、ペプチド中の又はポリペプチド中の特定の位置で置換されるアミノ酸が保存的（又は類似）であるかどうかが示される。例えば、類似アミノ酸の置換又は保存的アミノ酸の置換は、アミノ酸残基が、類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換される、置換である。類似のアミノ酸は、以下のカテゴリーに含まれることがある：塩基性側鎖を有するアミノ酸(例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン)；酸性側鎖を有するアミノ酸(例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸)；非荷電荷側鎖を有するアミノ酸(例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン

、システイン、ヒスチジン)；非極性側鎖を有するアミノ酸(例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン)；ベータ-分岐側鎖を有するアミノ酸(例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン)、及び芳香族側鎖を有するアミノ酸(例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン)。プロリン（これは、分類がより困難と考えられる）は、脂肪族側鎖を有するアミノ酸(例えば、ロイシン、バリン、イソロイシン、及びアラニン)と特性を共通する。いくつかの実施形態では、グルタミンをグルタミン酸に置換することは、又はアスパラギンをアスパラギン酸に置換することは、グルタミン及びアスパラギンが、それぞれグルタミン酸及びアスパラギン酸のアミド誘導体である点で、類似の置換と考えることができる。当技術分野で理解されるように、2つのポリペプチド間の「類似性」は、前記ポリペプチドのアミノ酸配列及びそれに対する保存されたアミノ酸置換を、第2のポリペプチドの配列と比較することによって、(例えば、GENEWORKS^{TM}、Align、BLASTアルゴリズム、又は本出願に記載される、及び当技術分野で実施される他のアルゴリズム、を使用して)決定される。

【０１８９】

いくつかの実施形態では、コードされた結合タンパク質(例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、又はCAR)は、「シグナル・ペプチド」(リーダー配列、リーダー・ペプチド、又は移行ペプチド(transit peptide)、としても知られる)を含むことがある。シグナル・ペプチドは、新たに合成されたポリペプチドを、細胞の内部又は外部の適切な位置へ、ターゲット化する。シグナル・ペプチドは、局在化若しくは分泌の過程で、又は局在化若しくは分泌が一度完了すると、前記ポリペプチドから除去されることがある。シグナル・ペプチドを有するポリペプチドは、本出願では、「プレ-タンパク質」と呼ばれる、及びシグナル・ペプチドが除去されたポリペプチドは、本出願では、「成熟」タンパク質又はポリペプチドと呼ばれる。いくつかの実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質(例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、又はCAR)は、成熟Vαドメイン、成熟Vβドメイン、又はその両方、を含む。いくつかの実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質(例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、又はCAR)は、成熟TCR β-鎖、成熟TCR α-鎖、又はその両方、を含む。

【０１９０】

いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、以下を含む融合タンパク質である：(a)TCR又はその抗原結合フラグメントを含む細胞外構成要素；(b)エフェクター・ドメイン又はその機能的部位を含む細胞内構成要素；及び(c)細胞外の及び細胞内の構成要素を接続する膜貫通ドメイン。いくつかの実施形態では、前記融合タンパク質は、MHC分子(例えば、MHCクラスI分子)の中にHA-1免疫原性ペプチドを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体に、(例えば、特異的に及び／又は選択的に)結合することがある。いくつかの実施形態では、前記MHC分子は、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖を含む。いくつかの実施形態では、前記HLA対立遺伝子は、HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*0203、HLA-A*0205、HLA-A*0206、及びHLA-A*207対立遺伝子からなる群より選択される。特定の実施形態では、前記HLA対立遺伝子は、HLA-A*0201である。

【０１９１】

本出願で使用する場合、「エフェクター・ドメイン」又は「免疫エフェクター・ドメイン」は、適切なシグナルを受けたときに、細胞における免疫応答を、直接的に又は間接的に、促進することがある、融合タンパク質の又はレセプターの、細胞内の一部又はドメイン、である。いくつかの実施形態では、エフェクター・ドメインは、結合(例えば、CD3ζ)したときに、又は免疫細胞タンパク質若しくはその一部若しくは免疫細胞タンパク質複合体がターゲット分子に直接的に結合し、免疫細胞において、前記エフェクター・ドメインからのシグナル伝達が誘発されるときに、シグナルを受け取る、免疫細胞タンパク質若しくはその一部若しくは免疫細胞タンパク質複合体、に由来する。

【０１９２】

エフェクター・ドメインは、それが、1つ以上のシグナリング・ドメイン又はモチーフ、（例えば、細胞内チロシン-ベースの活性化モチーフ(intracellular tyrosine-based activation motif (ITAM))等［例えば、共-刺激性分子中に見られるモチーフ等］）を含む場合、細胞応答を、直接的に促進することがある。理論に拘束されることを望むものではないが、ITAMは、T細胞レセプターによる、又はT細胞エフェクター・ドメインを含む融合タンパク質による、リガンド係合後のT細胞活性化に有益であると考えられる。いくつかの実施形態では、前記細胞内構成要素又はその機能的部位は、ITAMを含む。例示的な免疫エフェクター・ドメインとしては、限定されるものではないが、CD3ε, CD3δ, CD3ζ, CD25, CD79A, CD79B, CARD11, DAP10, FcRα, FcRβ, FcRγ, Fyn, HVEM, ICOS, Lck, LAG3, LAT, LRP, NKG2D, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, Wnt, ROR2, Ryk, SLAMF1, Slp76, pTα, TCRα, TCRβ, TRIM, Zap70, PTCH2,、又はこれらの任意の組み合わせ、に由来する免疫エフェクター・ドメインが挙げられる。いくつかの実施形態では、エフェクター・ドメインは、リンパ球レセプター・シグナリング・ドメイン(例えば、CD3ζ、又はその機能的部位若しくはバリアント)を含む。

【０１９３】

更なる実施形態では、前記融合タンパク質の細胞内構成要素は、CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40 (CD134), CD2, CD5, ICAM-l (CD54), LFA-l (CD11a/CD18), ICOS (CD278), GITR, CD30, CD40, BAFF-R, HVEM, LIGHT, MKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3,CD83と(例えば、特異的に及び／若しくは選択的に)結合するリガンド、若しくはそれらの機能的バリアント、又はそれらの任意の組み合わせ、より選択される、共-刺激ドメイン又はそれらの機能的部位、を含む。いくつかの実施形態では、前記細胞内構成要素は、CD28共-刺激ドメイン、若しくはその機能的部分若しくはバリアント（これらは、天然CD28タンパク質の186-187位でのLL-GG変異を、任意選択的に、含むことがある［例えば、Nguyen et al. (2003) Blood 702:4320］）、4-1BB共-刺激ドメイン、若しくはその機能的部分若しくはバリアント、又はその両方、を含む。

【０１９４】

いくつかの実施形態では、エフェクター・ドメインは、CD3εエンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナル伝達)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、CD27エンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナル伝達)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、CD28エンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナル伝達)部分、又はその機能的バリアント、を含む。なお更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、4-1BBエンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナル伝達)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、OX40エンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナル伝達)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、CD2エンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナル伝達)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、CD5エンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナル伝達)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、ICAM-1エンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナル伝達)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、LFA-1エンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナル伝達)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、ICOSエンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナル伝達)部分、又はその機能的バリアント、を含む。

【０１９５】

本発明によって包含される、細胞外構成要素及び細胞内構成要素は、膜貫通ドメインによって、接続している。「膜貫通ドメイン」は、本出願で使用する場合、細胞膜の中に挿

入されることが可能な、又は細胞膜を渡すことが可能な、膜貫通タンパク質の一部である。膜貫通ドメインは、細胞膜中で熱力学的に安定である、及び一般的に長さが約15アミノ酸から約30アミノ酸までの範囲である、三次元構造を有する。膜貫通ドメインの構造は、アルファ・ヘリックス、ベータ・バレル、ベータ・シート、ベータ・ヘリックス、又はそれらの任意の組み合わせ、を含むことがある。いくつかの実施形態では、前記膜貫通ドメインは、既知の膜貫通タンパク質（例えば、CD4膜貫通ドメイン、CD8膜貫通ドメイン、CD27膜貫通ドメイン、CD28膜貫通ドメイン、若しくはそれらの任意の組み合わせ）、を含む、又はに由来する。

【０１９６】

いくつかの実施形態では、前記融合タンパク質の細胞外構成要素は、前記結合ドメインと前記膜貫通ドメインとの間に配置されたリンカー、を更に含む。前記結合ドメイン及び前記膜貫通ドメインを接続する融合タンパク質の構成要素に言及する時に、本出願で使用される場合、「リンカー」は、約2個のアミノ酸から約500個のアミノ酸までを有する、アミノ酸配列であることがある、これは、前記リンカーによって接続される、2つの領域、2つのドメイン、2つのモチーフ、2つのフラグメント、又は2つのモジュール、の間のコンホメーション運動のための、柔軟性を及び余地を提供することがある。例えば、本発明によって包含されるリンカーは、前記結合ドメインを、前記融合タンパク質を発現する宿主細胞の表面から離れた位置に配置して、宿主細胞とターゲット細胞との間の適切な接触、抗原結合、及び活性化、を可能にすることがある（Patel et al. (1999) Gene Therapy 6:412-419）。選択したターゲット分子、選択した結合エピトープ、又は抗原結合ドメインの捕捉性及び親和性、に基づいて、抗原認識を最大化するように、リンカー長を、変化させることができる(例えば、Guest et al. (2005) Immunother. 28:203-11 及び PCT Publ. No. WO 2014/031687)。例示的なリンカーとしては、Gly_xSer_yの1個から約10個の繰り返しを有する、グリシン-セリン・アミノ酸鎖を有するリンカーが挙げられる、ここで、x及びyは、それぞれ独立して、0から10までの整数であるが、但し、x及びyは、両方ともが0ではない（例えば、$(Gly_4Ser)_2$、$(Gly_3 Ser)_2$、Gly_2Ser、又はそれらの組み合わせ［例えば、$((Gly_3Ser)_2Gly_2Ser$)等］）。

【０１９７】

本発明によって包含される結合タンパク質は、いくつかの実施形態では、部分構造に共有結合することがある。いくつかの実施形態では、共有結合した部分構造は、親和性タグ(affinity tag)又は標識を含む。前記親和性タグを、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)、カルモジュリン結合タンパク質(CBP)、タンパク質Cタグ、Mycタグ、HaloTag、HAタグ、Flagタグ、Hisタグ、ビオチン・タグ、及びV5タグ、からなる群より選択することがある。前記標識は、蛍光タンパク質であることがある。いくつかの実施形態では、前記共有結合した部分構造を、炎症性薬剤、抗-炎症性薬剤、サイトカイン、毒素、細胞傷害性分子、放射性同位体、又は単鎖Fvなどの抗体、からなる群より選択する。

【０１９８】

結合タンパク質を、イメージング、リサーチ、治療、セラノスティクス(theranostics)、医薬品、化学療法、キレート療法、ターゲット化した薬物送達、及び放射線療法、において使用される薬剤に、コンジュゲートすることがある。いくつかの実施形態では、結合タンパク質を、検出可能な薬剤、例えば、フルオロフォア、近-赤外色素、造影剤、ナノ粒子、含金属ナノ粒子、金属キレート、X-線造影剤、PET剤、金属、放射性同位体、色素、放射性核種キレート化剤、又はイメージングに使用することがある別の好適な物質、と、コンジュゲートすることがある、又は融合することがある。いくつかの実施形態では、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又はそれ以上の検出可能な部分構造を、結合タンパク質に連結することがある。放射性同位体の非限定的な例としては、アルファ放射体、ベータ放射体、陽電子放射体、及びガンマ放射体、が挙げられる。いくつかの実施形態では、前記金属又は放射性同位体を、アクチニウム、アメリシウム、ビスマス、カドミウム、セシウム、コバルト、ユーロピウム、ガドリニウム、イリジウム、鉛、ルテチウム、マンガン、パラジウム、ポロニウム、ラジウム、ルテニウム、サマリウム、ストロン

チウム、テクネチウム、タリウム、及びイットリウム、からなる群より選択する。いくつかの実施形態では的に、金属は、アクチニウム、ビスマス、鉛、ラジウム、ストロンチウム、サマリウム、又はイットリウムである。いくつかの実施形態では、前記放射性同位体は、アクチニウム-225又は鉛-212である。いくつかの実施形態では、前記近赤外色素は、生物学的組織及び流体によって容易にクエンチ(quench))しない。いくつかの実施形態では、前記フルオロフォアは、650 nmと4000 nmとの間の波長で、電磁波を放出する蛍光薬剤であり、そのような放出を利用して、そのような薬剤を検出する。コンジュゲート分子として使用することがある蛍光色素の非限定的な例としては、DyLight-680、DyLight-750、VivoTag-750、DyLight-800、IRDye-800、VivoTag-680、Cy5.5、ZQ800、又はインドシアニン・グリーン(ICG)、が挙げられる。いくつかの実施形態では、しばしば、近赤外色素として、シアニン色素(例えば、Cy7、Cy5.5、及びCy5)が挙げられる。本発明に従ってコンジュゲート分子として使用するための蛍光色素に関する追加の非-限定的な例としては、アクラジン・オレンジ又はイエロー(acradine orange or yellow)、Alexa Fluors(登録商標)(例えば、Alexa Fluor(登録商標)790、750、700、680、660、及び647)並びにその任意の誘導体、7-アクチノマイシンD、8-アニリノナフタレン-1-スルホン酸、ATTO（登録商標）染料及びその任意の誘導体、オーラミン-ローダミン染色剤及びその任意の誘導体、ベンサントロン、ビマン、9-10-ビス(フェニルエチニル)アントラセン、5,12-ビス(フェニルエチニル)ナタセン（5,12-bis(phenylethynyl)naththacene）、ビスベンズイミド、ブレインボウ（brainbow）、カルセイン、カルボディフルオレセイン(carbodyfluorescein)及びその任意の誘導体、1-クロロ-9,10-ビス(フェニルエチニル)アントラセン及びその任意の誘導体、DAPI、DiOC6、DyLight（登録商標）Fluors（登録商標）及びその任意の誘導体、エピココノン(epicocconone)、エチジウム・ブロマイド、FlAsH-EDT2（登録商標）、Fluo色素及びその任意の誘導体、FluoProbe（登録商標）及びその任意の誘導体、フルオレセイン及びその任意の誘導体、Fura（登録商標）及びその任意の誘導体、GelGreen（登録商標）及びその任意の誘導体、GelRed（登録商標）及びその任意の誘導体、蛍光タンパク質及びその任意の誘導体、例えばmCherry等のmアイソフォームタンパク質及びその任意の誘導体、ヘタメチン色素（hetamethine dye）及びその任意の誘導体、ヘッシュスト染色（hoeschst stain）、イミノクマリン（iminocoumarin）、インディアン・イエロー（indian yellow）、indo-1及びその任意の誘導体、ラウダン（laurdan）、ルシファー・イエロー及びその任意の誘導体、ルシフェリン及びその任意の誘導体、ルシフェラーゼ及びその任意の誘導体、メルコシアニン及びその任意の誘導体、ナイル色素及びその任意の誘導体、ペリレン（perylene）、フロキシン、フィコ色素（phyco dye）及びその任意の誘導体、ヨウ化プロピウム、ピラニン、ローダミン及びその任意の誘導体、リボグリーン、RoGFP、ルブレン、スチルベン及びその任意の誘導体、スルフォローダミン及びその任意の誘導体、SYBR及びその任意の誘導体、シナプト-フルオニン（synapto-pHluorin）、テトラフェニル・ブタジエン、トリス四ナトリウム、テキサス・レッド、チタン・イエロー、TSQ、ウンベリフェロン（umbelliferone）、ビオラントロン（violanthrone）、黄色蛍光タンパク質（yellow fluorescent protein）及びYOYO-1、が挙げられる。他の好適な蛍光色素としては、限定されるものではないが、フルオレセイン及びフルオレセイン色素（例えば、フルオレセイン・イソチオシアニン又はFITC、ナフトフルオレセイン、4'、5'-ジクロロ-2'、7'-ジメトキシフルオレセイン、6-カルボキシフルオレセイン又はFAM、等)、カルボシアニン、メロシアニン、スチリル系色素、オキソノール色素、フィコエリスリン（phycoerythrin）、エリスロシン、エオシン、ローダミン色素（例えば、カルボキシテトラメチル-ローダミン又はTAMRA、カルボキシルローダミン6G、カルボキシ-X-ローダミン(ROX)、リサミン・ローダミンB、ローダミン6G、ローダミン・グリーン（rhodamine Green）、ローダミン・レッド（rhodamine Red）、テトラメチルローダミン(TMR)、等)、クマリン及びクマリン色素（例えば、メトキシクマリン、ジアルキルアミノクマリン、ヒドロキシクマリン、アミノメチルクマリン(AMCA)、等)、オレゴン・グリーン（Oregon Green™）染料（例

.、オレゴン・グリーン™ 488, 500, 514.、等)、テキサス・レッド（Texas Red登録商標）、テキサス・レッド（Texas Red登録商標）-X、スペクトラム・レッド（SPECTRUM RED登録商標）、スペクトラム・グリーン（SPECTRUM GREEN登録商標）、シアニン色素（例えば、CY-3、Cy-5、CY-3.5、CY-5.5、等)、Alexa Fluor登録商標 色素（例えば、Alexa Fluor登録商標 350, 488, 532, 546, 568, 594, 633, 660, 680、等)、BODIPY登録商標 色素（例えば、BODIPY登録商標 FL、R6G、TMR、TR、530/550、558/568、564/570、576/589、581/591、630/650、650/665、等)、IRD色素（例えば、IRD40™、IRD700™、IRD800™、等)、等が挙げられる。更なる好適な検出可能な薬剤は、当技術分野において周知である（例えば、PCT公開番号PCT/US14/56177)。放射性同位体の非-限定的な例としては、アルファ放射体、ベータ放射体、陽電子放射体、及びガンマ放射体が挙げられる。いくつかの実施形態では、前記金属又は放射性同位体を、アクチニウム、アメリシウム、ビスマス、カドミウム、セシウム、コバルト、ユーロピウム、ガドリニウム、イリジウム、鉛、ルテチウム、マンガン、パラジウム、ポロニウム、ラジウム、ルテニウム、サマリウム、ストロンチウム、テクネチウム、タリウム、及びイットリウム、からなる群より選択する。いくつかの実施形態では、前記金属は、アクチニウム、ビスマス、鉛、ラジウム、ストロンチウム、サマリウム、又はイットリウムである。いくつかの実施形態では、前記放射性同位体は、アクチニウム-225又は鉛-212である。

【０１９９】

結合タンパク質を、放射線増感剤又は光増感剤にコンジュゲートすることがある。放射線増感剤としては、限定されるものではないが、以下が挙げられる：ABT-263、ABT-199、WEHI-539、パクリタキセル、カルボプラチン、シスプラチン、オキサリプラチン、ゲムシタビン、エタニダゾール、ミソニダゾール、チラパザミン、及び核酸塩基誘導体（例えば、5-フルオロデオキシウリジン等のハロゲン化プリン又はピリミジン)。光増感剤の例としては、限定されるものではないが、照射した場合に熱を生成する蛍光又はビーズ、ナノ粒子、ポルフィリン及びポルフィリン誘導体（例えば、クロリン類、バクテリオクロリン類、イソバクテリオクロリン類、フタロシアニン類、及びナフタロシアニン類)、メタロポルフィリン類、メタロフタロシアニン類、アンゲリシン類、カルコゲンアピリリウム色素、クロロフィル類、クマリン類、フラビン類及びアロキサジン、リボフラビン等の関連化合物、フラーレン類、フェオホルビド類、ピロフェオホルビド類、シアニン類（例えば、メロシアニン540）、フェオフィチン類、サフィリン類、テキサフィリン類、プルプリン類、ポルフィセン類、フェノチアジニウム類、メチレン・ブルー誘導体、ナフタルイミド類、ナイル・ブルー誘導体、キノン類、ペリレンキノン類（例えば、ヒペリシン類、ヒポクレリン類、及びセルコスポリン類)、ソラレン類、キノン類、レチノイド類、ローダミン類、チオフェン類、ベルジン類、キサンテン色素（例えば、エオシン類、エリスロシン類、ローズ・ベンガル類）、ポルフィリン類の二量体体及びオリゴマー体、並びに5-アミノレブリン酸のようなプロドラッグ、が挙げられる。有利には、この手法によって、治療薬剤(例えば、薬物)及び電磁気的なエネルギー(例えば、照射又は光)の両方を同時に使用して、関心とする細胞(例えば、免疫細胞)を、非常に特異的にターゲット化することが可能になる。いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質を、例えば、直接的に又はリンカーを介して、前記薬剤と融合する、又は共有結合的に若しくは非-共有結合的に連結する。

【０２００】

いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質を化学的に改変することがある。例えば、結合タンパク質に変異を加えて、ペプチド特性、例えば、検出可能性、安定性、体内分布、薬物動態、半減期、表面荷電、疎水性、コンジュゲーション部位、pH、機能等を改変することがある。N-メチル化は、本発明によって包含される結合タンパク質において起こり得るメチル化の1つの例である。いくつかの実施形態では、結合タンパク質を、遊離アミン上のメチル化によって、例えばホルムアルデヒド及びシアノ水素化ホウ素ナトリウムによる還元性メチル化等によって、改変することがある。

【０２０１】
化学的な改変は、ポリマー、ポリエーテル、ポリエチレン・グリコール、バイオポリマー、両性ポリマー、ポリアミノ酸、脂肪酸、デンドリマー、Fc領域、パルミチン酸若しくはミリストレイン酸等の単飽和炭素鎖、又はアルブミン、を含むことがある。結合タンパク質のFc領域による化学的な改変は、融合Fc-タンパク質であることがある。ポリアミノ酸としては、例えば、反復単一アミノ酸を有するポリ・アミノ酸配列(例えば、ポリ・グリシン)、及びパターンに従っていることもある、又は従っていないこともある、混合ポリ・アミノ酸配列を有するポリ・アミノ酸配列、又は前述の任意の組み合わせ、を挙げることができる。
【０２０２】
いくつかの実施形態では、本発明によって包含される結合タンパク質を改変することがある。いくつかの実施形態では、親結合タンパク質と実質的な又は有意な配列同一性を有し、前記親結合タンパク質の1つ以上の生物物理学的な及び／又は生物学的な活性を維持する(例えば、pMHC結合特異性を維持する)機能的バリアントを生成する。いくつかの実施形態では、前記変異は、保存的なアミノ酸置換である。
【０２０３】
いくつかの実施形態では、本発明によって包含される結合タンパク質は、1つ以上の天然アミノ酸の代わりに、合成アミノ酸を含むことがある。そのような合成アミノ酸は、当該技術分野において既知である、及び、例えば、アミノシクロヘキサン・カルボン酸、ノルロイシン、a-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-及びトランス-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-リジン、N'，N'-ジベンジル-リジン、6-ヒドロキシリジン、オルニチン、a-アミノシクロペンタン・カルボン酸、oc-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、α，γ-ジアミノブチル酸、β-ジアミノプロピオン酸、ホモフェニルアラニン、及びoc-tert-ブチルグリシン、が挙げられる。
【０２０４】
本発明によって包含される結合タンパク質は、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、環化(例えば、ジスルフィド架橋を介して)、若しくは酸付加塩への変換、及び／又は任意選択的に二量体化若しくはポリマー化、若しくはコンジュゲート化、を受けていることがある。
【０２０５】
いくつかの実施形態では、疎水性部分構造のアタッチメント(attachment)、例えば、N末端への、C末端への、又は内部アミノ酸へのアタッチメント(attachment)を利用して、本発明によって包含されるペプチドの半減期を延ばすことがある。他の実施形態では、結合タンパク質は、例えば、血清半減期に影響を及ぼし得る、翻訳後修飾（例えば、メチル化及び／又はアミド化）を含むことがある。いくつかの実施形態では、(例えば、ミリストイル化及び／又はパルミチル化によって)簡単な炭素鎖を前記結合タンパク質にコンジュゲートすることがある。いくつかの実施形態では、前記簡単な炭素鎖によって、前記結合タンパク質を、コンジュゲートしていない物質から、容易に分離可能になることがある。例えば、前記結合タンパク質を、コンジュゲートしていない物質から分離するために使用することがある方法としては、限定されるものではないが、溶媒抽出及び逆相クロマトグラフィ。が挙げられる。脂溶性の部分構造によって、血清アルブミンへの可逆的結合を介して、半減期が延びることがある。コンジュゲートした部分構造は、血清アルブミンへの可逆的結合を介して、ペプチドの半減期を延ばす脂溶性の部分構造であることがある。いくつかの実施形態では、前記脂溶性部分は、コレステロール又はコレステロール誘

導体、例えば、コレステン類、コレスタン類、コレスタジエン類及びオキシステロール類、等、であることがある。いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、ミリスチン酸(テトラデカン酸)又はその誘導体、にコンジュゲートすることがある。他の実施形態では、結合タンパク質は、半減期を改変する薬剤にカップリング（例えば、コンジュゲート）することがある。半減期を改変する薬剤としては、限定されるものではないが、以下が挙げられる：ポリマー、ポリエチレン・グリコール(PEG)、ヒドロキシエチル・デンプン、ポリビニル・アルコール、水溶性ポリマー、両性イオン水溶性ポリマー、水溶性ポリ(アミノ酸)、プロリン、アラニン、及びセリンの水溶性ポリマー、グリシン、グルタミン酸、及びセリンを含む水溶性ポリマー、Fc領域、脂肪酸、パルミチン酸、又はアルブミンに結合する分子。いくつかの実施形態では、スペーサー又はリンカーは、別の分子へのコンジュゲート又は融合を容易にするために、並びにそのようなコンジュゲートした又は融合した分子からのペプチドの切断を容易にするために、スペーサー又はリンカーとして働く、1、2、3、4、又はそれ以上のアミノ酸残基等の結合タンパク質に、カップリングすることがある。いくつかの実施形態では、結合タンパク質は、例えば、前記結合タンパク質の特性を改変することができる、又は変化させることができる、他の部分構造にコンジュゲートすることがある。

【０２０６】

結合タンパク質を、組み換え的に又は合成的に、例えば、固相ペプチド合成又は液相ペプチド合成、等によって、生成することがある。ポリペプチド合成を、既知の合成方法によって、例えば、フルオレニルメチルオキシカルボニル(Fmoc)化学を使用して、又はブチルオキシカルボニル(Boc)化学によって、実施することがある。ポリペプチド・フラグメントを、酵素的に又は合成的に、一緒に連結することがある。

【０２０７】

本発明によって包含される態様では、本出願に記載される結合タンパク質を産生する方法を、本出願は提供する、ここで、前記方法は、以下のステップを含む：(i)本出願に記載される結合タンパク質をコードする配列を含む核酸によって形質転換をした、形質転換済み宿主細胞を、前記結合タンパク質の発現を可能にするのに適した条件下で、培養するステップ；及び(ii)その発現した結合タンパク質を回収するステップ。

【０２０８】

組み換え的に産生した結合タンパク質を、単離するのに及び精製するのに有用な方法は、例えば、前記結合タンパク質を培養培地中に分泌することに好適な宿主細胞／ベクター・システムから上清を得るステップ、次いで市販のフィルターを用いて、前記培地を濃縮するステップ、を含むことがある。濃縮した後、その濃縮物は、単一の好適な精製マトリックス、又は一連の好適なマトリックス、例えば、親和性マトリックス若しくはイオン交換樹脂、等、に適用することがある。1つ以上の逆相HPLCのステップを利用して、組み換えポリペプチドを更に精製することがある。これらの精製方法をまた、その自然環境から免疫原を単離する場合に、使用することがある。本出願に記載される1種以上の結合タンパク質を大規模に産生させるための方法は、バッチ細胞培養を含むことがある、そのバッチ細胞培養を、適切な培養条件を維持するために、モニタリングする、及び制御する。前記結合タンパク質の精製を、本出願に記載された、及び当技術分野で既知である、方法に従って、実施することがある。

【０２０９】

本出願に開示される実施形態のいずれかにおいて、コードされる結合タンパク質は、MHC分子(例えば、MHCクラスI分子)の中のHA-1免疫原性ペプチドを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体に、結合することができる。いくつかの実施形態では、前記MHC分子は、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖、を含む。いくつかの実施形態では、そのHLA対立遺伝子を、HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*0203、HLA-A*0205、HLA-A*0206、及びHLA-A*207対立遺伝子からなる群より選択する。

【０２１０】

結合親和性を評価するための、及び／又は結合分子が特定のリガンド(例えば、ペプチ

ド抗原-MHC複合体)に、(例えば、特異的に及び／又は選択的に)結合するかどうかを決定するための、様々なアッセイが既知である。ターゲット、例えば、ターゲットポリペプチドというT細胞ペプチド・エピトープ、に対する結合タンパク質の結合親和性を、例えば、当技術分野で既知の任意の多数の結合アッセイを使用すること等によって、決定することは、当業者のレベルの範囲内である。例えば、いくつかの実施形態では、Biacore™装置を使用して、2つのタンパク質間の複合体の結合定数を決定することがある。前記複合体の解離定数(K_D)を、バッファーがチップ上を通過するときの屈折率の経時変化をモニタリングすることによって、決定することがある。あるタンパク質が別のタンパク質に結合することを測定するための他の好適なアッセイとしては、例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)及びラジオイムノアッセイ(RIA)等のイムノアッセイ、又は蛍光、UV吸収、円偏光二色性若しくは核磁気共鳴(NMR)によって、タンパク質の、分光学的な若しくは光学的な特性の変化をモニターすることによる結合の測定、が挙げられる。他の例示的なアッセイとしては、限定されるものではないが、ウェスタン・ブロット、ELISA、分析超遠心分離、分光法及び表面プラズモン共鳴(Biacore™)解析(例えば、Scatchard et al. (1949) Ann. N.Y. Acad. Sci. 51:660, Wilson (2002) Science 295:2103, Wolff et al. (1993) Cancer Res. 53:2560, 並びに米国特許番号5,283,173及び5,468,614、を参照)、フロー・サイトメトリー、シークエンシング及び発現した核酸を検出するための他の方法、が挙げられる。1つの例では、ターゲットに対する見かけの親和性を、種々の濃度の四量体への結合を評価することによって、例えば、ラベルした多量体を、例えば、MHC-抗原四量体等を、用いたフロー・サイトメトリーによって、測定する。1つの代表的な例では、結合タンパク質の見かけのK_Dを、ある濃度範囲で標識した四量体の2倍希釈を用いて、測定する、続いて、非-線形回帰による結合曲線の決定を行う。見かけのK_Dを、最大結合の半分の結合を生じるリガンドの濃度として決定する。

【０２１１】

III.核酸及びベクター

本発明によって包含される態様では、本出願に記載される、結合タンパク質(例えば、TCR、TCRの抗原結合フラグメント、CAR、等)、ペプチド、及びそれらのフラグメント、をコードする核酸分子が、本出願で提供される。

【０２１２】

いくつかの実施形態では、前記核酸分子は、ストリンジェントな条件(stringent condition)下で、表１に列挙したポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超える同一性を、例えば全長に渡って、有する、配列に対して、相補的にハイブリダイズする。

【０２１３】

いくつかの実施形態では、前記核酸分子は、ストリンジェントな条件(stringent condition)下で、表１に列挙したポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸に対して、相補的にハイブリダイズする。

【０２１４】

いくつかの実施形態では、前記核酸分子は、表1に列挙したポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む（例えば、を含む、から本質的になる、又はからなる)。

【０２１５】

いくつかの実施形態では、前記核酸は、表１に記載した少なくとも1つ(例えば、1つ、2つ、又は3つ)のTCR α-鎖CDRをコードするヌクレオチド配列を含む（例えば、を含む、から本質的になる、又はからなる)。いくつかの実施形態では、前記核酸は、表１に記載したTCR Vαドメイン配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97

%、98%、99%、又はそれを超えて同一であるアミノ酸配列を有するTCR Vαドメインをコードするヌクレオチド配列を含む(例えば、を含む、から本質的になる、又はからなる)。いくつかの実施形態では、前記核酸は、表１に記載したTCR α-鎖配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて同一であるアミノ酸配列を有するTCR α-鎖をコードするヌクレオチド配列を含む(例えば、を含む、から本質的になる、又はからなる)。

【０２１６】

いくつかの実施形態では、前記核酸は、表１に記載した少なくとも1つ(例えば、1つ、2つ、又は3つ)のTCR β-鎖CDRをコードするヌクレオチド配列を含む（例えば、を含む、から本質的になる、又はからなる)。いくつかの実施形態では、前記核酸は、表１に記載したTCR Vβドメイン配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて同一であるアミノ酸配列を有するTCR Vβドメインをコードするヌクレオチド配列を含む(例えば、を含む、から本質的になる、又はからなる)。いくつかの実施形態では、前記核酸は、表１に記載したTCR β-鎖配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて同一であるアミノ酸配列を有するTCR β-鎖をコードするヌクレオチド配列を含む(例えば、を含む、から本質的になる、又はからなる)。

【０２１７】

用語「核酸」は、「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、及び「核酸分子」を含み、一般に、DNA又はRNAのポリマーを意味する。これは、一本鎖又は二本鎖であることがある、合成されることがある又は天然の起源から取得されることがある(例えば、単離されることがある、及び／若しくは精製されることがある)、これは、天然の、非-天然の、又は改変したヌクレオチドを含むことがある、並びにこれは、天然の、非-天然の、又は改変したヌクレオチド間の結合を、例えば、改変していないオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間に見られるホスホジエステルの代わりの、ホスホロアミデート結合又はホスホロチオエート結合等を、含むことがある。1つの実施形態では、前記核酸は、相補的DNA(cDNA)を含む。

【０２１８】

いくつかの実施形態では、本発明によって包含される核酸は、組み換え体である。本出願で使用される場合、用語「組み換え」は、(i)生きている細胞中で複製することができる核酸分子に、天然の又は合成の核酸セグメントを繋げることによって、生きている細胞の外で構築される分子、又は(ii)上記(i)に記載したものの複製から生じる分子、を指す。本出願の目的のために、前記複製は、in vitro/ex vivo複製又はin vivo複製であることがある。

【０２１９】

前記核酸を、当技術分野で既知の手順を用いて、化学合成及び／又は酵素的なライゲーション反応に基づいて、構築することができる。例えば、上述のGreen and Sambrook et al.、を参照されたい。例えば、核酸を、その分子の生物学的安定性を増加させるように、又はハイブリダイゼーション時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、設計した、天然に存在するヌクレオチドを又は様々に改変したヌクレオチドを使用して、化学的に合成することがある(例えば、ホスホロチオエート誘導体及びアクリジン置換ヌクレオチド)。前記核酸を生成するために使用することがある改変したヌクレオチドの例としては、限定されるものではないが、5-フィウロウラシル(5-fiuorouracil)、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-D-ガラクトシルキューオシン、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-D-マンノシルキューオシン、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)、ワイブトキソシン（wybutoxosine）、偽ウラシル（pseudouracil）、キューオシン、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、及び2,6-ジアミノプリン、が挙げられる。或いは、本発明によって包含される核酸の1種以上を、例えば、Integrated DNA Technologies (Coralville、IA)等の会社から購入することができる。

【０２２０】

1つの実施形態では、前記核酸は、コドン-最適化したヌクレオチド配列を含む。特定の理論又はメカニズムに束縛されるものではないが、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大させると考えられる。ヌクレオチド配列のコドン最適化としては、天然のコドンを、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り、それ故に、翻訳効率を増加させる、別のコドンに置換することを含むことがある。ヌクレオチド配列の最適化はまた、翻訳を妨害することがあるmRNAの二次構造を減少させることもあり、それ故に、翻訳効率を増加させることがある。いくつかの実施形態では、本出願に記載されるヌクレオチド配列は、宿主細胞(例えば、T細胞等の免疫細胞)における発現のために、コドン-最適化がなされる。

【０２２１】

本発明は、本出願に記載される任意の核酸のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列、又は本出願に記載される任意の核酸のヌクレオチド配列に、ストリンジェントな条件(stringent condition)下で、ハイブリダイズするヌクレオチド配列、を含む核酸も提供する。

【０２２２】

ストリンジェントな条件(stringent condition)下でハイブリダイズするヌクレオチド配列は、高ストリンジェントな条件(stringent condition)下でハイブリダイズすることがある。「高ストリンジェンシー条件(high stringency conditions)」とは、前記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、より強く検出することができる量で、ターゲット配列(本出願に記載される任意の核酸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。高ストリンジェンシーな条件としては、全く正確に相補的な配列を有する、又は散在する僅かなミスマッチのみを含む、ポリヌクレオチドを、前記ヌクレオチド配列に対して、僅かな領域(例えば、3-10塩基)がたまたまマッチするランダムな配列から、区別できるであろう条件、が挙げられる。そのような僅かな相補性領域は、14-17塩基以上の全長の相補体よりも、容易に融解する、及び高ストリンジェンシー・ハイブリダイゼーションによって、それらを容易に区別することが可能である。比較的高ストリンジェンシーな条件としては、例えば、低塩の及び／又は高温の条件、例えば、約0.02-0.1 M NaCl又は均等物によって、約50-70℃の温度で、提供されるような条件、が挙げられるであろう。そのような高ストリンジェンシーな条件は、前記ヌクレオチド配列と鋳型又はターゲット鎖との間のミスマッチを、たとえあったとしてもほとんど許容しない、本発明のTCRのいずれかの発現を検出することに特に適している。ホルムアミドの添加量を増やすことによって、条件をよりストリンジェントにすることができることが、広く理解される。

【０２２３】

本発明は、本出願に記載される任意の核酸に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて同一であるヌクレオチド配列を含む核酸、も提供する。

【０２２４】
典型的には、前記核酸は、ＤＮＡ又はＲＮＡ分子である、これは、好適なベクター、例えば、プラスミド、コスミド、エピソーム、人工染色体、ファージ、又はウイルス・ベクター等、に含まれることがある。
【０２２５】
用語「ベクター」、「クローニングベクター」及び「発現ベクター」は、ＤＮＡ又はＲＮＡ配列(例えば、外来遺伝子)を宿主細胞に導入することができ、その宿主を形質転換し、その導入された配列の発現(例えば、転写及び翻訳)を促進する、ことができる媒体、を意味する。従って、本発明によって包含される更なる目的は、本発明によって包含される核酸を含むベクター、に関する。
【０２２６】
そのようなベクターは、調節エレメント、例えば、プロモーター、エンハンサー、ターミネーター等、を含み、対象への投与時に前記ポリペプチドの発現を、引き起こす、又は指令を出す、ことがある。動物細胞の発現ベクターに用いられるプロモーター及びエンハンサーの例としては、ＳＶ４０の初期プロモーター及びエンハンサー(Mizukami T. et al. 1987)、モロニー・マウス白血病ウイルスのＬＴＲプロモーター及びエンハンサー(Kuwana Y et al. 1987)、免疫グロブリンＨ鎖のプロモーター(Mason J O et al. 1985)及びエンハンサー(Gillies S D et al. 1983)等、が挙げられる。
【０２２７】
動物細胞のための任意の発現ベクターを使用することができる。好適なベクターの例としては、pAGE107 (Miyaji H et al. 1990), pAGE103 (Mizukami T et al. 1987), pHSG274 (Brady G et al. 1984), pKCR (O'Hare K et al. 1981), pSG1ベータ d2-4-(Miyaji H et al. 1990)等、が挙げられる。プラスミドの他の代表的な例としては、複製起点を含む複製プラスミド、又は例えばｐＵＣ、ｐｃＤＮＡ、ｐＢＲ等の組み込みプラスミド（integrative plasmid）、が挙げられる。ウイルス・ベクターの代表的な例としては、例えば、アデノウイルス、レトロウイルス、レンチウイルス、ヘルペスウイルス、ＡＡＶ、のベクター、が挙げられる。そのような組み換えウイルスを、当技術分野で既知の技術、例えば、パッケージング細胞をトランスフェクトすることによって、又はヘルパー・プラスミド若しくはウイルスを用いた一過性トランスフェクションによって、産生することがある。ウイルス・パッケージング細胞の典型的な例としては、ＰＡ３１７細胞、ＰｓｉＣＲＩＰ細胞、ＧＰｅｎｖ-ポジティブ細胞、２９３細胞等、が挙げられる。そのような複製-欠損の組み換えウイルスを産生するための詳細なプロトコルは、当技術分野において既知であり、例えば、ＰＣＴ公開 ＷＯ ９５/１４７８５, ＰＣＴ公開ＷＯ ９６/２２３７８, 米国特許第５,８８２,８７７号, 米国特許第６,０１３,５１６号, 米国特許第４,８６１,７１９号, 米国特許第 ５,２７８,０５６号, 及びＰＣＴ公開 ＷＯ ９４/１９４７８、の記載に見出すことができる。
【０２２８】
いくつかの実施形態では、前記組成物は、本出願に記載される、結合タンパク質若しくはポリペプチド、又はそのフラグメント、をコードするオープン・リーディング・フレーム（open reading frame）を含む、発現ベクター、を含む。いくつかの実施形態では、前記核酸は、前記オープン・リーディング・フレーム（open reading frame）の発現に必須の調節エレメントを含む。このようなエレメントとしては、例えば、プロモーター、開始コドン、終止コドン、及びポリアデニル化シグナル、が挙げられる。更に、エンハンサーが挙げられる。これらの要素を、結合タンパク質、ポリペプチド又はそのフラグメント、をコードする配列に、作動可能に連結することがある。
【０２２９】
いくつかの実施形態では、前記ベクターは、ＣＤ８α及び／又はＣＤ８βをコードする核酸配列、を更に含む。ある特定の実施形態では、ＣＤ８α又はＣＤ８βをコードする核酸配列は、タグ（例えば、ＣＤ３４濃縮タグ）をコードする核酸に、作動可能に連結する。特定の実施では、ＣＤ８α及び／又はＣＤ８βをコードする核酸配列は、配列内リボソーム進入部位(internal ribosome entry site)、又は自己-切断ペプチドをコードする核酸配列

、例えば、P2A、E2A、F2A若しくはT2A等を使って、相互に連結している。

【０２３０】

いくつかの実施形態では、本出願で提供される発現ベクターは、配列番号(SEQ ID NO):27として記載される核酸のいずれかと、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて同一であるヌクレオチド配列を含む。

【０２３１】

プロモーターの例としては、限定されるものではないが、サル・ウイルス40(imian Virus 40 (SV40))、マウス乳がんウイルス(Mouse Mammary Tumor Virus (MMTV))プロモーター、ヒト免疫不全ウイルス(Human Immunodeficiency Virus (HIV))、例えば、HIV 長い末端反復(Long Terminal Repeat(LTR))プロモーター等、モロニーウイルス、サイトメガロウイルス(Cytomegalovirus (CMV))、例えば、CMV最初期プロモーター(CMV immediate early promoter)、エプスタイン・バー・ウイルス(Epstein Barr Virus (EBV))、ラウス肉腫ウイルス(Rous Sarcoma Virus (RSV))、由来のプロモーター、並びに、例えば、ヒト・アクチン、ヒト・ミオシン、ヒト・ヘモグロビン、ヒト筋肉クレアチン、及びヒト・メタロチオネイン、等のヒト遺伝子由来のプロモーター、が挙げられる。好適なポリアデニル化シグナルの例としては、限定されるものではないが、SV40ポリアデニル化シグナル及びLTRポリアデニル化シグナル、が挙げられる。

【０２３２】

発現に必要な調節エレメントに加えて、他のエレメントが前記核酸分子に含まれることもある。そのような付加的な要素としては、エンハンサーが挙げられる。エンハンサーとしては、本出願に記載されるプロモーターが挙げられる。いくつかの実施形態では、エンハンサー／プロモーターとしては、例えば、ヒト・アクチン、ヒト・ミオシン、ヒト・ヘモグロビン、ヒト筋肉クレアチン、並びにCMV、RSV及びEBV由来のウイルス・エンハンサーなどのウイルス・エンハンサー、が挙げられる。

【０２３３】

いくつかの実施形態では、前記核酸を、以下に更に記載されるように、担体又は送達ベクターに、作動可能に組み込むことがある。有用な送達ベクターとしては、限定されるものではないが、生分解性マイクロカプセル、免疫-刺激複合体(immuno-stimulating complexes (ISCOMs))又はリポソーム、及びウイルス若しくはバクテリア等の、遺伝子操作をした、弱毒化した生担体、が挙げられる。

【０２３４】

いくつかの実施形態では、前記ベクターは、ウイルス・ベクター、例えば、レンチウイルス、レトロウイルス、ヘルペス・ウイルス、アデノウイルス、アデノ-随伴ウイルス、ワクシニア・ウイルス、バキュロウイルス、鶏痘、AV-痘、改変ワクシニア・アンカラ(modified vaccinia Ankara (MVA))、及び他の組み換えウイルス、等、である。例えば、レンチウイルスベクターを用いて、T細胞に感染させることがある。

【０２３５】

いくつかの実施形態では、組み換え発現ベクターは、適切な宿主細胞、例えば、T細胞又は抗原提示細胞、即ち、その細胞表面においてペプチド／MHC複合体を提示する細胞（例えば、樹状細胞）及びCD8を欠く細胞、に、ポリヌクレオチドを送達することができる。いくつかの実施形態では、前記宿主細胞は、造血始原細胞(hematopoietic progenitor cell)又はヒト免疫系細胞である。例えば、前記免疫系細胞は、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、CD4/CD8ダブル・ネガティブT細胞、gd T細胞、ナチュラル・キラー細胞、樹状細胞、又はそれらの任意の組み合わせ、であることがある。いくつかの実施形態では、ここで、T細胞は宿主である、前記T細胞は、ナイーブ、セントラル・メモリーT細胞(central memory T cell)、エフェクタ・メモリーT細胞(effector memory T cell)、又はそれらの任意の組み合わせ、であることがある。従って、組み換え発現ベクターは、リンパ組織-特異的な転写調節エレメント(transcriptional regulatory ele

ments (TREs))、例えば、Bリンパ球、Tリンパ球、又は樹状細胞特異的なTRE、等、も含むことがある。リンパ組織特異的なTREは、当技術分野で既知である（例えば、Thompson et al. (1992) Mol. Cell. Biol. 72:1043, Todd et al. (1993) J. Exp. Med. 777:1663, 及び Penix et al. (1993) J. Exp. Med. 775:1483、を参照).

【０２３６】

いくつかの実施形態では、組み換え発現ベクターは、TCR α鎖、TCR β鎖、及び／又はリンカーペプチド、をコードするヌクレオチド配列、を含む。例えば、いくつかの実施形態では、前記組み換え発現ベクターは、前記結合タンパク質の全長TCRアルファ及びTCRベータ鎖をコードするヌクレオチド配列と、それらの間に位置するリンカーとを、含む、ここで、前記ベータ鎖をコードするヌクレオチド配列は、前記アルファ鎖をコードするヌクレオチド配列の5'に位置する。いくつかの実施形態では、前記ヌクレオチド配列は、前記結合タンパク質の全長TCRアルファ及びTCRベータ鎖と、それらの間に位置するリンカーとを、コードする。ここで、前記ベータ鎖をコードするヌクレオチド配列は、前記アルファ鎖をコードするヌクレオチド配列の3'に位置する。いくつかの実施形態では、前記全長TCRアルファ及び／又はTCRベータ鎖を、それらのフラグメントで置き換える。

【０２３７】

以下に更に記載されるように、本発明によって包含される別の態様は、本発明による核酸及び／又はベクターによって、トランスフェクト、感染又は形質転換された細胞、に関する。宿主細胞としては、ベクター、又は核酸及び／若しくはタンパク質の取り込み、を受け取ることができる、任意の個々の細胞又は細胞培養物、並びに任意の後代細胞、を挙げることができる。当該用語はまた、遺伝的に又は表現型が同じであるか又は異なっているかにかかわらず、宿主細胞の後代も包含する。好適な宿主細胞は、前記ベクターに依存することがある、並びに哺乳動物細胞、動物細胞、ヒト細胞、サル細胞、昆虫細胞、酵母細胞、及びバクテリア細胞、を挙げることができる。ようｇ＼＼これらの細胞は、ウイルス・ベクターの使用、リン酸カルシウム沈殿、DEAE-デキストラン、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、又は他の方法、を介した形質転換、によって、前記ベクター又は他の物質を取り込むように誘導され得る（例えば、Sambrook el al. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2d ed. (Cold Spring Harbor Laboratory)を参照されたい)。用語「形質転換」は、宿主細胞への「外来」（即ち、外因性の又は細胞外の）遺伝子、DNA又はRNA配列の導入を意味し、その結果、前記宿主細胞は、導入された遺伝子又は配列を発現して、所望の物質、典型的には、前記導入された遺伝子又は配列によってコードされる、タンパク質又は酵素、を産生する。導入されたDNA又はRNAを受け取り、発現する宿主細胞は、「形質転換されている」

【０２３８】

本発明によって包含される核酸を使用して、好適な発現システムにおいて、本発明によって包含される組み換えポリペプチドを産生することがある。用語「発現システム」、例えば、前記ベクターによって運ばれ、前記宿主細胞に導入された外来DNAがコードするタンパク質を発現するための、好適な条件下にある、宿主細胞及び適合性ベクター、を意味する。

【０２３９】

一般的な発現システムとしては、E.coli（大腸菌）宿主細胞及びプラスミド・ベクター、昆虫宿主細胞及びバキュロウイルス・ベクター、並びに哺乳動物宿主細胞及びベクター、が挙げられる。宿主細胞の他の例としては、限定されるものではないが、原核生物細胞（例えば、バクテリア等）及び真核生物細胞（例えば、酵母細胞、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞等）、が挙げられる。具体的な例としては、大腸菌、クルイベロミセス又はサッカロミセス酵母（Kluyveromyces or Saccharomyces yeasts）、哺乳動物細胞株(例えば、Vero細胞、CHO細胞、3T3細胞、COS細胞、等)、並びに初代又は確立された哺乳動物細胞培養物(例えば、リンパ芽球、線維芽細胞、胚性細胞、上皮細胞、神経細胞、脂肪細胞、等から産生される)、が挙げられる。例としてはまた、マウスSP2/0

-Ag14細胞(ATCC CRL1581)、マウスP3X63-Ag8.653細胞(ATCC CRL1580)、ジヒドロ葉酸レダクターゼ遺伝子(以下、「DHFR遺伝子」という)を欠損しているCHO細胞（Urlaub G et al. (1980)）、ラットYB2/3HL.P2.G11.16Ag.20細胞（ATCC CRL 1662、以下、「YB2/0細胞」という）、等が挙げられる。いくつかの実施形態では、前記YB2/0細胞を、キメラ又はヒト化結合タンパク質のADCC活性が、この細胞において発現される場合に、増強されるので、使用する。

【０２４０】

本発明はまた、本発明によって包含される結合タンパク質、ペプチド、及びそのフラグメント、を発現する組み換え宿主フラグメントを産生する方法を包含する、ここで、前記細胞は、以下からなるステップを含む、(i)上記のような組み換え核酸又はベクターを、コンピテントな宿主細胞(competent host cell)の中に、in vitro又はex vivoで導入するステップ、(ii)得られた組み換え宿主細胞を、in vitro又はex vivoで培養するステップ、及び(iii)任意選択的に、前記結合タンパク質、ペプチド、及びそのフラグメント、を発現する細胞を選択するステップ。本発明に。そのような組み換え宿主細胞を、診断方法に、予後予測方法に、及び／又は治療方法に、使用することができる。

【０２４１】

別の態様では、本発明は、選択的なハイブリダイゼーション条件下で、本出願に開示されるポリヌクレオチドとハイブリダイズする、単離された核酸を提供する。従って、この実施形態のポリヌクレオチドを、そのようなポリヌクレオチドを含む核酸を、単離するために、検出するために、及び／又は定量するために、使用することがある。例えば、本発明によって包含されるポリヌクレオチドを使用して、寄託されたライブラリ中の、部分的クローン又は全長クローンを、同定する、単離する、又は増幅する。いくつかの実施形態では、前記ポリヌクレオチドは、ヒト又は哺乳動物核酸ライブラリ由来のcDNA、から単離された、又はその他、に対して相補的な、ゲノム配列又はcDNA配列、である。いくつかの実施形態では、そのcDNAライブラリは、少なくとも約75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくはそれを超えた、又は、間の、包含的な、任意の範囲、例えば、少なくとも約80%-100%等、全長配列、を含む。前記cDNAライブラリを正規化して、稀な配列が表現されることを増大させる。低ストリンジェンシーな又は中ストリンジェンシーなハイブリダイゼーション条件は、典型的には、排他的ではないが、相補的配列と比較して低い配列同一性を有する配列と共に、使用される。中ストリンジェンシーな及び高いストリンジェンシーな条件を、より高い同一性に関する配列のために、任意選択的に使用することができる。低ストリンジェンシーな条件は、約70%の配列同一性を有する配列に関する選択的なハイブリダイゼーションを可能にし、オルソロガスな配列又はパラロガスな配列を同定するために使用されることがある。任意選択的に、本発明によって包含されるポリヌクレオチドは、本出願に記載されるポリヌクレオチドによってコードされる結合タンパク質の少なくとも一部をコードする。本発明によって包含されるポリヌクレオチドは、本発明によって包含される結合タンパク質をコードするポリヌクレオチドへの選択的なハイブリダイゼーションの為に用いることができる核酸配列、を包含する（例えば、上掲のAusubel, supra and Colligan を参照されたい)。

【０２４２】

IV.宿主細胞

本発明によって包含される態様では、本出願に記載される結合タンパク質（例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、CAR、又はTCRとエフェクター・ドメインとを含む融合タンパク質）を発現する宿主細胞、が本出願において提供される。いくつかの実施形態では、前記宿主細胞は、本出願に記載される核酸又はベクターを含む。

【０２４３】

いくつかの実施形態では、結合タンパク質をコードするポリヌクレオチドを使用して、養子移入療法における使用のために宿主細胞(例えば、T細胞)を、形質転換する、トラン

スフェクトする、又は形質導入する。核酸シークエンシング及び特定のTCRシークエンシングにおける進歩は、記載されている（例えば、Robins et al. (2009) Blood 114:4099; Robins et al. (2010) Sci. Translat. Med. 2:47ra64, Robins et al. (2011) J. Imm. Meth., 及びWarren et al. (2011) Genome Res. 21:790）、及び本発明によって包含される実施形態を実施する過程で、用いることがある。同様に、所望の核酸で、T細胞を、トランスフェクトするための又は形質導入するための方法は、当技術分野で既知であり（例えば、米国特許出願公開第2004/0087025号）、所望の抗原-特異性のT細胞を使用する養子移入法を可能にする（例えば、Schmitt et al. (2009) Hum. Gen. 20:1240, Dossett et al. (2009) Mol. Ther. 77:742, Till et al. (2008) Blood 772:2261, Wang et al. (2007) Hum. Gene Ther. 18:112, Kuball et al. (2007) Blood 709:2331, U.S. Pat. Publ. 2011/0243972, U.S. Pat. Publ. 2011/0189141, 及びLeen et al. (2007) Ann. Rev. Immunol. 25:243）。

【０２４４】

任意の好適な免疫細胞を、本発明によって包含される異種ポリヌクレオチドを含むように改変することがあり、例えば、T細胞、NK細胞、又はNK-T細胞、等が挙げられる。いくつかの実施形態では、前記細胞は、初代細胞又は細胞株の細胞、であってもよい。いくつかの実施形態では、前記改変した免疫細胞は、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、又はその両方、を含む。本出願の目的のためには、前記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、若しくは培養T細胞株由来の細胞、例えば、Jurkat、SupT1、等、又は哺乳動物から得られるT細胞、であってよい。哺乳動物から得る場合、前記T細胞を、多数の起源、例えば、限定されるものではないが、血液、骨髄、リンパ節、胸腺、又は他の組織若しくは流体、等、から得ることができる。前記T細胞をまた、富化することもある又は精製することもある。いくつかの実施形態では、前記T細胞は、ヒトT細胞である。いくつかの実施形態では、前記T細胞は、ヒトから単離したT細胞である。前記T細胞は、任意のタイプのT細胞であってもよく、任意の発生段階のものであってもよい。例えば、限定されるものではないが、細胞傷害性リンパ球、細胞傷害性リンパ球前駆細胞(precursor cell)、細胞傷害性リンパ球始原細胞(progenitor cell)、細胞傷害性リンパ球幹細胞、$CD4^+/CD8^+$ダブル・ポシティブT細胞(double positive T cells)、$CD4^+$ヘルパーT細胞、例えば、Th1及びTh2細胞、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞（例えば、細胞傷害性T細胞）、腫瘍浸潤リンパ球(tumor infiltrating lymphocytes (TILs))、メモリーT細胞（例えば、セントラル・メモリーT細胞(central memory T cell)及びエフェクタ・メモリーT細胞(effector memory T cell))、ナイーブT細胞、等、が挙げられる。

【０２４５】

任意の適切な方法を使用して、前記細胞、例えば、T細胞、にトランスフェクトすることがある、若しくはに形質導入することがある、又は本出願に記載される方法によって包含される、ヌクレオチド配列物若しくは組成物、を投与することがある。ポリヌクレオチドを宿主細胞に送達するための方法としては、例えば、カチオン性ポリマー、脂質様分子、及びある特定の市販品、例えば、in vivo-jetPEI(登録商標)、の使用、が挙げられる。他の方法としては、ex vivo形質導入、注入、エレクトロポレーション、DEAE-デキストラン、音波処理負荷、リポソーム-媒介性トランスフェクション、レセプター-媒介性形質導入、微粒子銃(microprojectile bombardment)、トランスポゾン-媒介性移入、等、が挙げられる。宿主細胞をトランスフェクトする又は形質導入する、尚更なる方法は、本出願において更に詳しく記載されるベクターを用いる。

【０２４６】

本出願に記載される改変した免疫細胞を、T細胞活性、例えば、T細胞結合、活性化又は誘導の決定、及び抗原-特異的であるT細胞応答、等、をアッセイするための方法論を使用して、機能的に特徴付けることがある。例としては、T細胞増殖、T細胞サイトカイン放出、抗原-特異的T細胞刺激、MHC拘束性T細胞刺激、CTL活性（例えば、予め負荷

を受けたターゲット細胞からの^{51}Cr放出を検出することによる)、T細胞表現型マーカー発現の変化、及びT-細胞機能の他の尺度、の測定等が挙げられる。

【０２４７】

これらの及び類似のアッセイを実施するための手順は、例えば、Lefkovits(Immunology Methods Manual: Hie Comprehensive Sourcebook of Techniques, 1998)、並びにCurrent Protocols in Immunology, Weir, (1986) Handbook of Experimental Immunology, Blackwell Scientific, Boston, MA; Mishell and Shigii (eds.) (1979) Selected Methods in Cellular Immunology, Freeman Publishing, San Francisco, CA; Green and Reed (1998) Science 281:1309, 及びそこで引用された参考文献、に記載されていることがある。

【０２４８】

いくつかの実施形態では、結合タンパク質（例えば、TCR又はその抗原-結合部分等）に対する見かけの親和性を、様々な濃度のMHC多量体への結合を評価することによって、測定することができる。「MHC-ペプチド多量体染色」とは、抗原-特異的T細胞を検出するために使用するアッセイを指し、これは、いくつかの実施形態では、MHC分子の四量体を特徴とし、各々は、少なくとも1つの抗原(例えば、HA-1免疫原性ペプチド)と同族である(例えば、同一である又は関連する)アミノ酸配列を有する同一のペプチドを含む、ここで、前記複合体は、その同種抗原を認識する結合タンパク質（例えば、TCR又はその抗原-結合部分等）に結合することができる。前記MHC分子の各々は、ビオチン分子でタグ付けされることがある。ビオチン化MHC／ペプチドは、ストレプトアビジン（これは、蛍光標識されていることがある）を加えることによって、多量体化(例えば、四量体化)することがある。

【０２４９】

前記多量体を、蛍光標識を介したフロー・サイトメトリーによって、検出することができる。いくつかの実施形態では、pMHC多量体アッセイを用いて、増強した親和性の結合タンパク質（例えば、TCR又はその抗原-結合部分）を検出する又は選択する。いくつかの例では、結合タンパク質（例えばTCR又はその抗原-結合部分）の見かけのK_Dを、ある範囲の濃度で標識された多量体の2倍希釈を用いて、測定する、その後、非-線形回帰によって結合曲線を決定することによって、見かけのK_Dを、最大結合の半分を生じるリガンドの濃度として、決定する。

【０２５０】

サイトカインのレベルを、本出願に記載される方法、例えばELISA、ELISPOT、細胞内サイトカイン染色、及びフロー・サイトメトリー、並びにそれらの組み合わせ（例えば、細胞内サイトカイン染色及びフロー・サイトメトリー）等、を用いて決定することがある。

【０２５１】

抗原-特異的な、免疫応答の、誘発又は刺激、から生じる、免疫細胞増殖及びクローン増殖を、リンパ球（例えば、末梢血細胞のサンプル中の循環しているリンパ球、又はリンパ節由来の細胞、等）を単離し、サイトカイン産生、細胞増殖、及び／又は細胞生存性を測定することによって（例えば、トリチウム化チミジンの取り込み、又は非-放射性アッセイ［例えば、MTTアッセイ等］によって等）、測定することがある。Thl免疫応答とTh2免疫応答との間のバランスに対する、本出願に記載される免疫原の効果を、例えば、Thlサイトカイン（例えば、IFN-g、IL-12、IL-2、及びTNF-b等）、並びにタイプ2サイトカイン（例えば、IL-4、IL-5、IL-9、IL-10、及びIL-l3等）、のレベルを決定することによって、検討することがある。

【０２５２】

本発明によって包含される宿主細胞は、本出願に記載される結合タンパク質をコードする単一のポリヌクレオチドを含むことがある、又は前記結合タンパク質は、2つ以上のポリヌクレオチドによってコードされることがある。言い換えれば、結合タンパク質の構成要素又は一部分は、2つ以上のポリヌクレオチド（これは、単一の核酸分子上に含まれ得

る、又は2つ以上の核酸分子上に含まれ得る）によってコードされることがある。

【０２５３】

いくつかの実施形態では、本発明によって包含される結合タンパク質の、2つ以上の構成要素又は一部分、をコードするポリヌクレオチドは、単一のオープン・リーディング・フレームの中で、作動可能に関連付けられた、2つ以上のコーディング配列を含む。このような配置によって、所望の遺伝子産物を、連係を取りながら発現させる（例えば、TCRのアルファ-鎖及びベータ-鎖を同時に発現させ、その結果それらは、約1:1の比で産生される、等）ことが、有利に、可能になる。いくつかの実施形態では、本発明によって包含される結合タンパク質の2つ以上の置換可能な遺伝子産物（例えば、TCR［例えば、アルファ-鎖及びベータ-鎖］又はCAR等）は、別々の分子として発現し、翻訳後に会合する。更なる実施形態では、本発明によって包含される結合タンパク質のうちの2つ以上の置換可能な遺伝子は、切断可能な又は除去可能なセグメントによって分離された部分を有する単一のペプチドとして、発現する。例えば、単一のポリヌクレオチド又はベクターによってコードされる、分離可能なポリペプチドを発現させるのに有用な自己-切断ペプチドは、当技術分野において既知である、並びに、例えば、ブタ・テッショウウイルス-1 2 A(porcine teschovirus-1 2 A (P2A))ペプチド、ゾセア・アシグナ2A(thoseaasigna virus 2A (T2A))ペプチド、ウマ鼻炎Aウイルス(equine rhinitis A virus (ERAV))2A(E2A)ペプチド、及び口蹄疫vims 2A(F2A)ペプチド、が挙げられる。

【０２５４】

いくつかの実施形態では、本発明によって包含される結合タンパク質は、1つ以上の結合アミノ酸を含む。「結合アミノ酸」又は「結合アミノ酸残基」とは、ポリペプチドの、2つの隣接するモチーフ、領域、又はドメインの間（例えば、結合ドメインと隣接する定常ドメインとの間、又はTCR鎖と隣接する自己-切断ペプチドとの間、等）の1つ以上(例えば、2から約10個)のアミノ酸残基、を指す。結合アミノ酸は、融合タンパク質をコードする構築物の設計から（例えば、融合タンパク質をコードする核酸分子を構築する過程で、制限酵素部位を使用することから生じるアミノ酸残基）、又は、例えば、本発明によって包含される、コードされた結合タンパク質の1つ以上のドメインに隣接する自己-切断ペプチドの切断から、生じることがある（例えば、TCR a-鎖とTCR β-鎖との間に配置されたP2Aペプチド、その自己-切断によって、a-鎖、TCR β-鎖、又は両方において、1つ以上の結合アミノ酸が残ることがある）。

【０２５５】

本発明によって包含される操作された免疫細胞を、例えば、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、のための治療剤として、投与することがある。いくつかの状況では、細胞性の免疫療法に関連する活性を、低減させることが、又は停止させることが望ましい場合がある。従って、いくつかの実施形態では、本発明によって包含される操作された免疫細胞は、所望される場合、そのような細胞の活性を選択的に調節する（例えば、低下又は除去する）ために、同族の薬物又は他の化合物を使用してターゲット化され得る、結合タンパク質及びアクセサリー・タンパク質（例えば、安全スイッチ・タンパク質等）をコードするヘテロなポリヌクレオチド、を含む。この点に関して使用される安全スイッチ・タンパク質としては、例えば、細胞外N-末端リガンド結合ドメイン及び細胞内レセプター・チロシン・キナーゼ活性を欠くが、天然アミノ酸配列、タイプI膜貫通細胞表面局在化、並びに医薬品-グレードの抗-EGFRモノクローナル抗体、セツキシマブ(Erbitux)に対する、コンフォメーション的にインタクトな結合エピトープ、を保持する、切り取りを受けたEGFレセプター・ポリペプチド（huEGFRt）tEGFレセプター(tEGFr; Wang et al. (2011) Blood 118:1255-1263))、カスパーゼ・ポリペプチド（例えば、iCasp9; Straathof et al. (2005) Blood 105:4247-4254, Di Stasi et al. (2011) N. Engl. J. Med. 365:1673-1683, Zhou and Brenner (2016) Hematol. pii:S0301-472X:30513-30516)、RQR8(Philip et al. (2014) Blood 124:1277-1287)、及びヒトc-mycタンパク質タグ(Kieback et al. (2008) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:623-628)、が

挙げられる。

【０２５６】

治療用細胞に有用な他のアクセサリ構成要素は、前記細胞を、同定する、選別する、単離する、富化する、又は追跡する、ことを可能にする、タグ又は選択マーカー（例えば、CD34富化タグ)、を含む。例えば、所望の特性（例えば、抗原-特異的なTCR及び安全スイッチ・タンパク質）を有する、印を付けた免疫細胞を、サンプル中の印が付けられていない細胞から選別し、所望の純度の治療用製品の中に含有させるために、より効率的に、活性化することができる、及び拡大することができる。

【０２５７】

本出願で使用する場合、用語「選択マーカー」は、選択マーカーを含むポリヌクレオチドで形質導入した免疫細胞を、検知することを可能にするための、及びポジティブな選択を可能にするための、細胞に識別可能な変化を与える核酸構築物、を含む。例えば、RQRは、CD20の主要な細胞外ループ及び2つの最小限CD34結合部位を含む選択マーカーである。いくつかの実施形態では、RQRをコードするポリヌクレオチドは、16アミノ酸のCD34最小エピトープをコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、例えば、本出願の実施例において提供されるある特定の実施形態等、前記CD34最小エピトープは、CD8ストーク・ドメイン(stalk domain)(Q8)のアミノ末端位置に組み込まれる。更なる実施形態では、そのCD34最小結合部位配列を、CD20のターゲット・エピトープと組み合わせて、T細胞のコンパクトなマーカー／自殺遺伝子(RQR8)を形成することができる(Philip et al. 2014)。この構築物によって、例えば、磁気ビーズに結合したCD34-特異的抗体（ミルテニー)を使って、その構築物を発現する免疫細胞の選択が可能になる、及び、臨床的に承認済みの医薬品抗体であるリツキシマブを利用して、導入遺伝子を発現する操作したT細胞を選択的に除くことが可能になる（例えば、Philip et al. (2014) Blood 124:1277-1287, 米国特許出願公開2015-0093401, 及び米国特許出願公開2018-0051089）。

【０２５８】

更なる例示的な選択マーカーとしては、T細胞上で通常発現していない、いくつかの切り取りを受けたタイプI膜貫通タンパク質：切り出しを受けた低-親和性神経増殖因子、切り取りを受けたCD19、及び切り取りを受けたCD34、が挙げられる（例えば、Di Stasi et al. (2011) N. Engl. J. Med. 365:1673-1683, Mavilio et al. (1994) Blood 83:1988-1997, 及び Fehse et al. (2000) Mol. Ther. 7:448-456)。CD19及びCD34の特に魅力的な特徴は、臨床-グレードの選別のために、これらのマーカーをターゲットとすることができる、既成のMiltenyi CliniMACs^{TM}選択システムを利用することができることである。しかしながら、CD19及びCD34は比較的大きな表面タンパク質であり、ベクターのパッケージング能、及び組み込みベクターの転写効率、を損なう可能性がある。細胞外、非-シグナル伝達ドメイン、又は様々なタンパク質(例えば、CD19、CD34、LNGFR、等)を含む表面マーカーを使用することもある。任意の選択マーカーを、使用することができ、医薬品の製造管理及び品質管理の基準（good manufacturing practices）に認められるべきである。いくつかの実施形態では、選択マーカーは、関心とする遺伝子産物をコードするポリヌクレオチド(例えば、本発明によって包含される結合タンパク質、例えば、TCR若しくはCAR、又はそれらの抗原-結合フラグメント等)と一緒に発現する。選択マーカーの更なる例としては、例えば、GFP、EGFP、β-gal又はクロラムフェニコール・アセチルトランスフェラーゼ(chloramphenicol acetyltransferase (CAT))などのレポーター、が挙げられる。いくつかの実施形態では、例えば、CD34などの選択マーカーは、細胞によって発現され、る、及び前記CD34を使用して、本出願に記載される方法における使用のための、関心とする形質導入された細胞を、選択富化することがある、又は単離することがある（例えば、免疫磁気選択によって）。本出願で使用する場合、CD34マーカーは、抗CD34抗体、又は、例えば、CD34に結合するscFv、TCR、又は他の抗原認識部分と区別される。

【０２５９】

いくつかの実施形態では、選択マーカーは、RQRポリペプチド、切り取りを受けた低-親和性神経増殖因子(tNGFR)、切り取りを受けたCD19(tCD19)、切り取りを受けたCD34(tCD34)、又はそれらの任意の組み合わせ、を含む。

【０２６０】

背景として、$CD4^+$ T細胞を免疫療法細胞産物に含めることにより、抗原-誘導性にIL-2が分泌させることが可能になり、移入した細胞傷害性$CD8^+$ T細胞の、持続性及び機能、を増強することができる（例えば、Kennedy et al. (2008) Immunol. Rev. 222:129 及びNakanishi et al. Nature (2009) 52:510)。いくつかの実施形態では、クラスI HLAペプチド複合体に対するTCRの感度を高めるために、$CD4^+$ T細胞におけるクラスI-拘束性TCRは、CD8共-レセプターの移入を必要とすることがある。CD4共-レセプターは、CD8に対する構造が異なり、CD8共-レセプターを効果的に置換することができない（例えば、Stone & Kranz (2013) Front. Immunol. 4:244 及びCole et al. (2012) Immunology 737:139）。それ故に、本発明によって包含される、組成物及び方法、の中で使用するための別のアクセサリー・タンパク質は、CD8共-レセプター又はその構成要素、を含む。本発明によって包含される結合タンパク質をコードするヘテロなポリヌクレオチドを含む操作した免疫細胞は、いくつかの実施形態では、CD8共-レセプター・タンパク質、又はそのベータ-鎖の、若しくはアルファ-鎖の、構成要素、をコードするヘテロなポリヌクレオチドを、更に含むことがある。

【０２６１】

宿主細胞は、効率的に形質導入を受けて、前記結合タンパク質、安全スイッチ・タンパク質、選択マーカー、及びCD8共-レセプター・タンパク質、をコードする単一のポリヌクレオチドを、含むようになることがある、及び効率的に発現することがある。

【０２６２】

1つの実施形態では、本発明によって包含される宿主細胞は、共-刺激性分子をコードする核酸を更に含み、その結果、前記改変したT細胞は、前記共-刺激性分子を発現する。いくつかの実施形態では、共-刺激ドメインを、CD3、CD27、CD28、CD83、CD86、CD127、4-1BB、4-1BBL、PD1及びPD1L、より選択する。

【０２６３】

前述の実施形態のいずれかでは、本出願に記載される結合タンパク質を発現する宿主細胞は、汎用免疫細胞であることがある。「汎用免疫細胞（universal immune cell）」は、PD-l、LAG-3、CTLA4、TIM3、TIGIT、HLA分子、TCR分子、又はそれらの任意の組み合わせ、より選択されるポリペプチド産物をコードする1つ以上の内因性遺伝子の発現を、低減するように、又は排除するように、改変した免疫細胞を含む。理論に拘束されることを望むものではないが、特定の内因的に発現した免疫細胞タンパク質は、改変した免疫細胞の免疫活性を下方制御することがある（例えば、PD-l、LAG-3、CTLA4、TIGIT）、又は本発明によって包含されるヘテロに発現した結合タンパク質の結合活性を妨害することがある（例えば、非-HA-1抗原に結合する、及びHA-1抗原［例えば、MHC分子の中にアミノ酸配列VLHDDLLEAを含むHA-1免疫原性ペプチド等］を発現するターゲット細胞への、改変した免疫細胞の結合を妨害する、内因性のTCR）。更に、ドナー(donor)免疫細胞上で発現する内因性タンパク質（例えば、免疫細胞タンパク質、例えば、HLA対立遺伝子等）は、同種異系の宿主によって、異物として認識されることがある、これにより、その改変したドナー(donor)免疫細胞は、同種異系の宿主によって、結果的に、除去されることがある、又は抑制されることがある。

【０２６４】

従って、そのような内因性遺伝子又はタンパク質の発現又は活性を、減少させることにより、又は排除することにより、自己の又は同種の宿主環境において、改変した免疫細胞の活性、寛容性又は持続性を改善することができる、及び前記細胞を（例えば、HLAタイプにかかわらず、任意のレシピエント(recipient)に)汎用的に投与することが可能になる。いくつかの実施形態では、本発明に係る細胞は同系である、即ち、それらは、遺伝的に同一であるか、又は十分に同一である、及び免疫学的に互換的であり、その結果、移

植が可能になる。いくつかの実施形態では、汎用免疫細胞は、ドナー(donor)細胞（例えば、同種異系）、又は自己細胞、である。いくつかの実施形態では、本発明によって包含される改変した免疫細胞（例えば、汎用免疫細胞）は、PD-l、LAG-3、CTLA4、TIM3、TIGIT、HLA構成要素（例えば、αlマクログロブリン、α2マクログロブリン、α3マクログロブリン、β1ミクログロブリン、若しくはβ2ミクログロブリンをコードする遺伝子）、又はTCR構成要素（例えば、TCR可変領域若しくはTCR定常領域をコードする遺伝子）、をコードする1つ以上の遺伝子に関する、染色体遺伝子ノックアウトを含む（例えば、Torikai el al. (2016) Nature Sci. Rep. 6:21757; Torikai et al. (2012) Blood 179:5697; 及び Torikai et al. (2013) Blood 722:1341、を参照、これらはまた、本発明によって、代表的な、例示的な、遺伝子編集技術、組成物、及び養子細胞療法を、有用にする。）

【０２６５】

本出願で使用する場合、用語「染色体遺伝子ノックアウト」とは、宿主細胞における、遺伝子改変又は導入された阻害的な作用因子を指し、これらは、前記宿主細胞による、機能的に活性な内因性ポリペプチド産物の産生を防止する（例えば、減少させる、遅延させる、抑制する、又は消失させる）。染色体遺伝子ノックアウトをもたらす改変としては、例えば、ナンセンス変異(nonsense mutation)（例えば、終止コドンを途中に導入すること等）、ミスセンス変異(missense mutation)、遺伝子欠失、及び鎖切断、並びに宿主細胞における内因性遺伝子発現を阻害する阻害性核酸分子のヘテロな発現、を導入すること、が挙げることができる。

【０２６６】

いくつかの実施形態では、染色体遺伝子ノック-アウト又は遺伝子ノック-インを、宿主細胞の染色体編集によって作製することがある。染色体編集を、例えば、エンドヌクレアーゼを用いて行うことができる。本出願で使用する場合、「エンドヌクレアーゼ」とは、ポリヌクレオチド鎖内のホスホジエステル結合の切断を触媒することができる酵素を指す。いくつかの実施形態では、エンドヌクレアーゼは、ターゲット遺伝子を切断し、それによって、前記ターゲット遺伝子を不活性化又は「ノックアウト」することができる。エンドヌクレアーゼは、天然、組み換え、遺伝子改変、又は融合エンドヌクレアーゼ、であることがある。前記エンドヌクレアーゼによって引き起こされる核酸鎖の切断は一般に、相同組み換え又は非相同末端結合(non-homologous end joining)(NHEJ)という異なるメカニズムを介して修復される。相同組み換えの過程で、ドナー(donor)の核酸分子は、ドナー(donor)の遺伝子「ノックイン」のために、ターゲット遺伝子の「ノックアウト」のために、及び任意選択的に、ドナー(donor)遺伝子のノックインというイベント又はターゲット遺伝子のノックアウトというイベント事象を介してターゲット遺伝子を不活性化するために、使用されることがある。NHEJは、しばしば、切断部位でのDNA配列の変化（例えば、少なくとも1つのヌクレオチドの置換、欠失、又は付加）をもたらすエラーを引き起こし易い修復プロセスである。NHEJを利用して、ターゲット遺伝子を「ノックアウト」することがある。エンドヌクレアーゼの例としては、ジンク・フィンガー・ヌクレアーゼ（zinc finger nuclease）、TALE-ヌクレアーゼ、CRISPR-Casヌクレアーゼ、メガヌクレアーゼ、メガTAL、等が挙げられる。

【０２６７】

本出願で使用する場合、「ジンク・フィンガー・ヌクレアーゼ」(ZFN)とは、非-特異的なDNA切断ドメインに融合したジンク・フィンガーDNA結合ドメインを含む融合タンパク質（例えば、Fok1エンドヌクレアーゼ等）を指す。約30アミノ酸の各ジンク・フィンガー・モチーフは、約3塩基対のDNAに結合し、特定の残基のアミノ酸はトリプレット配列特異性を変更するように変わる（例えば、Desjarlais et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. 90:2256-2260 及びWolfe et al. (1999) J. Mol. Biol. 255:1917-1934）。複数のジンク・フィンガー・モチーフをタンデムに連結して、所望のDNA配列（例えば、約9から約18塩基対までの範囲の長さを有する領域等）に対する結合特異性を作り出すことができる。背景として、ZFNは、ゲノム中に部位-特異的なDNA二本

鎖切断(double strand break (DSB))の生成を触媒することによって、ゲノム編集を媒介する、及びDSBの部位でのゲノムに対して相同な隣接配列を含む導入遺伝子のターゲット化した組み込みは、相同組み換え修復(homology directed repair)によって促進される。或いは、ZFNによって生成されるDSBは、非-相同末端結合(non-homologous end joining)(NHEJ)による修復を介して、ターゲット遺伝子のノックアウトをもたらすことがある。これは、切断部位におけるヌクレオチドの挿入又は欠失をもたらす、エラーを引き起こし易い細胞修復経路である。いくつかの実施形態では、遺伝子ノックアウトは、ZFN分子を用いて作製された、挿入、欠失、変異、又はそれらの組み合わせ、を含む。

【０２６８】

本出願で使用する場合、「転写活性化因子-様エフェクター・ヌクレアーゼ(transcription activator-like effector nuclease)」(TALEN)は、TALE DNA-結合ドメイン及びDNA切断ドメインを含む融合タンパク質（例えば、Fok1エンドヌクレアーゼ等）を指す。「TALE DNA結合ドメイン」又は「TALE」は、1つ以上のTALE反復ドメイン／単位から構成され、各々は、一般に、多様な第12及び第13アミノ酸を有する、高度に保存された33-35アミノ酸配列を有する。そのTALE反復ドメインは、TALEがターゲットDNA配列に結合することに関与する。前記多様なアミノ酸の残基は（繰り返し可変性二残基(repeat variable diresidue (RVD))と呼ぶ）、特異的なヌクレオチド認識と相関する。これらのTALEのDNA認識のための天然(カノニカル(canonical))コードが決定されてきていて、TALEの12位及び13位のHD(ヒスチン-アスパラギン酸)配列によって、TALEがシトシン(C)に結合するようになる、NG(アスパラギン-グリシン)によって、Tヌクレオチドに結合するようになる、NI(アスパラギン-イソロイシン)によって、Aに結合するようになる、NN(アスパラギン-アスパラギン)によって、G又はAヌクレオチドに結合するようになる、及びNG(アスパラギン-グリシン)によってTヌクレオチドに結合するようになる。非-カノニカル(非定型)RVDもまた、当技術分野において既知である（例えば、米国特許出願公開第2011/0301073号、非定型RVDの全体が本出願に参照により取り込まれる）。TALENを、T細胞のゲノム中の部位特異的二本鎖切断(DSB)を指向するために使用することがある。非-相同末端結合(Non-homologous end joining)(NHEJ)は、アニーリングするための配列重複がほとんど又は全く無い、二本鎖切断の両側からのDNAを、ライゲート(ligate)する、それによって、遺伝子発現をノックアウトするエラーを導入する。或いは、相同組み換え修復(homology directed repair)によって、DSBの部位（前記導入遺伝子中に存在する相同隣接配列を提供する）に導入遺伝子を導入することがある。いくつかの実施形態では、遺伝子ノックアウトは、挿入、欠失、変異又はそれらの組み合わせ、を含み、TALEN分子を用いて作製される。

【０２６９】

本出願で使用する場合、「クラスター化された規則的に間隔を置いて配置された短いパリンドローム・リピート(clustered regularly interspaced short palindromic repeats)/Cas」(CRISPR/Cas)ヌクレアーゼシステムとは、CRISPR RNA(crRNA)-ガイドCasヌクレアーゼを使用して、塩基-対合の相補性を介してゲノム内のターゲット部位（プロトスペーサー(protospacer)として知られる）を認識し、次いで、短い、保存されたプロトスペーサー関連モチーフ(protospacer associated motif (PAM))が相補的ターゲット配列の3'のすぐ後に続く場合、DNAを切断するシステム、を指す。CRISPR/Casシステムは、Casヌクレアーゼの配列と構造に基づいて、3つのタイプ（即ち、タイプI、タイプII、タイプIII）に分類される。タイプI及びタイプIIIのcrRNA-ガイドを受けるサーベイランス複合体は、複数のCasサブユニットを必要とする。タイプIIシステム（最も研究されている）は、少なくとも3つの構成要素を含む：RNA-ガイドを受けるCas9ヌクレアーゼ、crRNA、及びトランス作用性crRNA(tracrRNA)。前記tracrRNAは、二本鎖形成領域を含む。Cas9ヌクレアーゼと相互作用することができる、及びcrRNA上のスペーサーと、PAMから上流のターゲットDNA上のプロトスペーサーとの間の、ワトソン-クリック（Watson-Crick）塩基-対合を介して、ターゲットDNA上の特

定部位に、Cas9/crRNA:tracrRNA複合体をガイドすることができる、二重鎖を、crRNA及びtracrRNAは、形成する。Cas9ヌクレアーゼは、前記crRNAスペーサによって画定される領域内で、二本鎖切断を切断する。NHEJによる修復の結果、そのターゲット遺伝子座の発現を破壊する、挿入及び／又は削除が生じる。或いは、相同隣接配列を有する導入遺伝子は、相同組み換え修復(homology directed repair)を介して、DSBの部位に導入されることがある。crRNA及びtracrRNAを、単一のガイドRNA(sgRNA又はgRNA)へと、操作することがある(例えば、Jinek et al. (2012) Science 337:816-821)。更に、前記ターゲット部位に相補的なガイドRNAの領域を、所望の配列をターゲットとするように改変することがある、又はプログラムすることがある（Xie et al. (2014) PLOS One 9:el00448, 米国特許出願公開US 2014/0068797, 米国特許出願公開US 2014/0186843, 米国特許8,697,359, 及びPCT出願公開WO 2015/071474）。いくつかの実施形態では、遺伝子ノックアウトは、挿入、欠失、変異、又はそれらの組み合わせ、を含み、CRISPR/Casヌクレアーゼ・システムを用いて作製される。

【０２７０】

例示的なgRNA配列、及び免疫細胞タンパク質をコードする内因性遺伝子をノックアウトするためにgRNA配列を使用する例示的な方法としては、Ren et al. (2017) Clin. Cancer Res. 23:2255-2266（これは、代表的な、例示的な、gRNA、CAS9DNA、ベクター、及び遺伝子ノックアウト技術、を提供する）に記載されるものが挙げられる。, 薬剤。

【０２７１】

本出願で使用する場合、「メガヌクレアーゼ(meganuclease)」（「ホーミング・エンドヌクレアーゼ(homing endonuclease)」とも呼ぶ）とは、大きな認識部位(約12から約40塩基対の二本鎖DNA配列)を特徴とするエンドデオキシリボヌクレアーゼ、を指す。メガヌクレアーゼは、配列及び構造モチーフに基づいて、5つのファミリーに分けることができる：LAGLIDADG, GIY-YIG, HNH, His-Cys ボックス(box), 及びPD-(D/E)XK。例示的なメガヌクレアーゼとしては、I-Scel, I-Ceul, PI-PspI, RI-Sce, I-ScelV, I-Csml, I-Panl, I-Scell, I-Ppol, I-ScelII, I-Crel, I-Tevl, I-TevII 及びI-TevIII、が挙げられる、そして、それらの認識配列は既知である（例えば、米国特許5,420,032 及び6,833,252, Belfort et al. (1997) Nucl. Acids Res. 25:3379-3388, Dujon et al. (1989) Gene 52:115-118, Perler et al. (1994) Nucl. Acids Res. 22:1125-1127, Jasin (1996) Trends Genet. 72:224-228, Gimble et al. (1996) J. Mol. Biol. 263:163-180, 並びに Argast et al. (1998) J. Mol. Biol. 280: 345-353）。

【０２７２】

いくつかの実施形態では、天然に存在するメガヌクレアーゼを使用して、関心とするターゲット（例えば、免疫チェックポイント、HLA-コード遺伝子、又はTCR構成要素-コード遺伝子等）の部位-特異的なゲノム改変を促進することがある。

【０２７３】

他の実施形態では、ターゲット遺伝子に対する新規な結合特異性を有する、操作したメガヌクレアーゼを、部位特異的なゲノム改変に使用する（例えば、Porteus et al. (2005) Nat. Biotechnol. 23:967-73, Sussman et al. (2004) J. Mol. Biol. 342:31-41, Epinat et al. (2003) Nucl. Acids Res. 37:2952-2962, Chevalier et al. (2002) Mol. Cell 70:895-905, Ashworth et al. (2006) Nature 441:656-659, Paques et al. (2007) Curr. Gene Ther. 7:49-66, 並びに 米国特許出願公開US 2007/0117128, US 2006/0206949, US 2006/0153826, US 2006/0078552, 及び US 2004/0002092、を参照）。更なる実施形態では、メガTALとして知られる融合タンパク質を作製するように、TALENのモジュラーDNA結合ドメインを改変したホーミング・エンドヌクレアーゼ(homing endonuclease)を使用して、染色体遺伝子ノックアウトを作製する。MegaTALを、1つ以上のターゲット遺伝子をノック-アウトするためにだけでなく、関心とするポリペプチドをコードする外因性のドナー(

donor)の鋳型と併用する場合、異種性の又は外因性のポリヌクレオチドを導入(ノック-イン)するためにも、利用することがある。

【０２７４】

いくつかの実施形態では、染色体遺伝子ノックアウトは、HA-1抗原に（例えば、特異的に及び／又は選択的に）結合する抗原-特異的なレセプターをコードする異種ポリヌクレオチドを含む宿主細胞（例えば、免疫細胞）に導入された阻害性核酸分子を含む、ここで、前記阻害性核酸分子は、ターゲット-特異的インヒビターをコードする、及びここで、そのコードされたターゲット-特異的インヒビターは、前記宿主免疫細胞における内因性遺伝子（即ち、免疫チェックポイント、HLA構成要素、又はTCR構成要素、又はそれらの任意の組み合わせ）の発現を阻害する。

【０２７５】

染色体遺伝子ノックアウトを、そのノックアウト手順を又は作用因子を使用した後に、前記宿主免疫細胞のDNAシークエンシングを行うことによって、直接的に確認することがある。

【０２７６】

染色体遺伝子ノックアウトをまた、ノックアウト後の遺伝子発現の非存在(例えば、前記遺伝子によってコードされる、mRNA又はポリペプチド産物の非存在)から推測することもある。

【０２７７】

いくつかの実施形態では、本発明によって包含される宿主細胞は、MHC分子の中にHA-1免疫原性ペプチドを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体を含むターゲット細胞を、特異的に、及び／又は選択的に、50％以上含むことがある。

【０２７８】

いくつかの実施形態では、前記改変した免疫細胞は、MHC分子の中にHA-1免疫原性ペプチドを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体を含むターゲット細胞と接触した場合に、サイトカインを産生することができる。

【０２７９】

いくつかの実施形態では、前記サイトカインは、IFN-γ又はIL2を含む。いくつかの実施形態では、前記サイトカインはTNF-αを含む。

【０２８０】

いくつかの実施形態では、前記宿主細胞は、100万当たり(transcript per million transcripts (TPM))約1000個（1000 TPM）、950 TPM, 900 TPM, 850 TPM, 800 TPM, 750 TPM, 700 TPM, 650 TPM, 600 TPM, 550 TPM, 500 TPM, 450 TPM, 400 TPM, 350 TPM, 300 TPM, 250 TPM, 200 TPM, 150 TPM, 100 TPM, 95 TPM, 90 TPM, 85 TPM, 80 TPM, 75 TPM, 70 TPM, 65 TPM, 60 TPM, 55 TPM, 50 TPM, 45 TPM, 40 TPM, 35 TPM, 34 TPM, 33 TPM, 32 TPM, 31 TPM, 30 TPM, 29 TPM, 28 TPM, 27 TPM, 26 TPM, 25 TPM, 24 TPM, 23 TPM, 22 TPM, 21 TPM, 20 TPM, 19 TPM, 18 TPM, 17 TPM, 16 TPM, 15 TPM, 14 TPM, 13 TPM, 12 TPM, 11 TPM, 10 TPM, 9 TPM, 8 TPM, 7 TPM, 6 TPM, 5 TPM, 4 TPM, 3 TPM, 2 TPM, 及び 1 TPM, 又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、約1000 TPM以下、から約35 TPM以下まで等、以下のレベルで、HA-1の発現があるターゲット細胞と接触した場合に、より高いレベルのサイトカイン、又は細胞傷害性分子を産生することができる。いくつかの実施形態では、低いHA-1発現レベルは、「ヘテロ接合性発現」と呼ばれ、約1 TPMと約35 TPMとの間、又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、1-32 TPM等、を意味する。例えば、前記宿主細胞は、少なくとも1.2倍、1.5倍、1.8倍、2.0倍、2.2倍、2.5倍、2.8倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、5.5倍、6倍、6.5倍、7倍、7.5倍、8倍、8.5倍、9倍、9.5倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍、1000倍、若しくはそれを超えて、又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、1.2倍か

ら2倍まで等、より高いレベルのサイトカイン、又は細胞傷害性分子、を産生することができる。

【０２８１】

いくつかの実施形態では、前記宿主細胞は、HA-1を発現するターゲット細胞（例えば、HA-1を発現する過剰増殖性細胞）を、特異的に及び／又は選択的に、傷害することができる。ある特定の実施形態では、前記ターゲット細胞は、以下を発現する：(i)アミノ酸配列VLHDDLLEA、を含む又はからなる、ポリペプチド；及び(ii)マッチしたMHC分子。

【０２８２】

いくつかの実施形態では、宿主細胞は、HA-1抗原を発現しない、請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質によって認識されない、血清型HLA-A*02ではない、及び／又はHLA-A*02対立遺伝子、例えばHLA-A*02:01、HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、若しくはHLA-A*02:07対立遺伝子、を発現しない。例えば、患者は、HA-1-ネガティブである、又はHLA-A*02:01-ネガティブである、健常なドナー(donor)から宿主細胞を受けることがある。前記ドナー(donor)から単離した幹細胞（例えば、造血幹細胞等）を（又は操作した自己細胞を）、移植物質の供給源として使用することがある。並行して、同じドナー(donor)から単離したT細胞を、遺伝子的に改変して、例えば、本出願に記載されるHA-1結合タンパク質を発現させることによって等、HA-1を認識するようにすることがある。ドナー(Donor)幹細胞を使用して、前記患者の中に、細胞集団（例えば、再構成された免疫系等）を生着させることがある、及び宿主細胞を、高度に特異的な抗-腫瘍効果を誘発する目的で、前記患者の中に注射投与することがある。その操作したドナー(donor)T細胞を、HA-1-発現細胞、例えば、全ての患者の天然の血中細胞等、例えば、残存白血病細胞のようながん細胞（これは、HA-1-ポジティブである）等、を認識するように、及び除去するように、設計することがある、それによって再発が防止され、完全な治癒が促進される。患者の新しい健康な血液細胞は、前記ドナー(donor)に由来し、それ故に、HA-1-ネガティブ、HLA-A*02血清型ネガティブ、及び／又はHLA-A*02:01-ネガティブ、のいずれかであるので、本出願に記載される操作した細胞が有する毒性副作用を、最小限にすることができる。そのような患者-適合化した、宿主細胞を及び治療方法を、以下に更に記載される治療方法に従って、使用することがある。

【０２８３】

いくつかの実施形態では、傷害を、傷害アッセイによって、決定する。いくつかの実施形態では、前記宿主細胞とターゲット細胞とを、20:1から0.625:1までの比で（例えば、15:1から1.25:1まで、10:1から1.5:1まで、8:1から3:1まで、6:1から5:1まで、20:1から5:1まで、10:1から2.5:1まで、の比等で）、共培養することによって、前記傷害アッセイを、実施する。いくつかの実施形態では、前記ターゲット細胞を、1 μg/mLから50 pg/mLまで（例えば、1 ug/mLから10 ng/mLまで、500 ng/mLから0.5 ng/mLまで、10ng/mLから10pg/mL 250 ng/mLから1 ng/mLまで、50 ng/mLから5 ng/mLまで、20 ng/mLから10 ng/mLまで、等）のHA-1ペプチドを使って、パルスする。

【０２８４】

いくつかの実施形態では、前記宿主細胞は、1000（100万当たりの転写物［transcript per million (TPM)］）の転写物（1000 TPMの転写物）、950 TPM, 900 TPM, 850 TPM, 800 TPM, 750 TPM, 700 TPM, 650 TPM, 600 TPM, 550 TPM, 500 TPM, 450 TPM, 400 TPM, 350 TPM, 300 TPM, 250 TPM, 200 TPM, 150 TPM, 100 TPM, 95 TPM, 90 TPM, 85 TPM, 80 TPM, 75 TPM, 70 TPM, 65 TPM, 60 TPM, 55 TPM, 50 TPM, 45 TPM, 40 TPM, 35 TPM, 34 TPM, 33 TPM, 32 TPM, 31 TPM, 30 TPM, 29 TPM, 28 TPM, 27 TPM, 26 TPM, 25 TPM, 24 TPM, 23 TPM, 22 TPM, 21 TPM, 20 TPM, 19 TPM, 18 TPM, 17 TPM, 16 TPM, 15 TPM, 14 TPM, 13 TPM, 12 TPM, 11 TPM, 10

TPM，9 TPM，8 TPM，7 TPM，6 TPM，5 TPM，4 TPM，3 TPM，2 TPM，及び1 TPM，又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、約1000 TPM以下、から約35 TPM以下まで等、以下のHA-1レベルであるターゲット細胞と接触した場合に、より多くのターゲット細胞を傷害することができる。いくつかの実施形態では、低いHA-1発現レベルは、「ヘテロ接合性発現」と呼ばれ、約1 TPMと約35 TPMとの間、又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、1-32 TPM等、を意味する。例えば、前記宿主細胞は、少なくとも1.2倍、1.5倍、1.8倍、2.0倍、2.2倍、2.5倍、2.8倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、5.5倍、6倍、6.5倍、7倍、7.5倍、8倍、8.5倍、9倍、9.5倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍、1000倍、若しくはそれを超えて、又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、1.2倍から2倍まで等、より多くのターゲット細胞を傷害することができる。

【０２８５】

本発明は、更に、本出願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を提供する。細胞の集団は、記載された組み換え発現ベクターの何れかを含む宿主細胞を、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］）（これは、組み換え発現ベクターの何れも含まない）、又は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、等）に加えて、含むヘテロな集団であってもよい。或いは、前記細胞の集団は、実質的にホモな集団（その中で、前記集団は、前記組み換え発現ベクターを含む宿主細胞を主に含む［例えば、本質的に、それからなる］）であってもよい。前記集団はまた、細胞のクローン集団（その中で、前記集団の全ての細胞は、組み換え発現ベクターを含む単一宿主細胞のクローンであり、その結果、前記集団の全ての細胞は、組み換え発現ベクターを含む）であってもよい。本発明によって包含される1つの実施形態では、前記細胞の集団は、本出願に記載される組み換え発現ベクターを含む宿主細胞を含むクローン集団である。

【０２８６】

本発明によって包含される実施形態では、前記集団中の細胞の数を、素早く拡大することがある。T細胞の数の拡大を、当技術分野で既知の多数の方法によって、達成することがある（例えば、米国特許8,034,334 及び 8,383,099，米国特許出願公開．2012/0244133，Dudley et al．(2003) J．Immunother．26:332-242，並びに Riddell et al．(1990) J．Immunol．Methods 128:189-201。例えば、T細胞の数の拡大を、OKT3抗体、IL-2、及びフィーダーPBMC（例えば、照射を受けた同種異系PBMC）を使って、T細胞を培養することによって、実施することがある。

【０２８７】

V．医薬組成物

本発明によって包含される別の態様では、本出願は、本出願に記載される組成物（例えば、結合タンパク質、核酸、細胞、等）及び薬学的に許容可能な担体、希釈剤、又は賦形剤、を含む医薬組成物を提供する。

【０２８８】

用語「薬学的に許容される」は、健全な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激性、アレルギー反応、又は他の問題若しくは合併症を伴わずに、合理的な利益／リスク比に相応して、ヒト及び動物の組織と接触して使用するのに適した、薬剤、材料、組成物、及び／又は剤形、を指す。

【０２８９】

本発明によって包含される、薬剤及び他の組成物を、固体で、又は液体で（例えば、様々な投与経路に適合した固体、又は液体、等）、投与するために、特別に製剤化することがある。例えば、(1)経口投与、例えば、ドレンチ（水性の若しくは非水性の、溶液若しくは懸濁液）、錠剤、ボーラス、粉末、顆粒、ペースト；(2)非経口投与、例えば、滅菌溶液若しくは懸濁液として、例えば、皮下、筋肉内若しくは静脈内注射投与；
(3)局所投与、例えば、クリーム、皮膚に適用する軟膏若しくはスプレー；

(4)膣内投与若しくは直腸内投与、例えば、ペッサリー、クリーム若しくは発泡として；又は(5)エアロゾル、例えば、前記化合物を含む水性エアロゾル、リポソーム製剤若しくは固体粒子として、等。本出願に記載される、薬剤又は組成物、のための任意の適切な形体ファクターが企図される（例えば、限定されるものではないが、錠剤、カプセル、液体シロップ、ソフト・ゲル、座薬、又は浣腸、等）。

【０２９０】

本発明によって包含される医薬組成物を、離散的な剤形(discrete dosage form)（例えば、カプセル剤、サシェ剤、若しくは錠剤、又は液体若しくはエアロゾル・スプレー、等、各々は、粉、又は顆粒、溶液、又は水性若しくは非水性の懸濁液、水中油型乳化、油中水型液体乳化、再構成用粉末、経口摂取用粉末、ボトル（例えば、ボトルに入った粉末又は液体、等)、口腔内溶融フィルム、トローチ、ペースト、チューブ、ガム、及びパック、として所定量の活性成分を含む）として、提供することがある。そのような剤形を、薬学の方法の何れかによって調製することができる。

【０２９１】

好適な賦形剤としては、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロール等、及びこれらの組み合わせ、が挙げられる。いくつかの実施形態では、本出願に開示される宿主細胞、結合タンパク質、又は融合タンパク質を含む組成物は、好適な注入媒体を更に含む。好適な注入媒体は、任意の等張媒体配合であってよく、典型的には通常の生理食塩水、Normosol^{TM}-R(Abbott)又はPlasma-Lyte^{TM}A(Baxter)、5％デキストロース水溶液、乳酸リンゲル液を利用することができる。注入媒体に、ヒト血清アルブミン又は他のヒト血清構成要素を補充することがある。有効量の宿主細胞を含む単位用量もまた企図される。

【０２９２】

また、本出願は、有効量の宿主細胞を、又は宿主細胞を含む有効量の組成物を、含む単位用量を提供もする。本出願に記載される場合、宿主細胞としては、免疫細胞、T細胞(CD4^{+} T細胞及び／又はCD8+ T細胞)、細胞傷害性リンパ球(例えば、細胞傷害性T細胞及び／又はナチュラル・キラー(NK)細胞)、等、が挙げられる。例えば、いくつかの実施形態では、単位剤型は、少なくとも約30％、少なくとも約40％、少なくとも約50％、少なくとも約60％、少なくとも約70％、少なくとも約80％、少なくとも約85％、少なくとも約90％、又は少なくとも約95％の操作した細胞を、単独で、又は他の細胞と組み合わせて（例えば、少なくとも約30％、少なくとも約40％、少なくとも約50％、少なくとも約60％、少なくとも約70％、少なくとも約80％、少なくとも約85％、少なくとも約90％、又は少なくとも約95％の他の細胞を含む）、含む組成物を含む。いくつかの実施形態では、望ましくない細胞は、減少した量で存在するか、又は実質的に存在しない（例えば、前記組成物中の細胞の集団の約50％未満、約40％未満、約30％未満、約20％未満、約10％未満、約5％未満、又は約1％未満、等）。

【０２９３】

組成物中の又は単位用量中の細胞の量は、少なくとも1つの細胞（例えば、少なくとも1つの改変したCD8^{+} T細胞、改変したCD4^{+} T細胞、及び／又はNK細胞)である、又はより典型的には、10^{2}細胞より多く、例えば、最大10^{6}、最大10^{7}、最大10^{8}細胞、最大10^{9}細胞、又は10^{10}細胞より多い。いくつかの実施形態では、前記細胞を、約106から約10^{10}細胞/m^{2}までの範囲、例えば、約10^{5}から約10^{9}細胞/m^{2}までの範囲、で投与する。細胞の数は、最終的な用途（その用途のために、前記配合物が意図される、並びにその中に含まれる細胞の種類が意図される）に依存する。例えば、特定の抗原に対して特異的な結合タンパク質を含むように改変した細胞は、少なくとも30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、又はそれを超えたそのような細胞を含む細胞集団、を含む。本明細書で提供される使用のために、細胞は一般に、1リットル以下、500 ml以下、250 ml以下、又は100 ml以下の体積である。実施形態では、所望の細胞の密度は、典型的には、10^{4}細胞/mlを超え、及び一般的には、10^{7}細胞/mlを超え、一般的には、10^{8}細胞/ml以上である。前記細胞を、ある時間をかけた、単回の点滴として、又は複数回の点滴として、投与することがある。臨床的

に関連する数の免疫細胞を、累積的に、10^6、10^7、10^8、10^9、10^{10}、又は10^{11}細胞に、等しいように、又はそれを超えるように、複数回の点滴に割り当てることがある。いくつかの実施形態では、操作した免疫細胞の単位用量を、同種ドナー(donor)由来の造血幹細胞と一緒に（例えば、同時に(simultaneously)又は同時に(contemporaneously))共-投与することがある。

【０２９４】

医療分野の当業者によって決定されるように、医薬組成物を、治療するべき（又は、予防するべき）疾患に又は症状に適した様式で、投与することがある。適切な用量、並びに記組成物の投与の好適な期間及び頻度を、前記患者の健康状態、前記患者のサイズ（即ち、体重、大きさ、又は体表）、前記患者の症状のタイプ及び重症度、活性成分の特定の形態、及び投与方法、等の因子によって、決定する。一般的に、適切な用量及び治療レジメンは、治療的利益及び／又は予防的利益（例えば、本出願に記載されるような、改善した臨床的なアウトカム(clinical outcome)、例えば、より頻繁に完全寛解する若しくは部分寛解する、若しくは、無-疾患及び／若しくは全生存がより長くなる、又は症状(symptom)重症度の軽減、等）を、提供するのに十分な量の組成物、を提供する。

【０２９５】

医薬組成物の有効量とは、本出願に記載される場合、所望の臨床結果又は有益な治療を達成するために、必要とされる投薬量での及び期間にとっての、十分な量を指す。有効量を、1回以上の投与で送達することがある。前記投与が、疾患を又は疾患-状態を有することが、既に知られているか又は確認されている対象へのものである場合、用語「治療的有効量」は、治療に関して使用されることがあるが、一方で、「予防的有効量」は、予防過程として、疾患を又は疾患-状態を発症しやすいか又は発症するリスクがある（例えば、再発）対象に、有効量を投与することを説明するために、使用されることがある。

【０２９６】

本出願に記載される医薬組成物を、単位-用量又は複数-用量の容器（例えば、密封アンプル又はバイアル等）で、提供することがある。そのような容器を、その製剤の安定性を維持するために、前記患者に注入されるまで、凍結することがある。いくつかの実施形態では、単位用量は、本出願に記載される宿主細胞を、約10^7細胞/m^2から約10^{11}細胞/m^2までの用量で、含む。様々な治療レジメンにおいて、本出願に記載される特定の組成物を使用するための、好適な投薬及び治療レジメンが開発される（例えば、非経口の又は静脈内の、投与又は製剤、等）。

【０２９７】

対象組成物を非経口的に投与する場合、前記組成物はまた、無菌の、水性の又は油性の、溶液又は懸濁液、を含むこともある。好適な非-毒性の非経口的に許容される希釈剤又は溶媒としては、水、リンゲル液、等張食塩水、1,3-ブタンジオール、エタノール、水との混合物中の、プロピレン・グリコール又はポリエチレン・グリコール、が挙げられる。水性の溶液又は懸濁液は、1種以上の緩衝薬剤（例えば、酢酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム又は酒石酸ナトリウム、等）を更に含むことがある。もちろん、任意の投与単位製剤を調製する際に使用される任意の材料は、薬学的に純粋であるべきである、及び使用される量で実質的に非-毒性であるべきである。更に、活性化合物を、徐放性の調合(preparation)及び製剤(formulation)に取り込ませることがある。投薬単位形態とは、本出願で使用する場合、治療するべき対象のための単位投薬量として適した物理的に別個の単位を指す；各単位は、適切な薬学的担体との関係において、所望の効果を生じるように計算された、所定量の操作された免疫細胞又は活性化合物、を含むことがある。

【０２９８】

いくつかの実施形態では、記載された医薬組成物は、対象に投与される場合、HA-1を発現する、関心とする細胞に対する免疫応答を誘発することができる。そのような医薬組成物は、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の予防的な及び／又は治療的な処置のためのワクチンとして有用であるこ

とがある。

【０２９９】

いくつかの実施形態では、前記医薬組成物は、生理学的に許容されるアジュバントを更に含む。いくつかの実施形態では、アジュバントを使用することによって、前記医薬組成物の免疫原性を増加させる。このような更なる免疫応答刺激化合物又はアジュバントは、(i)前記ペプチドを再構成した後に、本発明による医薬組成物と混合されることがあり、任意選択的に、上記で定義される油ベースのアジュバントと一緒に乳化していることがある、
(ii)上記で定義される本発明によって包含される再構成組成物の一部であることがある、
(iii)再構成するべきペプチドに物理的に連結することがある、
又は(iv)治療するべき対象、哺乳動物又はヒト、に別々に投与されることがある。
前記アジュバントは、抗原の徐放を提供するものであってもよく（例えば、アジュバントは、リポソームであることがある）、又はそれ自体が免疫原性であり、それによって抗原と相乗的に機能するアジュバントであってもよい。例えば、前記アジュバントは、抗原取り込みを促進する、免疫系細胞を投与部位に動員する、又は応答するリンパ系細胞の免疫活性化を促進する、既知のアジュバント又は他の物質、であることがある。アジュバントとしては、限定されるものではないが、免疫調節分子(例えば、サイトカイン)、油及び水のエマルジョン、水酸化アルミニウム、グルカン、デキストラン硫酸、酸化鉄、アルギン酸ナトリウム、バクト-アジュバント、ポリ・アミノ酸などの合成ポリマー及びアミノ酸の共-ポリマー、サポニン、パラフィン・オイル、並びにムラミル・ジペプチドが挙げられる。いくつかの実施形態では、前記アジュバントは、アジュバント65、α-GalCer、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸カルシウム、β-グルカン・ペプチド、CpG DNA、GM-CSF、GPI-0100、IFA、IFN-γ、IL-17、脂質A、リポ多糖、リポバント(Lipovant)、Montanide™、N-アセチル-ムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン、pam3CSK4、キルA（quil A）、トレハロース・ジマイコレート(trehalose dimycolate)、又はザイモサン、である。

【０３００】

いくつかの実施形態では、前記アジュバントは、免疫調節分子である。例えば、前記免疫調節分子は、免疫応答を増強するように設計された、組み換えタンパク質サイトカイン、ケモカイン、若しくは免疫刺激性作用因子、又はサイトカイン、ケモカイン、若しくは免疫刺激性作用因子をコードする核酸、であることがある。

【０３０１】

免疫調節性サイトカインの例としては、インターフェロン（例えば、IFNα、IFNβ及びIFNγ）、インターロイキン（例えば、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12、IL-17及びIL-20）、腫瘍壊死因子（例えば、TNFα及びTNFβ）、エリスロポエチン(EPO)、FLT-3リガンド、gIp10、TCA-3、MCP-1、MIF、MIP-1.アルファ、MIP-1β、ランテス（Rantes）、マクロファージ・コロニー刺激因子(M-CSF)、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、及び顆粒球-マクロファージ・コロニー刺激因子(GM-CSF)、並びに前記の何れかの機能的なフラグメント、が挙げられる。

【０３０２】

いくつかの実施形態では、ケモカイン・レセプター（即ち、CXC、CC、C、又はCX3Cケモカイン・レセプター）に結合する免疫調節性ケモカインもまた、本出願で提供される組成物に含まれることがある。ケモカインの例としては、限定されるものではないが、Mip1α, Mip-1β, Mip-3α (Larc), Mip-3β, ランテス（Rantes）, Hcc-1, Mpif-1, Mpif-2, Mcp-1, Mcp-2, Mcp-3, Mcp-4, Mcp-5, エオタキシン(Eotaxin), タルク(Tarc), Elc, I309, IL-8, Gcp-2 Gro-α, Gro-β, Gro-γ, Nap-2, Ena-78, Gcp-2, Ip-10, Mig, I-Tac, Sdf-1, 及び Bca-1 (Blc), 並びに前記の何れかの機能的なフラグメント、が挙げられる。

【０３０３】

いくつかの実施形態では、前記組成物は、本出願に記載される、結合タンパク質（例えば、TCR、TCRの抗原結合フラグメント、CAR、若しくはTCR及びエフェクター・ドメインを含む融合タンパク質)、TCRα及び／又はTCRβポリペプチド、を含む。いくつかの実施形態では、前記組成物は、本出願に記載される、結合タンパク質、TCRα及び／又はTCRβポリペプチド、をコードする核酸、例えば、結合タンパク質、TCRα及び／又はTCRβポリペプチド、をコードするDNA分子、を含む。いくつかの実施形態では、前記組成物は、結合タンパク質、TCRα及び／又はTCRβポリペプチド、をコードするオープン・リーディング・フレームを含む発現ベクター、を含む。

【０３０４】

細胞(例えば、T細胞、NK細胞、等)によって取り込まれる場合、DNA分子は、染色体外分子として細胞中に存在することがある、及び／又は染色体中に組み込まれることがある。DNAを、別々の遺伝物質のままであるプラスミドの形態で、細胞の中に導入することがある。或いは、染色体に組み込まれ得る線状DNAを、前記細胞の中に導入することがある。任意選択的に、DNAを細胞の中に導入する場合、染色体の中にDNAが組み込まれることを促進する試薬を添加してもよい。

【０３０５】

VI.使用と方法

本出願に記載される組成物を、様々な診断用途、予後予測用途、及び治療用途に使用することができる。本出願に記載される任意の方法（例えば、診断方法、予後予測方法、治療方法、又はそれらの組み合わせ、等）では、前記方法の全てのステップを、単一の行為者によって、或いは2人以上の行為者によって、実施することがある。例えば、診断は、治療的処置を提供する行為者によって直接的に、行われることがある。或いは、治療薬剤を提供する者が、診断アッセイを実施することを、要請することがある。診断医及び／又は治療介入医は、診断アッセイ結果を解釈して治療戦略を決定することがある。同様に、そのような代替プロセスを、他のアッセイ（例えば、予後予測アッセイ等）に適用することがある。

【０３０６】

本発明によって包含されるいくつかの使用及び方法では、対象又は対象サンプルが利用される。いくつかの実施形態では、前記対象は、動物である。前記動物は、いずれの性別のものであってもよく、発生発達の任意の段階にあってもよい。いくつかの実施形態では、前記動物は、脊椎動物（例えば、哺乳動物等）である。いくつかの実施形態では、前記対象は、非-ヒト哺乳動物である。いくつかの実施形態では、前記対象は、飼いならされた動物(domesticated animal)（例えば、イヌ、ネコ、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、又はヤギ、等）である。いくつかの実施形態では、前記対象は、コンパニオン動物（例えば、イヌ又はネコ、等）である。いくつかの実施形態では、前記対象は、家畜(livestock animal)（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、又はヤギ、等）である。いくつかの実施形態では、前記対象は、動物園の動物である。いくつかの実施形態では、前記対象は、研究用動物（例えば、齧歯類［例えば、マウス又はラット］、イヌ、ブタ、又は非-ヒト霊長類、等）である。いくつかの実施形態では、前記動物は、遺伝子操作をした動物である。いくつかの実施形態では、前記動物は、トランスジェニック動物(例えば、トランスジェニック・マウス及びトランスジェニック・ブタ)である。いくつかの実施形態では、前記対象は、魚類又は爬虫類である。

【０３０７】

いくつかの実施形態では、前記対象は、げっ歯類（例えば、マウス等）である。いくつかのそのような実施態様では、前記マウスは、トランスジェニック・マウス（例えば、ヒトMHC［即ち、HLA］分子を発現するマウス等）である（例えば、Nicholson et al. (2012) Adv. Hematol. 2012:404081）。いくつかの実施形態では、前記対象は、ヒトTCRを発現するトランスジェニック・マウスである、又は抗原-ネガティブなマウスである（例えば、Li et al. (2010) Nat. Med. 16:1029-1034 and Obenaus et al. (2015) Nat. Biotechnol. 33:402-407）。いくつかの実施形態では、前記対象

は、ヒトHLA分子及びヒトTCRを発現する、トランスジェニック・マウスである。いくつかの実施形態では、例えば、対前記象が遺伝子組み換えHLAマウスである場合、その同定されたTCRは改変されている（例えば、キメラである、又はヒト化されている）。いくつかの実施形態では、TCRスキャフォールドは、改変されている（例えば、既知の結合タンパク質ヒト化方法に類似する等）。

【０３０８】

いくつかの実施形態では、前記対象は、ヒトである。いくつかの実施形態では、前記対象は、HA-1の発現を特徴とする疾患（例えば、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発）の動物モデルである。例えば、前記動物モデルは、ヒト-由来がんに関する同所性異種移植動物モデルであってもよい。

【０３０９】

いくつかの実施形態では、前記対象は、ヒト（例えば、HA-1の発現を特徴とする障害を有するヒト等）である。

【０３１０】

本出願に記載される方法を使用して、それを必要とする対象を治療することがある。本出願で使用する場合、「それを必要とする対象」としては、HA-1の発現を特徴とする障害を有する対象、HA-1の発現を特徴とする障害の再発を有する対象、及び／又はHA-1の発現を特徴とする障害を起こしやすい対象、が挙げられる。本出願に記載されるように、HA-1の発現を特徴とする障害は、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、でああることがある。

【０３１１】

本発明によって包含される方法のいくつかの実施形態では、前記対象は、HA-1の発現を特徴とする障害の為の治療（例えば、化学療法、放射線療法、ターゲット化療法(targeted therapy)、及び／又は免疫療法、等）を受けたことがない。いくつかの実施形態では、前記対象は、HA-1の発現を特徴とする障害の為の治療（例えば、化学療法、放射線療法、ターゲット化療法(targeted therapy)、及び／又は免疫療法、等）を受けたことがある。

【０３１２】

いくつかの実施形態では、前記対象は、がん性組織又は前がん性組織を除去するための外科的処置を受けたことがある。いくつかの実施形態では、前記がん性組織は、除去されていない（例えば、前記がん性組織は、身体の手術不能な領域に［例えば、生命に不可欠な組織等に］、又は外科的処置によって、前記患者にとっての危害に関するかなりのリスクを引き起こされるであろう領域に、位置していることがある）。

【０３１３】

いくつかの実施形態では、前記対象又はその細胞は、関連性のある療法に対して抵抗性である（例えば、標準治療療法、免疫チェックポイント・インヒビター療法、等に対して抵抗性である）。例えば、本発明によって包含される1以上のバイオマーカーを調節することは、免疫チェックポイント・インヒビター治療に対する抵抗性を克服することがある。

【０３１４】

いくつかの実施形態では、前記対象は、例えば、望ましくない非存在、存在、又は異常なHA-1の発現を有すると同定されているように、本出願に記載される組成物及び方法に係る調節を必要としている。

【０３１５】

a．診断方法

本発明によって包含される態様では、HA-1抗原及び／又はHA-1を発現する関心とする細胞の有無を検出するための診断方法、ここで、前記方法は、本出願に記載される、少なくとも1つの結合タンパク質、又は少なくとも1つの宿主細胞、を使用することによって、サンプル中の前記HA-1抗原の有無を検出ステップを含む、が本出願で提供される。いくつかの実施形態では、前記方法は、前記サンプルを（例えば、対象から）得るステッ

プを更に含む。いくつかの実施形態では、前記少なくとも1つの結合タンパク質又は少なくとも1つの宿主細胞は、MHC分子の中でHA-1ペプチド・エピトープとの複合体を形成し、前記複合体を、蛍光活性化細胞選別(fluorescence activated cell sorting)(FACS)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、放射免疫アッセイ(RIA)、免疫化学的、ウェスタン・ブロット、又は細胞内フロー・アッセイ、の形態で、検出する。

【０３１６】

本発明によって包含される態様では、

対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、のレベルを検出するための診断方法、ここで前記方法は、以下を含む：

a)前記対象から得られたサンプルを、本出願に記載される、少なくとも1種の結合タンパク質、少なくとも1種の宿主細胞、又は宿主細胞の集団、と接触させるステップ；及び、

b)応答性のレベルを検出するステップ、ここで、コントロールのレベルと比較して、より高いレベルの応答性は、前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、のレベルを示す、

が本出願で提供される。

【０３１７】

いくつかの実施形態では、応答性のレベルを、T細胞活性化又はエフェクター機能、例えば、限定されるものではないが、T細胞増殖、傷害、又はサイトカイン放出、等、によって、示す。コントロール・レベルは、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に曝露されていない健常対象の、参考数値又はレベル、であることがある。

【０３１８】

本出願に記載されるペプチド抗原（例えば、HA-1抗原）に対する免疫応答の、存在及びレベル、を決定するために、生物学的サンプルを、対象から得ることがある。本出願で使用される「生物学的サンプル」は、血液サンプル(それから血清又は血漿を調製することがある)、生検標本、体液（例えば、血液、単離したPBMC、単離したT細胞、肺洗浄(lung lavage)、腹水、粘膜洗浄液、滑膜流体、等)、骨髄、リンパ節、組織の外植片、臓器培養物、又は前記対象若しくは生物学的供給源に由来する任意の他の組織若しくは細胞調製物、であることがある。生物学的サンプルをまた、任意の医薬組成物を受ける前の対象から得ることもあり、その生物学的サンプルは、ベースライン・データを確立するためのコントロールとして有用である。

【０３１９】

抗原-特異的なT細胞応答を、典型的には、適切な状況にある同種抗原（例えば、免疫適合性抗原提示細胞によって提示されると、T細胞を、プライミングする、又は活性化する、ように使用される抗原）に曝露されたT細胞と、代わりに構造的に異なる、又は無関係なコントロール抗原に暴露された、同じ期限集団由来のT細胞との、間で、生じた、本出願に記載されるT細胞の機能パラメーター（例えば、増殖、サイトカイン放出、CTL活性、細胞表面マーカー表現型の変化、等）の何れかに係る、観察されたT細胞応答を、比較することによって、決定する。コントロール抗原に対する応答性よりも、統計的有意性をもって、より大きな、同種抗原に対する応答性は、抗原特異性を意味する。

【０３２０】

免疫応答（例えば、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)の免疫応答等）のレベルを、本出願に記載され、当技術分野で日常的に実施される、多数の免疫学的方法の何れか1つによって、決定することがある。例えば、CTL免疫応答のレベルを、例えば、T細胞が発現さする本出願に記載される何れか1種の結合タンパク質を投与する前に及び後に、決定することがある。CTL活性を決定するための細胞傷害アッセイを、当技術分野で日常的に実施されている、いくつかの技術及び方法の何れか1つを用いて、実施することがある（例えば、Henkart el al., "Cytotoxic T-Lymphocytes" in Fundamental Immunology

, Paul (ed.) (2003 Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA), 頁1127-50、及びそこに引用されている参考文献)。

【０３２１】

本発明は、部分的に、生物学的サンプルが、HA-1等の関心とするターゲットの発現等の、関心とするアウトプットに関連しているかどうかを、正確に分類するための、方法、システム、及び体系、を提供する。いくつかの実施形態では、HA-1の発現を特徴とする障害の療法に、応答することの、又は応答しないことの、関連性がある、又はリスクがある、サンプル（例えば、対象由来）を、統計的アルゴリズム及び／又は経験的データを用いて、分類する目的に、本発明は有用である。

【０３２２】

HA-1の、量又は活性、を検出するための例示的な方法、それ故に、サンプルが、HA-1の発現を特徴とする障害の療法に、応答する可能性があるか、又は応答する可能性が低いか、を分類する目的に有用な例示的な方法は、生物学的サンプルを、薬剤（例えば、生物学的サンプル中のHA-1の、量又は活性、を検出することができる、本出願に記載される、HA-1免疫原性ペプチド又は結合剤、等）と接触させるステップを含む。いくつかの実施形態では、前記方法は、例えば、試験対象から等の、生物学的サンプルを得るステップを更に含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1種の薬剤が使用され、ここで、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又はそれを超えたこのような薬剤を、組み合わせて(例えば、サンドイッチELISAにおいて)又は連続して、使用することがある。ある特定の例では、前記統計的アルゴリズムは、単一学習統計分類子システム（single learning statistical classifier system）である。例えば、単一学習統計分類子システム（single learning statistical classifier system）を使用して、バイオマーカーの予測値又は確率値及び存在又はレベルに基づいて、サンプルを分類することがある。単一学習統計分類子システム（single learning statistical classifier system）を使用することで、典型的には、少なくとも約75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の、感度、特異性、ポジティブ予測値、ネガティブ予測値、及び／又は全精度、をもって、前記サンプルが分類される。

【０３２３】

他の好適な統計的アルゴリズムは、当業者に既知である。例えば、学習統計分類子システム(learning statistical classifier system)としては、複雑なデータセット（例えば、関心とするマーカーのパネル）に適応し、そのようなデータセットに基づいて決定を行うことができる、機械学習アルゴリズム技術、が挙げられる。いくつかの実施形態では、分類ツリー(classification tree)（例えば、ランダム・フォレスト(random forest)）のような単一学習統計分類子システム（single learning statistical classifier system）を使用する。他の実施形態では、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又はそれを超えた種の学習統計分類子システムを組み合わせて、好ましくは直列に、使用する。学習統計分類子システム(learning statistical classifier system)の例としては、限定されるものではないが、帰納的学習（例えば、決定／分類ツリー(decision/classification tree)、例えば、ランダムフォレスト、分類及び回帰ツリー(classification and regression tree (C&RT))、ブースト・ツリー(boosted tree)、等）、確率的で近似的に正しい学習（Probably Approximately Correct (PAC) learning）、コネクショニスト学習(connectionist learning)（例えば、ニューラル・ネットワーク(neural network (NN))、人工ニューラル・ネットワーク(artificial neural network (ANN))、ニューロ・ファジー・ネットワーク(neuro fuzzy network (NFN))、ネットワーク構造、マルチ層パーセプトロン等のパーセプトロン、マルチ層フィード-フォワード・ネットワーク、ニューラルネットワークの応用、信念ネットワークにおけるベイズ学習(Bayesian learning in belief network)、等）、強化学習(例えば、ナイーブ学習、適応型動的学習、及び時間的差分学習などの既知の環境における受動的学習、未知の環境における受動的学習、未知の環境における能動的学習、行動価値関数の学

習(learning action-value function)、強化学習の応用、等)、並びに遺伝的アルゴリズム及び進化的プログラミング、を使用するシステムが挙げられる。他の学習統計分類子システム(learning statistical classifier system)としては、サポート・ベクター・マシン(support vector machine)(例えば、カーネル法(Kernel method))、多変量適応的回帰スプライン(multivariate adaptive regression spline (MARS))、レーベンバーグ-マルカート・アルゴリズム（Levenberg-Marquardt algorithm）、ガウス-ニュートン・アルゴリズム(Gauss-Newton algorithm)、ガウシアンの混合（mixtures of Gaussian）、勾配降下アルゴリズム（gradient descent algorithm）、及び学習ベクトル量子化(learning vector quantization(LVQ))、が挙げられる。ある特定の実施形態では、本発明によって包含される方法は、サンプルの分類結果を臨床医、例えば、腫瘍医、に送信することを更に含む。

【０３２４】

いくつかの実施形態では、対象を診断した後に、その診断に基づいて、治療有効量の規定される治療を、その個人に処方する。

【０３２５】

いくつかの実施形態では、前記方法は、コントロールの生物学的サンプル（例えば、HA-1の発現を特徴とする障害を有しない対象、寛解状態にある対象、治療に感受性のある障害を有する対象、障害が進行している対象、又は他の関心とする対象、由来の生物学的サンプル）を得ることを、更に含む。

【０３２６】

本出願に記載される解析方法のいくつかの実施形態では、（例えば、対象由来のサンプルにおける）HA-1の発現を、所定のコントロール(基準)サンプルと比較する。前記対象由来のサンプルは、典型的には、がん細胞又は組織等の疾患組織に由来する。前記コントロール・サンプルは、同じ対象に由来してもよいし、別の対象に由来してもよい。前記コントロール・サンプルは、典型的には、正常な、非-疾患サンプルである。しかしながら、いくつかの実施形態では（例えば、病期分類のための実施形態、又は治療の有効性を評価するための実施形態、等）、前記コントロール・サンプルは、病変組織由来であってもよい。前記コントロール・サンプルは、いくつかの別の対象由来のサンプルの組み合わせであってもよい。いくつかの実施形態では、対象からのHA-1の発現測定値を、所定のレベルと比較する。この所定のレベルは、典型的には、正常サンプルから得られる。本出願に記載されるように、「所定の」という表現を使用して、単なる例示ではあるが、治療のために選択され得る対象を評価することがある、がんに対する応答を評価することがある、及び／又は併用がん療法に対する応答を評価することがある。所定のバイオマーカーの、量及び／又は活性、の測定値を、HA-1の発現を特徴とする障害を、有する又は有さない、患者の集団において、決定することがある。所定のバイオマーカーの、量及び／又は活性、の測定値は、どの患者にも等しく適用可能な単一の数字であってもよく、又は所定のバイオマーカーの、量及び／又は活性、の測定値は、患者の、特定のサブ-集団に応じて変化してもよい。対象の、年齢、体重、身長、及び他の要因は、その個人の、所定のバイオマーカーの、量及び／又は活性、の測定値、に影響を与えることがある。更に、所定のバイオマーカーの、量及び／又は活性、を、各対象について個々に決定することがある。1つの実施形態では、本出願に記載される方法において、決定される及び／又は比較される、量は、絶対的な測定値に基づく。

【０３２７】

別の実施形態では、本出願に記載される方法において、決定される及び／又は比較される、量は、相対的な測定値、例えば、比率（例えば、処理前対処理後の、バイオマーカーのコピー数、レベル、及び／又は活性、例えば、スパイクした制御又は人為的な制御、に対するバイオマーカーの測定値、ハウスキーピング遺伝子の発現に対するバイオマーカー測定値、等）等、に基づく。例えば、その相対解析は、治療後バイオマーカー測定値と比較した治療前バイオマーカー測定値の比率に基づくことがある。治療前バイオマーカーの測定を、療法を開始する前の任意の時点で行うことができる。治療後バイオマーカーの測

定を、療法を開始した後の任意の時点で行うことができる。いくつかの実施形態では、治療後バイオマーカーの測定を、療法を開始した後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20週間以上、更にはより長く、無期限に、継続的なモニタリングのために、行う。治療は、HA-1の発現を特徴とする障害を治療するための療法を、単独で、又は他の薬剤（例えば、化学療法若しくは免疫チェックポイント・インヒビター、のような抗-がん薬剤）と併用して、含むことがある。

【０３２８】

所定のHA-1の発現は、任意の適切な基準であってよい。例えば、所定のHA-1の発現を、対象選択が評価されている、同じ対象又は異なる対象、から得ることがある。1つの実施形態では、前記所定のバイオマーカーの、量及び／又は活性、の測定値を、同一の患者の、以前の評価から得ることがある。このようにして、患者の選択の進行を、時間経過でモニタリングすることがある。更に、前記コントロールを、前記対象がヒトである場合、別のヒト又は複数のヒト、例えば、選択されたヒトの群、の評価から得ることがある。このようにして、選択が評価されているヒトの選択の程度を、好適な他のヒト、例えば、関心とするヒトと類似の状況にある他のヒト、例えば、類似した症状若しくは同一の症状、に罹患している他のヒト、及び／又は同一の民族集団の他のヒト、等、と比較することがある。

【０３２９】

いくつかの実施形態では、所定のレベルからのHA-1の発現の変化は、約0.1，0.2，0.3，0.4，0.5，0.6，0.7，0.8，0.9，1.0，1.5，2.0，2.5，3.0，3.5，4.0，4.5，若しくは 5.0倍以上、又は間の、包括的な、任意の範囲である。そのようなカット-オフ値を、その測定値が、相対的な変化に基づく（例えば、処置後バイオマーカーの測定値と比較した処置前バイオマーカーの測定値の比率に基づく等）場合、等しく適用する。

【０３３０】

いくつかの実施形態では、HA-1ポリペプチドを又はその抗原を、検出することによって又は定量することによって、例えば、本出願に記載される組成物を使用することによって、HA-1の発現を、検出することがある、及び／又は定量することがある。前記ポリペプチドを、当業者にとって既知の多くの手段の何れかによって（例えば、免疫拡散、免疫電気泳動、ラジオイムノアッセイ(RIA)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、免疫蛍光アッセイ、ウェスタン・ブロッティング、結合剤-リガンド・アッセイ、免疫組織化学的技術、凝集(agglutination)、補体アッセイ、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、薄層クロマトグラフィー(TLC)、超拡散クロマトグラフィー(hyperdiffusion chromatography)、等によって）、検出することがある及び定量することがある（例えば、Basic and Clinical Immunology, Sites and Terr, eds., Appleton and Lange, Norwalk, Conn. pp 217-262, 1991)。

【０３３１】

b. 治療方法

本発明によって包含される態様において、本出願は、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、若しくは過剰増殖性障害の再発、を、予防するための、及び／若しくは治療するための、方法、並びに／又はHA-1抗原を発現する関心とする細胞、例えば過剰増殖性細胞等、に対する免疫応答を誘導するための方法、を提供する。いくつかの実施形態では、前記方法は、本出願に記載される結合タンパク質を少なくとも1つ発現する細胞を含む組成物の治療有効量を、対象に投与するステップ、を含む。本発明によって包含される方法を使用して、対象におけるHA-1の発現を特徴とする多くの様々な障害（例えば、本出願に記載される障害等）の療法に対する応答性を決定することもある。

【０３３２】

いくつかの実施形態では、本出願は、ある特定の過剰増殖性障害（例えば、血液悪性腫瘍(hematological malignancy)）を、予防するための、及び／又は治療するための、方法、を提供する。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological m

alignancy)は、白血病（例えば、急性白血病又は慢性白血病）を含む。特定の実施形態では、前記白血病は、急性骨髄性白血病(AML)、急性リンパ球性白血病(ALL)、混合表現型急性白血病(MPAL)、慢性骨髄性白血病(CML)、B細胞前リンパ球性白血病(prolymphocytic leukemia)，ヘアリー細胞白血病(hairy cell leukemia)、又は慢性リンパ球性白血病(CLL)、を含む。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、リンパ腫を含む。ある特定の実施形態では、前記リンパ腫は、ホジキン・リンパ腫(Hodgkin's lymphoma(HL))，非-ホジキン・リンパ腫(non-Hodgkin's lymphoma(NHL))，中枢神経系リンパ腫、小リンパ球性リンパ腫(small lymphocytic lymphoma(SLL))、CD37+樹状細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、形質細胞骨髄腫、髄外性形質細胞腫、粘膜関連（MALT）リンパ組織の節外辺縁帯B-細胞リンパ腫、節内辺縁帯B-細胞リンパ腫、濾胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B-細胞リンパ腫、縦隔（胸腺）大細胞型B-細胞リンパ腫、前駆B-リンパ芽球性リンパ腫、免疫芽球性大細胞リンパ腫、血管内大細胞型B-細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、又はバーキット・リンパ腫／白血病、悪性度不明なB-細胞増殖症、リンパ腫様肉芽腫症(lymphomatoid granulomatosis)、及び移植後リンパ球増殖性障害、が挙げられる。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄異形成障害(MDS)、例えば、単一血球系統の異形成を伴う不応性血球減少症(不応性貧血、不応性好中球減少症、及び不応性血小板減少症)、環状鉄芽球を伴う不応性貧血(refractory anemia with ring sideroblasts (RARS))、環状鉄芽球を伴う不応性貧血-血小板増加症(refractory anemia with ring sideroblasts - thrombocytosis (RARS-t))、多血球系異形成を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia (RCMD))、多血球系異形成と環状鉄芽球を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia and ring sideroblasts (RCMD-RS))、芽球増加を伴う不応性貧血(refractory anemia with excess blasts (RAEB))、分類不能型骨髄異形成症候群、小児不応性血球減少症、5番染色体長腕の単独欠失を伴う骨髄異形成症候群(MDS with isolated del(5q))、並びに他の既知のMDSサブタイプ（例えば、nbci.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC655460/、のWorld Wide Web で、利用可能な、2016 World Health Organization MDS classificationを参照）、を含む。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄増殖性新生物(myeloproliferative neoplasms (MPN))（例えば、骨髄線維症、真性赤血球増加症、本態性血小板血症(essential thrombocythemia)、慢性骨髄単球性白血病、慢性骨髄増殖性疾患-分類不能、慢性好中球性白血病、慢性好酸球性白血病、及びMPN-その他に特定されないなど）を含む。更なる実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄腫を含む。

【０３３３】

本いくつかの実施形態では、本出願は、非-悪性障害を、予防するための、及び／又は治療するための、方法、を提供する。ある特定の実施形態では、これらの非-悪性障害に罹患している対象は、造血細胞移植を受けたことがあるか、又は受けている。

いくつかの実施形態では、前記非-悪性障害を

非-悪性血液障害（例えば、鎌状赤血球貧血，サラセミア、再生不良性貧血、血球貪食性リンパ組織症(hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH))、重度の再生不良性貧血、骨髄不全症候群（例えば、ファンコニ貧血(Fanconi anemia)、ダイアモンド-ブラックファン貧血(Diamond-Blackfan anemia)、シュワックマン・ダイアモンド症候群(Schwachman Diamond syndrome)、及びその他等）；

免疫不全障害（例えば、重度複合免疫不全症(SCID)、ウィスコット-アルドリッチ症候群(Wiskott-Aldrich syndrome)、オーメン症候群（Omenn syndrome）、X-連鎖リンパ増殖症候群、慢性肉芽腫病、白血球接着不全症、ディジョージ症候群(DiGeorge syndrome)、及びその他の既知の障害、例えば、bethematchclinical.org/workarea/downloadasset.aspx?id-3545で列挙されている障害のような造血幹細胞移植(hem

atopoietic stem cell transplantation (HCT))の適応症）；並びに自己免疫障害（例えば、全身性硬化症、糸球体腎炎、関節炎、拡張型心筋症-様疾患、潰瘍性大腸炎(ulceous colitis)、シェーグレン症候群、クローン病、全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ、多発性硬化症、乾癬、アレルギー性接触皮膚炎、多発性筋炎(polymyosiis)、皮膚肥厚、結節性動脈周囲炎、リウマチ熱、尋常性白斑、インスリン依存性糖尿病、ベーチェット病(Behcet disease)、橋本病(Hashimoto disease)、アジソン病(Addison disease)、皮膚筋炎、重症筋無力症、ライター症候群(Reiter syndrome)、グレーブス病(Graves' disease)、悪性貧血(anaemia perniciosa)、グッドパスチャー症候群(Goodpasture's syndrome)、不妊症、慢性活動性肝炎、天疱瘡、自己免疫性血小板減少性紫斑病、および自己免疫性溶血性貧血、活動性慢性肝炎、アジソン病(Addison disease)、抗-リン脂質症候群、アトピー性アレルギー、自己免疫性萎縮性胃炎、無酸自己免疫(achlorhydra autoimmune)、セリアック病、クッシング症候群、皮膚筋炎、円板状ループス、エリテマトーデス、グッドパスチャー症候群(Goodpasture's syndrome)、橋本甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、特発性副腎萎縮症、特発性血小板減少症、インスリン依存性糖尿病、ランバート-イートン症候群（Lambert-Eaton syndrome）、ルポイド肝炎、リンパ球減少症の一部、混合性結合組織病、天疱瘡、尋常性天疱瘡、悪性貧血(pernicious anema)、水晶体起因性ブドウ膜炎、結節性多発動脈炎、多腺性自己免疫症候群(polyglandular autosyndromes)、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、レイノー症候群(Raynaud's syndrome)、再発性多発性軟骨炎、シュミット症候群(Schmidt's syndrome)、限局性強皮症（又はクレスト症候群(crest syndrome)）、交感性眼炎(sympathetic ophthalmia)、全身性エリテマトーデス、高安動脈炎(Takayasu's arteritis)、側頭動脈炎、甲状腺機能亢進症、タイプbインスリン抵抗性、潰瘍性大腸炎、及びウェゲナー肉芽腫症）、からなる群より選択する。特定の実施形態では、前記自己免疫障害は、全身性硬化症又は多発性硬化症である。

【０３３４】

更に、本出願に記載される組成物を、所望の活性を更に調節するために、併用療法として投与することもある。更なる薬剤としては、限定されるものではないが、化学療法薬剤、ホルモン、抗血管新生剤、放射性標識化合物、又は手術、凍結療法、及び／若しくは放射線療法、が挙げられる。前述の治療方法を、従来の療法（例えば、当業者に既知である、がんのための標準治療）の他の形態と併せて、従来の治療、の前又はの後、のいずれかで、連続的に処方することがある。例えば、これらの調節薬剤を、治療有効用量の化学療法薬剤と共に、投与することがある。別の実施形態では、これらの調節薬剤を、化学療法と併せて投与し、化学療法薬剤の活性及び有効性を増強する。Physicians' Desk Reference (PDR)は、各種がんの治療に使用されている化学療法薬剤の投与量を開示する。治療的に効果的であるこれらの前記の化学療法薬物の、投薬レジメン及び投薬量は、治療する特定のメラノーマ、その疾患の程度、及び当業者である医師には良く分かる他の要因、に依存し、前記医師によって決定されることがある。

【０３３５】

本出願に記載される1つ以上の組成物を使用する療法を、単独で、若しくはがん療法等の他の療法との併用で、使用して、HA-1発現細胞と接触させることがある、及び／又は所望の対象（例えば。療法に対する応答者である可能性が示されている対象）に処方することがある。別の実施形態では、そのような療法を、対象が前記療法に対する応答者ではおそらくないだとうということが示されると（例えば、本出願に記載される診断方法又は予後予測方法に従って評価されると）、回避することができ、代替の治療レジメン（例えば、ターゲット化がん療法、及び／又は非ターゲット化がん療法、等）が、推奨されることがある、及び／又は処方されることがある。

【０３３６】

用語「ターゲット化療法(targeted therapy)」とは、選択された生体分子と選択的に相互作用し、それによってがんを治療する、薬剤の投与を指す。例えば、免疫チェックポイント・インヒビターを阻害することに関するターゲット化療法(targeted therapy

)は、本発明によって包含される方法と併用して、有用である。

【０３３７】

用語「免疫療法(immunotherapy)」又は「免疫療法(immunotherapies)」とは、一般に、免疫応答を、有益な様式で、調節するための任意の方策を指し、免疫応答を誘導する、増強する、抑制する、又はその他、改変すること、を含む方法によって、疾患に罹患している、又は疾患を再発するリスクがある、若しくは疾患の再発を経験している、対象を治療すること、並びにがん等の疾患と戦うために、対象の免疫系の特定の部分を使用する任意の治療、を包含する。対象自身の免疫系を、刺激する(又は抑制する)（その目的の為の1種以上の薬剤の投与を、伴う、又は伴わない）。免疫応答を、誘発するように、又は増幅するように、設計された免疫療法を、「活性化免疫療法(activation immunotherapy)」と呼ぶ。免疫応答を、低減するように、又は抑制するように、設計された免疫療法を、「抑制化免疫療法(suppression immunotherapy)」と呼ぶ。いくつかの実施形態では、免疫療法は、がん細胞等の、関心とする細胞に特異的である。いくつかの実施形態では、免疫療法は、「非ターゲット化(untargeted)」ことがある、これは、免疫系細胞との相互作用は選択的ではないが、免疫系機能を調節する、薬剤を投与すること、を指す。非ターゲット化治療の代表的な例としては、限定されるものではないが、化学療法、遺伝子治療、及び放射線療法、が挙げられる。

【０３３８】

免疫療法のいくつかの形態は、例えば、がんワクチンの使用、及び／又は感作済み抗原提示細胞の使用、を含むことがあるターゲット化療法(targeted therapy)、である。例えば、腫瘍溶解性ウイルスは、がん細胞に感染し、がん細胞を溶解することができる、その一方で、正常な細胞を損なわずに残し、それらをがん治療において有益にする可能性のある、ウイルスである。腫瘍溶解性ウイルスが複製すると、腫瘍細胞の破壊が促進される、及びまた、腫瘍部位で、用量が増大する。それらはまた、抗がん遺伝子のベクターとしても働く、それら遺伝子が、腫瘍部位に特異的に送達されることを可能にする。前記免疫療法としては、宿主を短期に保護するための受動免疫が挙げられ、これは、がん抗原又は疾病抗原、に対する予め形成された抗体の投与（例えば、腫瘍抗原に対するモノクローナル抗体［任意選択的に、化学療法薬剤に、又は毒素に連結している］の投与）によって達成される。免疫療法は、細胞傷害性リンパ球が認識する、がん細胞株のエピトープを使用することに焦点を当てることもある。或いは、アンチセンス・ポリヌクレオチド、リボザイム、RNA干渉分子、三重らせんポリヌクレオチド、等を使用して、腫瘍又はがん、の開始、進行、及び／又は病態、に関連する生体分子を、選択的に調節することがある。同様に、免疫療法は、細胞-ベースの療法の形態をとることがある。例えば、養子細胞免疫療法は、患者のがんに対して、天然の、又は遺伝子操作された、応答性を有する、生成される、及び次いでそのがん患者に戻される、T細胞等の免疫細胞、を使用する免疫療法の一種である。多数の活性化した腫瘍-特異的T細胞を注射投与すると、がんの完全で持続的な退縮を誘導することがある。

【０３３９】

前記免疫療法としては、宿主を短期に保護するための受動免疫が挙げられ、これは、がん抗原又は疾病抗原、に対する予め形成された抗体の投与（例えば、腫瘍抗原に対するモノクローナル抗体［任意選択的に、化学療法薬剤に、又は毒素に連結している］の投与）によって達成される。免疫療法は、細胞傷害性リンパ球が認識する、がん細胞株のエピトープを使用することに焦点を当てることもある。或いは、アンチセンス・ポリヌクレオチド、リボザイム、RNA干渉分子、三重らせんポリヌクレオチド、等を使用して、腫瘍又はがん、の開始、進行、及び／又は病態、に関連する生体分子を、選択的に調節することがある。

【０３４０】

いくつかの実施形態では、免疫療法剤は、免疫-刺激性分子のアゴニスト；免疫-阻害性分子のアンタゴニスト；ケモカインのアンタゴニスト；T細胞活性化を刺激するサイトカインのアゴニスト；T細胞活性化を阻害するサイトカインに、拮抗する若しくは阻害する

、薬剤；及び／又は、B7ファミリーの膜結合タンパク質に結合する薬剤、である。いくつかの実施形態では、前記免疫療法剤は、免疫-阻害分子のアンタゴニストである。いくつかの実施形態では、前記免疫療法剤は、サイトカイン、ケモカイン及び増殖因子、の為の薬剤（例えば、腫瘍関連サイトカイン、ケモカイン、増殖因子及び他の可溶性因子、例えば、IL-10、TGF-β及びVEGF等、の阻害効果を中和する中和抗体）、であることがある。

【０３４１】

いくつかの実施形態では、免疫療法は、１種以上の免疫チェックポイントのインヒビターを含む。用語「免疫チェックポイント」とは、抗-がん免疫応答を調節することによって、免疫応答を微調整する（例えば、抗-腫瘍免疫応答を、下方調節する、又は阻害する）、CD4+及び／又はCD8+ T細胞の細胞面上の分子の群を指す。免疫チェックポイント・タンパク質は当技術分野で既知であり、限定されるものではないが、CTLA-4, PD-1, VISTA, B7-H2, B7-H3, PD-L1, B7-H4, B7-H6, ICOS, HVEM, PD-L2, CD200R, CD160, gp49B, PIR-B, KRLG-1, KIR family receptors, TIM-1, TIM-3, TIM-4, LAG-3 (CD223), IDO, GITR, 4-IBB, OX-40, BTLA, SIRPalpha (CD47), CD48, 2B4 (CD244), B7.1, B7.2, ILT-2, ILT-4, TIGIT, HHLA2, ブチロフィリン(butyrophilins)、及びA2aR 、が挙げられる（例えば、WO 2012/177624を参照のこと）。前記用語は、生物学的に活性なタンパク質フラグメントを、及び全長の免疫チェックポイント・タンパク質をコードする核酸を更に包含する。

【０３４２】

いくつかの免疫チェックポイントは、免疫系の機能（例えば、免疫応答）を阻害する、下方制御する、又は抑制する、分子（例えば、タンパク質）を包含する「免疫-阻害性の免疫チェックポイント」である。例えば、CD274又はB7-H1としても知られる、PD-L1(プログラム死リガンド1)は、免疫系を抑制するために、T細胞の増殖を減少させる阻害性シグナルを伝達するタンパク質である。CD152としても知られる、CTLA-4(細胞傷害性T-リンパ球-関連タンパク質4)は、免疫応答を下方制御するための免疫チェックポイント(「オフ」スイッチ)として働く、抗原提示細胞の表面上のタンパク質レセプターである。HAVCR2としても知られる、TIM-3（T-細胞免疫グロブリン及びムチン含有ドメイン-3）は、マクロファージ活性化を調節する免疫チェックポイントとして働く、細胞面タンパク質である。VISTA (T細胞活性化のV-ドメインIgサプレッサー(V-domain Ig suppressor of T cell activation))は、T細胞のエフェクター機能を阻害する、及び末梢のトレランスを維持する、免疫チェックポイントとして機能する、タイプI膜貫通タンパク質である。LAG-3(リンパ球-活性化遺伝子3)は、T細胞の、増殖、活性化、及び恒常性、を負に調節する、免疫チェックポイント・レセプターである。

BTLA(B-及びT-リンパ球アテニュエーター(B and T lymphocyte attenuator))は、腫瘍壊死ファミリー・レセプター(TNF-R)との相互作用を介して、T細胞抑制を示すタンパク質である。KIR(キラー細胞免疫グロブリン-様レセプター)は、NK細胞、及び少数のT細胞上に発現し、NK細胞の細胞傷害活性を抑制する、タンパク質のファミリーである。いくつかの実施形態では、免疫療法剤は、免疫抑制性の酵素に対して特異的な薬剤、例えば、アルギナーゼ(ARG)及びインドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)の活性を遮断することがあるインヒビター、T細胞及びNK細胞、を抑制する免疫チェックポイント・タンパク質、これは、免疫抑制性の腫瘍微小環境において、アミノ酸であるアルギニン及びトリプトファンの異化を変化させる、であることがある。前記インヒビターとしては、限定されるものではないが、ARG発現M2マクロファージをターゲットとするN-ヒドロキシ-L-Arg(NOHA)、ARG及び一酸化窒素合成酵素(NOS)を同時に遮断するニトロアスピリン又はシルデナフィル(Viagra(登録商標))、並びに1-メチル-トリプトファン等のIDO阻害剤、が挙げられる。前記用語は、生物学的に活性なタンパク質フラグメント、並びに全長の免疫チェックポイント・タンパク質及びその生物学的に活性なタンパク質フラグメントをコードする核酸、を更に包含する。いくつかの実施形態では、前記用語は、本出願に提供されるホモロジー記載に従う任意のフラグメントを更に包含する。

【０３４３】
対照的に、他の免疫チェックポイントは、免疫系の機能（例えば、免疫応答）を活性化する、刺激する、又は促進する、分子（例えば、タンパク質）を包含する「免疫-刺激性」である。いくつかの実施形態では、前記免疫-刺激性分子は、CD28, CD80 (B7.1), CD86 (B7.2), 4-1BB (CD137), 4-1BBL (CD137L), CD27, CD70, CD40, CD40L, CD122, CD226, CD30, CD30L, OX40, OX40L, HVEM, BTLA, GITR and its ligand GITRL, LIGHT, LTβR, LTαβ, ICOS (CD278), ICOSL (B7-H2), 及び NKG2D、である。CD40(分化クラスター40)は、抗原提示細胞上に見出される、それらの活性化に必要な、共-刺激タンパク質である。OX40,（腫瘍壊死因子レセプター・スーパーファミリー・メンバー4(TNFRSF4)又はCD134としても知られる）は、T-細胞死を防ぐことによって、及び続いてサイトカイン産生を増加させることによって、活性化後の免疫応答の維持に関与する。CD137は、活性化したT細胞を共-刺激して、増殖及びT細胞生残を増強する、腫瘍壊死因子レセプター(TNF-R)ファミリーのメンバーである。CD122は、インターロイキン-2レセプター(IL-2)タンパク質のサブユニットであり、これは、未成熟T細胞が、調節性、エフェクター、又はメモリーT細胞へと分化することを促進する。CD27は腫瘍壊死因子レセプター・スーパーファミリーのメンバーである、及び共-刺激性の免疫チェックポイント分子として働く。CD28(分化クラスター28)は、T細胞の活性化及び生残に必要な、共-刺激性シグナルを提供する、T細胞上で発現するタンパク質である。GITR(グルココルチコイド-誘導性TNFR-関連タンパク質)（TNFRSF18及びAITRとしても知られる）は、調節性T細胞によって維持される優性免疫自己-寛容（dominant immunological self-tolerance）において、重要な役割を果たすタンパク質である。ICOS(誘導性T-細胞共-刺激因子)（CD278としても知られる）は、活性化T細胞上で発現する、及びT細胞シグナル伝達及び免疫応答において役割を果たす、CD28-スーパーファミリー共-刺激性分子である。

【０３４４】
免疫チェックポイント及びそれらの配列は、当技術分野において既知であり、代表的な実施形態を以下に更に記載する。免疫チェックポイントは、一般に、阻害性レセプター対及び天然の結合相手（例えば、リガンド）、に関する。例えば、PD-1ポリペプチドは、阻害性シグナルを免疫細胞に伝達し、それによって免疫細胞エフェクター機能を阻害することができる、又は免疫細胞の共刺激を（例えば、競合的阻害によって）促進することができる（例えば、水溶性、モノマー形態で存在する場合）、阻害レセプターである。好ましいPD-1ファミリーのメンバーは、PD-1と配列同一性を共有する、及び1種以上のB7ファミリーのメンバー、例えば、B7-1、B7-2、PD-1リガンド、及び／又は抗原提示細胞上の他のポリペプチド、に結合する。用語「PD-1活性」としては、例えば、抗原提示細胞上の天然のPD-1リガンドと結合することによって、活性化した免疫細胞における阻害性シグナルを調節するという、PD-1ポリペプチドの作用能、が挙げられる。免疫細胞における阻害性シグナルの調節は、免疫細胞の増殖の調節、及び／又は免疫細胞によるサイトカイン分泌の調節、をもたらす。従って、用語「PD-1活性」には、PD-1ポリペプチドがその天然リガンドに結合する作用能、免疫細胞阻害性シグナルを調節する作用能、及び免疫応答を調節する作用能、が含まれる。用語「PD-1リガンド」とはPD-1レセプターの結合相手を指し、PD-L1（Freeman et al. (2000) J. Exp. Med. 192:1027-1034）及びPD-L2（Latchman et al. (2001) Nat. Immunol. 2:261）の両方が挙げられる。用語「PD-1リガンド活性」としては、PD-1リガンド・ポリペプチドがその天然のレセプター（例えば、PD-1又はB7-1)に結合する作用能、免疫細胞阻害性シグナルを調節する作用能、及び免疫応答を調節する作用能、が挙げられる。

【０３４５】
本出願で使用する場合、用語「免疫チェックポイント療法」とは、免疫-阻害性の免疫チェックポイントを阻害する（例えば、それらの核酸及び／又はタンパク質を阻害する）薬剤を使用すること、を指す。1種以上のそのような免疫チェックポイントの阻害は、阻害性シグナル伝達を遮断することがある、又はその他、中和することがある、それによっ

て、がんをより有効に治療するために、免疫応答を上方制御する。免疫チェックポイントを阻害するのに有用な例示的な薬剤としては、抗体、低分子、ペプチド、ペプチドミメティック、天然リガンド、及び天然リガンドの誘導体、それらは、免疫チェックポイント・タンパク質、又はそのフラグメント、に結合することができる、及び／又は不活性化することができる、若しくは阻害することができる；並びに免疫チェックポイントの、核酸又はそのフラグメント、の発現及び／又は活性、を下方制御することができる、RNA干渉、アンチセンス、核酸アプタマー、等、が挙げられる。免疫応答を上方制御するための例示的な薬剤としては、1種以上の免疫チェックポイント・タンパク質に対する抗体（これは、前記タンパク質とその天然レセプターとの間の相互作用を遮断する）；1種以上の免疫チェックポイント・タンパク質の非-活性化形態（例えば、ドミナント・ネガティブ・ポリペプチド(dominant negative polypeptide)）；1種以上の免疫チェックポイント・タンパク質とその天然レセプターとの間の相互作用を遮断する、低分子又はペプチド；融合タンパク質（例えば、抗体又は免疫グロブリンのFc部分に融合した、免疫チェックポイント抑制タンパク質の細胞外部分）（これは、その天然レセプターに結合する）；免疫チェックポイントの核酸の、転写又は翻訳、を遮断する核酸分子、が挙げられる。そのような薬剤は、1種以上の免疫チェックポイントとその天然レセプター（例えば、抗体）との間の相互作用を、直接的に遮断して、阻害性シグナル伝達を阻止することがある、及び免疫応答を上方制御することがある。或いは、薬剤は、1種以上の免疫チェックポイント・タンパク質とその天然レセプターとの間の相互作用を、間接的に遮断して、阻害性シグナル伝達を阻止することがある、及び免疫応答を上方制御することがある。例えば、安定化した細胞外ドメイン等の、免疫チェックポイント・タンパク質リガンドの可溶型は、そのレセプターに結合し、適切なリガンドに結合するレセプターの実効濃度を、間接的に低下させることがある。1つの実施形態では、抗-PD-1抗体、抗-PD-L1抗体、及び／又は抗-PD-L2抗体は、単独又は併用、のいずれかで使用して、免疫チェックポイントを阻害する。PD-1経路を遮断するために使用される治療薬剤としては、アンタゴニスト抗体及び可溶性PD-L1リガンド、が挙げられる。PD-1及びPD-L1/2阻害性経路に対するアンタゴニスト薬剤としては、限定されるものではないが、PD-1又はPD-L1/2、に対するアンタゴニスト抗体（例えば、米国特許第8,008,449号に開示される、17D8、2D3、4H1、5C4［ニボルマブ又はBMS-936558としても知られる］、4A11、7D3及び5F4；AMP-224、ピジリズマブ(CT-011)、ペムブロリズマブ、並びに米国特許8,779,105; 8,552,154; 8,217,149; 8,168,757; 8,008,449; 7,488,802; 7,943,743; 7,635,757; 及び 6,808,710、に開示される抗体）、が挙げられる。同様に、更なる代表的なチェックポイント・インヒビターは、限定されるものではないが、阻害性調節因子CTLA-4（抗-細胞傷害性T-リンパ球抗原4抗-細胞傷害性T-リンパ球抗原4）に対する抗体、例えばイピリムマブ、トレメリムマブ（完全ヒト化）、抗-CD28抗体、抗-CTLA-4アドネクチン、抗-CTLA-4ドメイン抗体、一本鎖抗-CTLA-4抗体フラグメント、重鎖抗-CTLA-4フラグメント、軽鎖抗-CTLA-4フラグメント、及び他の抗体、例えば、米国特許8,748, 815; 8,529,902; 8,318,916; 8,017,114; 7,744,875; 7,605,238; 7,465,446; 7,109,003; 7,132,281; 6,984,720; 6,682,736; 6,207,156; 及び5,977,318, 並びに欧州特許1212422, 米国特許出願公開2002/0039581 及び2002/086014, 並びに Hurwitz et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95:10067-10071、に開示される抗体、である。

【０３４６】

PD-1、PD-L1、PD-L2、及びCTLA-4について例示される、免疫チェックポイント活性、リガンド、遮断、等に関する典型的な定義は、一般に、他の免疫チェックポイントに、適用される。

【０３４７】

用語「非ターゲット化療法(untargeted therapy)」とは、選択された生体分子と選択的に相互作用をしないが、それでもがんを治療する、薬剤を投与すること、を指す。非ターゲット化治療の代表的な例としては、限定されるものではないが、化学療法、遺伝子

治療、及び放射線療法、が挙げられる。

【０３４８】

１つの実施形態では、化学療法を使用する。化学療法は、化学療法薬剤を投与すること」を含む。そのような化学療法薬剤は、限定されるものではないが、以下の化合物の群の中より選択されるものであってもよい：白金化合物、細胞傷害性抗生物質、代謝拮抗剤、抗-有糸分裂剤、アルキル化剤、ヒ素化合物、DNAトポイソメラーゼ阻害剤、タキサン類、ヌクレオシド類似体、植物アルカロイド、及び毒素；並びにそれらの合成誘導体。例示的な薬剤としては、限定されるものではないが、アルキル化剤：ナイトロジェン・マスタード類（例えば、シクロホスファミド、イホスファミド（ifosfamide)、トロホスファミド、クロラムブシル、エストラムスチン、及びメルファラン）、ニトロソウレア類（例えば、カルムスチン（BCNU）及びロムスチン（CCNU））、アルキルスルホン酸塩類（例えば、ブスルファン及びトレオスルファン)、トリアゼン類（例えば、ダカルバジン、テモゾロミド）、シスプラチン、トレオスルファン、及びトロホスファミド；植物アルカロイド類：ビンブラスチン、パクリタキセル、ドセタキソール；DNAトポイソメラーゼ阻害剤：テニポシド、クリスナトール、及びマイトマイシン；抗-葉酸剤：メトトレキサート、ミコフェノール酸、及びヒドロキシウレア；ピリミジン類似体： 5-フルオロウラシル、ドキシフルリジン、及びシトシン・アラビノシド；プリン類似体：メルカプトプリン及びチオグアニン；DNA代謝拮抗剤：2'-デオキシ-5-フルオロウリジン、アフィジコリン・グリシネート、及びピラゾロイミダゾール；及び抗有糸分裂剤：ハリコンドリン、コルヒチン、並びにリゾキシン、が挙げられる。

【０３４９】

同様に、更なる例示的な薬剤としては、(ZACTIMA)(登録商標)）、ZD6474）、バタラニブ（PTK787、PTK/ZK)、トラスツズマブ（ハーゼプチン(HERCEPTIN)(登録商標)）、ベバシズマブ（アバスチン(AVASTIN)(登録商標)）、リツキシマブ（リツキサン(RITUXAN)(登録商標)）、セツキシマブ（アービタックス(ERBITUX)(登録商標)）、パニツムマブ（ベクティビックス(VECTIBIX)(登録商標)）、ラニビズマブ（ルセンティス(Lucentis)(登録商標)）、ニロチニブ（タシグナ(TASIGNA)(登録商標)）、ソラフェニブ（ネクサバール(NEXAVAR)(登録商標)）、エベロリムス（アフィニトール(AFINITOR)(登録商標)）、アレムツズマブ（キャンパス(CAMPATH)(登録商標)）、ゲムツズマブ ・オゾガマイシン（マイロターグ(MYLOTARG)(登録商標)）、テムシロリムス（トーリセル(TORISEL)(登録商標)）、ENMD-2076、PCI-32765、AC220、ドビチニブ乳酸塩（TKI258、CHIR-258)、BIBW 2992（TOVOKTM）、SGX523、PF-04217903、PF-02341066、PF-299804、BMS-777607、ABT-869、MP470、BIBF 1120（バルガテフ(VARGATEF)(登録商標)）、AP24534、JNJ-26483327、MGCD265、DCC-2036、BMS-690154、CEP-11981、チボザニブ(AV-951)、OSI-930、MM-121、XL-184、XL-647、及び／又はXL228）、プロテアソーム阻害剤（例えば、ボルテゾミブ（ベルケイド(Velcade)(登録商標)）、mTOR阻害剤（例えば、ラパマイシン、テムシロリムス（CCI-779)、エベロリムス(RAD-001)、リダホロリムス、AP23573 (Ariad)、AZD8055 (アストラゼネカ)、BEZ235 (ノバルティス)、BGT226 （ノルバルティス）、XL765（サノフィ・アベンティス）、PF-4691502（ファイザー）、GDC0980 (ジェネンテック)、SF1126（セマフォ(Semafoe)）、及びOSI-027（OSI))、オブリメルセン、ゲムシタビン、カルミノマイシン、ロイコボリン、ペメトレキセド、シクロホスファミド、ダカルバジン、プロカルビジン、プレドニゾロン、デキサメタゾン、カンパテシン、プリカマイシン、アスパラギナーゼ、アミノプテリン、メトプテリン、ポルフィロマイシン、メルファラン、ロイロシジン(leurosidine)、ロイロシン(leurosine)、クロラムブシル、トラベクテジン、プロカルバジン、ディスコデルモライド、カルミノマイシン、アミノプテリン、並びにヘキサメチル・メラミン、が挙げられる。１種以上の化学療法薬剤を含む組成物（例えば、FLAG、CHOP）を使用することもある。FLAGは、フルダラビン、シトシン・アラビノシド(Ara-C)及びG-CSF、を含む。CHOPは、シクロフォスファミド, ビンクリスチン,ドキソルビシン、及び

プレドニゾン、を含む。
別の実施形態では、PARP（例えば、PARP-1及び／又はPARP-2）阻害剤を使用する、並びにそのような阻害剤は当該分野で既知である(例えば、オラパリブ、ABT-888、BSI-201、BGP-15(N-Gene Research Laboratories, Inc.); INO-1001(Inotek Pharmaceuticals Inc.); PJ34(Soriano et al., 2001; Pacher et al., 2002b);3-アミノベンズアミド(Trevigen);4-アミノ-1,8-ナフタルイミド;(Trevigen);6(5H)-フェナントリジノン(Trevigen);ベンズアミド(米国特許第36,397号);及びNU1025(Bowman et al.))。
作用機序は、一般に、PARP阻害剤がPARPに結合し、その活性を低下させる作用能に関連する。
PARPは、ベータ-ニコチンアミド・アデニン・ジヌクレオチド(NAD+)が、ニコチンアミド及びポリ-ADP-リボース(PAR)、への転換を触媒する。ポリ (ADP-リボース)及びPARPの両方は、転写、細胞増殖、ゲノムの安定性、及び発がん、の調節に、関連付いている（Bouchard et.al. (2003) Exp. Hematol. 31:446-454; Herceg (2001) Mut. Res. 477:97-110）。
ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ1(PARP1)は、DNA一本鎖切断(single-strand break (SSB))の修復における、重要な分子である（de Murcia J. et al. (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94:7303-7307; Schreiber et al. (2006) Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 7:517-528; Wang et al. (1997) Genes Dev. 11:2347-2358）PARP1機能の抑制によってSSB修復をノックアウトすると、DNA二本鎖切断(double-strand break (DSB))が誘導される、これは、相同性-指向性DSB修復に欠陥があるがん細胞においては、合成致死性(synthetic lethality)が引き起こされることがある（Bryant et al. (2005) Nature 434:913-917; Farmer et al. (2005) Nature 434:917-921）。化学療法薬剤の前述の例は、例示的なものである、及び限定することを意図するものではない。

【０３５０】

別の実施形態では、放射線療法が使用される。前記放射線療法に使用される放射線は、電離放射線であってもよい。放射線療法はまた、ガンマ線、X-線、又は陽子線であってもよい。放射線治療の例としては、限定されるものではないが、外部-ビーム照射療法、放射性同位体(I-125、パラジウム、イリジウム)の組織内移植、ストロンチウム-89等の放射性同位体、胸部放射線療法、腹腔内P-32放射線療法、並びに／又は全体の腹部及び骨盤の放射線療法、が挙げられる。放射線療法の概略については、Hellman, Chapter 16: Principles of Cancer Management: Radiation Therapy, 6th edition, 2001, DeVita et al., eds., J. B. Lippencott Company, Philadelphia を参照。放射線療法は、外部ビーム放射線又は遠隔治療として処方されることがある、ここで、前記放射線は遠隔源から向けられる。前記放射線療法をまた、内部療法又は近接照射療法として処方されることもある、ここで、放射線源ががん細胞又は腫瘤に近接して体内に配置される。また、ヘマトポルフィリン及びその誘導体、ベルトポルフィン(Vertoporfin)(BPD-MA)、フタロシアニン、光増感剤Pc4、デメトキシ-ヒポクレリンA；及び2BA-2-DMHA、等の光増感剤の投与を含む光線力学療法の使用も包含される。

【０３５１】

別の実施形態では、ホルモン療法が使用される。ホルモン治療的処置は、例えば、ホルモン・アゴニスト、ホルモン・アンタゴニスト(例えば、フルタミド、ビカルタミド、タモキシフェン、ラロキシフェン、ロイプロリド酢酸塩(LUPRON)、LH-RHアンタゴニスト)、ホルモンの生合成及びプロセシングの阻害剤、並びにステロイド（例えば、デキサメタゾン、レチノイド、デルトイド、ベタメタゾン、コルチゾール、コルチゾン、プレドニゾン、デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、ミネラルコルチコイド、エストロゲン、テストステロン、プロゲスチン）、ビタミンA誘導体（例えば、オール-トランス・レチノイン酸(all-trans retinoic acid (ATRA))）；ビタミンD3類似体；抗ゲスターゲン(例えば、ミフェプリストン、オナプリストン)、又は抗アンドロゲン（例えば、

シプロテロン酢酸塩）、を含むことがある。

【０３５２】

1つの態様では、HA-1抗原を発現する細胞に対する免疫応答を、対象において、誘発する方法を、本出願は提供する。いくつかの実施形態では、前記方法は、本出願に記載される医薬組成物を、前記対象に投与するステップを含む、ここで、前記医薬組成物は、前記対象に投与されると、HA-1抗原を発現する細胞に対する免疫応答を、誘発する。

【０３５３】

いくつかの実施形態では、前記免疫応答としては、細胞-媒介性の免疫応答を、挙げることができる。細胞性免疫応答は、T細胞を含む応答である、及びin vitro、ex vivo、又はin vivoで、測定されることがある。例えば、全般的な細胞性免疫応答を、医薬組成物の投与後の好適な時に、前記対象からサンプリングした細胞（例えば、末梢血リンパ球(peripheral blood leukocyte (PBL))）における、T細胞増殖活性として測定されることがある。例えば、PBMCを刺激剤と共に適切な時間インキュベートした後、[^{3}H]チミジン取り込みを測定することがある。増殖しているT細胞のサブセットを、フロー・サイトメトリーを用いて、決定することができる。

【０３５４】

本発明によって包含される別の態様では、本出願で提供される方法は、上記のように、ヒトの及び非-ヒトの哺乳動物の両方に、処方するステップを含む。獣医学的用途も企図される。いくつかの実施形態では、前記対象は、免疫応答が誘発され得る、任意の生命体であることがある。

【０３５５】

いくつかの実施形態では、前記医薬を、適切な任意の時点で投与することができる。例えば、前記投与するステップを、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を有する対象の、治療前に又は治療過程に、実施することがある、及び、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を臨床的に検出できなくなった後に、継続することがある。前記投与するステップをまた、再発の徴候を示す対象において、継続することもある。

【０３５６】

いくつかの実施形態では、前記医薬組成物を、治療的に又は予防的に有効な量で、投与することがある。前記医薬組成物を前記対象に投与するステップを、既知の手順を用いて、並びに所望の効果を達成するのに十分な、用量及び期間、で行うことがある。

【０３５７】

いくつかの実施形態では、前記医薬組成物を、任意の好適な部位で、前記対象に投与することがある。投与を、当技術分野において一般的に知られている方法を用いて、実施することがある。細胞を含む薬剤を、直接注入によって、又は当技術分野で使用される任意の他の方法（例えば、限定されるものではないが、血管内、大脳内(intracerebral)、非経口、腹腔内、静脈内、硬膜外、髄腔内(intraspinal)、胸骨内、関節内、滑膜内、くも膜下腔(intrathecal)、動脈内、心臓内、又は筋肉内、の投与等）によって、所望の部位に導入することができる。例えば、関心とする対象の対象は、様々な経路によって移植された細胞が生着することがある。そのような経路としては、限定されるものではないが、静脈内投与、皮下投与、特定の組織への投与（例えば、病巣への移植）、大腿骨骨髄腔の中への注射投与、脾臓への注射投与、胎児肝臓の腎被膜下への投与（administration under the renal capsule of fetal liver）、等、が挙げられる。ある特定の実施形態では、本発明によって包含されるがんワクチンを、腫瘍内に又は皮下に、前記対象に、注射投与することがある。細胞を、1回の点滴によって、又は所望の効果を生じさせるのに充分な、規定した時間期間をかけた連続的な点滴によって、投与することがある。移植、生着評価、及び移植された細胞のマーカー表現型解析、のための例示的な方法は、当技術分野において既知である（例えば、Pearson et al. (2008) Curr. Protoc. Immunol. 81:15.21.1-15.21.21; Ito et al. (2002) Blood 100:3175-3182; Traggiai et al. (2004) Science 304:104-107; Ishikawa et al. Blood (200

5) 106:1565-1573; Shultz et al. (2005) J. Immunol. 174:6477-6489; and Holyoake et al. (1999) Exp. Hematol. 27:1418-1427、を参照）。いくつかの実施形態では、前記用量を、所望の応答を引き起こすのに有効な、量で及び時間の期間で、投与することがある、それは、前記免疫応答を誘発することがある、又は、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、若しくは過剰増殖性障害の再発、及び／又はそれらに関連した症状（symptom）、の予防的な若しくは治療的な処置、であることがある。

【０３５８】

前記薬学的組成物を、前記対象において免疫応答も誘発する療法を含む、他の療法に、続いて、先行して、又は同時に、与えることがある。例えば、前記対象は、他の形態の免疫調節薬剤によって、以前に又は同時に治療されてもよく、そのような他の治療は、本出願に記載される組成物の免疫原性を妨害しないような方法で提供されることがある。

【０３５９】

投与を、介護者（例えば、医師、獣医師）には、適切に計時することがある、並びに前記対象の臨床症状、投与の目的、及び／又は企図又は投与される他の療法、に依存することがある。いくつかの実施形態では、初回投与量を投与し、前記対象を、免疫学的な及び／又は臨床的な応答について、モニタリングすることがある。免疫学的モニタリングの好適な方法としては、応答者としての患者の末梢血リンパ球(PBL)の使用、及び刺激剤としての本出願に記載される免疫原性ペプチド又はペプチド-MHC複合体の使用、が挙げられる。免疫学的応答をまた、投与部位での遅延性の炎症反応によって、測定することもある。初回用量に続く1回以上の用量を、所望の効果が達成されるまで、必要に応じて、典型的には毎月、半毎月、又は毎週、投与することがある。その後、必要に応じて、特に、免疫学的な又は臨床的な利益が鎮静すると思われる場合には、更なる、ブースター用量又は維持用量、を投与することがある。

【０３６０】

概して、適切な投薬量及び治療レジメンは、利益を提供するのに十分な量の、活性分子又は細胞、を提供する。そのような応答を、治療した対象において、非-治療の対象と比較して、改善された臨床アウトカム（例えば、より頻繁な寛解、完全な若しくは部分的な、又はより長い無病生存）を確立することによって、モニタリングすることがある。ウイルス・タンパク質に対する既存の免疫応答の増大は、一般に、改善された臨床アウトカムと相関する。そのような免疫応答を、ルーチンである、標準的な、増殖アッセイ、細胞傷害アッセイ又はサイトカイン・アッセイ、を用いて、一般的に、評価することがある。

【０３６１】

予防的使用の場合、用量は、疾患又は障害に関連する、疾患の発症を、予防する、遅延させる、又は疾患の重症度を減少させる、のに充分であるべきである。本出願に記載される方法に従って投与される免疫原性組成物に関する予防的利益を、前-臨床(例えば、in vitro、ex vivo、及びin vivo、の動物研究、等)及び臨床研究を実施し、そこから得られたデータを、適切な、統計的、生物学的、及び臨床的、方法及び技術、によって解析することによって、測定することができる。これらのすべてを、当業者は、容易に実施することができる。

【０３６２】

本出願で使用する場合、組成物の投与は、それを、送達の経路又は様式にかかわらず、対象に送達すること、を指す。投与を、連続的に又は断続的に、及び非経口的に、行うことがある。投与は、認識された症状、疾患若しくは疾患状態を有するとすでに確認された対象を治療するため、又はそのような症状、疾患若しくは疾患状態、に対して感受性であるか、若しくはを発症するリスクがある、対象を治療するため、であることがある。補助療法との同時-処方としては、任意の順序で、及び任意の投薬スケジュールで、複数の薬剤を、同時に及び／又は連続的に、送達すること（例えば、操作した免疫細胞と1種以上のサイトカイン；カルシニューリン阻害剤、コルチコステロイド、微小管阻害剤、低用量のミコフェノール酸プロドラッグ、又はそれらの任意の組み合わせ、等の免疫抑制療法）

、が挙げられる。

【０３６３】

いくつかの実施形態では、本出願に記載される宿主細胞（例えば、操作した免疫細胞）の複数の用量を、前記対象に投与する、それを、約2週間から約4週間までの投与の間の間隔で、投与することがある。

【０３６４】

本発明によって包含される、治療方法又は予防方法は、治療コース又は治療レジメンの一部として、対象に処方することがある、それは、本開示の単位用量、細胞、又は組成物の投与の、前に又は後に、追加的な治療を含むことがある。例えば、いくつかの実施形態では、宿主細胞（例えば、操作した免疫細胞）の単位用量を受ける対象は、造血細胞移植（ＨＣＴ；例えば、骨髄破壊的ＨＣＴ及び非-骨髄破壊的ＨＣＴ、等）を受けているか、又は以前に受けたことがある。前述の実施形態の何れかでは、ＨＣＴにおいて使用される造血細胞は、ＭＨＣ、抗原、及び結合タンパク質、より選択されるポリペプチド産物をコードする1つ以上の内因性遺伝子の発現を、低減させる又は除去する、ように（例えば、本出願に記載される方法による、染色体遺伝子ノックアウトによって）改変した「ユニバーサル・ドナー(donor)」細胞、であることがある。

【０３６５】

細胞移植を実施するための、技術及びレジメン、は、当技術分野において既知である、及び任意の好適なドナー(donor)細胞（例えば、臍帯血、骨髄、又は末梢血に由来する細胞、造血幹細胞、動員した幹細胞、又は羊膜流体由来の細胞、等）の移植を含むことがある。従って、いくつかの実施形態では、本発明によって包含される宿主細胞（例えば、操作した免疫細胞）を、幹細胞療法と一緒に、又はその直後に、投与することがある。

【０３６６】

本発明によって包含される方法は、いくつかの実施形態では、併用療法において、疾患又は障害（ＨＡ-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発）を治療するための、1つ以上の追加的な薬剤を投与するステップを、更に含むことがある。例えば、いくつかの実施形態では、併用療法は、抗ウイルス薬剤と一緒に（同時に(concurrently)、同時に(simultaneously)、又は連続して）、本発明によって包含される、宿主細胞又は結合タンパク質、を投与するステップを含む。いくつかの実施形態では、併用療法は、ロピナビル／リトナビル、クロロキン、リバビリン、ステロイド薬、ヒドロキシクロロキン、及び／又はインターフェロンα、と一緒に、本発明によって包含される、宿主細胞又は結合タンパク質、を投与するステップを含む。いくつかの実施形態では、併用療法は、二次的な療法（例えば、外科手術、抗体、ワクチン、又はそれらの任意の組み合わせ、等）と一緒に、本発明によって包含される、宿主細胞、組成物、又は前記宿主細胞の単位用量、を投与するステップを含む。

【０３６７】

いくつかの実施形態では、前記対象は、ヒト（例えば、ＨＡ-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を有するヒト等）である。いくつかの実施形態では、前記対象は、げっ歯類（例えば、マウス等）である。いくつかのそのような実施形態では、前記マウスは、トランスジェニック・マウス（例えば、ヒトＭＨＣ(即ち、ＨＬＡ)分子［例えば、ＨＬＡ-Ａ2（例えば、Nicholson et al. (2012) Adv. Hematol. 2012:404081）等］を発現するマウス等）である。

【０３６８】

いくつかの実施形態では、前記対象は、ヒトＴＣＲを発現するトランスジェニック・マウスである、又は抗原ネガティブ・マウスである（Li et al. (2010) Nat. Med. 16: 1029-1034 及びObenaus et al. (2015) Nat. Biotechnol. 33:402-407）。いくつかの実施形態では、前記対象は、ヒトＨＬＡ分子及びヒトＴＣＲ、を発現するトランスジェニック・マウスである。

【０３６９】

いくつかの実施形態では、例えば、前記対象が、トランスジェニックＨＬＡマウスであ

る場合、その同定されたTCRは、例えば、キメラ又はヒト化、であるように改変される。いくつかの実施形態では、そのTCRスキャフォールドは、例えば、既知の結合タンパク質ヒト化方法に類似するように、改変される。

【０３７０】

c. スクリーニング方法

本発明によって包含される別の態様は、スクリーニング・アッセイを包含する。

【０３７１】

本発明は、HA-1又はその抗原、に結合するか、又はその活性を調節する、試験タンパク質等の薬剤をスクリーニングするためのアッセイを包含する。そのような薬剤としては、限定されるものではないが、抗体、タンパク質、融合タンパク質、低分子、及び核酸、が挙げられる。いくつかの実施形態では、免疫応答を調節する薬剤を同定するための方法は、HA-1活性を調節し、更に関心とする免疫応答を調節する（例えば、調節された細胞傷害性T細胞の活性化、及び／又は活性、免疫チェックポイント療法に対するがん細胞の感受性、等）候補薬剤の作用能を測定するステップ、を伴う。

【０３７２】

いくつかの実施形態では、アッセイは、無細胞の、又は細胞に基づく、アッセイである、ここで、前記アッセイは、ターゲットを試験薬剤と接触させるステップ、並びに前記ターゲットの、量及び／又は活性、を調節する(例えば、上方制御する又は下方制御する)という、前記試験薬剤の作用能を、例えば、以下に記載するように、直接的パラメーター又は間接的パラメーター、を測定すること等によって、測定するステップ、を含む。

【０３７３】

いくつかの実施形態では、アッセイは、細胞に基づくアッセイである、例えば、前記アッセイは、(a)関心とする細胞を試験薬剤と接触させるステップ、並びに前記ターゲットの、量及び／又は活性、を調節するという、前記試験薬剤の作用能（例えば、結合特性等）を、測定するステップ、を含む。前記ポリペプチドが、互いに、結合する、又は相互作用する、という作用能を決定するステップを、例えば、直接結合を測定することによって、又は免疫細胞の、活性化若しくは機能、のパラメーターを測定することによって、実施することがある。

【０３７４】

別の実施形態では、アッセイは、細胞に基づくアッセイである、ここで、前記アッセイは、がん細胞等の細胞を、免疫細胞（例えば、細胞傷害性T細胞）及び試験薬剤、と接触させるステップ、並びに前記ターゲットの、量及び／又は活性、を調節するという、前記試験薬剤の作用能を、例えば、以下に記載するように、直接的パラメーター又は間接的パラメーター、を測定すること等によって、測定するステップ、を含む。

【０３７５】

上記及び本出願に記載される方法をまた採用して、本出願に記載される1種以上のバイオマーカーの、量及び／若しくは活性、を調節することが既に知られている、1種以上の薬剤を試験することがある、並びに／又は所望の表現型の読み出しに対する薬剤の作用（例えば、調節された免疫応答、免疫チェックポイント遮断に対する感受性、等）を確認することがある。

【０３７６】

いくつかの実施形態では、所与のポリペプチドセット間の相互作用を調節するという試験薬剤（例えば、抗体、融合タンパク質、ペプチド、又は低分子）の作用能を測定するステップは、ポリペプチドのセットの1つ以上のメンバーの活性を測定することによって、行うことがある。例えば、タンパク質の活性、及び／又は1つ以上の結合パートナーの活性、を、細胞セカンド・メッセンジャー（例えば、細胞内シグナル伝達）の誘導を検出することによって、適切な基質の触媒活性／酵素活性を検出することによって、レポーター遺伝子（検出可能なマーカー、例えば、クロラムフェニコール・アセチル・トランスフェラーゼ、をコードする核酸に作動可能に連結したターゲット-応答性の調節エレメントを含む）の誘導を検出することによって、又は前記タンパク質及び／若しくは1つ以上の結

合パートナーによって調節される細胞応答を検出することによって、測定することがある。前記ポリペプチド、に結合する、又はと相互作用する、という前記試験薬剤の作用能を測定するステップを、例えば、増殖アッセイにおいて、免疫細胞の、共刺激又は抑制、を調節するという、化合物の作用能、を測定することによって、又は前記ポリペプチドの一部を認識する抗体に結合するという、前記ポリペプチドの作用能、を妨害することによって、行うことがある。

【０３７７】

ターゲットの、量及び／又は活性（例えば、１種以上の結合相手との相互作用等）を調節する薬剤を、in vitroアッセイに添加した場合に、免疫細胞の増殖、及び／若しくはエフェクター機能、を阻害するという薬剤の作用能によって、又はアネルギー、クローン欠失、及び／若しくは疲弊、を誘導するという薬剤の作用能によって、同定することがある。例えば、細胞を、活性化レセプターを介してシグナル伝達を刺激する薬剤の存在下で、培養することがある。細胞活性化に関する、多くの認識された読み出しを用いて、前記薬剤の存在下で、細胞増殖又はエフェクター機能（例えば、抗体産生、サイトカイン産生、ファゴサイトーシス）を測定することがある。この活性化を遮断するという試験薬剤の作用能を、当該技術分野において既知の技術を用いて、測定される増殖又はエフェクター機能が低下するという前記薬剤の作用能を測定することによって、容易に測定することがある。

【０３７８】

例えば、本発明によって包含される薬剤は、Freeman et al. (2000) J. Exp. Med. 192:1027 及び Latchman et al. (2001) Nat. Immunol. 2:261に記載されるように、T細胞アッセイにおいて、共刺激を阻害するという、又は増強するという作用能について試験をすることがある。CD4+ T細胞を、ヒトPBMCから単離し、活性化抗-CD3抗体で刺激することがある。T細胞の増殖を、^{3}Hチミジン取り込みによって、測定することがある。アッセイは、アッセイにおいてCD28共-刺激を伴って、又は伴わずに実施され得る。同様のアッセイを、Jurkat T細胞及びPBMC由来のPHA-芽球を用いて、実施することがある。

【０３７９】

或いは、本発明によって包含される薬剤を、細胞でのサイトカイン産生を変調する作用能について、試験をすることがある（このサイトカインは、１種以上のバイオマーカーの変調によって産生する、又はこのサイトカインの産生は、１種以上のバイオマーカーの変調に応じて、増強する、若しくは阻害を受ける）。（例えば、本実施例のセクションに記載されているように）関心とする免疫細胞によって放出されて表れるサイトカインを、ELISAによって、又は抗体（この抗体は、前記サイトカインを遮断し、前記サイトカインによって誘導される、免疫細胞の増殖、若しくは他の細胞型の増殖、を阻害する）の作用能によって、同定することがある。in vitro免疫細胞共刺激アッセイを、１種以上のバイオマーカーの変調によって変調を受けることがあるサイトカインを同定するための方法において、使用することもある。例えば、共刺激時に誘導される特定の活性（例えば、免疫細胞増殖）を、既知のサイトカインに対する遮断抗体の添加によって、阻害することができない場合、前記活性は、未知のサイトカインの作用から生じることがある。共刺激後、このサイトカインを、従来の方法によって、媒体から精製することがある、及びその活性を、免疫細胞増殖を誘導するというその作用能によって、測定することがある。トレランスの誘導において役割を果たすことがあるサイトカインを同定するために、上記のin vitro T細胞共刺激アッセイを使用することがある。このケースでは、T細胞は、一次活性化シグナルが与えられる、及び選択したサイトカインに接触させる、しかし、共刺激シグナルは与えられない。前記免疫細胞を洗って一旦置いた後、前記細胞を、一次活性化シグナル及び共刺激シグナルの両方で、再刺激する。前記免疫細胞が応答（例えば、増殖する又はサイトカインを産生する）をしない場合、それらはトレランス状態になっている、及び前記サイトカインによって、トレランスの誘導が阻まられてはいない。しかしながら、前記免疫細胞が応答する場合、トレランスの誘導は、前記サイトカインによって阻まれて

いる。トレランスの誘導を阻むことができるこれらのサイトカインを、移植レシピエント(recipient)又は自己免疫疾患を有する対象において、より効率的にトレランスを誘導する方法として、Bリンパ球抗原を遮断する試薬と組み合わせて、in vivoでの遮断のターゲットとすることができる。

【０３８０】

いくつかの実施形態では、本発明によって包含されるアッセイは、バイオマーカー及び／又は1つ以上の結合パートナー間の相互作用を調節する薬剤をスクリーニングするための無細胞アッセイである、ここで、前記アッセイは、ポリペプチド、及び1つ以上の天然の結合パートナー、又はそれらの生物学的な活性部分を、試験薬剤と接触させるステップ、並びに前記ポリペプチド、及び1つ以上の天然の結合パートナー、又はそれらの生物学的な活性部分との間の相互作用を調節する試験化合物の作用能を測定するステップ、を含む。試験化合物の結合を、上記のように、直接的に又は間接的に、の何れかで測定することがある。1つの実施形態では、前記アッセイは、アッセイ混合物を形成するために、前記ポリペプチド、又はその生物学的な活性部分を、その結合パートナーと接触させるステップ、前記アッセイ混合物を試験化合物と接触させるステップ、及び前記アッセイ混合物中のポリペプチドと相互作用するという前記試験薬剤の作用能を測定するステップ、を含む、ここで、前記ポリペプチドと相互作用するという前記試験薬剤の作用能を測定するステップは、前記ポリペプチド又はその生物学的な活性部分に、前記結合パートナーと比較して、選択的に結合するという前記試験薬剤の作用能を測定するステップ、を含む。

【０３８１】

いくつかの実施形態では、細胞に基づくアッセイ又は無細胞のアッセイのいずれについても、試験薬剤を更にアッセイして、前記ポリペプチドと1つ以上の結合パートナーとの間の、他の結合パートナーとの、結合及び／又は相互作用の活性、に影響を及ぼすかどうかを測定することがある。他の有用な結合解析方法としては、リアルタイム生体分子相互作用解析(Biomolecular Interaction Analysis (BIA))の使用が挙げられる(Sjolander and Urbaniczky (1991) Anal. Chem. 63:2338-2345 and Szabo et al. (1995) Curr. Opin. Struct. Biol. 5:699-705)。本出願で使用する場合、「BIA」は、任意の相互作用物質を標識することなく、生体特異的な相互作用をリアルタイムで研究するための技術である(例えば、Biacore(登録商標))。表面プラズモン共鳴(surface plasmon resonance (SPR))の光学現象における変化を、生物学的ポリペプチド間のリアルタイム反応の指標として、使用することがある。関心とするポリペプチドを、Biacore(登録商標)チップ上に固定化し、多数の薬剤（遮断抗体、融合タンパク質、ペプチド、又は低分子）を、関心とするポリペプチドへの結合について、試験することがある。BIA技術を使用する例は、Fitz et al. (1997) Oncogene 15:613に記載されている。

【０３８２】

本発明によって包含される無細胞のアッセイは、タンパク質の、可溶型及び／又は膜結合型、の両方の使用に適している。膜結合型タンパク質が使用される無細胞のアッセイでは、前記タンパク質の膜結合型が溶解状態に維持されるように、可溶化薬剤を利用することが望ましい。そのような可溶化薬剤の例としては、非-イオン性界面活性剤（例えば、n-オクチルグルコシド、n-ドデシルグルコシド、n-ドデシルマルトシド、オクタノイル-N-メチルグルカミド、デカノイル-N-メチルグルカミド、Triton(登録商標)X-100、Triton(登録商標)X-114、Thesit(登録商標)、イソトリデシルポリ(エチレン・グリコール・エーテル)$_n$、3-((3-コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ)-1-プロパン・スルホナート(CHAPS)、3-[(3-コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-2-ヒドロキシ-1-プロパン・スルホナート(CHAPSO)、又はN-ドデシル=N,N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパン・スルホナート、等）が挙げられる。

【０３８３】

上記のアッセイ方法の1つ以上の実施形態では、何れかのポリペプチドを固定化して、タンパク質の一方又は両方に関して、複合体化されていない形態から複合体化されている形態の分離を容易にすること、並びに前記アッセイの自動化に適応させること、が望まし

いことがある。試験化合物のポリペプチドへの結合は、その反応物を含有するのに適した任意の容器中で行うことがある。そのような容器の例としては、マイクロタイター・プレート、試験チューブ、及びマイクロ遠心分離チューブ、が挙げられる。1つの実施形態では、タンパク質の一方又は両方がマトリクスに結合することを可能にするドメインを加える融合タンパク質が提供されることがある。例えば、グルタチオン-S-トランスフェラーゼをベースとしたポリペプチド融合タンパク質、又はグルタチオン-S-トランスフェラーゼ／ターゲット融合タンパク質を、グルタチオン・セファロース・ビーズ(Sigma Chemical, St. Louis, MO)又はグルタチオン誘導体化したマイクロタイター・プレート上に吸着させることがある、次いで、これらを前記試験化合物と合わせ、その混合物を、複合体形成が促進される条件下で（例えば、塩及びpHについて、生理学的な条件）、インキュベートする。インキュベート後、前
記ビーズ又はマイクロタイター・プレートのウェルを洗浄して、あらゆる結合していない構成要素を除去し、ビーズの場合では、そのマトリックスを固定化し、複合体を。例えば上記のように、直接的に又は間接的に、測定する。或いは、前記複合体を、前記マトリックスから解離させ、ポリペプチド結合又は活性のレベルを、標準的な技術を用いて、測定することができる。

【０３８４】

本発明は更に、上記のスクリーニング・アッセイによって同定される新規薬剤に関する。従って、本出願に記載されるように同定した薬剤を、適切なモデル・システムにおいて、更に使用することは、本発明の範囲内である。例えば、本出願に記載されるように同定した薬剤をモデル・システムで使用して、そのような薬剤を使った治療に関する、有効性、毒性、又は副作用、を決定することがある。或いは、本出願に記載されるように同定した薬剤を使用して、そのような薬剤の作用機序を決定することがある。更に、本発明は、本出願に記載される治療のための、上記スクリーニング・アッセイによって同定した新規薬剤の使用、に関する。

【０３８５】

d. 臨床試験中での効果のモニタリング

免疫応答性（例えば、T細胞の応答性［例えば、結合の存在及び／又はT細胞活性化及び／又はエフェクター機能］等）に対する、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の療法（例えば、化合物、薬物、ワクチン、細胞療法、等）の影響をモニタリングすることを、基本的な候補HA-1抗原結合分子のスクリーニングにおいてだけでなく、臨床試験においても、適用することがある。例えば、HA-1抗原を発現する関心とする細胞（例えば、過剰増殖性細胞等）に対する免疫応答性（例えば、T細胞の免疫応答性）を増大させるという、本出願に記載される、結合タンパク質及び関連する組成物（例えば、核酸、宿主細胞、医薬製剤、等）の効果を、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に罹患している対象に関する、臨床試験において、モニタリングすることがある。そのような臨床試験では、結合の存在及び／又はT細胞活性化及び／又はエフェクター機能（例えば、T細胞増殖、傷害、及び／又はサイトカイン放出）を、特定の細胞、組織、又はシステムの表現型に関する、「読み出し」又はマーカー、として使用することがある。同様に、HA-1抗原を発現する関心とする細胞（例えば、過剰増殖性細胞等）に対する免疫応答性を増大させるという、本出願に記載される結合タンパク質（例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、CAR、又はTCR及びエフェクター・ドメインを含む融合タンパク質）を発現するように操作したT細胞を用いた適応性T細胞療法（adaptive T cell therapy）の効果を、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を有する対象に関する、臨床試験において、モニタリングすることがある。

【０３８６】

そのような臨床試験では、結合の存在及び／又はT細胞活性化及び／又はエフェクター機能（例えば、T細胞増殖、傷害、及び／又はサイトカイン放出）を、特定の細胞、組織

、又はシステムの表現型に関する、「読み出し」又はマーカー、として使用することがある。

【０３８７】

例えば、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の療法の処方を増加させることは、前記対象から得られるサンプルと、1つ以上の結合タンパク質又は関連組成物との間の応答性の、存在又はレベル、を増大させるために（例えば、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の療法の効果を増大させるために）、望ましいことがある。そのような実施形態によれば、前記対象から得られるサンプルと、1つ以上の結合タンパク質又は関連組成物との間の応答性の、存在又はレベル、を、表現型応答が観察できない場合であっても、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の療法の効果の指標として、使用することがある。同様に、前記対象から得られるサンプルと、1つ以上の結合タンパク質又は関連組成物との間の応答性の、存在を又はレベルを、（例えば、直接結合アッセイ、蛍光活性化細胞選別(fluorescence activated cell sorting)(FACS)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、放射免疫アッセイ(RIA)、免疫化学的、ウェスタン・ブロット、又は細胞内フロー・アッセイ、等によって）解析することを使用して、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の療法を受けるであろう患者を選択することがある。

【０３８８】

例えば、直接結合アッセイでは、免疫原性ペプチド又は抗原ペプチド-MHC(pMHC)複合体を、放射性同位体標識又は酵素標識、とカップリングさせて、その結果、その標識した、免疫原性ペプチド又はpMHC複合体、を検出することによって、結合を測定することがある。例えば、免疫原性ペプチド又はpMHC複合体を、^{125}I、^{35}S、^{14}C、又は^{3}Hで、直接的に又は間接的に、標識することがある、及び前記放射性同位体を、放射放出の直接計数によって、又はシンチレーション計数によって、検出することがある。或いは、前記免疫原性ペプチド又はpMHC複合体を、例えば、西洋ワサビ・ペルオキシダーゼ、アルカリ・ホスファターゼ、又はルシフェラーゼで、酵素的に標識することがある、及びその酵素標識を、適切な基質から生成物への変換を測定することによって、検出することがある。免疫原性ペプチド又はpHC複合体と、免疫細胞（例えば、T細胞及び／又はNK細胞、等）との間の相互作用、を測定することを、標準的な結合アッセイ又は酵素解析アッセイを用いて、行うこともある。上記アッセイ方法の1つ以上の実施形態では、前記アッセイの自動化に適応するために、免疫原性ペプチド又はpMHC複合体を固定化することが望ましいことがある。

【０３８９】

任意の相互作用物質を標識することなく、関心とするパラメーターを調節する薬剤の作用能を測定することも、本発明の範囲内である。例えば、マイクロフィジオメーターを使用して、モニタリングするべきポリペプチドを標識することなく、ポリペプチド間の相互作用を検出することができる（McConnell et al. (1992) Science 257:1906-1912）。本出願で使用する場合、「マイクロフィジオメーター」(例えば、Cytosensor(登録商標))は、光アドレス可能電位差センサー(light-addressable potentiometric sensor (LAPS))を使用して、細胞がその周囲を酸性化する速度を測定する、分析機器である。この酸性化速度の変化を、化合物とレセプターとの間の相互作用の指標として、使用することがある。

【０３９０】

免疫細胞（例えばT細胞及び／又はNK細胞、等）に対する、免疫原性ペプチド又はpMHC複合体の結合は、その反応物を収容するのに適した任意の容器中で、行うことがある。そのような容器の非-限定的な例としては、マイクロタイター・プレート、試験チューブ、及びマイクロ遠心分離チューブ、が挙げられる。免疫原性ペプチド又はpMHC複合体の固定化形態としては、孔性、ミクロ孔性（平均の孔直径が約1ミクロン未満)又はマ

クロ孔性（平均の孔直径が約10ミクロンを超える）材料のような、固相（例えば、膜、セルロース、ニトロセルロース、若しくはガラス繊維、等；ビーズ、例えば、アガロース、若しくはポリアクリルアミド、若しくはラテックスでできているビーズ等；又は、例えば、ポリスチレンでできている、ディッシュ、プレート、若しくはウェル、の表面、等）に結合した免疫原性ペプチド又はpMHC複合体

【０３９１】

いくつかの実施形態では、本出願に記載される、1つ以上の結合タンパク質又は1つ以上の宿主細胞、に対する、対象から得られるサンプルの応答性を、結合の存在、及び／又はT細胞活性化、及び／又はエフェクター機能、を検出することによって、測定することがある。用語「T細胞活性化」とは、増殖、分化、サイトカイン分泌、細胞傷害性エフェクター分子の放出、細胞傷害活性、及び活性化マーカーの発現から、選択されるTリンパ球を指し、特に細胞傷害性Tリンパ球の1種以上の細胞応答性を指す。

【０３９２】

サイトカイン産生及び／又は放出を、当技術分野で既知の方法（例えば、ELISA、酵素結合免疫吸収性スポット(enzyme-linked immune absorbent spot (ELISPOT))、Luminex(登録商標)アッセイ、細胞内サイトカイン染色、及びフロー・サイトメトリー、並びにそれらの組み合わせ（例えば、細胞内サイトカイン染色とフロー・サイトメトリー））によって、測定することがある。それを、実施する方法に従って、測定することがある。

【０３９３】

本出願で使用される、用語「サイトカイン」とは、生物学的な又は細胞的な、機能又はプロセス（例えば、免疫、炎症、及び造血）を、媒介する及び／又は調節する、分子を指す。本出願で使用される、用語「サイトカイン」としては、「リンホカイン」、「ケモカイン」、「モノカイン」、及び「インターロイキン」、が挙げられる。有用なサイトカインの例は、GM-CSF, IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IFN-α, IFN-β, IFN-γ, MIP-1α, MIP-1β, TGF-β, TNF-α, 及び TNF-β、である。

【０３９４】

抗原-特異的な免疫応答の誘導又は刺激から生じる、T細胞の、増殖及びクローン増殖を、例えば、トリチウム化チミジン・アッセイ又はMTTアッセイ等の非-放射性アッセイの取り込みを介して、測定することがある。

【０３９５】

CTL活性を測定するための細胞毒性アッセイを、当技術分野においてルーチンに実施されている、いくつかの技術及び方法のうちの、何れか1つを用いて、実施することがある（例えば、Henkart et al. (2003) Fund. Immunol. 1127-1150）。抗原-特異的なT細胞応答性を測定するための方法に関する更なる記載を、例えば、米国特許第10,208,086号及び米国特許出願公開第2017/0209573号、において、.見出すことができる。

【０３９６】

e. 予測医療

本発明はまた、予測医療の分野に関する。前記予測医療では、診断アッセイ、予後予測アッセイ、及び臨床試験のモニタリングを、予後予測(prognostic) [予測(predictive)] 目的のために使用し、それによって個体を予防的に治療する。

従って、本発明が包含する1つの態様は、生物学的サンプル（例えば、血液、血清、細胞、又は組織）の中の、HA-1の存在、非存在、量、及び／若しくは活性レベル、又はHA-1に対する応答性、を測定するための（例えば、検出するための）診断アッセイを、包含する。それによって、HA-1の発現を特徴とする障害に罹患した個体が、療法に応答する可能性が高いかどうか、元の状態にあるかどうか、又は再発であるかどうか、を決定する。そのようなアッセイを、予後予測目的又は予測目的のために使用し、それによって、HA-1の発現を特徴とする障害の、発症前又は再発後に、個体を予防的に治療することがあ

る。

【０３９７】

本出願に記載される診断方法を更に利用して、HA-1の発現に、又はHA-1の発現の欠損に、関連する障害を、有する、又は発症するリスクがある、対象を同定することがある。本出願で使用する場合、用語「異常である」としては、HA-1に関して、正常レベルからの、上方制御又は下方制御、が挙げられる。異常な、発現又は活性としては、発現又は活性が、増加すること又は減少すること、並びに、発現の正常な発生パターン又は発現の細胞内パターン、に従わない、発現又は活性、が挙げられる。例えば、異常なレベルには、バイオマーカー遺伝子若しくは調節配列における変異、又はその染色体遺伝子の増幅が、関心とするバイオマーカーの上方制御又は下方制御を引き起こす場合、が含まれることが意図される。本出願で使用する場合、用語「望ましくない」としては、免疫細胞活性等の生物学的応答性に関与する望ましくない現象、が挙げられる。

【０３９８】

本出願に記載されるアッセイ、例えば、前診断アッセイ（preceding diagnostic assay）又は後アッセイ（following assay）等、を利用して、HA-1の誤調節に関連する障害を、有する、又は発症するリスクがある、対象を同定することがある。従って、本発明は、異常な、又は望ましくない、、HA-1の調節に、関連する障害を同定するための方法（前記方法では、試験サンプルが対象から得られる、及びHA-1の発現が検出される）を提供する、ここで、HA-1の発現の存在は、異常な、又は望ましくない、HA-1の発現に、関連する障害を有する、又は発症するリスクがある、対象にとって診断となる。本出願で使用する場合、「試験サンプル」とは、関心とする対象から得られる生物学的サンプルを指す。例えば、試験サンプルは、生物学的流体（例えば、脳脊髄液又は血清）、細胞サンプル、又は組織、例えば、腫瘍環境、腫瘍周囲領域、及び／又は腫瘍内領域の、組織病理学的スライド、であることがある。

【０３９９】

更に、本出願に記載される予後予測アッセイを用いて、異常な、又は望ましくない、HA-1の発現に、関連するそのような障害を治療するために、対象に、本出願に記載される薬剤物を投与できるかどうかを決定することがある。例えば、そのような方法を使用して、薬剤に関して、単独で又は組み合わせで、対象を効果的に治療され得るかどうかを決定することがある。従って、本発明は、対象が、異常な、又は望ましくない、HA-1の発現に、関連する障害を治療するために、本出願に記載される1種以上の薬剤で、効果的に治療され得るかどうかを決定するための方法、を提供する。

【０４００】

例えば、本出願に記載される少なくとも1種の抗体試薬を含む、予め包装された診断用キットを利用することによって、本出願に記載される方法を実施することがある。これは、例えば、関心とするバイオマーカーが関与する、疾患又は疾病の、症状(symptom)又は家族歴を、示す患者を診断するための臨床状況において、使用するのに便利であることがある。

【０４０１】

更に、関心とするバイオマーカーが発現する、任意の細胞型又は組織を、本出願に記載される予後予測アッセイにおいて、利用することがある。

【０４０２】

加えて、本出願に記載される予後予測方法を使用して、HA-1の発現を特徴とする障害を治療するための治療薬剤を、対意に投与され得るかどうかを決定することがある。

【０４０３】

f. 臨床的有効性

臨床的有効性を、当技術分野で既知の任意の方法によって、測定することができる。例えば、療法に対する応答性は、前記療法に対する、HA-1の発現を特徴とする障害（例えば、腫瘍）の任意の応答性に関する。好ましくは、ネオアジュバント化学療法を又はアジュバント化学療法を開始した後等、がん細胞、腫瘍塊、及び／又は腫瘍体積、の変化に関

する。腫瘍応答性を、ネオアジュバント化学療法において、又はアジュバント化学療法において、評価することがある、ここで、CT、PET、マンモグラム、超音波又は触診、によって測定する場合、全身的な介入の後の腫瘍のサイズを、初期サイズ及び寸法と比較することがある、並びに腫瘍の細胞性を、組織学的に推定することがある、及び治療を開始する前に採取した腫瘍生検の細胞性と、比較することがある、応答性を、生検後の又は外科的切除後の腫瘍を、キャリパー測定することによって、又は病理学的検査をすることによって、評価することもある。応答性を、定量的な様式（例えば、腫瘍体積の又は細胞性の、変化率等）で、又は半定量的なスコアリング・システム（scoring system）（例えば、残存がん量(Symmans et al. (2007) J. Clin. Oncol. 25:4414-4422)、若しくはミラー-ペイン・スコア(Miller-Payne score)（Ogston et al. (2003) Breast (Edinburgh, Scotland) 12:320-327）等）を使用することによって、「病理学的完全応答」(“pathological complete response”(pCR))、「臨床的完全寛解」(“clinical complete remission”(cCR))、「臨床的部分寛解」(“clinical partial remission”(cPR))、「臨床的安定疾患」(“clinical stable disease”(cSD))、「臨床的進行性疾患」(“clinical progressive disease”(cPD))、又は他の定性的基準のような定性的様式で、記録することがある。腫瘍応答性の評価を、ネオアジュバント療法の又はアジュバント療法の、開始後早期に（例えば、数時間後、数日後、数週間後、又は好ましくは数ヶ月後に）、実施することがある。応答性評価のための典型的なエンドポイントは、ネオアジュバント化学療法の終了時、又は残存腫瘍細胞及び／若しくは腫瘍床（tumor bed）の外科的切除時、である。追加のガイダンスを、上記セクションIに列挙した用語の定義として、提供する。

【０４０４】

VII.細胞療法

本発明によって包含される別の態様では、本方法は、養子細胞療法を含む、それによって、MHC-拘束性エピトープをターゲティングする分子を発現する、遺伝子改変をした細胞（例えば、結合タンパク質［例えば、TCR又はCAR］を、又はその抗原-結合フラグメントを、発現する細胞）を、対象に投与する。そのような投与によって、抗原-ターゲット化の様式で、免疫細胞の活性化（例えば、T細胞の活性化）が促進され、その結果、HA-1抗原を発現する、関心とする細胞（例えば、過剰増殖性細胞等）は、破壊のターゲットとなる。

【０４０５】

従って、提供される方法及び使用としては、養子細胞療法のための、方法及び使用、が挙げられる。いくつかの実施形態では、前記方法は、対象、組織、又は細胞への、例えば、前記疾患、症状、又は障害、を有する、のリスクがある、又はを有することが疑われる、ものへの、細胞を又はそれを含む組成物を、投与することを含む。いくつかの実施形態では、前記細胞、集団、及び組成物を、治療するべき特定の、疾患又は症状、を有する対象に（例えば、養子細胞療法を介して、例えば、養子T細胞療法によって、等）投与する。いくつかの実施形態では、前記細胞又は組成物を、対象、例えば、疾患又は症状、を有する、又はのリスクがある、対象等、に投与する。いくつかの実施形態では、前記方法は、それによって、疾患の又は症状(condition)の、1つ以上の症状(symptom)を、治療する、例えば、改善する。

【０４０６】

養子細胞療法の為の細胞を投与するための方法は、既知である、並びに提供する方法及び組成物に関連して使用することがある（例えば、米国特許出願公開第2003/0170238号、米国特許第4,690,915号、Rosenberg (2011) Nat. Rev. Clin. Oncol. 8:577-585, Themeli et al. (2013) Nat. Biotechnol. 31:928-933, Tsukahara et al. (2013) Biochem. Biophys. Res. Commun. 438:84-89, 及びDavila et al. (2013) PLoS ONE 8:e61338)）。

【０４０７】

いくつかの実施形態では、細胞療法（例えば、養子細胞療法、例えば、養子T細胞療法

等）を、自家移植（この自家移植では、前記細胞を、前記細胞療法を受けようとする対象から、又は、そのような対象に由来するサンプルから、単離する、及び／又はその他、調製する）によって実施することがある。従って、いくつかの実施形態では、前記細胞は、治療を必要とする、対象（例えば、患者）対象に由来する、及び前記細胞を、単離して処理した後に、同じ対象に投与する。

【０４０８】

いくつかの実施形態では、前記細胞療法（例えば、養子細胞療法、例えば、養子T細胞療法等）を、同種異系移植（この同種異系移植では、前記細胞を、前記細胞療法を、受けようとする、又は究極的に受ける、対象以外の対象［例えば、第1の対象］から、単離する、及び／又はその他、調製する）によって実施することがある、そのような実施形態では、前記細胞を次いで、同じ種の別の対象［例えば、第2の対象］に投与する。いくつかの実施形態では、前記第1及び第2の対象は、遺伝的に同一である（同系）。いくつかの実施形態では、前記第1及び第2の対象は、遺伝的に類似している。いくつかの実施形態では、前記第2の対象は、前記第1の対象と同じHLAクラス又はスーパータイプ（super type）を発現する。

【０４０９】

いくつかの実施形態では、前記細胞、細胞集団、又は組成物を、投与する対象は、ヒトなどの霊長類である。いくつかの実施形態では、前記霊長類は、サル又は類人猿、である。前記対象は、雄性又は雌性であってもよい、並びに任意の適切な年齢（例えば、乳児、若年、青年、成人、及び高齢の、対象等）であってもよい。いくつかの実施形態では、前記対象は、げっ歯類等の非-霊長類哺乳動物である。いくつかの実施例では、前記患者又は対象は、疾患のための、養子細胞療法のための、及び／又はサイトカイン放出症候群(cytokine release syndrome (CRS))等の毒性アウトカムを評価するための、有効な動物モデルである。

【０４１０】

前記結合分子（例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント［例えば、scTCR］及び前記TCRを含むキメラ・レセプター［例えば、CAR］等）、並びにそれらを発現する細胞、を、任意の好適な方法によって、例えば、注射投与、例えば、静脈内注射若しくは皮下注射、眼内注射、眼球周囲注射、網膜下注射、硝子体内注射、経中隔注射、強膜下注射、脈絡膜内注射、前房内注射、結膜下注射(subconjectval injection)、結膜下注射(subconjuntival injection)、テノン叢下注射（sub-Tenon's injection）、球後注射(retrobulbar injection)、球周囲注射(peribulbar injection)、又は、後強膜近傍送達（posterior juxtascleral delivery）、によって、投与することがある。いくつかの実施形態では、それらを、非経口、肺内、及び鼻腔内、並びに、局所治療のために所望であれば、病巣内投与、によって、投与する。非経口投与にとしては、筋内、静脈内、動脈内、腹腔内、又は皮下の、投与、が挙げられる。投薬及び投与は、その投与が、短期であるか、又は慢性であるか、に部分的に依存しすることがある。様々な投薬スケジュールとしては、限定されるものではないが、様々な時間にわたる、単回投与又は複数回投与、ボーラス投与、及びパルス投与、が挙げられる。

【０４１１】

疾患の、予防又は治療、を目的として、結合分子の又は細胞の適切な投薬量は、治療するべき疾患の種類、結合分子の種類、前記疾患の重症度及び経過、前記結合分子が予防又は治療のために投与されるかどうか、過去の治療、患者の臨床歴及び前記結合分子に対する応答性、並びに担当医の裁量、に依存する。前記組成物、及び分子、並びに細胞を、いくつかの実施形態では、一度に、又は一連の治療にわたって、前記患者に、適切に、投与する。

【０４１２】

いくつかの実施形態では、細胞を、対象の体重1キログラム当たり、0.1×10^6、0.2×10^6、0.3×10^6、0.4×10^6、0.5×10^6、0.6×10^6、0.7×10^6、0.8×10^6、0.9×10^6、1.0×10^6、5.0×10^6、1.0×10^7、5.0×10^7、1.0×10^8、5.0×10^8以

上、又は間の任意の範囲、若しくは間の任意の値、の細胞個数、で投与することがある。移植する細胞個数を、所与の期間における生着の所望のレベルに基づいて、調整することがある。一般的に、1×10^5 から約1×10^9 細胞/kg体重、約1×10^6 から約1×10^8 細胞/kg体重、又は約1×10^7 細胞/kg体重以上、の細胞を、必要に応じて、移植することがある。いくつかの実施形態では、平均的なサイズのマウスに対して、少なくとも約0.1×10^6、0.5×10^6、1.0×10^6、2.0×10^6、3.0×10^6、4.0×10^6、又は5.0×10^6 の総細胞の移植は、効果的である。

【０４１３】

例えば、いくつかの実施形態では、細胞、又は細胞のサブタイプの個々の集団を、約100万から約1000億の細胞の範囲で、及び／又は体重1キログラム当たりの細胞のその量、例えば、100万から約500億細胞（例えば、約500万細胞、約2500万細胞、約5億細胞、約10億細胞、約50億細胞、約200億細胞、約300億細胞、約400億細胞、又は前述の値のいずれか2つによって定義される範囲）、例えば、約1000万から約1000億細胞（例えば、約2000万細胞，約3000万細胞，約4000万細胞，約6000万細胞，約7000万細胞，約8000万細胞，約9000万細胞，約100億細胞，約250億細胞，約500億細胞，約750億細胞，約900億細胞，又は、前記値の任意の2つによって画定される範囲），及び、いくつかの場合では、約1億細胞から約500億細胞（例えば、約1.2億細胞，約2.5億細胞，約3.5億細胞，約4.5億細胞，約6.5億細胞，約8億細胞，約9億細胞，約30億細胞，約300億細胞，約450億細胞)若しくはこれらの範囲の間の任意の値、及び／又は体重1キログラム当たり、で、前記対象に、投与することがある。投薬量は、前記疾患若しくは障害、及び／若しくは患者、に特有の属性、並びに／又は他の治療、に応じて、変化することがある。

【０４１４】

移植した細胞の生着を、様々な方法のうちの任意の方法によって、例えば、限定されるものではないが、腫瘍体積、サイトカイン・レベル、投与の時、移植後の1つ以上の時点で対象から得られた、関心とする細胞のフロー・サイトメトリー解析、等によって、評価することができる。例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28日間待機する時間ベースの解析は、腫瘍採取のための時間を知らせることがある。任意のそのような測定指標は、抗-がん免疫療法に対する応答性に対する、変数の影響を決定するために、既知のパラメーターに従って調整することがある変数である。更に、その移植した細胞は、サイトカイン、細胞外マトリックス、細胞培養支持体、等の、他の薬剤と、共-移植されてもよい。

【０４１５】

細胞はまた、他の抗-がん薬剤、の前に、と同時に、又はの後に、投与することもある。

【０４１６】

例えば、細胞ベースの療法及び幹細胞の養子細胞移入、がんワクチン及び細胞ベースの療法、等、2つ以上の細胞タイプを組み合わせて投与することがある。例えば、養子細胞ベースの免疫療法を、本発明によって包含される細胞ベースの療法と、組み合わせることがある。いくつかの実施形態では、その細胞ベースの薬剤は、単独で、又は追加の細胞ベースの薬剤（例えば、養子T細胞療法(adoptive T cell therapy (ACT))のような免疫療法等）と併用して、使用することがある。例えば、CD19を認識するように遺伝子操作したT細胞を使用して、濾胞性B細胞リンパ腫を治療する。ACTのための免疫細胞は、樹状細胞、$CD8^+$ T細胞及び$CD4^+$T細胞等のT細胞、ナチュラル・キラー(NK)細胞、NK T細胞、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)、腫瘍浸潤リンパ球(tumor infiltrating lymphocytes (TIL))、リンホカイン活性化キラー(lymphokine activated killer (LAK))細胞、メモリーT細胞、調節性T細胞(Treg)、ヘルパーT細胞、サイトカイン-誘導化キラー(cytokine-induced killer (CIK))細胞、及びそれらの任意の組み合わせ、であることがある。限定されるものではないが、例えば、放射線照射された、自己の又は同種異系

の腫瘍細胞、腫瘍溶解物又はアポトーシス腫瘍細胞、抗原提示細胞に基づく免疫療法、樹状細胞に基づく免疫療法、養子T細胞移入、養子CAR T細胞療法、自己免疫増強療法(autologous immune enhancement therapy (AIET))、がんワクチン、及び／又は抗原提示細胞、等の、養子細胞に基づく免疫療法のモダリティが良く知られている。そのような細胞ベースの免疫療法を、更に改変して、1種以上の遺伝子産物を発現し、更に免疫応答性を調節することがある（例えば、GM-CSFのようなサイトカインの発現等）、及び／又は腫瘍関連抗原(tumor-associated antigen (TAA))抗原を発現することがある（例えば、Mage-1、gp-100、等）。本発明によって包含される薬剤（例えば、がん細胞）の、本発明によって包含される別の薬剤、又は他の組成物、に対する割合は、互いに1:1（例えば、等量の2薬剤、3薬剤、4薬剤、等）であってもよいが、任意の所望の量に調節することができる（例えば、1:1, 1.1:1, 1.2:1, 1.3:1, 1.4:1, 1.5:1, 2:1, 2.5:1, 3:1, 3.5:1, 4:1, 4.5:1, 5:1, 5.5:1, 6:1, 6.5:1, 7:1, 7.5:1, 8:1, 8.5:1, 9:1, 9.5:1, 10:1, 又はより大きい）。

【０４１７】

いくつかの実施形態では、例えば、前記対象がヒトである場合、前記用量は、全部で約1×10^{8}未満の、結合タンパク質（例えば、TCR又はCAR）-発現細胞、T細胞、又は末梢血単核細胞(peripheral blood mononuclear cells (PBMC))を含む、例えば、約1×10^{6}から1×10^{8}の範囲のそのような細胞、例えば、2×10^{6}、5×10^{6}、1×10^{7}、5×10^{7}、若しくは1×10^{8}若しくは全部の、そのような細胞等、又は前記の数値の何れか2つの間の範囲である。

【０４１８】

いくつかの実施形態では、本出願に記載される細胞又は関連組成物、例えば、核酸、宿主細胞、医薬製剤、等、を併用治療の一部として、別の治療的介入、例えば、別の抗体又は操作した細胞又はレセプター又は薬剤等、例えば、細胞傷害性薬剤又は治療薬剤等、と、例えば、同時に、又は任意の順序で逐次的に、投与することがある。

【０４１９】

いくつかの実施形態では、前記細胞又は関連組成物を、1種以上の追加の治療薬剤と、又は別の治療的介入と関連して、同時に、又は任意の順序で逐次的に、共-投与することがある。いくつかの文脈では、前記細胞又は関連組成物を、その細胞集団が、1種以上の追加的な治療薬剤の効果を増強するように、又はその逆のように、十分に近い時点で、別の療法と、共-投与する。いくつかの実施形態では、前記細胞又は関連組成物を、1種以上の追加的な治療薬剤の前に、投与する。いくつかの実施形態では、前記細胞又は関連組成物を、1種以上の追加的な治療薬剤の後に、投与する。

【０４２０】

いくつかの実施形態では、前記細胞又は関連組成物の生物学的活性を、前記細胞又は関連組成物を対象（例えば、ヒト）に投与すると、多くの既知の方法の何れかによって、測定する。評価するパラメーターとしては、操作した若しくは天然のT細胞の、又は他の免疫細胞の、in vivoでの（例えば、イメージングによって）、又はin vitro/ex vivoでの（例えばELISA又はフロー・サイトメトリーによって）、抗原に対する特異的な結合が挙げられる。いくつかの実施形態では、ターゲット細胞を破壊するという前記細胞の作用能（細胞傷害性）を、好適なアッセイ又は当該技術分野において既知の任意の方法、を用いて測定することがある（例えば、Kochenderfer et al. (2009) J. Immunother. 32: 689-702 and Herman et al. (2004) J. Immunol. Meth. 285:25-40）。いくつかの実施形態では、前記細胞の生物学的活性を、ある特定のサイトカイン、例えば、CD107a、IFNγ、IL-2、及びTNFアルファ等、の発現及び／又は分泌を、アッセイすることによって、測定することもある。いくつかの実施形態では、前記生物学的活性を、臨床的なアウトカム、例えば、ウイルス量(burden)又は負荷(load)の低減等、を評価することによって、測定する。

【０４２１】

いくつかの実施形態では、細胞を、それらの治療的有効性又は予防的有効性が、増加す

るように、多くの方法で改変する。例えば、前記集団が発現する結合タンパク質（例えば、改変したTCR、CAR、又はそれらの抗原結合フラグメント）は、ターゲティング部分構造へ、直接的に、又はリンカーを介して間接的に、コンジュゲートすることがある。化合物をターゲティング部分にコンジュゲートする実務は、当技術分野において、既知である（例えば、Wadwa et al. (1995) J. Drug Targeting 3:111 及び米国特許第5,087,616号）。

【０４２２】

免疫細胞（例えば、細胞傷害性リンパ球等）を、任意の好適な供給源（例えば、末梢血、脾臓、及びリンパ節等）から得ることがある。前記免疫細胞を、粗調製物として、又は部分的に精製された若しくは実質的に精製された調製物として、使用することがある、そしてこれを、標準的な技術、例えば、限定されるものではないが、抗体を使用する、免疫磁気技術又はフロー・サイトメトリー技術等、によって、得ることがある。

【０４２３】

本発明によって包含される別の態様では、本出願は、HA-1抗原を発現する細胞に対する免疫応答を誘発するための方法、を提供する、ここで前記方法は、前記免疫応答を誘発するのに充分な有効量で、結合タンパク質（例えば、改変したTCR、CAR、又はそれらの抗原結合フラグメント）を発現する本出願に記載される細胞を、対象に投与するステップを含む。いくつかの実施形態では、本出願は、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を、治療するための、又は予防するための、方法を提供する、ここで前記方法は、有効量の、結合タンパク質（例えば、改変したTCR、CAR、又はそれらの抗原結合フラグメント）を発現する本出願に記載される細胞を、前記対象に投与するステップを含む。1つの実施形態では、前記細胞を、例えば、注射投与等によって、全身的に投与する。或いは、全身的ではなく局所的に、組織の中への直接的な注射投与を介して（例えば、デポ(depot)又は徐放性製剤等として）、投与することがある。

【０４２４】

いくつかの実施形態では、結合タンパク質（例えば、改変したTCR、CAR、又はそれらの抗原-結合フラグメント）を発現する本出願に記載される細胞を、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の予防的治療又は治療的治療のための、免疫調節組成物中の活性化合物として、使用することがある。いくつかの実施形態では、HA-1-プライミングした抗原提示細胞を、リンパ球（例えば、$CD8^+$ Tリンパ球、$CD4^+$Tリンパ球、及び／又はBリンパ球）を生成するために、結合タンパク質（例えば、改変したTCR、CAR、又はそれらの抗原-結合フラグメント）を発現する本出願に記載される細胞を、前記対象への養子移入において、更に使用するために、使用することがある。

【０４２５】

いくつかの実施形態では、結合タンパク質（例えば、改変したTCR、CAR、又はそれらの抗原-結合フラグメント）を発現する本出願に記載される細胞を、単独又はリンパ球との併用の何れかで、免疫応答を誘発するために、特に、HA-1抗原を発現している細胞に対する免疫応答を誘発するために、対象に投与することがある。

【０４２６】

上記のように、結合タンパク質（例えば、改変したTCR、CAR、又はそれらの抗原-結合フラグメント）を発現する本出願に記載される細胞の、単回投与又は複数回投与を、単独又はリンパ球との併用の何れかで、ケア提供者（例えば、医師）によって選択される、細胞数及び治療、と共に、実施することがある。同様に、前記細胞を、単独又はリンパ球との併用の何れかで、薬学的に許容可能な担体の中に入れて、投与することがある。好適な担体は、前記細胞を増殖させた増殖培地、又はリン酸緩衝生理食塩水等の任意の好適な緩衝培地、であることがある。細胞を、単独で、又は他の治療薬と併用した補助療法として、投与することがある。

【０４２７】

VIII.キットとデバイス

__本発明はまた、キット及びデバイスを包含する。例えば、前記キット又はデバイスは、結合タンパク質、結合タンパク質をコードする配列を含む、核酸又はベクター、核酸若しくはベクターを含む、又は本出願に記載される前記結合タンパク質を発現する、宿主細胞、安定的なMHC-ペプチド複合体、アジュバント、検出試薬、及びそれらの組み合わせ、を、好適な容器に包装されて、含むことがある、並びにそのような試薬を使用するための説明書を更に含むことがある。前記キット又はデバイスはまた、他の構成要素（例えば、別の容器に包装された投与ツール等）を含むこともある。前記キット又はデバイスを、本発明によって包含される方法を実行するための単位として、宣伝する、配布する、又は販売する、ことがある。

【０４２８】

本開示を、限定として解釈されるべきではない以下の実施例によって、更に説明する。

【実施例】

【０４２９】

実施例1：実施例２の為の材料と方法

a. ヒト末梢血単核細胞の採取

HLA-A*02:01-ポジティブの健常ドナー(donor) leukopakは、HemaCare (Los Angeles, CA) 又はStemExpress (Placerville, CA) によって、IRB認可のプロトコルを用いて、採取されたものである。末梢血単核細胞(PBMC)を、リンパ球分離培地(Lymphocyte Separation Medium (Corning, Corning, NY)を使用する密度勾配遠心分離によって、HemaCareから入手した新しいleukopakから単離した。リンパ球層に含まれるPBMCを、遠心分離後に回収し、DPBS(Cytiva, Marlborough, MA)で3回洗浄し、計数した。上記の密度勾配遠心分離によって、又はCustom Leukopak PBMC単離キット (Miltenyi Biotec, Auburn, CA)を、MultiMACS Cell24 Separator Plus装置、バージョン 3 (Miltenyi Biotec)で、製造業者の説明書に従って、使用することによって、PBMCをStemExpress leukopakから単離した。単離したPBMCを、CryoStor CS10(StemCell Technologies, Cambridge, MA)中で凍結し、液体窒素中で保存した。

【０４３０】

b. HA-1 ジェノタイピング

DNAを、GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)を、製造者の説明書に従って使用して、A*02:01-発現の健常ドナー(donor)のPBMCから、抽出した。PCRを、プライマー（5’ AGGACATCTCCCATCTGCTG 3’ 及び 5’ TTGAGCCAGTGTACGCTCAG 3’）を使用して実施し、HA-1 SNP (RS_1801284)を含むゲノム領域を、Phusion High-Fidelity PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific)を使用して、以下のサイクリング条件によって、増幅した：98℃で3分間、変性させた後、98℃で5秒間、68℃で10秒間、72℃で30秒間、を37サイクル行い、最後の伸長を72℃で5分間。PCR産物を、Monarch PCR 及び DNA Cleanup Kit (New England Biolabs, Ipswich, MA)を製造業者の説明書に従って使用し、精製した。DNA濃度を、Qubit 4 Fluorometer (Invitrogen, Carlsbad, CA)を使用して決定し,その精製済み産物のシークエンシングを、GENEWIZ社(Cambridge, MA)で、実施した。.

【０４３１】

c. TCR発掘スクリーニング（discovery screens）

(i) DC培養

単球単離を、HLA-A*02:01-ポジティブの健常HA-1-ネガティブ(RS_1801284、G/G)ドナー(donor)から単離したPBMCを使用して、EasySep Human CD14 Positive Selection Kit II (StemCell Technologies)を製造業者の説明書に従って使用して、-4日目に、行った。純度及び共-刺激性分子の発現を、CD14(M5E2, BioLegend, Dedham, MA)、HLA-A2 (BB7.2, BioLegend)、CD80 (2D10, BioLegend)、CD

83 (HB15e, BioLegend)、及びCD86 (IT2.2, BioLegend)、に対して特異的な、蛍光-標識した抗体を用いて、評価した；CD14の発現は〉90%であった。CD14+単球を、組み換えヒトGM-CSF及びIL-4(R&D Systems, Minneapolis, MN)を、それぞれ、800IU/mL及び1000IU/mL、の最終濃度で、補充した、AIM-V培地(Thermo Fisher Scientific)中で、再懸濁した。-2日目に、組み換えヒトTNF-α(10 ng/mL)、IL-6(1000 IU/mL)、及びIL-1β(2 ng/mL)(R&D Systems)、並びにPGE2(1 μg/mL、StemCell Technologies)を、培養単球に、添加した。

【0432】

(ii) CD8ナイーブT細胞の単離

-1日目に、自家CD8ナイーブT細胞を、HLA-A*02:01を発現する健常HA-1-ネガティブ(RS_1801284、G/G)ドナー(donor)由来のPBMCから、EasySep Human Naive CD8+ T Cell Isolation Kit II (StemCell Technologies)を製造業者の説明書に従って使用して、単離した。純度を、CD8α(HIT8a, BioLegend), CD45RO (UCHL1, BioLegend), CD45RA (HI100, BioLegend), CD56 (5.1H11, BioLegend), CD57 (HCD57, BioLegend)、及びCCR7 (G043H7, BioLegend)、に対して特異的な、蛍光-標識した抗体を用いて、評価した；ナイーブCD8α$^+$ T細胞の純度は〉90%であった。細胞を、10%ヒト血清(Sigma Aldrich, St. Louis, MO)、1%ペニシリン-ストレプトマイシン(Thermo Fisher Scientific)、及び50 μM β-メルカプトエタノール(MP Biomedicals, Santa Ana, CA)を含み、10 ng/ml組み換えヒトIL-7(R&D Systems)を補充した、RPMI-1640(ATCC, Manassas, VA)中、37℃、5% CO_2、で、一晩静置した。

【0433】

(iii). 共-培養

0日目に、3日目と同じ抗体パネルを用いて、CD8 T細胞の純度を再評価し、HLA-A2、CD80、CD83、及びCD86の上方制御、並びにCD14の下方制御によって、DC成熟を確認した。DCを、1 μM HA-1ペプチド(VLHDDLLEA, GenScript [Piscataway, NJ])によって、3時間、37℃、5% CO_2で、パルスした。パルスしたDCを、組み換えヒトIL-12(10 ng/mL)及びIL-21(60 ng/mL)(R&D Systems)を補充したT細胞培地中で、静置していたCD8ナイーブT細胞と、共-培養した。共-培養物に、3日目から10日目の間に、組み換えヒトIL-7及びIL-15(R&D Systems)を補充した。HA-1-特異的な細胞のデキストラマー染色を、A*02:01 HA-1(VLHDDLLEA)デキストラマー(Immudex, Copenhagen, Denmark)、CD8α及びTCRα/β(IP26, BioLegend)、並びにDAPI(Thermo Fisher Scientific)を、製造業者の説明書に従って用いて、11日目に、行った。

【0434】

(iv) 急速増殖プロトコル(Rapid expansion protocol (REP))

HA-1-特異的な細胞を含むウェルを同定した後、T細胞クローンを採取し、12日目に、100 ng/mL抗-CD3(OKT3, Invitrogen)、及び50 IU/mL組み換えヒトIL-2(Sigma Aldrich)の存在下、T細胞培地中、37℃、5% CO_2で、7日間、照射済みのPBMCフィーダー細胞と、共-培養した。

【0435】

(v) 抗原-特異的な細胞選別

19日目に、細胞をREP後に採取し、11日目の様に、A*02:01 HA-1(VLHDDLLEA)デキストラマー、CD8α及びTCRα/βに対して特異的な抗体、DAPI、で染色し、HA-1-ポジティブな細胞(CD8α$^+$、DAPI$^-$、TCRα/β$^+$、HA-1$^+$)を、Sony SH800Sセル・ソーター(Sony Biotechnology, San Jose, CA)又はBD FACSAriaセル・ソーター(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)を用いて、選別した。選別した細胞を、0x Genomicsプラットフォーム(Pleasanton, CA)を用いる単一細胞TCRα/βシークエンシングに供した。

【0436】

(vi) フロー・サイトメトリー

細胞を、CytoFLEXフロー・サイトメーター(Beckman Coulter, Indianapolis, IN)を用いて取得し、FlowJoソフトウエア(バージョン10、TreeStar、Ashland、OR)を用いて解析した。細胞選別は、Sony SH800Sセル・ソーター(Sony Biotechnology)又はBD FACSAriaセル・ソーター(Becton Dickinson)を用いて、行った。

【０４３７】

d. 10x Genomicsプラットフォームを用いた単一細胞TCRα/βシークエンシング

単一細胞TCR-seq(scTCR-seq)ライブラリを、10x Genomics Single Cell V(D)J Reagent Kit (v1) プロトコル (10x Genomics)に従って、調製した。目標数が1サンプルあたり10,000の細胞を、10x Genomics Chromium装置内の液滴(GEM)中に捕捉した後、逆転写を行った。

逆転写後、GEMを破壊し、シラン磁気ビーズを用いて、サンプルから、バーコード化したcDNAを精製した。cDNAを以下のように増幅した：98℃で45秒間；98℃で20秒間、67℃で30秒間、72℃で1分間、を13サイクル；72℃で1分間。0.6X SPRIselectビーズ(Beckman Coulter)を用いてサンプルを精製した後、それぞれのライブラリ2 uLを、TCR配列富化に使用した。TCR配列富化は、TCRα及びTCRβ鎖の転写物の両方を増幅するための2ラウンドのPCRからなった。その後、TCR-富化したライブラリをフラグメント化し、末端修復をし、インデックス・プライマー（indexing primer）で増幅した。その完全に組立てたライブラリを、Illumina NextSeq装置(Illumina, San Diego, CA)で、High Output v2.5 kit (150サイクル)を用いて、リード長：26bp(リード1)、8bp(i7インデックス)、及び98bp(リード2)、でシークエンシングをした。シークエンシングをした scTCRseqリードを、cellranger 3.1.0パイプラインを用いて処理した。リードを、GRCh38参照ゲノムに対してアライメントをし、cellranger vdjモジュールを用いて、TCRコンセンサス配列に注釈を付けた。

【０４３８】

e. レンチウイルス・パッケージング(Lentiviral packaging)及びレンチウイルス力価の定量化

Lenti-X細胞を、75%のコンフルエンシー（confluency）でプレーティングし、jetPRIMEトランスフェクション試薬(Polyplus, Illkirch, France)を用いて、トランスフェクトした。簡潔に述べると、HA-1構築物をパッケージング・プラスミド(pREV/pTAT/pVSVG/pGAGPOL)と混合し、製造業者のプロトコルに従ってjetPRIME試薬と共にインキュベートし、トランスフェクション後24時間に、Opti-Pro SFM培地を添加した。ウイルス上清をトランスフェクションの48時間後に採取し、Vivaspin 20遠心濃縮器又はVivaflow 50カセット(Sartorius, Bohemia, NY)の何れかを用いて、濃縮した。レンチウイルス力価を、$TCR^{-/-}$ Jurkat細胞株を用いて、GFP又はTCRα/βの何れかの発現によって、決定した。ウイルス力価を定量するために、$TCR^{-/-}$Jurkat細胞を、HA-1-特異的なTCR発現ウイルスの段階希釈物で形質導入し、形質導入の48から72時間後、GFP又はTCRα/βの発現を、フロー・サイトメトリー解析によって、した。サンプルを、CytoFLEXフロー・サイトメーター(Beckman Coulter)を用いて、解析した。力価は、GFP又はTCRα/βを発現する細胞の割合として、TU/mlとして、次式を用いて、計算した:

$$TU/ml = (GFP^{+}\text{又はTCR}\alpha/\beta^{+}\text{の}\%) \times (\text{形質導入に用いた細胞の個数}) \times (\text{希釈係数}) \times 1000$$

【０４３９】

f. HA-1-特異的なTCR機能の評価

(i) T細胞を操作してHA-1-特異的なTCRを発現させる

汎T細胞又は$CD4^{+}$T細胞を、EasySep Human T Cell 単離キット又はEasySep Human $CD4^{+}$ T cell 単離キット (StemCell Technologies)を製造業者の説明書に従って使用して、HLA-A*02:01-ポジティブな健常HA-1-ネガティブ(RS_1801284、G/G)ドナー(donor)PBMCから、単離した。単離したT細胞を、ImmunoCult CD3/CD28

/CD2 T細胞活性化剤カクテル(StemCell Technologies)で活性化し、完全T細胞培地（5% ヒト血清[Sigma Aldrich], 1% ペニシリン-ストレプトマイシン[Thermo Fisher Scientific], 1X GlutaMax サプリメント(supplement) [Thermo Fisher Scientific], 5 ng/mL IL-7 [R&D Systems] 及び 50 IU/mL IL-2 [Sigma Aldrich]).を補充したX-VIVO 15 [Lonza, Morristown, NJ]）中で、一晩、培養した。活性化の24時間後、T細胞を、5のMOI(感染多重度[multiplicity of infection])で、HA-1 TCRウイルスの上清で形質導入を行った。形質導入後24時間に、T細胞を洗浄し、G-Rexプレート(Wilson Wolf, New Brighton, MN)又はVECELL 96-ウェル・プレート(Cosmo Bio, Carlsbad, CA)に移し、活性化後7から8日間、増殖させた。T細胞培養物に、新たにIL-2(50 IU/mL)及びIL-7(5 ng/mL)を、2から3日毎に、補充した。示される場合、CD34^{+}形質導入細胞の富化を、Miltenyi CD34 Microbead Kit(Miltenyi Biotec)を、製造業者の説明書に従って使用して、行った。富化した後、T細胞を、完全T細胞培地中で、2から3日間、更に増殖させ、続いて、HA-1-特異的なTCRの、純度及び発現を、フロー・サイトメトリー解析した。

【０４４０】

(ii) 操作したHA-1 TCR-形質導入した汎T細胞のフロー・サイトメトリー

操作した汎T細胞を、HA-1(VLHDDLLEA)デキストラマー及びHA-1(VLRDDLLEA)又はMART-1(ELAGIGILTV) (Immudex)デキストラマー、TCRα/β PE-Cy7(IP26, BioLegend)、CD8 PerCP-Cy5.5(HIT8a, BioLegend)及びCD4 APC-Cy7(OKT4, Biolegend)、CD34 APC(QBEND/10, R&D Systems)又はCD34 FITC(BEND/10, Invitrogen)並びにDAPIで、製造業者の説明書に従って、染色した。次いで、細胞を、CytoFLEXフロー・サイトメーター(Beckman Coulter)で解析し、FlowJoソフトウェア(バージョン10、TreeStar)又はCytExpertソフトウェア(Beckman Coulter)を用いて解析した。

【０４４１】

(iii) 細胞株

Tリンパ芽球細胞株T2(ATCC CRL-1992)、AML細胞株TF-1(ATCC CRL-2003)及びTHP-1(ATCC TIB202)、リンパ腫細胞株SU-DHL1(ATCC CRL 2955)及び急性T細胞白血病細胞株Jurkat(クローンE6-1、ATCC TIB-152)を、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション(American Type Culture Collection (ATCC))から購入した。リンパ腫細胞株SUP-M2(ACC 509)を、ドイツ・サムルン・フォン・ミクルオルガニスメン・ウント・ゼルクルチュレン(Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ))から購入した。Lenti-X細胞株(632180)を、Takara Bio (Mountain View, CA)から購入した。T2細胞を、IMDM +20%熱-非働化FBS中で、培養した。TF-1細胞を、RPMI1640+10%熱-非働化FBS + 2 ng/mL組み換えヒトGM-CSF中で、培養した。THP-1細胞を、RPMI1640+10%熱-非働化FBS + 0.05mM 2-メルカプトエタノール中で、維持した。SU-DHL1及びSUP-M2細胞を、RPMI1640+10%及び20%熱-非働化FBS中で、それぞれ維持した。Jurkat細胞を、RPMI1640+10%熱-非働化FBS + 1%ペニシリン-ストレプトマイシン中で、培養した。Lenti-X細胞を、10% FBS及び1%ペニシリン-ストレプトマイシンを補充したDMEM培地(Thermo Fisher Scientific)中で、培養した。cHEK 293T細胞を、10%熱-非働化ウシ胎仔血清(FBS)、100 IU/mLペニシリン、及び100 μg/mLストレプトマイシンを補充したDMEM培地(Gibco)中で、維持した。

【０４４２】

(iv) Incucyte（登録商標） Nuclight Redを発現する安定的な細胞株の作製

T2、TF-1、THP-1、SU-DHL1及びSUP-M2細胞を、無血清培地中、3と5の間のMOIで、Incucyte（登録商標）Nuclight Redレンチウイルス試薬(EF-1αプロモーター、ピューロマイシン選択)(Sartorius)で形質導入し、細胞を、それぞれの細胞株の培地で、洗浄し、再懸濁し、37℃、5% CO_2で培養した。形質導入の3日間後、ピューロマイシン(Gibco)を、形質導入を受けた細胞を選択するために、所定の濃度(0.5 ug/mL

から1 ug/mLの範囲)で、その培養物に、添加した。培養物を、フロー・サイトメトリー解析によって決定する場合に、少なくとも98%のNuclight Red-ポジティブになるまで、ピューロマイシン選択のもとで、増殖させた。

【０４４３】

(v) TCRノックアウトJurkat細胞株の作製

TCR$^{-/-}$ Jurkat細胞株を、TCR

【０４４４】

(vi) In vitro細胞傷害性アッセイ

in vitro細胞傷害性アッセイを、ポリ-L-リジンでプレ-コートされた384-ウェル・プレート(Greiner, Monroe, NC)、又はポリ-L-オルニチン(Sigma Aldrich)でコーティングされた96-ウェル平底組織培養プレートにおいて、室温で30分間、実施し、その後、コーティング液を除去し、プレートを、室温で更に30分間乾燥させた。示される場合、T細胞を、Nuclight Red-発現THP-1、SUP-M2、TF-1、SU-DHL1、又はペプチド-パルスしたT2細胞(10 ng/mlから10 pg/mlのHA-1ペプチド[VLHDDLLEA、Genscript]濃度の範囲の濃度でパルスした)と、20:1から2.5:1の範囲のE:T比率で、共-培養した。Incucyte S3装置(Sartorius)でデータを取得し、T細胞の細胞傷害性の読み出しとして、Incucyte S3で、細胞増殖を定量した。

【０４４５】

(vii) サイトカイン産生アッセイ

T細胞を、Nuclight Red-発現THP-1、SUP-M2、TF-1、SU-DHL1及びペプチド-パルスしたT2細胞(1 ng/mL HA-1ペプチド[VLHDDLLEA, Genscript])と、1:1のE:Tで、共-培養した。上清を、24時間後に採取し、-80℃で凍結した。上清を解凍し、multiAnalyteカートリッジ(ProteinSimple、San Jose、CA)にロードし、Ella装置(ProteinSimple)を用いて、IFN-γ、TNF-α、IL-2及びグランザイムBのレベルを評価した。

【０４４６】

(viii) 増殖アッセイ

T細胞を、2.5 μM CellTrace^{TM} Violet(Thermo Fisher Scientific)で、製造業者の説明書に従って標識した。T細胞を、Nuclight Red-発現THP-1、SUP-M2、TF-1、SU-DHL1及びペプチド-パルスしたT2細胞(1 ng/mL HA-1ペプチド[VLHDDLLEA、Genscript、Piscataway、NJ])と、1:1のE:Tで、共-培養した。96時間後、細胞を回収し、固定可能な生存性の色素eFluor 660(FisherScientific)、CD4 PerCP-Cy5.5(OKT4、BioLegend)及びCD8 APC-Cy7(HIT8a、BioLegend)抗体で、染色した。細胞をEasySep^{TM}バッファーで洗浄し、BD Cytofix^{TM}固定バッファー(BD Biosciences、Franklin Lakes、NJ)で固定した。CountBright Absolute Countingビーズ(Thermo Fisher Scientific)を、EasySep^{TM}バッファーで希釈し、サンプルに加えてから、CytoFLEXフロー・サイトメーターで取得し、T細胞増殖の指標としてCellTrace^{TM}Violetの希釈を評価した。FlowJoソフトウエア(バージョン10、TreeStar)を用いて解析し、分割したCD8及びCD4 T細胞の絶対数を、以下の式を用いて、決定した：

サンプル中のCD8又はCD4 T細胞の数=(ゲート内での、CD8又はCD4 T細胞事象の数／ゲート内での、ビーズ事象の数)×ロット-特異的に割り当てたビーズ数

【０４４７】

g. 同種応答性のスクリーニング

(i) 96-ウェルに基づくMHC-発現アレイの作製

内因性HLA-A/B/Cを、CRISPRを用いて、HEK293T細胞において、ノックアウトした。ガイドRNAを、multicrispr.netツール(Prykhozhij et al., Plos One, 2015)を用いて、HLA-A、HLA-B及びHLA-C遺伝子座にわたって保存された配列に対して設計した。以下のガイドを選択した：CRISPR-ALL-1: CGGCTACTACAACCAGAGCG, CRISPR-ALL-2: AGATCACACTGACCTGGCAG, CRISPR-ALL-3: AGGTCAGTGTGAT

CTCCGCA 。gRNAを、LentiCRISPR V2ベクターの中に、BsmBI部位を用いて、クローニングした。HEK 293T細胞を、Mirus TransIT(Mirus Bio、Madison、WI)を用いて、プラスミド・ガイド構築物（plasmid guide construct）で、トランスフェクトした。7日間後、MHC-ネガティブ細胞を、汎-MHC抗体(BioLegend)を用いて、選別した。単一細胞クローンを増殖させて、MHCの非存在を、フロー・サイトメトリー及びウェスタン・ブロットによって、確認した。

【０４４８】

HEK239T細胞においてHA-1を発現させるために、MHC-ヌル(MHC-null)HEK293T細胞を、HA-1(pHAGE-CMV-FHA-HA1H-IRES-Puro)を発現する90-merの構築物で、形質導入した。形質導入したウェルを、ピューロマイシンで、1週間選択した。MHC-発現アレイを作製するために、HA-1の発現を伴う又は伴わない、MHC-ヌル(MHC-null)HEK 293T細胞を、次いで、96-ウェル・プレート中の個々のウェルにおいて、最もありふれた（common）110個の最もありふれた（common）MHC(pHAGE-EF1a-MHC-UBC-NAT)で、形質導入した。導入細胞を、ノーセオスリシンで、1週間、選択した。HA-1-及びHA-1+バージョンの両方の104個のMHCが、成功裏に確立され、同種応答性スクリーニングに供された。HA-1 90-merを伴う又は伴わない、最もありふれた（common）108個のMHCを発現する細胞を継代し、アレイとして96-ウェル・プレートに保存した。

【０４４９】

(ii) 同種応答性スクリーニングの為の共-培養

TSC-100を発現するヒトCD8$^+$ T細胞を、安全性スクリーニングの項に記載するように、作製した。

【０４５０】

0日目に、96-ウェル・アレイ中のターゲット細胞を、継代し、播種した。1日目に、TSC-100を発現するヒトCD8 T細胞を、3:1のE:Tで、添加し、ターゲット細胞と共に、一晩インキュベートした。2日目に、上清を採取し、-80℃で保存した。サンプル中のIFN-γ濃度を、Ella機器及びIFN-γ第3世代キット(ProteinSimple)を用いた、ELISAアッセイによって、測定した。

【０４５１】

h. 安全性スクリーニング

(i) T細胞を操作してHA-1-特異的TCRを発現させる

HA-1-ネガティブ又はA*02:01-ネガティブ・ドナー(donor)由来のCD8$^+$ T細胞を、StraightFrom(登録商標)Leukopak(登録商標)CD8マイクロビーズ・キット(Miltenyi Biotec)を、製造業者の説明書に従って用いて、単離した。単離した細胞を凍結し、液体窒素中で保存した。-1日目に、CD8 T細胞を解凍し、T細胞培地（10%熱-非働化ウシ胎児血清[FBS]、100 IU/mLペニシリン、100 μg/mLストレプトマイシン、組み換えヒトIL-2[50U/mL, PeproTech, Cranbury, NJ]、組み換えヒトIL-15[5 ng/mL, R&D Systems]、及び組み換えヒトIL-7[5 ng/mL, R&D Systems]、を補充したRPMI 1640）中で、一晩静置した。0日目に、CD8 T細胞を、ImmunoCult CD3/CD28/CD2 T細胞活性化剤カクテル(StemCell Technologies)を用いて、活性化した。1日目に、細胞を、洗浄し、IL-2、IL-7、及びIL-15を含むT細胞培地に再懸濁し、レンチウイルス粒子で形質導入して、HA-1-応答性TCRを発現させた。2日目に、細胞を、洗浄し、IL-2、IL-7、及びIL-15を含むT細胞培地に再懸濁し、5日目まで増殖させた。5日目に、細胞を回収し、MACSバッファー(Miltenyi Biotec)に再懸濁し、FcRブロッキング試薬(100 uL/mL, StemCell Technologies)と共に、5分間、室温でインキュベートした。細胞濃度を60e6細胞/mLに調整し、A*201HA-1(VLHDDLLEA)デキストラマーPE(Immudex)を、1:25希釈で、10分間、室温で、添加した。HA-1デキストラマーPE-ポジティブ細胞を、抗-PEマイクロビーズ(Miltenyi Biotec)を用いて、製造業者の説明書に従って、単離した。単離した細胞を、IL-2、IL-7、及びIL-15を含むT細胞培地に再懸濁し、12日目まで増殖させ、その時点で、細胞を凍結した。

【０４５２】
(ii) ゲノム-ワイド・ペプチド・ライブラリによるHEK 293T細胞の形質導入
MHC-ヌル(MHC-null)HEK 293T細胞を操作して、HLA-A*02:01、蛍光レポーター及び細胞-表面レポーター（両方ともT細胞傷害によって活性化される）を発現させた。レポーター細胞を、形質導入して、90アミノ酸からそれぞれなる、〉600,000個の重複タイルのペプチド、を含むライブラリ（ヒト・プロテオームを表す）を発現させた。
【０４５３】
(iii) 共-培養後のレポーター細胞の選別
関連するTCRで操作したCD8^{+}T細胞を、マイトマイシンC-処理(50 μg/mL、30分)同種異系PBMCと、0.1 μg/mL抗-CD3(OKT3、eBioscience)及び50 U/mL組み換えIL-2(Peprotech)の存在下で、共-培養することによって、増殖させた。7日間の増殖後、細胞を回収し、ライブラリ-形質導入したレポーター細胞と共-培養し、37℃で、4時間、インキュベートした。インキュベート後、細胞をトリプシン処理により回収し、アネキシンV磁気マイクロビーズ(Miltenyi Biotec)で、製造業者の説明書に従って、標識した。アネキシン-標識した細胞を、AutoMACS Pro(Miltenyi Biotec)を用いて単離し、レポーター-ポジティブ細胞を、MoFlo Astrios EQセル・ソーター(Beckman Coulter)を用いて、選別した。
【０４５４】
(iv) ゲノムDNAの単離及びシークエンシング・ライブラリの調製
GeneJET ゲノムDNA精製キット (Thermo Fisher Scientific).を用いて、選別した細胞から、ゲノムDNA(gDNA)を抽出した。抗原カセットを、その抽出したgDNAから、PCRにより増幅し、次に、第二のPCR反応で、シークエンシング・アダプターとサンプル-特異的なインデックス配列を、付加した。標準的なIlluminaシークエンシング・プライマーを用いて、Illumina NextSeqで、アンプリコンをシークエンシングをした。
【０４５５】
(v) 配列のアラインメント及びエピトープの同定
ヌクレオチド配列を、個々のヌクレオチド・タイルにマッピングした。各タイルについてのリードの数の割合を、各スクリーニング複製(n=8)について、及び形質導入したレポーター細胞の各プールについてのインプットについて、計算し、各タイルの富化を、スクリーニング複製におけるタイルの割合を、インプット・ライブラリにおけるタイルの割合で割ることによって、計算した。8つのスクリーニング複製にわたる同一のタイルの富化の修正した幾何平均を使用して、再現可能なスクリーニング・ヒットを同定した。2倍富化の閾値を超える、それぞれのタイルについて特異的なMHC-結合エピトープを、NetMHC4.0を用いて、予測した。それぞれのタイルについての候補エピトープを、前記スクリーニングにおいて富化された、重複する隣り合う及び冗長なタイルにわたって共有される、予測される強-結合エピトープを同定することによって、選択した。
【０４５６】
i. 健常なドナー(donor)、及びがん（例えば、AML又はALL等）に罹患した患者、に由来する血中細胞のin vitro細胞傷害性
(i) ターゲット細胞
組織液から初代腫瘍サンプルを得た。HLA-A*02:01-ポジティブ状態をフロー・サイトメトリーにより確認し、HA-1遺伝子型状態を、上記のように決定した。健常なPBMCを、上記のように処理した、健常ドナー(donor)leukopakから得た。
【０４５７】
初代サンプルを、共-培養の開始の前日に解凍し、5%ヒト血清[Sigma Aldrich]、1%ペニシリン-ストレプトマイシン[Thermo Fisher Scientific]、1X GlutaMaxサプリメント[Thermo Fisher Scientific]、5 ng/mL IL-7[R&D Systems]及び50 IU/mL IL-2[Sigma Aldrich]、を補充した完全T細胞培地(X-VIVO 15[Lonza、Morristown、NJ])中で、一晩静置した。共-培養の0日目に、初代がん細胞及び健常なPBMCを、DPBSで洗浄し、20 nM CellTrace(商標)FarRed(Thermo Fisher)で、製造業者の

説明書に従って、標識した。―標識した初代ターゲット細胞を、サイトカインを含まないT細胞培地に再懸濁した。

【０４５８】

(ii) エフェクター細胞

メモリーT細胞を、Discovery Life Sciences (Huntsville, AL)のHLA-A*02:01-ネガティブの健常leukopakから、CliniMACS Prodigy装置(Myltenyi biotec)を用いて、単離した。CD45RAの除去、それに続くCD4及びCD8の同時ポジティブ選択を、標準的な手順に従いながら行い、メモリー汎T細胞を生成した。得られた単離したメモリーT細胞を、更なる処理まで、凍結させた。単離したメモリーT細胞を、解凍し、ImmunoCult CD3/CD28/CD2 T細胞活性化剤カクテル(StemCell Technologies)で活性化し、完全T細胞培地(5%ヒト血清[Sigma Aldrich]、1%ペニシリン-ストレプトマイシン[Thermo Fisher Scientific]、1X GlutaMaxサプリメント[Thermo Fisher Scientific]、5 ng/mL IL-7[R&D Systems]及び50 IU/mL IL-2[Sigma Aldrich]、を補充したX-VIVO 15[Lonza、Morristown、NJ])中で、一晩培養した。活性化の24時間後、T細胞を、TSC-100ウイルス上清で、5のMOI(感染多重度)で、形質導入した。形質導入の24時間後、T細胞を洗浄し、G-Rexプレート(Wilson Wolf, New Brighton, MN)に移し、活性化後、全部で7日間、増殖させた。T細胞の培養物に、新しいIL-2(50 IU/mL)及びIL-7(5 ng/mL)を、2から3日毎に、補充した。CD34+形質導入細胞を、D7に、Miltenyi CD34マイクロビーズ・キット(Miltenyi Biotec)を、製造業者の説明書に従って用いて、富化した。富化後、T細胞を、新しいIL-2(50 IU/mL)及びIL-7(5 ng/mL)を、2から3日毎に補充した完全T細胞培地中で、7日間、更に増殖させ、続いて、HA-1-特異的TCRの純度及び発現に関するフロー・サイトメトリー解析を行った。TSC-100操作したT細胞及び非-形質導入のコントロールT細胞を、D14で、凍結した。

【０４５９】

(iii) 共-培養の及びフロー-ベースの細胞傷害性測定

エフェクター細胞を、共-培養の開始の前日に解凍し、完全T細胞培地中で一晩静置した。共-培養の0日目に、エフェクター細胞を、DPBSで洗浄し、2.5 μM CellTrace(商標)Violetで、製造業者の説明書に従って、標識した。標識したエフェクター細胞を、サイトカインを含まないT細胞培地に、再懸濁した。

【０４６０】

標識したT細胞(50,000細胞)及びターゲット細胞(50,000)を、200 uLで、96-ウェル丸底において、24時間、共-培養した。インキュベート後、細胞を遠心分離し、EasySep-バッファーで洗浄し、固定可能な生存性の色素Live/Dead.Near IR (Thermo Fisher)で、製造業者の説明書に従って、染色した。サンプルをCytoflex S装置で実行し、FlowJo v.10ソフトウェアを用いて解析した。エフェクター細胞及び初代ターゲット細胞を、それぞれ、CellTrace(商標)violet及びCellTrace(商標)farRedの状態に基づいて、同定した。ターゲット細胞の相対的な生存率を、CellTrace(商標)FarRed事象でゲーティングし、生／死のネガティブ事象の割合を見ることによって、測定した。データを、非-形質導入のコントロールT細胞の共-培養条件に対する、ターゲット細胞の生存率として、表す。

【０４６１】

j. 材料

細胞株

- Lenti-X: Takara, 632180
- Jurkat: ATCC, TIB-152
- HEK 293T 細胞: ATCC, CRL-3216
- T2: ATCC, CRL-1992
- TF-1: ATCC, CRL-2003
- THP-1: ATCC, TIB202

・ SU-DHL1: ATCC CRL, 2955
・ SUP-M2: ACC 509, DSMZ
【０４６２】
培地及びサプリメント
・ X-VIVO 15, 無血清造血細胞培地、 L-グルタミン、ゲンタマイシン、フェノール・レッド:ロンザ、を添加、04-418Q
・ ヒト雄型AB血清(熱-非働化): Sigma Aldrich, H3667-100ML
・ ペニシリン-ストレプトマイシン Gibco, 15149-122
・ GlutaMAX サプリメント: Fisher Scientific, 35050061
・ RPMI-1640 培地: ATCC, 30-2001
・ ウシ胎児血清(FBS), 熱-非働化: Gibco, A3840102
・ IMDM: ATCC, 30-2005
・ RPMI 培地 1640 (1x) [+] 4.5 g/L D-グルコース, [+] 2.383 g/L HEPESバッファー, [+] L-グルタミン, [+] 1.5 g/L 重炭酸ナトリウム, [+] 110 mg/L ピルビン酸ナトリウム: Gibco, A10491-01
・ AIMV 培地: [+] L-グルタミン, [+] 50 μg/mL ストレプトマイシン硫酸塩, [+] 10 μg/mL ゲンタマイシン硫酸: Gibco, 12055-083
・ PBS中30% BSA: Sigma Aldrich, A9576-50ML
・ β-メルカプトエタノール: MP Biomedicals, 02190242
・ DMEM 培地(1X) [+] 4.5 g/L D-グルコース, [+] L-グルタミン, [+] 3.7 g/L 重炭酸ナトリウム: Thermo Fisher Scientific, 11965084
・ DMEM (1x) [+] 4.5 g/L D-グルコース, [+] L-グルタミン, [-] ピルビン酸ナトリウム: Gibco, 11965
・ OptiPRO SFM 培地: Thermo Fisher Scientific, 12309019
【０４６３】
バッファー
・ EasySepバッファー: StemCell Technologies、20144
・ DPBS(Ca2+/Mg2+不含): Gibco、14190-122
・ DPBS(Ca2+/Mg2+不含): Cytiva、SH30028.03
・ AutoMACSランニング・バッファー: Miltenyi、130-091-221
【０４６４】
サイトカイン
・ 組み換えヒトIL-2: Sigma Aldrich, 11147528001
・ 組み換えヒトIL-2: PeproTech, 200-02
・ 組み換えヒトIL-12: R&D Systems, 219-IL-005
・ 組み換えヒトIL-15: R&D Systems, 247-ILB-005
・ 組み換えヒトGM-CSF: R&D Systems, 215-GM-050
・ 組み換えヒトIL-4: R&D Systems, 204-IL-050
・ 組み換えヒトTNF-α: R&D Systems, 210-TA-050
・ 組み換えヒトIL-1β/IL-1F2: R&D Systems, 201-LB-025
・ 組み換えヒトIL-6: R&D Systems, 206-IL-050
・ PGE2: StemCell Technologies, 72194
【０４６５】
キット
・ EasySep™ヒトT細胞単離キット: StemCell Technologies: 17951
・ EasySep™ヒトCD4+ T細胞単離キット: StemCell Technologies: 17952
・ EasySep™ヒト・ナイーブCD8+ T細胞単離キットII: STEMCELL Technologies, 17968
・ EasySep™Human CD14ポジティブ選択キットII: STEMCELL Technologies, 17858

・ StraightFrom（登録商標） Leukopak（登録商標） CD8 マイクロビーズ・キット: Miltenyi Biotec, 130-117-019
・ CD34マイクロビーズ・キット: Miltenyi Biotec, 130-046-702
・ 抗-PEマイクロビーズ: Miltenyi Biotec, 130-105-639
・ LSカラム, Miltenyi Biotec, 130-042-40
・ 32サンプル用Ellaシンプル・プレックス・キット（Ella simple plex kit for 32 samples）: ProteinSimple: SPCKC-PS-003027
・ シンプル・プレックス・ヒトIFN-ガンマ(第3世代)カートリッジ（Simple Plex Human IFN-gamma (3rd Gen) Cartridge）: ProteinSimple, SPCKB-PS-002574

【０４６６】

抗体及び染色試薬

・ 抗-ヒトCD8α PerCp-Cy5.5 (クローン: HIT8a): BioLegend: 300924
・ 抗-ヒトCD8α APC-Cy7 (クローン: HIT8a): Biolegend: 300926
・ 抗-ヒトCD4 APC-Cy7 (クローン: OKT4): BioLegend: 317418
・ 抗-ヒトCD4 PerCP-Cy5.5 (クローン OKT4): Biolegend: 317428
・ 抗-ヒトCD56 PE (クローン: 5.1H11): BioLegend: 362508
・ 抗-ヒトCD57 PE (クローン: HCD57): BioLegend: 322312
・ 抗-ヒトTCRα/β PE-Cy7 (クローン: IP26): BioLegend: 306720
・ 抗-ヒトCD34 FITC (クローン: QBEND/10): Invitrogen: MA1-10204
・ 抗-ヒトCD34 APC: (クローン: QBEND/10): RD Systems, FAB7227A
・ 抗-ヒト CD45RO FITC (クローン: UCHL1): BioLegend, 304204
・ 抗-ヒト CD45RA APC (クローン: HI100): BioLegend, 304112
・ 抗-ヒト CCR7 BV605 (クローン: G043H7): BioLegend, 353224
・ 抗-ヒト CD14 Alexa Fluor 488（登録商標） (クローン: M5E2): BioLegend, 301811
・ 抗-ヒト CD83 PE-Cy7 (クローン: HB15e): BioLegend, 305326
・ 抗-ヒト HLA-A2 PE (クローン: BB7.2): BioLegend, 343306
・ 抗-ヒト CD80 APC (クローン: 2D10): BioLegend, 305220
・ 抗-ヒト CD86 Brilliant Violet 605™ (クローン IT2.2): BioLegend, 305430
・ 抗-ヒト TCRα/β FITC (クローン: IP26): BioLegend, 221058
・ 抗-ヒトTCRα/β APC (クローン IP26): BioLegend, 306718
・ 抗-ヒト HLA-A,B,C APC 抗体: BioLegend, 311410
・ 抗-ヒト CD32 (Fc ガンマ RII)ブロッカー: STEMCELL Technologies, 18520
・ Cell Trace Violet (CTV): Fisher Scientific: C34571
・ 固定可能な生存性の色素eFluor 660（Fixable viability Dye eFluor 660）(APC Channel) Thermo Fisher Scientific: 65-0864-14
・ LIVE/DEAD™Fixable Near-IR 死細胞染色キット: Thermo Fisher Scientific, L34976A
・ DAPI: Thermo Scientific: Thermo Scientific, 62248
・ CountBright™Absolute Countingビーズ: Fisher Scientific: C36950
・ Cytofix: BD Biosciences, 554655

【０４６７】

ペプチド

・ MART1(ELAGIGILTV): GenScript
・ HA-1(VLHDDLLEA): GenScript

【０４６８】

デキストラマー

・ HLA-A*02:01 VLHDDLLEAN HA-1 デキストラマー: Immudex, WB2622-PE
・ HLA-A*02:01 VLRDDLLEAN HA-1 デキストラマー, WB5421-APC
・ HLA-A*02:01 ELAGIGILTV MART1 デキストラマー: Immudex, WB2162-APC

【０４６９】
CRISPR-Cas9及びエレクトロポレーション試薬
・ Alt-R（登録商標） S.p. Cas9 ヌクレアーゼ V3 (Lot #0000417827): IDT, 1081059
・ Alt-R（登録商標）CRISPR-Cas9 tracrRNA (Lot #0000415438): IDT, 1072534
・ 4D-Nucleofector™コア・ユニット: Lonza, AAF-1002B
・ 4D-Nucleofector™X ユニット: Lonza, AAF-1002X
・ SE Cell Line 4D-Nucleofector™ X キット L: Lonza V4XC-1012
【０４７０】
組織培養プレート
・ G-Rex 24-ウェル・プレート: Wilson Wolf, 80192M
・ G-Rex 6-ウェル・プレート: Wilson Wolf, 80240M
・ VECELL 96-ウェル・プレート: Cosmo Bio, VCL-V96WGPB-10-EX
・ TC-処理 6-ウェル・プレート: Corning Costar, 3506
・ TC-処理24-ウェル・プレートs: Corning Costar, 3524
・ 非-処理6-ウェル・プレート: Corning Costar, 3736
・ 非-処理24-ウェル・プレート: Corning Costar, 3738
・ 96-ウェル平底プレート: Corning Costar, 3595
・ 384-ウェル, ポリ-Lリジン-処理、平底マイクロプレート: Greiner Bio-One™, 781936.
・ VECELL 96-ウェル・プレート: Cosmo Bio, VCL-V96WGPB-10-EX
【０４７１】
Leukopak処理試薬：
・ Multi-24カラム・ブロック（Multi-24 Column Block）: Miltenyi Biotec, 130-095-692
・ シングル-ウエル・ディープ・ウェル・プレート（Single-well Deep Well Plate）: Miltenyi Biotec, 130-114-966
・ Custom Leukopak PBMC単離キット, ヒト: Miltenyi Biotec, 120-051-115
・ リンパ球分離培地（Lymphocyte Separation Medium）: Corning, 25-072-CV
・ CryoStor CS10: StemCell Technologies, 07930
【０４７２】
ジェノタイピング試薬
・ GeneJet ゲノムDNA精製キット: Thermo Fisher Scientific, K0722
・ フュージョン・ハイ-フィデリティPCR マスター・ミックス（HFバッファー付き）（Phusion High-Fidelity PCR Master Mix with HF Buffer）: Thermo Fisher Scientific, F531L
・ Monarch PCR & DNA クリーンアップ・キット(5 μg): New England Biolabs, T1030L
・ Nuヌクレアーゼ不含水: Ambion, AM9937
【０４７３】
10xゲノム試薬
・ Chromium Single Cell 5' ライブラリ& ゲル・ビーズ・キット v1: 10x Genomics, PN1000006
・ Chromium Single Cell V(D)J 富化キット, ヒトT細胞: 10x Genomics, PN1000005
・ Chromium Chip A Single Cellキット: 10x Genomics, PN1000152
・ Single IndexキットT セットA: 10x Genomics, PN1000213
・ SPRIselect 試薬キット: Beckman Coulter, B23318
・ High Sensitivity D5000 ScreenTape: Agilent Technologies, 5067-5592
・ High Sensitivity D5000 試薬: Agilent Technologies, 5067-5593

・ Qubit™dsDNA HSアッセイ・キット: Invitrogen, Q32854
【０４７４】
パッケージング及びレンチウイルス産生試薬
・ jetPRIME トランスフェクション試薬: Polyplus-トランスフェクション, 114-75
・ Vivaspin 20: Sartorius, VS2041
・ Vivaflow 50 カセット: Sartorius, VF05P4
【０４７５】
CliniMACS Prodigy試薬
・ CliniMACS CD4 MicroBeads: Miltenyi bioteck, 170-076-702
・ CliniMACS CD8 MicroBeads: Miltenyi bioteck, 170-076-703
・ CliniMACS CD45RA Microbeads: Miltenyi bioteck, 170-098-025
・ CliniMACS Prodigy TS 520: Miltenyi bioteck, 170-076-600
・ CliniMACS PBS/EDTA バッファー(2 x 3L): Miltenyi bioteck, 130-021-201
【０４７６】
その他の試薬
・ ImmunoCult™ヒトCD3/CD28/CD2 T細胞活性化剤: StemCell Technologies, 10970
・ ポリ-L-オルニチン溶液 0.01%: Millipore-Sigma, P4957-50ML
・ PBS中のViaStain AO/PI 染色溶液: Nexcelom Bioscience, CS2-0106-5mL
・ ピューロマイシン: Gibco, A11138-03
・ ヌルセオスリシン: GoldBio, N-500-1
【０４７７】
実施例2：TSC-100の探索：造血幹細胞移植療法後の白血病を治療するための天然のHA-1-特異的TCR
健康なドナー(donor)からの抗原-特異的TCRの迅速なクローニングを可能にするハイ-スループットTCR探索プラットフォームを開発した。次いで、このプラットホームを使用して、6人の固有なHA-1$^-$(VLRDDLLEA、遺伝子型RS_1801284 G/G)ドナー(donor)から1億7830万個のナイーブCD8+ T細胞をスクリーニングし、329個のHA-1-特異的なTCRを同定した(図１)。TCR発掘プラットフォームで使用したペプチド濃度は1μg/mLである。それぞれのTCRを、発現及びHA-1ペプチド(VLHDDLLEA)(10ng/mLから10pg/mL)パルスしたT2細胞を傷害する作用能について、試験した（過去に公開された、これらの検討のベンチマークとして臨床段階HA-1-特異的TCRを使用した）(Dossa et al. (2018) Blood 131:108-120)。並行して、外因性TCRアルファ鎖及びベータ鎖の発現及び適切な対合を促進するために、TCR定常領域の改変を試験した、並びにCD8共-レセプターとCD34富化タグを共-送達して、操作したT細胞の精製を可能にするために、レンチウイルス・ベクターを設計した(図３Ａ-３Ｄ)。上位11個の候補を、TScanの最適化されたバックボーンの中にクローニングし、HLA-A*02:01$^+$ HA-1$^+$細胞株のパネルを用いて、細胞傷害性、サイトカイン産生、及びT細胞増殖について評価した(図４Ａ-４Ｆ)。20:1から2.5:1のE:T比を使用した。最後に、上位2つのTCRを、独自のゲノム-ワイドT-Scanプラットホームを用いて、アロ-応答性(図５、TSC-100及び本出願に記載されるクローンHA1-10-34を含む)及びオフ-ターゲット交差反応性(図６Ａ及び６Ｂ)について、評価した。
【０４７８】
本出願に記載されるTCR探索及び評価プラットフォームによって、全部で1億7830万個のナイーブT細胞から329個のHA-1-特異的なTCRが同定され(図１)、TSC-100が最も活性があるTCRとして同定された。TSC-100の定常領域における定義された変異は、その表面発現を増強したが、内因性TCRの発現を減少させた (図３Ｃ)、並びにCD8を共導入すると、操作したCD4細胞の係合及び機能を効率的にすることができるようになった(図３Ａ)。
全体として、TSC-100は、中程度から高いレベルのHA-1を発現する細胞株を負荷した

場合、臨床段階のベンチマークTCRに匹敵する活性を示し(図４Ｂ)、低レベルのHA-1及びMHC-Iの両方を発現する細胞株とインキュベートした場合、より優れた活性を示した(図４Ｃから４Ｄ)(Dossa et al. (2018) Blood 131:108-120)。CCLEから入手した細胞株のHA-1及びHLA A201のRNA発現を下表 ５に示す。

【０４７９】

［表５］

表５．細胞株の発現についてのレファレンス

* 100万当たりの転写物(transcripts per million (TPM))として、CCLE由来での発現

【０４８０】

加えて、TSC-100では、試験した108種の様々なHLA型に対するアロ-応答性は検出されなかった（図５）、及びヒト・タンパク質由来のペプチドを発現するゲノム-ワイド・ライブラリを負荷した場合、オフ-ターゲット効果は最小限であった(図６Ａ)。

【０４８１】

TSC-100は、臨床段階の治療用TCRに対して、匹敵する活性又はそれより優れた活性、を示し、アロ-応答性又はオフ-ターゲット効果は、最小限である。

【０４８２】

完全なデータセット（これは、上記のTSC-100からのデータを、同じ試験からの及び同じ方法を使用した、Tscanの最適化された骨格の中にクローニングした、他の10の上位候補のデータと併せて、含む）を図７Ａから７Ｑに示す。これは、上位11の候補の機能性を確認する。

【０４８３】

更に、TSC-100は、様々な健常ドナー(donor)及びがん細胞型由来の、HA-1-発現細胞を傷害させることが実証されている。ヒトは、どの染色体も2コピーを受け継ぐ（母親から1つ、父親から1つ）ので、どのヒトも2コピーのARHGAP45遺伝子を有する。従って、HA-1-ポジティブの患者は、HA-1(+/+)についてホモ接合性（両方ともHA-1-ポジティブ・ペプチド(VLHDDLLEA)をコードする遺伝子を有する）であることがある、又はHA-1(+/-)についてヘテロ接合性（一方の遺伝子は、HA-1-ポジティブ・ペプチドをコードする、及び他方の遺伝子は、HA-1-ネガティブ・ペプチド(VLRDDLLEA)をコードする）であることがある。TSC-100が、ホモ接合性HA-1-ポジティブ(+/+)又はヘテロ接合性HA-1-ポジティブ(+/-)の何れかである、健常な血液細胞及びがん細胞（例えば、白血病細胞）を、効果的に減少させるすることができることを確認にするために、様々な健常ドナー(donor)及びがん（例えば、AML及びALL）を有する患者に由来する血液細胞に対するTSC-100の活性を決定した。図８に示すように、TSC-100は、ホモ接合性及びヘテロ接合性の、健常な血液細胞及びがん細胞の両方を、排除する。

【０４８４】

参照による取り込み

本明細書で言及される、全ての刊行物、特許、及び特許出願は、それぞれの個々の刊行物、特許、又は特許出願が参照により取り込まれることが、具体的且つ個々に示されたかのように、その全体が本出願に参照により取り込まれる。相反する場合には、本出願（任意の定義を含む）が優先される。

【０４８５】

公開データベースにおけるエントリーに対応するアクセッション番号を参照する、任意のポリヌクレオチド配列及びポリペプチド配列（例えば、tigr.orgのワールド・ワイド・ウェブにあるJ.C.ベンター研究所［The Institute for Genomic Research (TIGR)］、及び／又はncbi.nlm.nih.govのワールド・ワイド・ウェブにあるアメリカ国立生物工学情報センター［the National Center for Biotechnology Information (NCBI)］によって、維持される配列等）もまた、その全体が本出願に参照により取り込まれる。

【０４８６】

均等物及び範囲

本発明によって包含される1つ以上の実施形態の詳細は、上記の明細書に記載されている。以上、代表的な、例示的な材料及び方法について説明したが、本出願に記載されるそれらと、類似な又は均等な、任意の材料及び方法を、本発明によって包含される実施形態の、実施又は試験に、使用することがある。本考案に関連する、他の特徴、目的及び効果は、本明細書から明らかである。別段定義しない限り、本出願で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解される意味と、同じ意味を有する。相反する場合には、上記で提供した本明細書が優先される。

【０４８７】

当業者は、本出願に記載される本発明によって包含される、特定の実施形態に対する、多くの均等物を、ルーチンな実験のみを使用して、認識するか、又は確認することができる。本発明によって包含される範囲は、本出願で提供される明細書に限定されることを、意図しない、及びそのような等価物は、添付の特許請求の範囲によって包含されることが意図される。

【０４８８】

用語「含む(comprising)」はオープンであることが意図され、追加の要素又はステップの包含を、許容するが、必要としないことにも留意されたい。用語「含む(comprising)」を本出願で使用する場合、用語「からなる(consisting of)」も包含される、及び開示される。

【０４８９】

範囲が与えられている場合、端点が含まれる。更に、別段に示されていない限り、又はその他、文脈及び当業者の理解から明白な場合、範囲として表される値は、本発明によって包含される種々の実施形態において記載された範囲内の、文脈が明らかに別段を定めない場合、前記範囲の下限の単位の10分の1までの、任意の特定の値又は部分範囲を想定し得ることを理解されたい。

【０４９０】

更に、先行技術の範囲内になる、本発明によって包含される任意の特定の実施形態は、何れの1つ以上の特許請求の範囲からも明示的に除外され得ることが理解されるべきである。そのような実施形態は、当業者に既知であるとみなされるので、それらは、除外が本出願において明確に記載されていないとしても、除外され得る。本発明によって包含される組成物の任意の特定の実施形態（例えば、任意の抗生物質、治療的な又は活性のある成分；任意の製造方法；任意の使用方法；等)は、先行技術の有無に関係なく、任意の理由で、任意の1つ以上の特許請求の範囲から除外されることがある。

【０４９１】

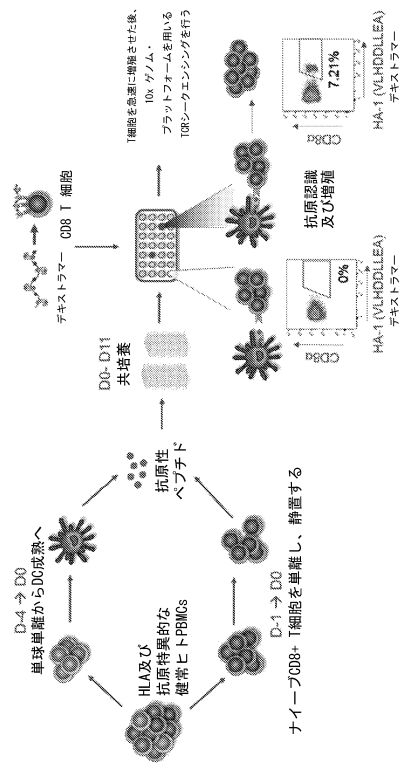
使用された語は限定というよりも説明に関する語である、及びそのより広い態様において、本発明によって包含される、真の範囲及び趣旨から逸脱することなく、添付の特許請求の範囲の範囲内で変更を行うことができることを理解されたい。

【０４９２】

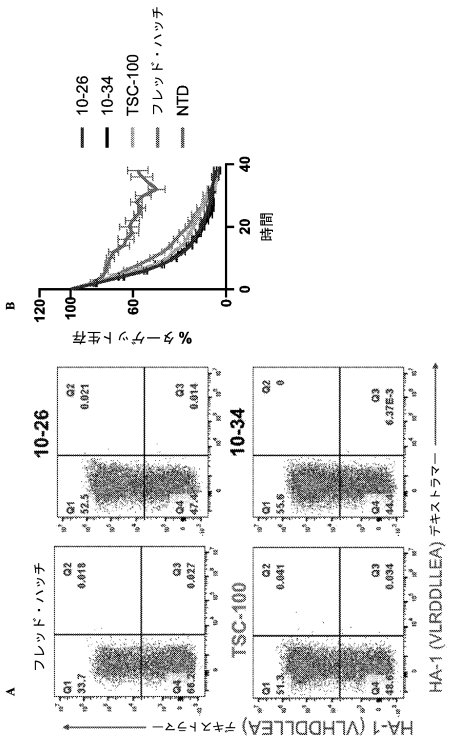
本発明は、いくつかの記載された実施形態に関して、ある程度の長さで、及びある程度の具体性をもって、記載されているが、任意のそのような具体性若しくは実施形態又は任意の特定の実施形態に限定されるべきではなく、先行技術を考慮してそのような特許請求の範囲の最も広範な解釈を提供するように、及び、それ故に、本発明によって包含される意図された範囲を効果的に包含するように、添付の特許請求の範囲を参照して解釈されるべきである。

【図面】

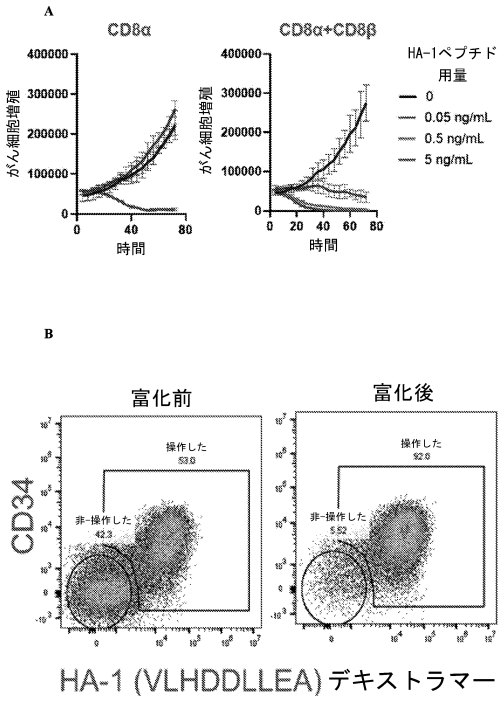
【図１】



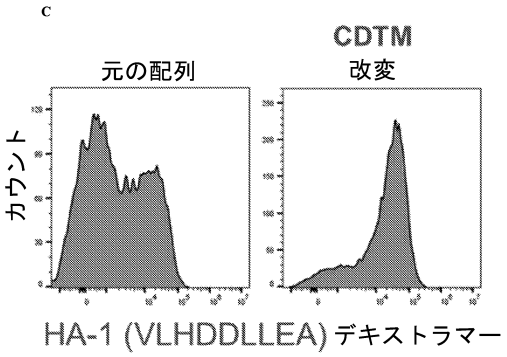
【図２】



【図３－１】



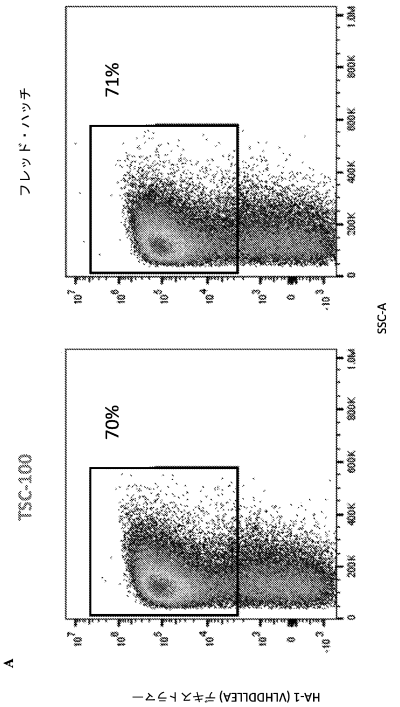
【図３－２】



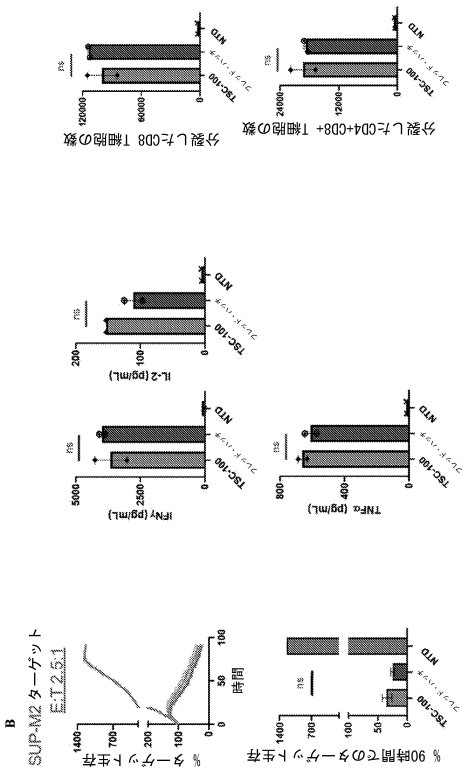
【図３－３】



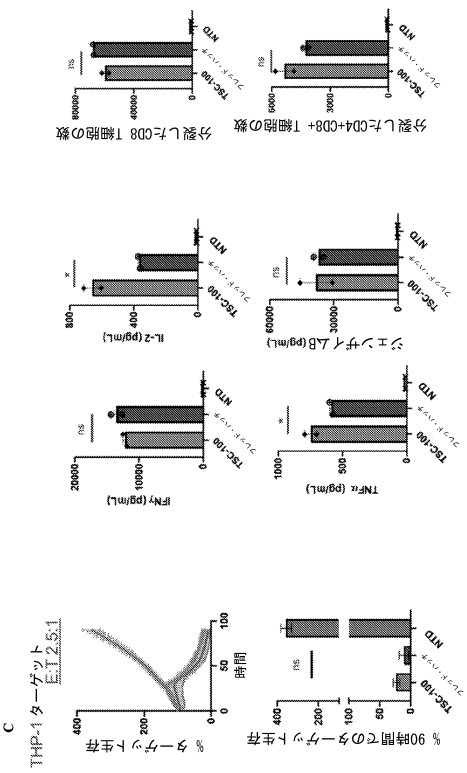
【図４Ａ】



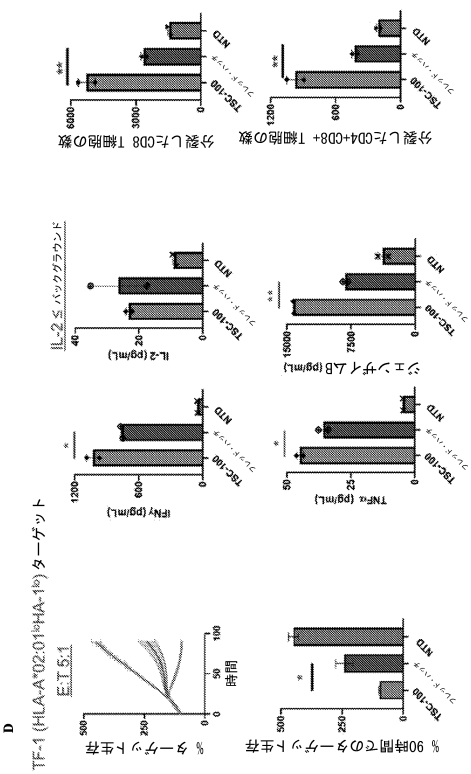
【図４Ｂ】



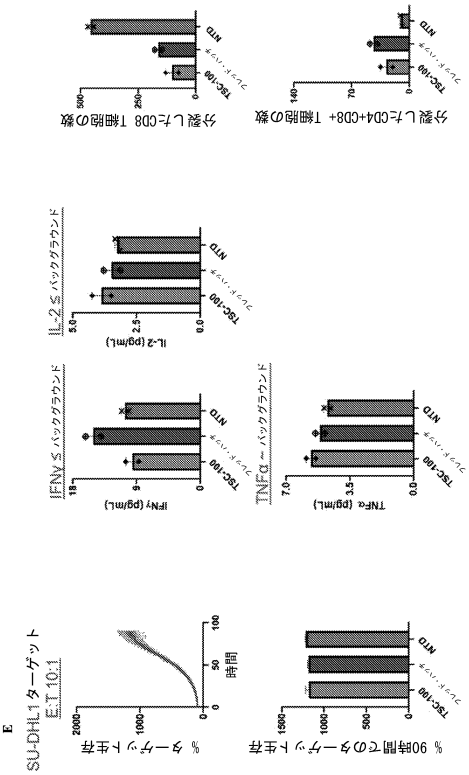
【図４Ｃ】



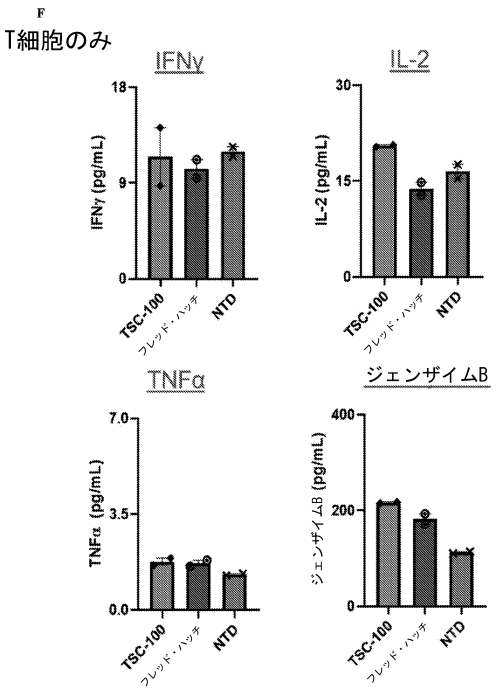
【図４Ｄ】



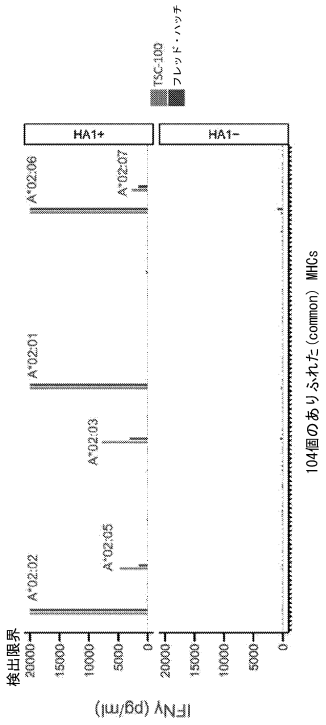
【図４Ｅ】



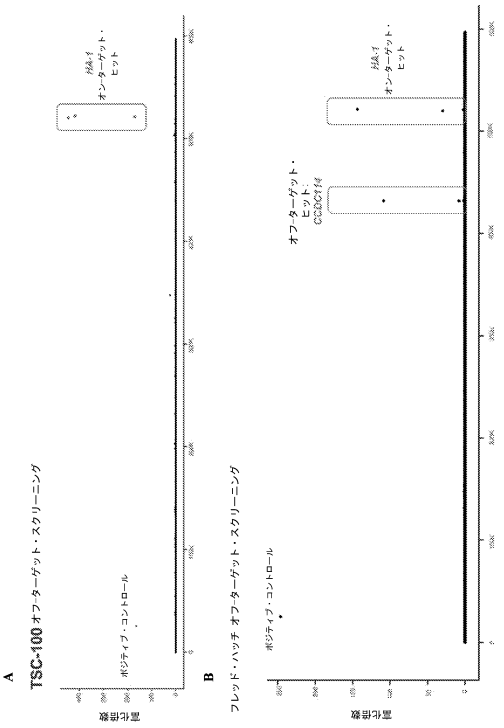
【図４Ｆ】



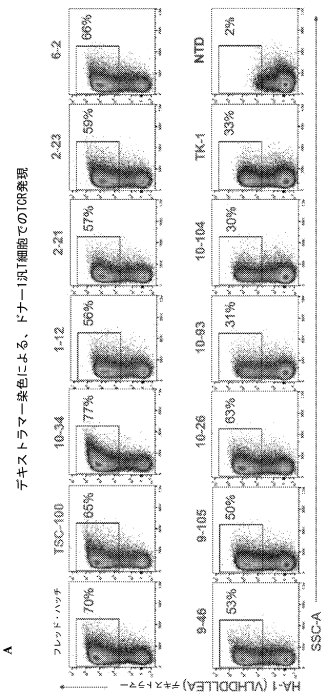
【図５】



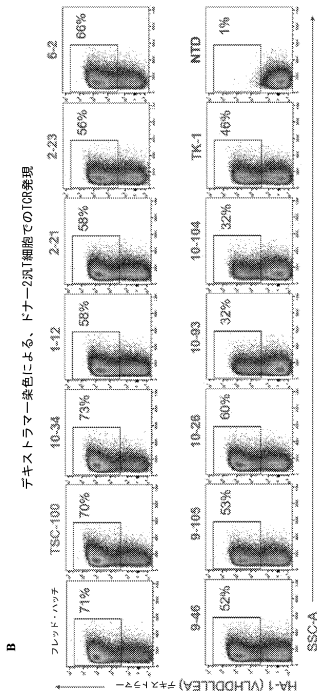
【図６】



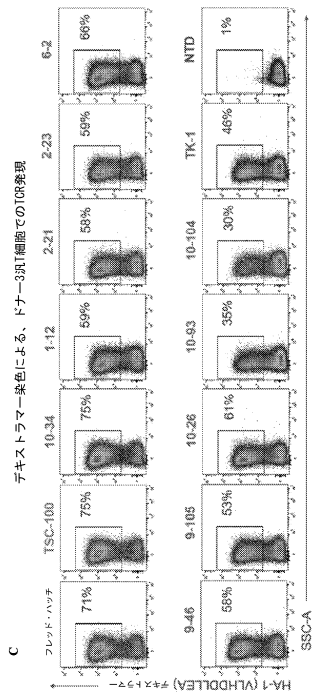
【図７Ａ】



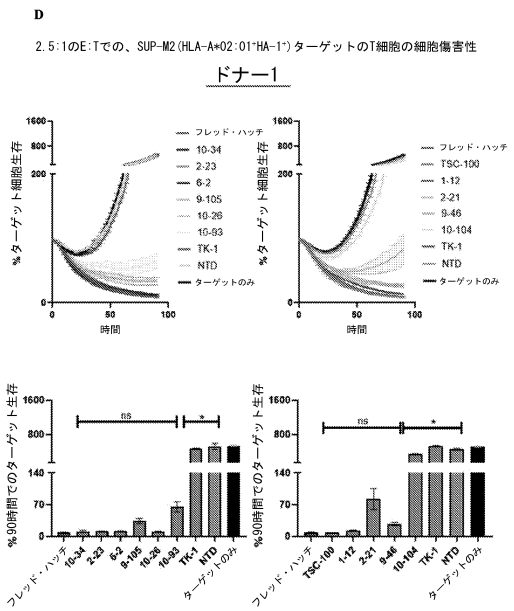
【図７Ｂ】



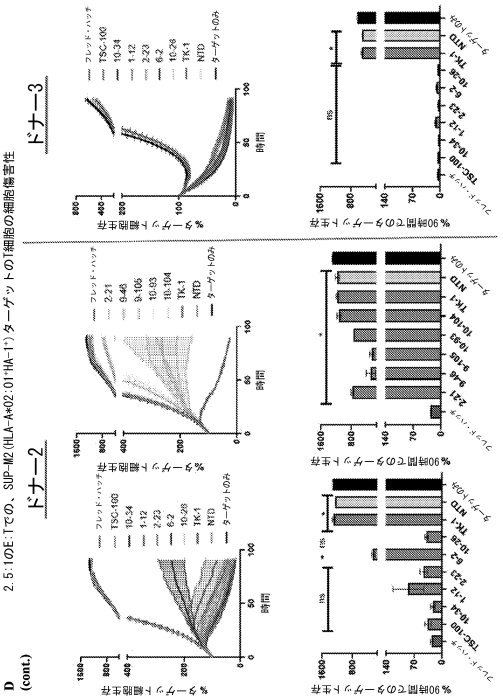
【図７Ｃ】



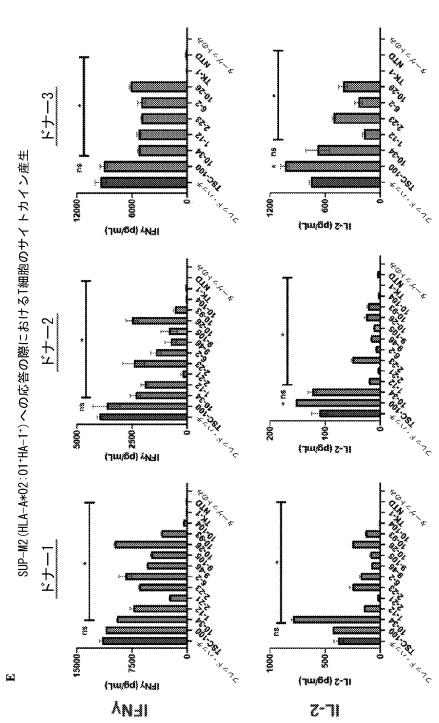
【図７Ｄ－１】



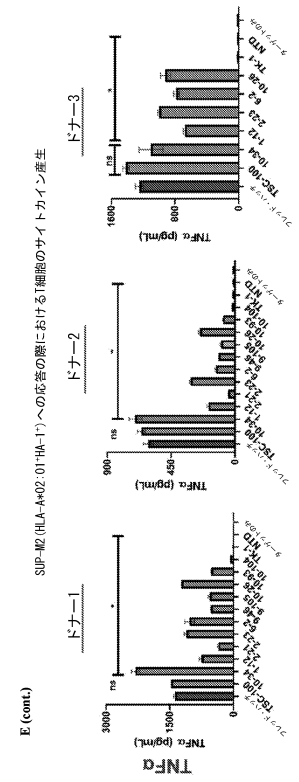
【図７Ｄ－２】



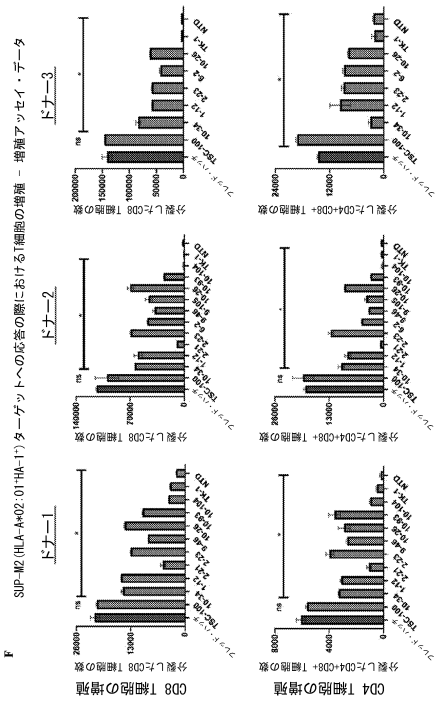
【図７Ｅ－１】



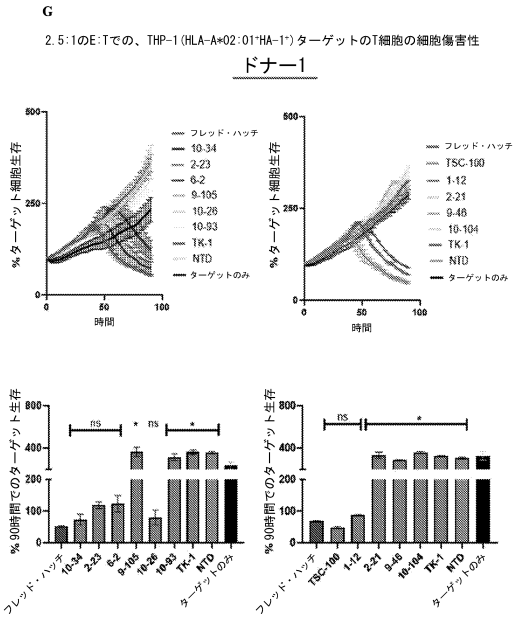
【図７Ｅ－２】



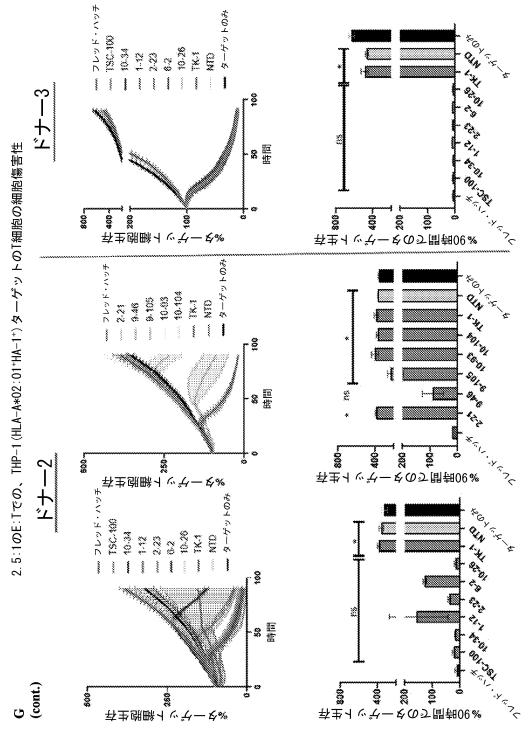
【図７Ｆ】



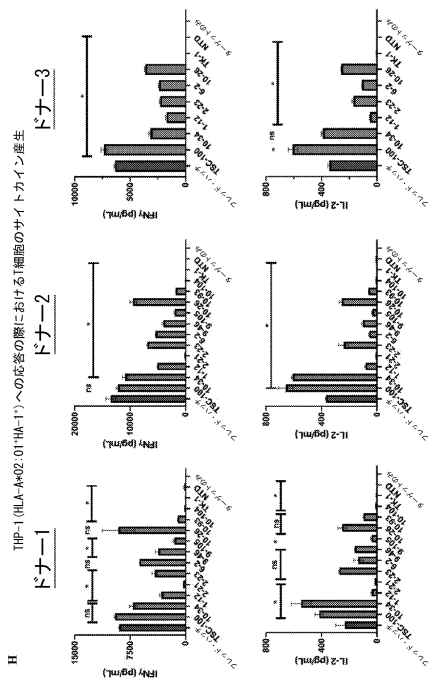
【図７Ｇ－１】



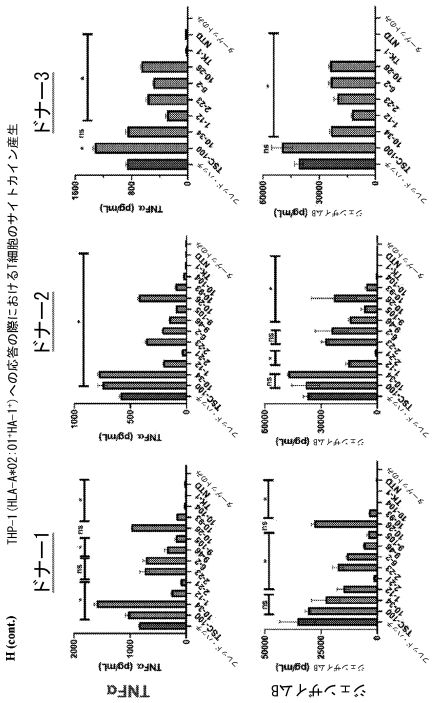
【図７Ｇ－２】



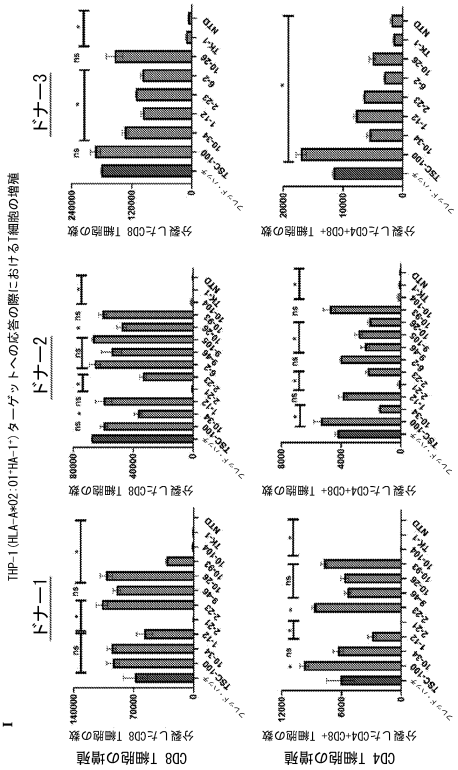
【図７Ｈ－１】



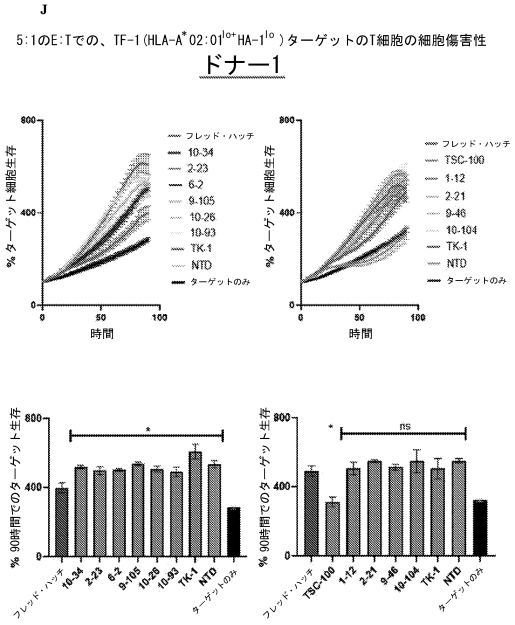
【図７Ｈ－２】



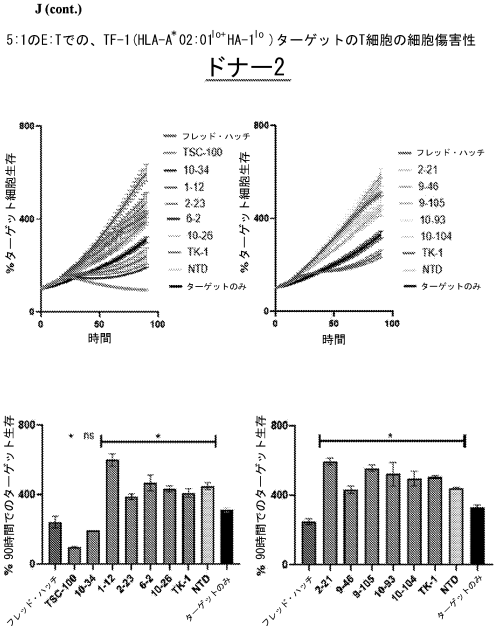
【図７Ｉ】



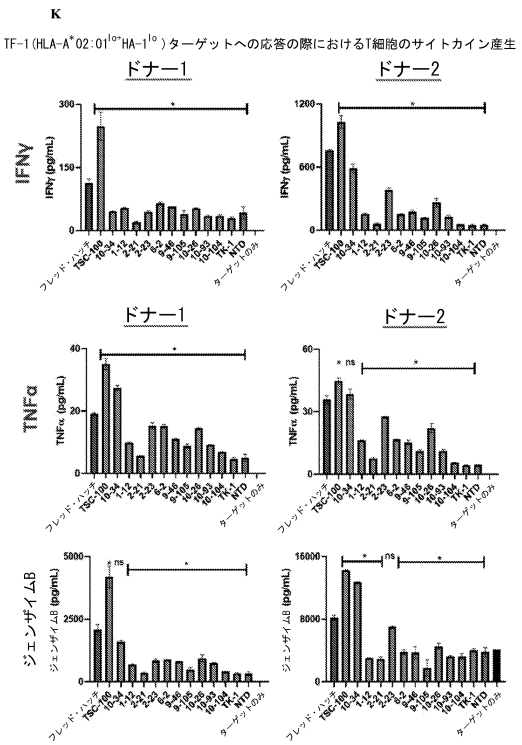
【図７Ｊ－１】



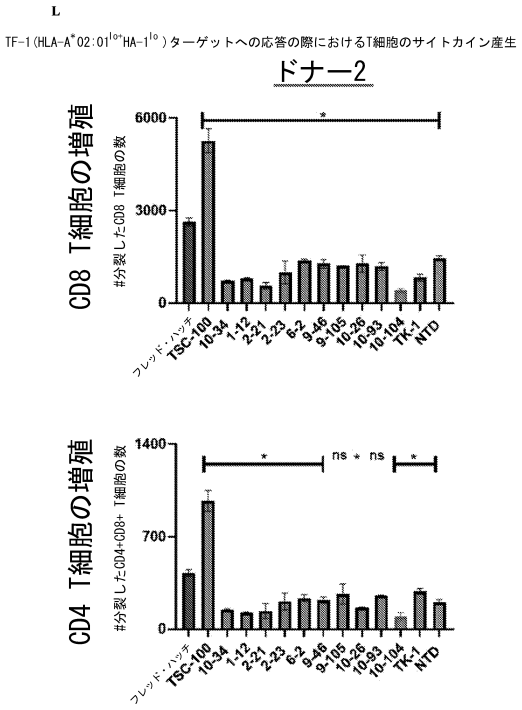
【図７Ｊ－２】



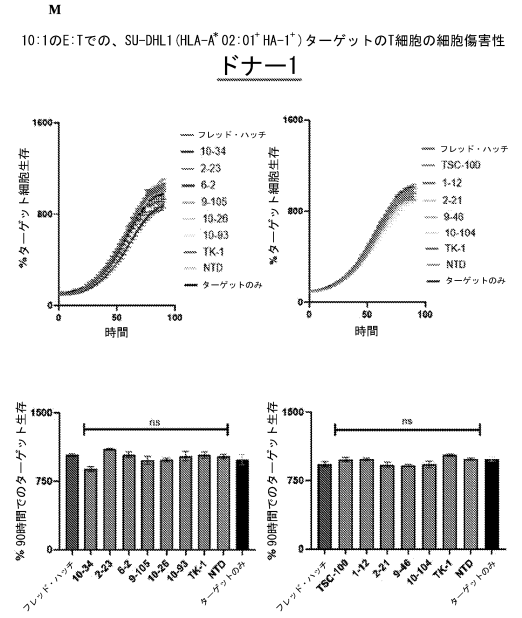
【図７Ｋ】



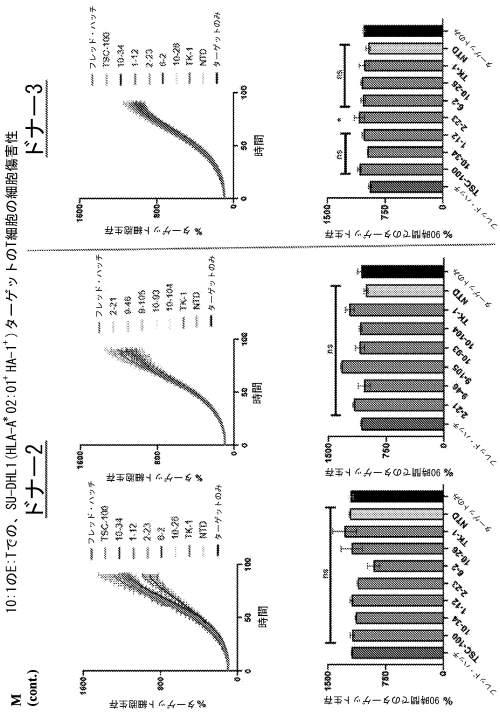
【図７Ｌ】



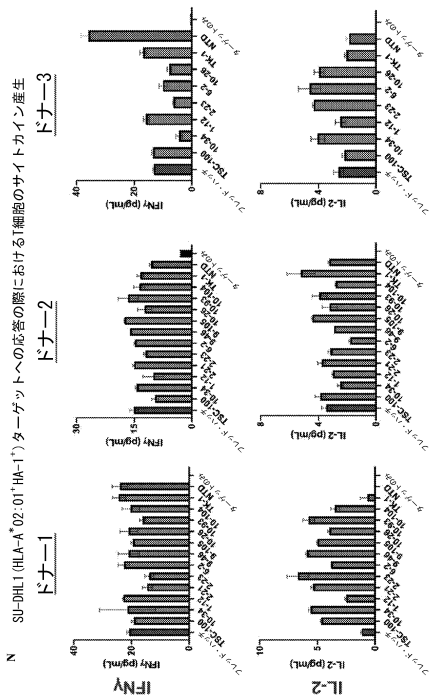
【図７Ｍ－１】



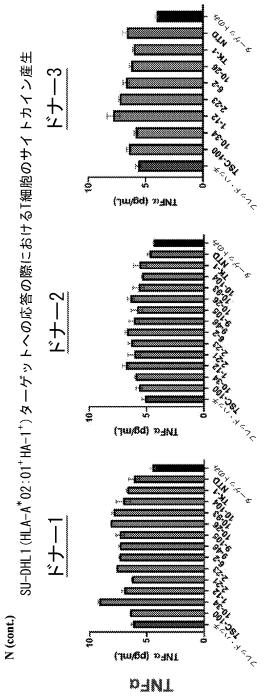
【図７Ｍ－２】



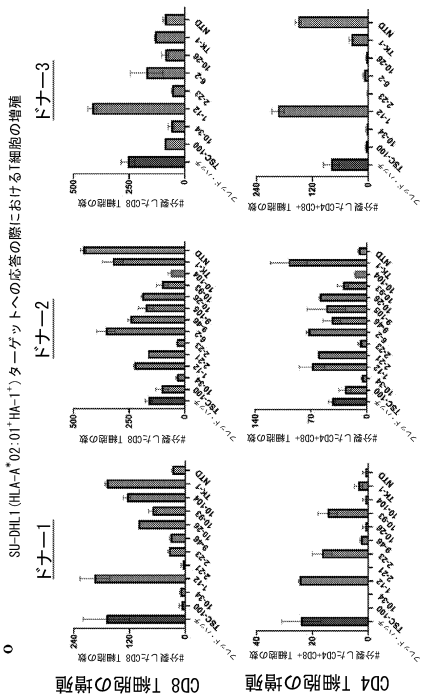
【図７Ｎ－１】



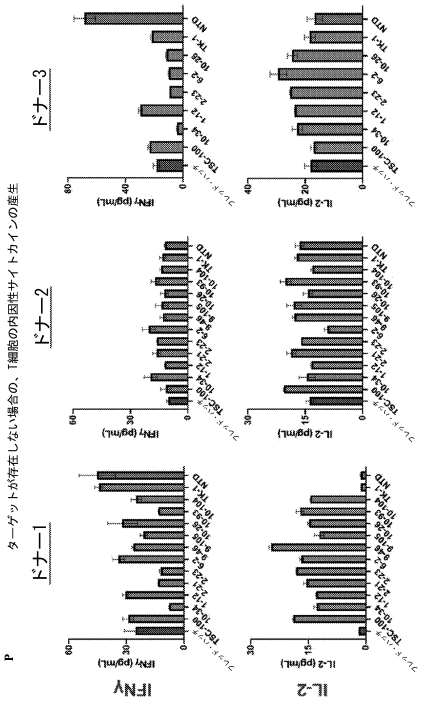
【図７Ｎ－２】



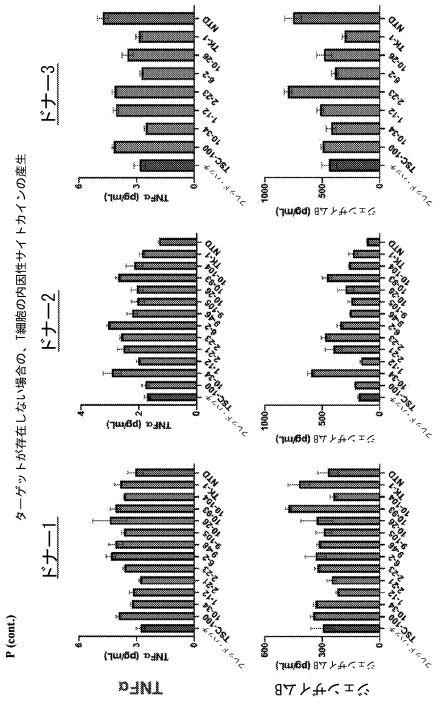
【図７Ｏ】



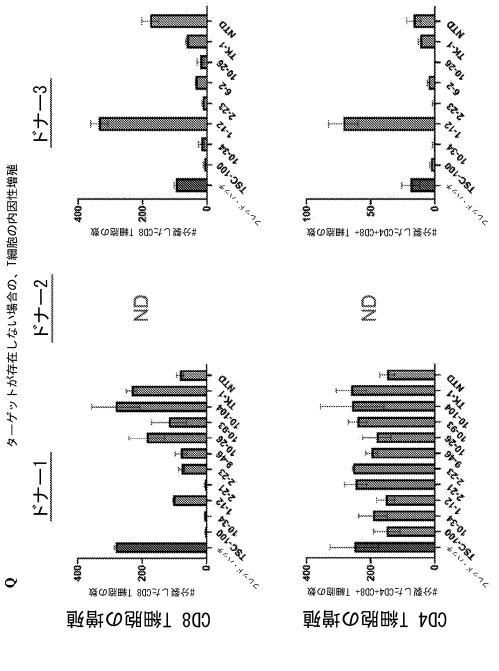
【図７Ｐ－１】



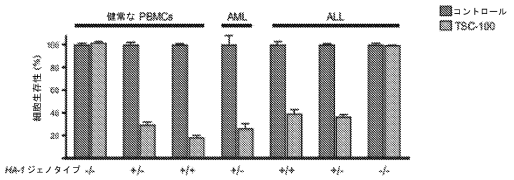
【図７Ｐ－２】


P (cont.)
ターゲットが存在しない場合の、T細胞の内因性サイトカインの産生
ドナー1
ドナー2
ドナー3
TNFα
インターフェロンγ
TNFα (pg/mL)
インターフェロンγ (pg/mL)
TSC-100
10-34
1-12
2-23
6-2
10-28
TK-1
NTD

【図７Ｑ】


Q
ターゲットが存在しない場合の、T細胞の内因性増殖
ドナー1
ドナー2
ドナー3
ND
CD4 T細胞の増殖
CD8 T細胞の増殖
#分裂したCD4+CD8+ T細胞の数
#分裂したCD8 T細胞の数
TSC-100
10-34
1-12
2-23
6-2
10-28
TK-1
NTD

【図８】


健常な PBMCs
AML
ALL
コントロール
TSC-100
細胞生存性 (%)
HA-1 ジェノタイプ -/-
+/-
+/+
+/-
+/+
+/-
-/-

【配列表】
2023549765000001.app

【誤訳訂正書】
【提出日】令和5年8月29日(2023.8.29)
【誤訳訂正１】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】全文
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【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2020年11月6日に出願された米国仮出願第63/110,851号、2020年11月9日に出願された米国仮出願第63/111,462号、2020年12月23日に出願された米国仮出願第63/129,804号、及び2021年4月15日に出願された米国仮出願第63/175,350号の利益を主張する；前記出願の各々の全体内容は、この参照によって、その全体が本出願に取り込まれる。
【背景技術】
【０００２】
AML患者の約30%から40%は、同種異系の造血幹細胞移植療法後に再発し、治療選択肢は、非常に僅かしかない(Pavletic et al. (2010) Biol Blood Marrow Transplant. 16:871-890; Miller et al. (2010) Biol Blood Marrow Transplant. 16:565-586)。しかしながら、HA-1-特異的な、移植片-対-白血病T細胞の応答を自然に発症する稀な患者では、再発率は、実質的により低い(Marijt et al. (2003) PNAS. 100:2742-2747; Spierings et al. (2013) Biol Blood Marrow Transplant. 19:1244-1253)。HA-1(VLHDDLLEA、遺伝子型RS_1801284 A/G又はA/A)は、HLA-A*02:01であり、造血系に限定的なマイナー組織適合性抗原であるので、HA-1は、液性腫瘍に対するTCR免疫療法の為の理想的な候補になる(Bleakley and Riddell (2011) Immunol. Cell Biol. 89:396-407)。HA-1抗原の発現を特徴とする障害を治療する等の為に、HA-1-特異的なTCR免疫療法を開発する必要がある。
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００３】
本発明は、HA-1抗原を認識する、例えば、T細胞レセプター(TCR)等の、結合タンパク質の発見に、少なくとも部分的に、基づいている。
【課題を解決するための手段】
【０００４】
1つの態様では、以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるT細胞レセプター（T cell receptor (TCR)）アルファ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖CDR配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRアルファ鎖CDR配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCRベータ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖CDR配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRベータ鎖CDR配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的に、ここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する、
を提供する。
【０００５】
別の態様では、以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖可変(V_α)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR V_αドメイン配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCR V_αドメイ

ン配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCR ベータ鎖可変(Vβ)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR Vβドメイン配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCR Vβドメイン配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的に、ここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する、
を提供する。
【０００６】
更に別の態様では、以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRアルファ鎖配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCRベータ鎖配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRベータ鎖配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的に、ここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する、
を提供する。
【０００７】
更に別の態様では、以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖CDR配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCRベータ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖CDR配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的に、ここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する、
を提供する。
【０００８】
別の態様では、以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖可変(Vα)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR Vαドメイン配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCRベータ鎖可変(Vβ)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR Vβドメイン配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的に、ここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する、
を提供する。
【０００９】
更に別の態様では、以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCRベータ鎖配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的に、ここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する、
を提供する。
【００１０】
本発明によって包含される任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、
1)前記TCRアルファ鎖CDR、TCR Vαドメイン、及び／若しくはTCRアルファ鎖は、表１に列挙されるTRAV、TRAJ、及びTRAC遺伝子の群より選択される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、若しくはそれらフラグメント、によってコードされ

る、並びに／又は、

2)前記TCRベータ鎖CDR、TCR Vβドメイン、及び／若しくはTCRベータ鎖は、表１に列挙されるTRBV、TRBJ、及びTRBC遺伝子の群より選択される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、によってコードされる、並びに／又は、

3)前記結合タンパク質のそれぞれのCDRは、表１に列挙される同種の参考CDR配列と比較して、最大5個の、アミノ酸置換、挿入、欠失、又はそれらの組み合わせ、を有する。

別の実施形態では、HA-1免疫原性ペプチドは、アミノ酸配列VLHDDLLEAを含む。更に別の実施形態では、結合タンパク質は、キメラ、ヒト化、又はヒト、である。更に別の実施形態では、結合タンパク質は、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、単鎖TCR(scTCR)、キメラ抗原レセプター(CAR)、又はTCR及びエフェクター・ドメインを含む融合タンパク質、である、任意選択的に、ここで、前記結合ドメインは、膜貫通ドメイン及び細胞内にあるエフェクター・ドメイン、を含む。別の実施形態では、TCRアルファ鎖、及び前記TCRベータ鎖は、共有結合している、任意選択的に、ここで、前記TCRアルファ鎖、及び前記TCRベータ鎖は、リンカー・ペプチドを介して共有結合している。更に別の実施形態では、TCRアルファ鎖、及び／又は前記TCRベータ鎖は、部分構造に共有結合的に連結している、任意選択的に、ここで、その共有結合的に連結した部分構造は、親和性タグ又は標識、を含む。更に別の実施形態では、親和性タグは、CD34濃縮タグ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)、カルモジュリン結合タンパク質(CBP)、タンパク質Cタグ、Mycタグ、Haloタグ、HAタグ、Flagタグ、Hisタグ、ビオチン・タグ、及びV5タグ、からなる群より選択される、並びに／又は、ここで、前記標識は、蛍光タンパク質である。別の実施形態では、共有結合的に連結した部分構造は、炎症性薬剤、サイトカイン、毒素、細胞傷害性分子、放射性同位体、又は抗体若しくはその抗原-結合フラグメント、からなる群より選択される。更に別の実施形態では、結合タンパク質は、細胞表面上にある前記pMHC複合体に結合する。更に別の実施形態では、MHCは、MHC多量体である、任意選択的に、ここで、前記MHC多量体は、四量体である。別の実施形態では、MHCは、MHCクラスI分子である。更に別の実施形態では、MHCは、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖を含む。更に別の実施形態では、HLA対立遺伝子は、HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*0203、HLA-A*0205、HLA-A*0206、及びHLA-A*207対立遺伝子、からなる群より選択される。別の実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質の、HA-1ペプチド-MHC(pMHC)複合体への結合は、免疫応答を誘発する、任意選択的に、ここで、前記免疫応答は、T細胞応答である。更に別の実施形態では、T細胞応答は、T細胞増殖、サイトカイン放出、及び／又は細胞傷害性傷害、からなる群より選択される。更に別の実施形態では、結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に、約$1x10^{-4}$ M以下、約$5x10^{-5}$ M以下、約$1x10^{-5}$M以下、約$5x10^{-6}$ M以下、約$1x10^{-6}$ M以下、約$5x10^{-7}$M以下、約$1x10^{-7}$ M以下、約$5x10^{-8}$ M以下、約$1x10^{-8}$M以下、約$5x10^{-9}$ M以下、約$1x10^{-9}$ M以下、約$5x10^{-10}$M以下、約$1x10^{-10}$ M以下、約$5x10^{-11}$ M以下、約$1x10^{-11}$M以下、約$5x10^{-12}$ M以下、又は約$1x10^{-12}$ M以下、のK_dで、特異的に及び／又は選択的に、結合することができる。更に別の実施形態では、結合タンパク質は、ペプチド-MHC(pMHC)に対して、既知のT-細胞レセプターよりも、より高い結合親和性を有する。別の実施形態では、結合タンパク質は、ペプチド-MHC(pMHC)に対して、既知のT-細胞レセプターよりも、少なくとも1.05倍高い結合親和性を有する。更に別の実施形態では、結合タンパク質は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、既知のT-細胞レセプターよりも、より高い、T細胞増殖、サイトカイン放出、及び／又は細胞傷害性傷害、を誘導する。更に別の実施形態では、結合タンパク質は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、既知のT-細胞レセプターよりも、少なくとも1.05倍増加した、T細胞増殖、サイトカイン放出、及び／又は細胞傷害性傷害、を誘導する。本出願で使用する場合、倍率変化への言及は、いくつかの実施形態では、任意の関心とする

参考モダリティとの比較（例えば、異なる結合タンパク質との比較；異なる免疫細胞での、異なるレベルでの、本出願に記載される他の薬剤との組み合わせでの、同じ結合タンパク質の発現、のような異なる状況下での、同じ結合タンパク質との比較；等）であることがある。 別の実施形態では、ターゲット細胞は、THP-1又はTF1細胞株、である。更に別の実施形態では、ターゲット細胞は、がん細胞である、任意選択的に、ここで、前記がん細胞は、造血系がん細胞、白血病細胞、リンパ腫細胞、骨髄異形成障害細胞、骨髄増殖性新生物細胞、又は骨髄腫細胞、である。更に別の実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質は、HA-1^{R}ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合しない、ここで、前記HA-1^{R}ペプチドは、アミノ酸配列VLRDDLLEAを含む。更に別の実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質は、CCDC114ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合しない、任意選択的に、ここで、前記CCDC114ペプチドは、SMIDDLLGVである。

【００１１】

更に別の態様では、表１に列挙された、TCRアルファ鎖の配列、及びTCRベータ鎖の配列、からなる群より選択される、TCRアルファ鎖、及び／又はTCRベータ鎖、を提供する。

【００１２】

別の態様では、表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸の相補体と、又は表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸に対して、少なくとも約80%の相同性を有する配列と、ストリンジェントな条件(stringent condition)下で、ハイブリダイズする単離された核酸分子、

任意選択的に、ここで、前記単離された核酸分子は、

1）表１に列挙されるTRAV、TRAJ、及びTRAC 遺伝子の群より選択される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、並びに／又は、

2）表１に列挙されるTRBV、TRBJ、及びTRBC遺伝子の群より選択される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、

を含む、

を提供する。

【００１３】

本発明によって包含される任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、核酸は、宿主細胞における発現の為に、コドンが最適化されている。

【００１４】

更に別の態様では、本出願に記載される単離された核酸を含むベクター、を提供する。

【００１５】

本発明によって包含される任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、ベクターは、クローニング・ベクター、発現ベクター、又はウイルス・ベクター、である。別の実施形態では、ベクターは、CD8αを及び／又はCD8βをコードする核酸配列、を更に含む。更に別の実施形態では、CD8αを又はCD8βをコードする核酸配列は、タグをコードする核酸に作動可能に連結されている。更に別の実施形態では、タグをコードする核酸は、前記CD8αを又はCD8βをコードする核酸配列の5'上流にあり、その結果、前記タグは、CD8αの又はCD8βの、N末端で融合している。別の実施形態では、タグは、CD34濃縮タグである。更に別の実施形態では、本出願に記載される単離された核酸、並びに、前記CD8αを及び／又はCD8βをコードする核酸配列は、配列内リボソーム進入部位(internal ribosome entry site)と、又は自己切断ペプチドをコードする核酸配列と、相互連結している。更に別の実施形態では、自己切断ペプチドは、P2A、E2A、F2A、又はT2A、である。

【００１６】

更に別の態様では、本出願に記載される単離された核酸を含む、本出願に記載されるベクターを含む、及び／又は本出願に記載される結合タンパク質を発現する、宿主細胞、任意選択的に、ここで、前記細胞は、遺伝子操作されている、
を提供する。
【００１７】
本発明によって包含される任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、宿主細胞は、TCR遺伝子の、HLA遺伝子の、又はその両方の、染色体遺伝子の、ノックアウトを含む。別の実施形態では、宿主細胞は、αlマクログロブリン遺伝子、α2マクログロブリン遺伝子、α3マクログロブリン遺伝子、β1ミクログロブリン遺伝子、β2ミクログロブリン遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるHLA遺伝子、のノックアウトを含む。更に別の実施形態では、宿主細胞は、TCRα可変領域遺伝子、TCRβ可変領域遺伝子、TCR定常領域遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるTCR遺伝子、のノックアウトを含む。更に別の実施形態では、宿主細胞は、CD8αを及び／又はCD8βを、発現する。別の実施形態では、CD8α及び／又はCD8βは、CD34濃縮タグに融合している。更に別の実施形態では、宿主細胞は、CD34濃縮タグを用いて富化されている。更に別の実施形態では、宿主細胞は、造血始原細胞（progenitor cell）、末梢血単核細胞(peripheral blood mononuclear cell (PBMC))、臍帯血細胞、又は免疫細胞、である。別の実施形態では、免疫細胞は、細胞傷害性リンパ球、細胞傷害性リンパ球前駆細胞（precursor cell）、細胞傷害性リンパ球始原細胞（progenitor cell）、細胞傷害性リンパ球幹細胞、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、CD4/CD8ダブル・ネガティブT細胞、ガンマ・デルタ(γδ)T細胞、ナチュラル・キラー(NK)細胞、NK-T細胞、樹状細胞、又はそれらの組み合わせ、である。別の実施形態では、T細胞は、ナイーブT細胞、セントラル・メモリーT細胞(central memory T cell)、エフェクター・メモリーT細胞(effector memory T cell)、又はそれらの組み合わせ、である。更に別の実施形態では、T細胞は、初代T細胞、又はT細胞株の細胞、である。更に別の実施形態では、T細胞は、内因性のTCRを発現しない、又は内因性のTCRの細胞表面発現がより低い。別の実施形態では、宿主細胞は、MHC分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞と接触した場合に、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。更に別の実施形態では、宿主細胞は、in vitro、ex vivo、又はin vivo、でターゲット細胞と接触する。更に別の実施形態では、サイトカインは、TNF-α、IL-2、及び／又はIFN-γ、である。別の実施形態では、細胞傷害性分子は、パーフォリン類及び／又はグランザイム類である、任意選択的に、ここで、前記細胞傷害性分子は、グランザイムBである。更に別の実施形態では、宿主細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。更に別の実施形態では、宿主細胞は、少なくとも1.05倍高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。別の実施形態では、宿主細胞は、MHC分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞を傷害することができる。更に別の実施形態では、傷害を、傷害アッセイによって測定する。更に別の実施形態では、傷害アッセイにおける、宿主細胞とターゲット細胞との比率は、20:1から0.625:1である。別の実施形態では、ターゲット細胞は、1 μg/mLから50 pg/mLのHA-1ペプチドでパルスしたT2細胞である。更に別の実施形態では、宿主細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より多数のターゲット細胞を傷害することができる。更に別の実施形態では、宿主細胞は、少なくとも1.05倍多数のターゲット細胞を傷害することができる。別の実施形態では、ターゲット細胞は、THP-1又はTF1細胞株である。更に別の実施形態では、HA-1免疫原性ペプチドは、アミノ酸配列VLHDDLLEAを含む。更に別の実施形態では、MHC分子は、MHCクラスI分子である。別の実施形態では、MHC分子は、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖を含む。更に別の実施形態では、HLA対立遺伝子は、HLA-A*02:01、H

LA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、及びHLA-A*02:07対立遺伝子、からなる群より選択される。更に別の実施形態では、ターゲット細胞は、SupM2、THP-1、及びTF1細胞株からなる群より選択される細胞株である、HA-1を発現する造血系がん細胞である、又はSU-DHL1ではない。別の実施形態では、がん細胞は、白血病、リンパ腫、骨髄異形成障害、骨髄増殖性新生物、又は骨髄腫、からなる群より選択される血液悪性腫瘍(hematological malignancy)の細胞である。更に別の実施形態では、

a)宿主細胞は、MHC分子の中にCCDC114ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞と接触させた場合に、T細胞増殖、サイトカイン放出、若しくは細胞傷害性傷害を誘導しない、並びに／又は、

b)宿主細胞は、HA-1抗原を発現しない、本出願に記載の結合タンパク質によって認識されない、血清型HLA-A*02の細胞ではない、及び／若しくはHLA-A*02対立遺伝子（例えば、HLA-A*02:01及び／若しくはHLA-A*02:06、等）を発現しない。

【００１８】

別の態様では、本出願に記載される宿主細胞の集団、を提供する。

【００１９】

更に別の態様では、

以下を含む組成物：

a）本出願に記載の結合タンパク質、

b）本出願に記載の単離された核酸、

c）本出願に記載のベクター、

d）本出願に記載の宿主細胞、及び／又は、

e）本出願に記載の宿主細胞の集団、

並びに担体、

を提供する。

【００２０】

更に別の態様では、

以下を含むデバイス又はキット：

a）本出願に記載の結合タンパク質、

b）本出願に記載の単離された核酸、

c）本出願に記載のベクター、

d）本出願に記載の宿主細胞、及び／又は、

e）本出願に記載の宿主細胞の集団、

ここで、前記デバイス又はキットは、任意選択的に、a)、d)及び／又はe)がpMHC複合体に結合すること、を検出する為の試薬、を含む、

を提供する。

【００２１】

別の態様では、

本出願に記載される結合タンパク質を産生する方法、ここで、前記方法は、以下のステップを含む：

(i)本出願に記載される結合タンパク質をコードする配列を含む核酸によって形質転換された、形質転換済み宿主細胞を、前記結合タンパク質が発現することが可能になるのに適した条件下で、培養するステップ；及び、

(ii)発現した結合タンパク質を回収するステップ、

を提供する。

【００２２】

更に別の態様では、

本出願に記載される結合タンパク質を発現する宿主細胞を産生する方法、ここで、前記方法は、以下のステップを含む：

(i)本出願に記載される結合タンパク質をコードする配列を含む核酸を、前記宿主細

胞に導入するステップ；
(ii)その形質転換済み宿主細胞を、前記結合タンパク質が発現することが可能になるのに適した条件下で、培養するステップ、
を提供する。
【００２３】
更に別の態様では、
HA-1抗原の、及び／又はHA-1を発現する細胞の、存在を又は不存在を、検出する方法、任意選択的に、ここで、前記細胞は、過剰増殖性細胞である、前記方法は、本出願に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、又は本出願に記載の少なくとも1種の宿主細胞、を使用することによって、サンプル中の前記HA-1抗原の、存在を又は不存在を、検出するステップを含む、ここで、前記HA-1抗原を検出することは、HA-1抗原、及び／又はHA-1を発現する細胞、が存在することの指標である、
を提供する。
【００２４】
本発明によって包含される任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、少なくとも1種の結合タンパク質、又は少なくとも1種の宿主細胞は、MHC分子の中のHA-1ペプチドと複合体を形成する、及び前記複合体を、蛍光活性化細胞選別(fluorescence activated cell sorting)(FACS)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、放射免疫アッセイ(RIA)、免疫化学的、ウェスタン・ブロット、又は細胞内フロー・アッセイ、の形態で検出する。別の実施形態では、方法は、対象からサンプルを得るステップを更に含む。更に別の実施形態では、方法は、骨髄生検によって、HA-1を発現する細胞を確認するステップを更に含む。
【００２５】
別の態様では、
以下を含む、対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、のレベルを検出する方法：
a)前記対象から得られたサンプルを、本出願に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、本出願に記載の少なくとも1種の宿主細胞、又は本出願に記載の宿主細胞の集団、と接触させるステップ；及び、
b)応答性のレベルを検出するステップ、ここで、コントロールのレベルと比較して、より高いレベルの応答性は、前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、のレベルを示す、
を提供する。
【００２６】
本発明によって包含される任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、コントロールのレベルは、参考数字である。別の実施形態では、コントロールのレベルは、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を有さない対象のレベルである。
【００２７】
更に別の態様では、
対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の進行をモニタリングする為の方法、ここで、前記方法は、以下を含む：
a)本出願に記載の、HA-1抗原の、又はHA-1を発現する関心とする細胞の、レベルを、対象のサンプルにおいて、第1の時点で、検出するステップ；
b)後続の時点で、ステップa)を反復するステップ；並びに、
c)前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の進行をモニタリングする為に、ステップa)及びステッ

プb)において検出した、HA-1抗原の、又はHA-1を発現する関心とする細胞の、レベルを比較するステップ、ここで、ステップa)と比較した、ステップb)において検出した、HA-1抗原の、又はHA-1を発現する関心とする細胞の、存在しない、又は減少したレベルは、前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の進行が、阻害されていることを示す。

【００２８】

本発明によって包含される任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、前記第1の時点と前記後続の時点との間で、対象は、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を治療する為の治療を受けたことがある。

【００２９】

更に別の態様では、

以下を含む、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する療法の有効性を評価する方法：

a) 対象から得られたサンプルと、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する療法の少なくとも1部を前記対象に提供する前に、前記対象から取得した第1のサンプルにおける、本出願に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、本出願に記載の少なくとも1種の宿主細胞、又は本出願に記載の宿主細胞の集団、との間の、応答性の、存在又はレベル、を決定するステップ、並びに、

b) 前記対象から得られたサンプルと、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する療法の少なくとも1部を提供した後に、前記対象から取得した第2のサンプルにおける、本出願に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、本出願に記載の少なくとも1種の宿主細胞、又は本出願に記載の宿主細胞の集団、との間の、応答性の、存在又はレベル、を決定するステップ、

ここで、前記第2のサンプルにおける応答性が、第1のサンプルと比較して、存在しないことは、又はレベルが減少していることは、前記療法が、前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を治療することに対して有効である、ことを示す、

を提供する。

【００３０】

本発明によって包含される任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、応答性のレベルは、a)結合の存在、並びに／又はb)T細胞活性化、及び／若しくはエフェクター機能、によって示される。別の実施形態では、T細胞活性化は、又はエフェクター機能は、T細胞増殖、傷害、又はサイトカイン放出、である。更に別の実施形態では、T細胞結合を、活性化を、及び／又はエフェクター機能を、蛍光活性化細胞選別(fluorescence activated cell sorting)(FACS)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、放射性免疫アッセイ(RIA)、免疫化学的、ウェスタン・ブロット、又は細胞内フロー・アッセイ、を使用して検出する。

【００３１】

別の態様では、

対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を予防する、及び／又は、を治療する、方法、ここで、前記方法は、本出願に記載される少なくとも1種の結合タンパク質を発現する細胞を含む組成物の治療有効量を、前記対象に投与するステップを含む。

【００３２】

本発明によって包含される任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの

実施形態では、細胞は、同種異系細胞、同系細胞、又は自己細胞、である。別の実施形態では、細胞は、遺伝子改変をされている。更に別の実施形態では、細胞は、TCR遺伝子の、HLA遺伝子の、又はTCR遺伝子及びHLA遺伝子の両方の、染色体遺伝子の、ノックアウトを含む。更に別の実施形態では、細胞は、αlマクログロブリン遺伝子、α2マクログロブリン遺伝子、α3マクログロブリン遺伝子、β1ミクログロブリン遺伝子、β2ミクログロブリン遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるHLA遺伝子、のノックアウトを含む。別の実施形態では、細胞は、TCRα可変領域遺伝子、TCRβ可変領域遺伝子、TCR定常領域遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるTCR遺伝子、のノックアウトを含む。更に別の実施形態では、細胞は、CD8αを及び／又はCD8βを、発現する、任意選択的に、ここで、前記CD8αは及び／又はCD8βは、CD34濃縮タグに融合している。更に別の実施形態では、細胞は、CD34濃縮タグを用いて富化されている。別の実施形態では、細胞は、造血始原細胞（progenitor cell）、末梢血単核細胞(peripheral blood mononuclear cell (PBMC))、臍帯血細胞、又は免疫細胞、である。更に別の実施形態では、免疫細胞は、細胞傷害性リンパ球、細胞傷害性リンパ球前駆細胞（precursor cell）、細胞傷害性リンパ球始原細胞（progenitor cell）、細胞傷害性リンパ球幹細胞、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、CD4/CD8ダブル・ネガティブT細胞、ガンマ・デルタ(γδ)T細胞、ナチュラル・キラー(NK)細胞、NK-T細胞、樹状細胞、又はそれらの組み合わせ、である。更に別の実施形態では、T細胞は、ナイーブT細胞、セントラル・メモリーT細胞(central memory T cell)、エフェクター・メモリーT細胞(effector memory T cell)、又はそれらの組み合わせ、である。別の実施形態では、T細胞は、初代T細胞、又はT細胞株の細胞、である。更に別の実施形態では、T細胞は、内因性のTCRを発現しない、又は内因性のTCRの細胞表面発現がより低い。更に別の実施形態では、細胞は、MHC分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞と接触した場合に、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。別の実施形態では、サイトカインは、TNF-α、IL-2、及び／又はIFN-γ、である。更に別の実施形態では、細胞傷害性分子は、パーフォリン類及び／又はグランザイム類である、任意選択的に、ここで、前記細胞傷害性分子は、グランザイムBである。更に別の実施形態では、細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。別の実施形態では、細胞は、少なくとも1.05倍高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。更に別の実施形態では、宿主細胞は、MHC分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞を傷害することができる。更に別の実施形態では、宿主細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より多数のターゲット細胞を傷害することができる。別の実施形態では、宿主細胞は、少なくとも1.05倍多数のターゲット細胞を傷害することができる。更に別の実施形態では、HA-1免疫原性ペプチドは、アミノ酸配列VLHDDLLEAを含む。更に別の実施形態では、MHC分子は、MHCクラスI分子である。別の実施形態では、MHC分子は、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖を含む。更に別の実施形態では、HLA対立遺伝子は、HLA-A*02:01、HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、及びHLA-A*02:07対立遺伝子、からなる群より選択される。更に別の実施形態では、ターゲット細胞は、対象においてHA-1抗原を発現する、非-悪性細胞又は過剰増殖性細胞、である。別の実施形態では、組成物は、薬学的に許容可能な担体を更に含む。更に別の実施形態では、組成物は、対象においてHA-1抗原を発現する、非-悪性細胞又は過剰増殖性細胞、に対する、免疫応答を誘導する。更に別の実施形態では、組成物は、対象においてHA-1抗原を発現する、非-悪性細胞又は過剰増殖性細胞、に対する、抗原-特異的なT細胞免疫応答を誘導する。別の実施形態では、抗原-特異的なT細胞免疫応答は、$CD4^+$ヘルパーTリンパ球(Th)応答及びCD8+細胞傷害性Tリンパ球(CTL)応答のうちの少なくとも1種を含む。更に別の実施形態では、過剰増殖性障害は、血液悪性腫瘍(hematological malignancy)を含む。更に別の実施形態では、血液悪性腫瘍(hematologic

al malignancy)は、白血病、リンパ腫、骨髄異形成障害、骨髄増殖性新生物、又は骨髄腫、を含む。別の実施形態では、血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、白血病を含む。更に別の実施形態では、白血病は、急性骨髄性白血病(acute myeloid leukemia (AML))、急性リンパ球性白血病(acute lymphocytic leukemia (ALL))、混合表現型急性白血病(mixed phenotype acute leukemia (MPAL))、慢性骨髄性白血病(chronic myeloid leukemia (CML))、B細胞前リンパ球性白血病(prolymphocytic leukemia)、ヘアリー細胞白血病(hairy cell leukemia)、又は慢性リンパ球性白血病(chronic lymphocytic leukemia (CLL))、より選択される。更に別の実施形態では、血液障害は、リンパ腫を含む。別の実施形態では、リンパ腫は、ホジキン・リンパ腫(Hodgkin's lymphoma (HL))、非-ホジキン・リンパ腫(non-Hodgkin's lymphoma (NHL))、中枢神経系リンパ腫、小リンパ球性リンパ腫(small lymphocytic lymphoma (SLL))、CD37+樹状細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、粘膜関連（MALT）リンパ組織の節外辺縁帯B-細胞リンパ腫、節性辺縁帯B-細胞リンパ腫、濾胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B-細胞リンパ腫、縦隔（胸腺）大細胞型B-細胞リンパ腫、前駆B-リンパ芽球性リンパ腫、免疫芽球性大細胞リンパ腫、血管内大細胞型B-細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、又はバーキット・リンパ腫、より選択される。更に別の実施形態では、血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄異形成障害(myelodysplastic disorder (MDS))を含む、任意選択的に、ここで、前記MDSは、単一血球系統の異形成を伴う不応性血球減少症(不応性貧血、不応性好中球減少症、及び不応性血小板減少症)、環状鉄芽球を伴う不応性貧血(refractory anemia with ring sideroblasts (RARS))、環状鉄芽球を伴う不応性貧血-血小板増加症(refractory anemia with ring sideroblasts - thrombocytosis (RARS-t))、多血球系異形成を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia (RCMD))、多血球系異形成と環状鉄芽球を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia and ring sideroblasts (RCMD-RS))、芽球増加を伴う不応性貧血(refractory anemia with excess blasts (RAEB))、分類不能型骨髄異形成症候群、小児不応性血球減少症、5番染色体長腕の単独欠失を伴う骨髄異形成症候群(MDS with isolated del(5q))、より選択される。更に別の実施形態では、非-悪性障害は、免疫不全障害である、任意選択的に、ここで、前記免疫不全障害は、重度複合免疫不全症(SCID)、ウィスコット-アルドリッチ症候群(Wiskott-Aldrich syndrome)、オーメン症候群（Omenn syndrome）、X-連鎖リンパ増殖症候群、慢性肉芽腫病、白血球接着不全症、ディジョージ症候群(DiGeorge syndrome)、及び造血幹細胞移植(hematopoietic stem cell transplantation (HCT))の適応症、からなる群より選択される。別の実施形態では、非-悪性障害は、非-悪性血液障害である、任意選択的に、ここで、前記非-悪性血液障害は、鎌状赤血球貧血, サラセミア、再生不良性貧血、血球貪食性リンパ組織症(hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH))、重度の再生不良性貧血、骨髄不全症候群、ファンコニ貧血(Fanconi anemia)、ダイアモンド-ブラックファン貧血(Diamond-Blackfan anemia)、及びシュワックマン・ダイアモンド症候群(Schwachman Diamond syndrome)、からなる群より選択される。更に別の実施形態では、非-悪性障害は、自己免疫障害である、任意選択的に、ここで、前記自己免疫障害は、全身性硬化症又は多発性硬化症である。更に別の実施形態では、対象は、造血細胞移植(HCT)を受けている、又は以前に受けた、任意選択的に、ここで、前記HCTは、HA-1抗原を発現しない、本出願に記載される結合タンパク質によって認識されない、血清型HLA-A*02の細胞ではない、及び／又はHLA-A*02:01対立遺伝子を発現しない、細胞を含む。別の実施形態では、HCTは、HLA構成要素をコードする遺伝子の染色体ノックアウト、TCR構成要素をコードする遺伝子の染色体ノックアウト、又はその両方、を含むドナー(donor)造血細胞を含む。更に別の実施形態では、対象は、以前にリンパ球除去化学療法を受けたことがある。別の実施形態では、リンパ球除去化学療法は、シクロフォスファミド、フルダラビン、抗-胸腺細胞グロブリン、又はそれらの組み合わせ、を含む。更に別の実施形態では、方法は、

前記非-悪性障害、前記過剰増殖性障害、又は前記過剰増殖性障害の再発、に対する少なくとも1種の追加的な治療を、対象に、処方するステップを更に含む。更に別の実施形態では、前記非-悪性障害、前記過剰増殖性障害、又は前記過剰増殖性障害の再発、に対する前記少なくとも1種の追加的な治療は、前記組成物と、同時に、又は連続して、処方される。別の実施形態では、対象は、HA-1の発現を特徴とする障害の動物モデル、及び／又は前記対象は、哺乳動物である、任意選択的に、ここで、前記哺乳動物は、ヒト、霊長類、又は齧歯類、である。

【００３３】

更に別の態様では、CD8αを及び／又はCD8βをコードする核酸配列に、作動可能に連結されたプロモーター、を含む発現ベクター、を提供する。

【００３４】

本発明によって包含される任意の態様に適用され得る、及び／又は本出願に記載される任意の他の実施形態と組み合わせ得る、多数の実施形態を更に提供する。例えば、1つの実施形態では、CD8αを又はCD8βをコードする核酸配列は、タグをコードする核酸に作動可能に連結し、その結果、前記タグは、CD8αに又はCD8βに、融合している。別の実施形態では、タグをコードする核酸は、前記CD8αを又はCD8βをコードする核酸配列の5'上流にあり、その結果、前記タグは、CD8αの又はCD8βの、N末端で融合している。更に別の実施形態では、タグは、CD34濃縮タグである。更に別の実施形態では、ベクターは、TCRαを及び／又はTCRβをコードする核酸配列、を更に含む。別の実施形態では、TCRαは及び／又はTCRβは、変異を有する膜貫通ドメインを、及び／又は変異を有する定常ドメインを、含む。更に別の実施形態では、変異を有する膜貫通ドメイン、及び／又は変異を有する定常ドメインは、内因性の、TCRαの及び／又はTCRβの発現を減少させながらも、TCRαの及び／又はTCRβの細胞表面発現を増強する。更に別の実施形態では、CD8αを及び／又はCD8βをコードする核酸配列は、並びに、TCRαを及び／又はTCRβをコードする核酸配列は、配列内リボソーム進入部位(internal ribosome entry site)と、又は自己切断ペプチドをコードする核酸配列と、相互連結している。別の実施形態では、自己切断ペプチドは、P2A、E2A、F2A、又はT2A、である。更に別の実施形態では、ベクターは、表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸配列、又は表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸に対して、少なくとも約80%の相同性を有する配列、を更に含む、任意選択的に、ここで、前記単離された核酸分子は、1)表１に列挙されるTRAV、TRAJ、及びTRAC遺伝子の群より選択される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、並びに／又は2)表１に列挙されるTRBV、TRBJ、及びTRBC遺伝子の群より選択される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、を含む。更に別の実施形態では、ベクターは、表３に記載の核酸配列を有する。

【００３５】

本特許出願書類には、カラーで作成された少なくとも1つの図面が含まれている。本出願に関する庁は、カラー図面を有する本特許又は特許出願公開の写しを、請求及び必要な手数料の納付に応じて、提供するであろう。

【図面の簡単な説明】

【００３６】

【図１】図１は、TCR探索プラットフォームの模式図を示す。前記TCR探索プラットフォームによって、329個の新規HA-1 TCRが同定された。CD14^{+}単球を、-4日目に6人のHA-1-ネガティブ健常ドナー(donor)のPBMCから単離し、成熟DCに分化させた。-1日目に、ナイーブCD8 T細胞を自己PBMCから単離し、一晩静置した。1 μg/mLのHA-1ペプチド(VLHDDLLEA)でDCを3時間パルスした後、CD8 T細胞及びDCの共-培養を行い、その後11日間、細胞増殖相とした。A*02:01-特異的なHA-1デキストラマーを用いて、デキストラマー染色を実施して、クローンを同定し、次いで、前記クローンを、IL-2の存在下で、照射済みの不適合PBMCを使用して、急速に増殖させた。7日後、HA-

1デキストラマー-ポジティブ細胞を選別し、単一細胞TCRシークエンシングを行った。
【図２】図２Ａ及び図２Ｂは、「やりながら検証する(“validate as you go”(VAYG))」スクリーニングによって、高い発現及び細胞傷害性を有する、11個の抗-HA-1 TCRが同定されたことを示す。TScanの他の10個のTCRもまた、好ましい結合及び応答プロファイルを示すと考えられるが、TSC-100は、特にHA-1レベルが低い場合、ベンチマーク「フレッド・ハッチ（Fred Hutch）」TCR及びTScanの他の10個のTCRと比較して、優れた機能を一貫して示す。図２Ａは、汎-T細胞が、形質導入を受けて、329種のHA-1-特異的なTCRを発現するようになったことを示す。前記TCRの細胞表面発現を、HA-1(VLHDDLLEA)HLA-A*02:01デキストラマー染色によって、評価した。高発現TCRのうちの3つを、ベンチマーク「フレッド・ハッチ（Fred Hutch）」TCRとともに、代表的なデータとして示す。図２Ｂは、1 ng/mLのHA-1ペプチドを負荷したNucLight Red標識をしたT2細胞と共-培養した(E:T=5:1)、操作したT細胞の結果を示す。T2細胞の生存を、T細胞の細胞傷害を測定値として時間-依存的なイメージングによって、定量化した。非-形質導入の細胞をコントロールとした。
【図３】図３Ａから図３Ｄは、最適なベクターは、CD8α及びCD8β、CD34濃縮タグ、並びにHA-1 TCRの定常ドメイン及び膜貫通ドメインにおける改変、のうちの1種以上(例えば、全て)を含むことを示す。図３Ａは、CD4 T細胞を単離し、及び形質導入して、CD8αのみと一緒に、又はCD8αとCD8βの両方と一緒に、のどちらかによって、HA-1-特異的なTCRを発現するようにしたことを示す。操作したT細胞を、様々な濃度のHA-1(VLHDDLLEA)ペプチドを負荷した標識済みのT2細胞と共に、共-培養した(E:T=5:1)、そして、前記T2細胞の増殖（又はその欠如）を、前記T細胞の細胞傷害性の測定値として、IncuCyteで定量した。図３Ｂは、TSC-100送達ベクターが、CD8αのN末端に連結したCD34タグを含み、GMP-準拠のMiltenyi CD34濃縮キットを使用して、操作したT細胞を富化することができることを示す。T細胞を、TSC-100で形質導入し、HA-1(VLHDDLLEA)HLA-A*02:01デキストラマー染色により、CD34発現及びTCR発現について、CD34による富化の前後で、評価した。図３Ｃは、TSC-100の元の配列を、改変済み配列（定常ドメイン(CD)及び膜貫通ドメイン(TM)の中の、残基を最適化して、前記TCRの、表面発現及び適切なアルファ／ベータ対合、が確実になるように設計した）と比較したことを、示す。初代ヒトT細胞に、種々のTCRを形質導入し、適切に対合したTCRの表面発現を、HA-1(VLHDDLLEA)HLA-A*02:01デキストラマー染色によって評価した。図３Ｄは、代表的なベクターの構成を示す。星印は、CD及びTMの改変を示す。
【図４】図４Ａから図４Ｆは、特にHA-1及びHLA-A*02:01の発現が低い場合、TSC-100がフレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）よりも優れていることを示す。汎-T細胞を、TSC-100及びFred Hutch HA-1-特異的なTCRを発現するように形質導入した、並びにHA-1及びHLA-A*02:01を発現するターゲット細胞に対する機能的な応答性について評価した。HA-1^{-}細胞は、VLRDDLLEAアイソフォームを発現し、HA-1^{+}は、HA-1タンパク質のVLHDDLLEAアイソフォームを発現する。図４Ａは、HA-1(VLHDDLLEA)HLA-A*02:01デキストラマー染色によって評価した場合の、TSC-100及びフレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）の発現を示すドット・プロットである。図４Ｂから４Ｆは、ターゲット細胞株に対する、TSC-100及びフレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）の機能的な応答性を示す。SUP-M2 (HLA-A*02:01^{+}HA-1^{+}) (図４Ｂ), THP-1 (HLA-A*02:01^{+}HA-1^{+}) (図４Ｃ), TF-1 (HLA-A*02:01^{lo}HA-1^{lo}) (図４Ｄ), SU-DHL1 (HLA-A*02:01^{+}HA-1^{-}) (図４Ｅ) 及びT細胞のみ(図４Ｆ)の条件。左側の図は、操作したT細胞を、示したE:T比率で、様々なレベルのHA-1を内因性に発現するNuclight Red標識したHLA-A*02:01+細胞株と共-培養したこと、そして、それらの生存を、前記T細胞の細胞傷害性の測定値として、IncuCyteで定量化したこと、を示す。中央の図は、24時間の共-培養上清における(E:T 1:1)、IFN-γ、IL-2、TNF-α及びグランザイムBの産生を示す。SUP-M2及びSU-DHL1細胞は、内因性にグランザイムBを産生する。T細胞のみの条件を用いて、サイトカイン産生のバックグラウンド・レ

ベルを決定した。右側の図は、TSC-100-及びフレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）-発現T細胞の増殖を示す。操作したT細胞を、増殖色素で標識し、ターゲット細胞株と、96時間、共-培養した(E:T 1:1)。色素希釈を用いて、CD8及びCD4 T細胞の増殖を評価した。フロー・サイトメトリーによる解析の前に、計数ビーズをサンプルに加え、分裂したCD8及びCD4 T細胞の絶対数を決定した。TCRを、一元配置ANOVA、続いてDunnettの多重比較検定によって比較した。* P〈0.05, ** P〈0.005, *** P〈0.0005, **** P〈0.0001。これらの実験を、2から3ドナー(donor)で実施し、1人のドナー(donor)からの代表的なデータを示す。TF-1細胞について試験した2人のドナー(donor)のうちの1人において、増殖の差異が観察された。

【図５】図５は、TSC-100が、104種のHLAタイプに対して、同種異系応答性を示さないことを、示す。TSC-100及びフレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）を、同種異系応答性アッセイにおいて試験した。内因性MHCを、CRISPR/Cas9-gRNAリボヌクレオタンパク質送達を用いてHEK293T細胞からノックアウトし、HA-1配列を含む90-残基のタンパク質フラグメントを安定的に発現する細胞株を調製した。次いで、104種の最も一般的なHLAタイプを表す個々のMHCを、レンチウイルス形質導入によって、HA-1^{+}細胞株及びHA-1^{-}細胞株の両方に導入した。96-ウェル・フォーマットの細胞を、TSC-100及びフレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）を発現するヒト初代CD8^{+}T細胞と共に、一晩、インキュベーションを行い、その上清中のIFN-γ濃度を、ELISAによって、測定した。20,000 pg/mLを超える濃度は、本アッセイの線形性がある検出範囲を超えた。

【図６】図６Ａ及び図６Ｂは、TScanのゲノム-ワイド・スクリーニングによって、TSC-100は、検出可能なオフ-ターゲットを有さないとして決定されたのに対し、フレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）のオフ-ターゲットとして、CCDC114(例えば、CCDC114ペプチド抗原SMIDDLLGV等)が同定された、ことを示す。TSC-100(図６Ａ)及びフレッド・ハッチ（Fred Hutch）（図６Ｂ)TCRを、T-Scanプラットフォーム(Kula et al. (2019) Cell 178:1016-1028)を用いて、オフ-ターゲット応答性について、評価した。このゲノム-ワイドの安全性スクリーニングにおいて、TSC-100又はフレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）を発現するT細胞を、HLA-A*02:01^{+}ターゲット細胞のライブラリ（それぞれ異なった90-アミノ酸タンパク質フラグメントを発現する）と共-培養した。まとめると、前記ライブラリは、22-アミノ酸のステップで、どのタンパク質も網羅するフラグメントを含む。フラグメントは、ターゲット細胞によって天然にプロセシングされたものであり、その得られたペプチドは、細胞表面のMHC上に提示される。T細胞がそのターゲットを認識すると、そのT細胞はターゲット細胞を傷害しようと試み、それによって蛍光レポーターは、活性化される。蛍光を発している細胞を単離し、それらの発現カセットをシークエンシングすることによって、TCRの天然のターゲットを明らかにする。約600,000クローンのうち、前記HA-1エピトープを含む、前記ライブラリ中の3クローンのみが、TSC-100を用いたスクリーニングで有意に富化された。フレッド・ハッチTCR（Fred Hutch TCR）を用いた同様のスクリーニングにより、CCDC114は、オフ-ターゲットとして同定された。x-軸は、TScanペプチドーム・ライブラリ（peptidome library）におけるタンパク質フラグメントを表し、y-軸は、入力ライブラリにわたる個々のタイルの富化倍率を表す。

【図７】図７Ａから図７Ｑは、10個の他のTScan HA-1-特異的なTCRが、TSC-100と同様に機能的に活性であることを示す。TSC-100について上述したように、10個の更なるHA-1-特異的なTCRを、上記の説明において、TSC-100について提供したデータと、同じ方法及び同じ実験、を用いて、解析した（例えば、図４に示したデータは、図７Ａから図７Ｑで提供したデータのサブグループである)。例えば、汎-T細胞は、11種のHA-1-特異的なTCR（例えば、TSC-100及びフレッド・ハッチ（Fred Hutch） を含む）、並びに非-機能的なコントロールTCR(TK-1)を発現するように、形質導入をし、HA-1及びHLA-A*02:01を発現するターゲット細胞に対する機能的な応答性について、評価した。HA-1^{-}細胞は、VLRDDLLEAアイソフォームを発現し、HA-1^{+}は、HA-1タンパク

質のVLHDDLLEAアイソフォームを発現する。図７Ａから図７Ｃは、3つのユニークなドナー(donor)について、HA-1(VLHDDLLEA)HLA-A*02:01デキストラマー染色によって評価した場合の、HA-1 TCRの発現を示すドット・プロットである。図７Ｄから図７Ｑは、ターゲット細胞株に対するTCRの機能的な応答性を示す。SUP-M2（HLA-A*02:01^{+}HA-1^{+}）細胞（図７Ｄ - 図7F），THP-1（HLA-A*02:01^{+}HA-1^{+}）細胞（図７Ｇ - 図７Ｉ），TF-1（HLA-A*02:01^{lo}HA-1^{lo}）細胞（図７Ｊ - 図７Ｌ），SU-DHL1（HLA-A*02:01^{+}HA-1^{-}）細胞（図７Ｍ - 図７Ｏ），及びT 細胞のみ(図７Ｐ及び図７Ｑ)を用いた条件の結果を示す。操作したT細胞を、示したE:T比率で、様々なレベルのHA-1を内因性に発現するIncucyte(登録商標)NucLight Red-標識したHLA-A*02:01+細胞株と一緒に、共-培養し、それらの生存を、前記T細胞の細胞傷害性の測定値として、IncuCyte(登録商標)で、定量化した。24時間での、共-培養上清において(E:T 1:1)、IFN-γ、IL-2、TNF-α及びグランザイムBの産生を評価した。HA-1-特異的なTCR-発現T細胞の増殖を定量化する為に、操作したT細胞を、増殖色素で標識し、ターゲット細胞株と、96時間、共-培養した(E:T 1:1)。色素希釈を用いて、CD8及びCD4 T細胞の増殖を評価した。フロー・サイトメトリーによる解析の前に、計数ビーズをサンプルに加え、分裂したCD8及びCD4 T細胞の絶対数を決定した。「T細胞のみ」の条件を用いて、サイトカイン産生の及び増殖の、バックグラウンド・レベルを決定した。SUP-M2及びSU-DHL1は、内因性にグランザイムBを産生する(データは示さず)。TF-1細胞によるIL-2の産生は、試験した全てのドナー(donor)について、T細胞のみの条件についてのバックグラウンド・レベルと同様であった。TF-1細胞に対して応答した細胞傷害性及びサイトカイン産生は、試験した3つのドナー(donor)のうちの2つで観察された。TF-1細胞に対して応答したドナー(donor)1の増殖は、T細胞のみの条件に類似していた(データは示さず)。NDは、実験を行っていないことを示す。TCRを、一元配置ANOVA、続いてコントロールTCRとしてフレッド・ハッチ（Fred Hutch） を用いたDunnett’sの多重比較検定、によって比較した。* P〈0.05。

【図８】図８は、TSC-100がHA-1-ポジティブ細胞に対する特異的な細胞傷害活性を示すこと、を示す。フロー・サイトメトリーに基づく細胞傷害アッセイを実施した。TSC-100操作したT細胞、又は非-形質導入のコントロールT細胞(CellTrace^{TM} Violetで標識した)を、示した初代ターゲット細胞(CellTrace^{TM} FarRedで標識した)と一緒に、1:1の比率で、24時間、共-培養した。前記ターゲット細胞の相対的生存率（即ち、CellTrace^{TM}FarRedイベント)を、固定可能な生存率色素を用いたフロー・サイトメトリーによって、測定した。データを、非-形質導入のコントロールT細胞の共-培養条件に対する、ターゲット細胞の生存率として、表す。　凡例に関連付けられた棒グラフ、曲線、又は他のデータを示す任意の図について、各表示について左から右に提示された棒、曲線、又は他のデータは、前記凡例の上から下、又は左から右へのボックスに、直接的に、及び順番に、対応する。

【発明を実施するための形態】

【００３７】

[発明の詳細な説明]

本発明は、HA-1抗原(例えば、アミノ酸配列VLHDDLLEAを含む免疫原性ペプチド)を認識する、例えば、T細胞レセプター(TCR)等の、結合タンパク質の発見に、少なくとも部分的に、基づく。

【００３８】

本発明は、部分的に、単離した結合タンパク質（例えば、TCR）、結合タンパク質（例えば、TCR）を発現する宿主細胞、結合タンパク質（例えば、TCR）及び結合タンパク質（例えば、TCR）を発現する宿主細胞を含む組成物、前記HA-1抗原を発現する細胞に対するT細胞応答を、診断する方法、予後予測する方法、及びモニタリングする方法、並びに結合タンパク質（例えば、TCR）を発現する宿主細胞を投与することによって、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を予防する、及び／又は、を治療する、方法、に関する。

【００３９】

I．定義

便宜の為に、本明細書、実施例、及び添付の特許請求の範囲において使用する、ある特定の用語を、本明細書にまとめる。

【００４０】

冠詞「a」及び「an」を、本冠詞の文法的な目的物の1つ又は2つ以上(即ち、少なくとも1つ)を指す為に、本出願で使用する。例として、「an element」は、1つのelementを、又は2つ以上のelementを、意味する。

【００４１】

用語「投与する」は、対象に、医薬品を、又は医薬組成物を、提供することを意味する、及び、限定されるものではないが、医療専門家による投与、及び自己-投与、を含む。これには、当業者に既知の様々な方法及び送達システムのいずれかを用いて、治療薬剤を含む組成物を対象に、物理的に導入すること、が含まれる。いくつかの実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質の為の投与経路としては、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、脊髄又は他の非経口投与経路、例えば、注射投与又は点滴、が挙げられる。本出願で使用される用語「非経口投与」は、経腸及び局所投与以外の投与様式、通常は注射投与による投与、を意味する、並びに、限定されるものではないが、静脈内、腹腔内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔(intrathecal)、リンパ内、病巣内、関節包内(intracapsular)、眼窩内、心臓内、皮内、経気管(transtracheal)、皮下、表皮下(subcuticular)、関節内(intraarticular)、被膜下(subcapsular)、くも膜下(subarachnoid)、髄腔内(intraspinal)、硬膜外及び胸骨内の注射投与及び点滴投与、並びにin vivo エレクトロポレーション、が挙げられる。或いは、本出願に記載される結合タンパク質を、非-非経口経路（non-parenteral route）、例えば、局所、表皮又は粘膜投与経路、例えば、鼻腔内、経口、膣、直腸、舌下又は局所投与、により投与することがある。投与をまた、例えば、1回、複数回、及び／又は1回以上の延長期間にわたって、実施することもある。

【００４２】

本出願で使用する場合、用語「抗原」は、任意の、天然免疫原性物質又は合成免疫原性物質、例えば、タンパク質、ペプチド、又はハプテンなど、を指す。抗原は、HA-1抗原、又はそのフラグメントであってよく、それに対して、防御的な免疫応答又は治療的な免疫応答、が望まれる。

【００４３】

本出願で使用する場合、用語「アジュバント」は、抗原の投与、の前に、と一緒に、又は、の後に、投与すると、前記抗原単独の投与と比較して、前記抗原に対する免疫応答の、質を及び／又は強度を、加速する、延長する、及び／又は増強する、物質を指す。アジュバントは、ワクチン接種によって誘導される免疫応答の、強度を及び持続時間を、増加させることができる。

【００４４】

本出願で使用する場合、用語「抗体」は、全抗体、及び任意の抗原結合フラグメント(即ち、「抗原-結合部分」)、又はその単鎖、を含む。「抗体」は、1つの実施形態では、ジスルフィド結合によって相互に連結した、少なくとも2つの重(H)鎖及び2つの軽(L)鎖、又はその抗原結合部位、を含む糖タンパク質を指す。それぞれの重鎖は、重鎖可変領域(本出願ではV_Hと略記する)及び重鎖定常領域から構成される。ある特定の天然に存在する抗体では、前記重鎖定常領域は、3つのドメイン、CH1、CH2及びCH3、から構成される。ある特定の天然に存在する抗体では、それぞれの軽鎖は、軽鎖可変領域(本出願ではV_Lと略記される)及び軽鎖定常領域から構成される。前記軽鎖定常領域は、1つのドメイン、CL、で構成される。前記V_H及びV_L領域を、相補性決定領域(complementarity determining regions (CDR))と呼ぶ超可変性の領域に更に細分することがあり、骨格領域(FR)と呼ばれる、より保存された領域が散在することがある。それぞれのV_H及びV_Lは、3つのCDR及び4つのFRから構成され、アミノ末端からカルボキシ末端まで、以下の順序で配列する：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鎖及び軽鎖

の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。前記抗体の定常領域は、宿主組織又は因子［例えば、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）、及び古典的補体システムの第1成分（Clq）等］への、免疫グロブリンの結合を、媒介することがある。

【００４５】

用語「抗原提示細胞」又は「APC」は、専門の抗原提示細胞（例えば、Bリンパ球、単球、樹状細胞、ランゲルハンス細胞）、並びに他の抗原提示細胞（例えば、ケラチノサイト、内皮細胞、アストロサイト、線維芽細胞、及びオリゴデンドロサイト）、を含む。

【００４６】

本出願で使用する場合、結合タンパク質（例えば、TCR等）に関する用語「抗原-結合部分」は、抗原（例えば、HA-1抗原及び同種MHC/HLA）に（例えば、特異的に、及び／又は選択的に）結合する能力を保持するTCRの1つ以上の部分を指す。そのような部分は、例えば、約8アミノ酸長と約1500アミノ酸長との間、好適には約8アミノ酸長と約745アミノ酸長との間、好適には約8アミノ酸長と約300アミノ酸長との間、例えば約8アミノ酸長から約200アミノ酸長まで、又は約10アミノ酸長から約50アミノ酸長若しくは100アミノ酸長まで、である。TCRの抗原-結合機能は、全長TCRのフラグメントによって行われ得ることが示されている。TCRの用語「抗原-結合部分」内に包含される結合部分の例としては、（i）TCRのVα及びVβドメインからなるFvフラグメント、（ii）単離された相補性決定領域（CDR）、又は（iii）合成リンカーによって任意選択的に連結した2つ以上の単離されたCDRの組み合わせ、が挙げられる。更に、Vα及びVβは別々の遺伝子によってコードされているが、組み換え方法を用いて、Vα及びVβを、単一のタンパク質鎖（この単一のタンパク質鎖中では、Vα及びVβ領域が対合して、一価の分子［単鎖TCR（scTCR）として知られる］が形成される）になることを可能にする合成リンカーによって、Vα及びVβを連結することがある。そのような単鎖TCRはまた、TCRに関する用語「抗原-結合部分」内に、包含されることも意図される。これらのTCRフラグメントを、当業者に既知の従来の技術を用いて得ることができる、及び前記フラグメントを、完全な結合タンパク質と同じ様式で、有用性についてスクリーニングする。抗原-結合部分を、組み換えDNA技術によって、又はインタクトな免疫グロブリンを酵素的に若しくは化学的に切断することによって、産生することがある。

【００４７】

用語「相補性決定領域」及び「CDR」は、「超可変領域」又は「HVR」、と同義である、並びに抗原特異性及び／又は結合親和性を付与する、ある特定の結合タンパク質（例えば、TCR可変領域等）内のアミノ酸の非-連続的な配列を指すことが、当技術分野では知られている。TCRについては、一般的に、各α-鎖可変領域に3つのCDR（αCDRl、αCDR2、及びαCDR3）がある、並びに各β-鎖可変領域に3つのCDR（βCDRl、βCDR2、及びβCDR3）がある。CDR3は、プロセシングされた抗原を認識することに関与する、主なCDRであると考えられている。CDR1及びCDR2は、主に、MHCと相互作用する。

【００４８】

用語「体液」は、身体から、排泄される、又は分泌される、流体、並びに身体から、通常、排泄されない、又は分泌されない、流体（例えば、羊膜流体、房水、胆汁、血液及び血漿、脳脊髄流体、耳垢（cerumen and earwax）、カウパー流体又は尿道球腺液、乳糜、糜粥、糞便、雌射精液（潮吹き）、間質液、細胞内流体、リンパ液、月経、母乳、粘液、胸膜液、膿、唾液、皮脂、精液、血清、汗、滑膜流体、涙、尿、膣潤滑、硝子体液、嘔吐物）を指す。いくつかの実施形態では、体液は免疫細胞を含む、任意選択的に、ここで、前記免疫細胞は、細胞傷害性リンパ球、例えば、細胞傷害性T細胞、及び／又はNK細胞、CD4+ T細胞などである。

【００４９】

用語「コーディング領域（coding region）」は、アミノ酸残基に翻訳されるコドンを含むヌクレオチド配列の領域を指す、一方、用語「ノン-コーディング領域（non-coding region）」は、アミノ酸に翻訳されないヌクレオチド配列の領域（例えば、5'及び3'非翻訳領域）を指す。

【００５０】
用語「相補的」は、２本の核酸鎖の領域間の、又は同じ核酸鎖の２つの領域間の、配列相補性に関する広範な概念を指す。第１の核酸領域のアデニン残基は、第１の領域と逆-平行である第２の核酸領域の残基と、その残基がチミン又はウラシルである場合、特異的な水素結合(「塩基対合」)を形成することができることが知られている。同様に、第１の核酸鎖のシトシン残基は、第１の領域と逆-平行である第２の核酸領域の残基と、その残基がグアニンである場合、特異的な水素結合(「塩基対合」)を形成することができることが知られている。核酸の第１の領域は、同じ又は異なる核酸の第２の領域に対して、その２つの領域が逆平行に配置していて、前記第１の領域の少なくとも１つのヌクレオチド残基が前記第２の領域の残基と塩基対合することができる場合、相補的である。いくつかの実施形態では、前記第１の領域は第１の部分を含む、及び前記第２の領域は第２の部分を含む、それによって、前記第１の部分及び前記第２の部分が逆平行に配置している場合、第１の部分のヌクレオチド残基の少なくとも約５０％、及び他の実施形態では、少なくとも約７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、若しくはそれを超えて、又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、少なくとも約８０％-１００％等、は、前記第２の部分のヌクレオチド残基と、塩基対合することができる。いくつかの実施形態では、前記第１の部分のヌクレオチド残基は、前記第２の部分内のヌクレオチド残基と、塩基対合することができる。

【００５１】
本出願で使用する場合、活性化した免疫細胞に関して、用語「共-刺激する」としては、共-刺激分子が、増殖又はエフェクター機能を誘導する、第２の、非-活性化レセプター媒介シグナル(「共-刺激シグナル」)、を提供することができること、が挙げられる。例えば、共-刺激シグナルは、例えば、Ｔ細胞-レセプター-媒介シグナルを受け取ったＴ細胞において、サイトカイン分泌をもたらすことがある。例えば、活性化レセプターを介して、細胞-レセプター媒介シグナルを受け取った免疫細胞を、本出願では、「活性化免疫細胞」と呼ぶ。

【００５２】
「ＣＤ３」は、６本の鎖の多-タンパク質複合体として、当技術分野で既知である(Abbas and Lichtman, Cellular and Molecular Immunology (9th Edition) (2018); Janeway et al. (Immunobiology) (9th Edition) (2016)を参照のこと)。哺乳動物では、前記複合体は、ＣＤ３γ鎖、ＣＤ３δ鎖、２本のＣＤ３ε鎖、及びＣＤ３ζ鎖のホモ二量体、を含む。前記ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、及びＣＤ３ε鎖は、単一の免疫グロブリン・ドメインを含む免疫グロブリン・スーパーファミリーの、関連する細胞表面タンパク質である。前記ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、及びＣＤ３ε鎖の膜貫通領域は負に荷電している、この特徴により、これらの鎖が、Ｔ細胞レセプター鎖の正に荷電した領域又は残基と、会合することを可能になると考えられている。前記ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、及びＣＤ３ε鎖の細胞内尾部は、それぞれ、免疫レセプター・チロシン-ベースの活性化モチーフ（immunoreceptor tyrosine-based activation motif）又はＩＴＡＭ、として知られる単一の保存されたモチーフを含有し、一方、各ＣＤ３ζ鎖は、３つのＩＴＡＭを有する。理論に拘束されることを望むものではないが、前記ＩＴＡＭは、ＴＣＲ複合体のシグナリング容量にとって重要であると考えられる。本発明に従って使用されるＣＤ３は、例えば、ヒト、マウス、ラット、又は他の哺乳動物等の、様々な動物種に由来することがある。

【００５３】
本出願で使用する場合、「ＴＣＲ複合体の構成要素」は、ＴＣＲ鎖(即ち、ＴＣＲα、ＴＣＲβ、ＴＣＲγ又はＴＣＲδ)、ＣＤ３鎖(即ち、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ、ＣＤ３ε又はＣＤ３ζ)、又は２つ以上のＴＣＲ鎖若しくはＣＤ３鎖によって形成される複合体(例えば、ＴＣＲα及びＴＣＲβの複合体、ＴＣＲγ及びＴＣＲδの複合体、ＣＤ３ε及びＣＤ３δの複合体、ＣＤ３γ及びＣＤ３εの複合体、若しくはＴＣＲα、ＴＣＲβ、ＣＤ３γ、ＣＤ３δ及び２つのＣＤ３ε鎖のサブ-ＴＣＲ複合体)を指す。

【００５４】
「キメラ抗原レセプター(chimeric antigen receptor)」又は「CAR」は、天然には存在しない様式で、又は宿主細胞中に天然には存在しない様式で、互いに連結した、2つ以上のアミノ酸配列を含むように操作した融合タンパク質、を指す、その融合タンパク質は、細胞の表面上に存在する場合に、レセプターとして機能することができる。本発明によって包含されるCARは、膜貫通ドメイン、及び1つ以上の細胞内シグナリング・ドメイン(例えば、エフェクター・ドメイン、任意選択的に、共-刺激ドメインを含む)に連結した、抗原-結合ドメインを含む、細胞外部分（即ち、これらは、免疫グロブリン、又は免疫グロブリン-様分子、例えば、HA-1抗原に特異的なTCR、単鎖TCR-由来の結合タンパク質、抗体に由来するscFv、NK細胞のキラー免疫レセプターから、派生する、若しくは取得する、抗原結合ドメイン、等、から、取得する、又は派生する）を含む(例えば、Sadelain et al. (2013) Cancer Discov. 3:388を参照; Harris and Kranz (2016) Trends Pharmacol. Sci. 37: 220; Stone et al. (2014) Cancer Immunol. Immunother. 63:1163も参照)。
【００５５】
本出願で使用する場合、用語「細胞傷害性Tリンパ球(cytotoxic T lymphocyte (CTL))の応答」は、細胞傷害性T細胞によって誘導される免疫応答を指す。CTL応答は主に$CD8^+$ T細胞によって媒介される。
【００５６】
用語「から本質的になる」は、「含む」と均等ではない、及びある請求項の特定の材料若しくはステップ、又は特許請求される主題の基本的特徴に実質的に影響を及ぼさない材料若しくはステップ、を指す。例えば、タンパク質のドメイン、領域、若しくはモジュール(例えば、結合ドメイン、ヒンジ領域、リンカー・モジュール)又はタンパク質(これは、1つ以上のドメイン、領域、又はモジュールを有することがある)は、以下の場合、特定のアミノ酸配列から本質的になる：ドメインの、領域の、モジュールの、又はタンパク質のアミノ酸配列が、（例えば、アミノ末端で、若しくはカルボキシ末端で、又はドメイン間で、アミノ酸の）伸長、欠失、変異、又はそれらの組み合わせ、を含み、それら伸長、欠失、変異、又はそれらの組み合わせ、が、組み合わさって、ドメインの、領域の、モジュールの、又はタンパク質の長さの最大20%で（例えば、最大15%、10%、8%、6%、5%、4%、3%、2%又は1%で）寄与する、及びドメインの、領域の、モジュールの、又はタンパク質の活性（例えば、結合タンパク質のターゲット結合親和性）に実質的に影響しない（即ち、50%を超えて、前記活性を減少させない、例えば、40%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、又は1%以下）場合。
【００５７】
用語「CCDC114」は、コイルド-コイル・ドメイン含有114（Coiled-Coil Domain Containing 114）、繊毛細胞における外側ダイニン腕ドッキング複合体（outer dynein arm docking complex）の構成要素であるコイルド-コイル・ドメイン含有タンパク質、を指す。この遺伝子における変異は、原発性線毛運動不全症20(primary ciliary dyskinesia 20)を引き起こすことがある。1つの実施形態では、CCDC114は、670個のアミノ酸と75046 Daの分子量を有する。CCDC114の代表的なmRNA及びタンパク質配列を下記の表４に示す。
【００５８】
用語「対象の為の好適な治療レジメンを決定すること（determining a suitable treatment regimen for the subject）」は、本発明に係る解析の結果に、基づいて、又は本質的に基づいて、若しくは少なくとも部分的に基づいて、開始する、改変する、及び／又は終了する、対象の為の治療レジメン（即ち、対象におけるウイルス感染症を、予防する、及び／又は治療する、為に使用する、単一の療法、又は様々な療法の組み合わせ）を決定することを、意味すると解釈される。例えば、再発のリスクを減らすことを目的として、術後にアジュバント療法を開始すること、別の例としては、特定の化学療法の用量を変更すること、が挙げられる。前記決定は、本発明に係る解析の結果に加えて、治療

するべき対象の個人的な特徴に基づくことがある。ほとんどの場合、担当医又は医師が、前記対象に適した治療レジメンを、実際に、決定するであろう。

【００５９】

「フレッド・ハッチ（Fred Hutch）T-細胞レセプター」は、PCT公開公報WO 2018/058002、米国特許第10,538,574号及び米国特許公開2020/0231649、に報告されている、少なくとも1つの、ベンチマークとなるT-細胞レセプターを指す。いくつかの実施形態では、Fred Hutch T-細胞レセプターは、表２に示される配列を有する。

【００６０】

本出願で使用する場合、「造血始原細胞(progenitor cell)」は、造血幹細胞又は胎児組織に由来することがある、及び成熟細胞型（例えば、免疫系細胞）に更に分化することができる、細胞である。例示的な造血始原細胞(progenitor cell)としては、$CD24^{Lo}$ Lin-$CD117^{+}$表現型を有するもの、又は胸腺において見出されるもの(始原胸腺細胞と呼ばれる)、が挙げられる。

【００６１】

本出願で使用される「相同」は、同じ核酸鎖の2つの領域間の、又は2つの異なった核酸鎖の領域間の、ヌクレオチド配列の類似性を指す。両方の領域のヌクレオチド残基の位置が同じヌクレオチド残基によって占められる場合、その領域はその位置で相同である。第1の領域は、第2の領域に対して、各領域の少なくとも1つのヌクレオチド残基の位置が同じ残基によって占められている場合、相同である。2つの領域間の相同性は、同じヌクレオチド残基によって占められる、2つの領域のヌクレオチド残基の位置の割合として、表される。例えば、ヌクレオチド配列5'-ATTGCC-3'を有する領域とヌクレオチド配列5'-TATGGC-3'を有する領域とは、50%の相同性を共有する。いくつかの実施形態では、第1の領域は第1の部分を含む、及び第2の領域は第2の部分を含む、それによって、前記部分の各々の核酸残基の位置の少なくとも約50%、及び、他の実施形態では、少なくとも約75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくはそれを超えて、又は少なくとも約80%-100%など、間の、包含的な、任意の範囲、は、同じヌクレオチド残基によって占められる。いくつかの実施形態では、前記部位の各々の全てのヌクレオチド残基の位置は、同じヌクレオチド残基によって占められる。

【００６２】

本出願で使用される場合、用語「HA-1抗原」又は「HA-1ペプチド抗原」又は「HA-1含有ペプチド抗原」又は「HA-1エピトープ」又は「HA-1ペプチド・エピトープ」又は「HA-1ペプチド」は、HMHA1タンパク質（これは、ARHGAP45としても知られる、及び全ての血中細胞の中で高いレベルで発現するが、他の組織では発現しない、細胞内タンパク質である）の、天然に産生される、又は合成的に産生される、ペプチド部分を指す。ARHGAP45には2つの形態がある。HA-1-ポジティブの個体では、前記ペプチドは、配列VLHDDLLEAを有する、及び前記個体が、例えば、HLAタイプA*02:01又はHLAタイプA*02:06等のHLA A*02血清型を有する場合(Torikai et al. (2007) Bone Marrow Transplant. 40:165-174)、前記抗原は、血液細胞の表面上に効率的に提示される。HA-1-ネガティブの個体では、前記ペプチドは、配列VLRDDLLEAを有する、及び前記HA-1抗原は、提示されない。約60%の人がVLHDDLLEA配列を有する、並びに米国の人々の約42%がHLAタイプA*02:01を有する、これは、米国の約25%の個人がHA-1-ポジティブ且つHLAタイプA*02:01ポジティブ、であることを意味する。HCTを受けている患者に関する研究によって、HA-1-ネガティブ・ドナー(donor)のT細胞が、HA-1-ポジティブの患者において、HA-1に対する応答を自然に発現する場合、前記T細胞は、特異的な移植片-対-白血病(graft-versus-leukemia (GvL))作用を媒介し、前記患者は、しばしば長期の寛解を経験する、ことが示された。いくつかの実施形態では、本出願に記載される組成物及び治療方法は、この臨床的な観察に基づく、及びHCTを受けている患者において、このGvL効果を特異的に引き起こすように設計されている。HA-

1抗原タンパク質は、約7アミノ酸から、約8アミノ酸から、約9アミノ酸から、約10アミノ酸から、最大約20アミノ酸まで、の長さの範囲であることがある、及びR139H置換多型を含む、MHC（例えば、HLA）分子と複合体を形成することがある、並びに、HA-1ペプチド：MHC（例えば、HLA）複合体に対して特異的な本開示の結合タンパク質は、このような複合体と結合（例えば、特異的に結合）することがある。例示的なHA-1ペプチド抗原は、アミノ酸VLHDDLLEAを有するペプチドを含む、ここで、その配列中の太字（本翻訳文では太字が使えないので下線を付した）のヒスチジンは、R139H多型を表す。用語「HA-1^{R}」又は「HA-1^{-}H」は、R139Hを有するHA-1抗原を意味する。

【００６３】

用語「HA-1抗原の発現を特徴とする過剰増殖性障害」は、前記HA-1抗原が、対象において、少なくともいくつかの過剰増殖している細胞が発現するMHC(例えば、HLA)複合体の中に存在する、任意の過剰増殖性障害であることがある。HA-1:HLA複合体を特徴とする過剰増殖性障害の例としては、血液悪性腫瘍(hematological malignancy)、が挙げられる。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)としては、白血病(例えば、急性白血病又は慢性白血病)、が挙げられる。特定の実施形態では、前記白血病は、急性骨髄性白血病(AML)、急性リンパ球性白血病(ALL)、混合表現型急性白血病(MPAL)、慢性骨髄性白血病(CML)、B細胞前リンパ球性白血病(prolymphocytic leukemia), ヘアリー細胞白血病(hairy cell leukemia)、又は慢性リンパ球性白血病(CLL)、を含む。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、リンパ腫を含む。ある特定の実施形態では、前記リンパ腫は、ホジキン・リンパ腫(Hodgkin's lymphoma(HL))、非-ホジキン・リンパ腫(non-Hodgkin's lymphoma(NHL))、中枢神経系リンパ腫、小リンパ球性リンパ腫(small lymphocytic lymphoma(SLL))、CD37+樹状細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、形質細胞骨髄腫、骨外性形質細胞腫、粘膜関連（MALT）リンパ組織の節外辺縁帯B-細胞リンパ腫、節性辺縁帯B-細胞リンパ腫、濾胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B-細胞リンパ腫、縦隔（胸腺）大細胞型B-細胞リンパ腫、前駆B-リンパ芽球性リンパ腫、免疫芽球性大細胞リンパ腫、血管内大細胞型B-細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、バーキット・リンパ腫／白血病、悪性度不明なB-細胞増殖症、リンパ腫様肉芽腫症(lymphomatoid granulomatosis)、及び移植後リンパ球増殖性障害、を含む。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄異形成障害(MDS)、例えば、単一血球系統の異形成を伴う不応性血球減少症(不応性貧血、不応性好中球減少症、及び不応性血小板減少症)、環状鉄芽球を伴う不応性貧血(refractory anemia with ring sideroblasts (RARS))、環状鉄芽球を伴う不応性貧血-血小板増加症(refractory anemia with ring sideroblasts - thrombocytosis (RARS-t))、多血球系統の異形成を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia (RCMD))、多血球系統の異形成と環状鉄芽球を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia and ring sideroblasts (RCMD-RS))、芽球増加を伴う不応性貧血(refractory anemia with excess blasts (RAEB))、分類不能型骨髄異形成症候群、及び小児不応性血球減少症、5番染色体長腕の単独欠失を伴う骨髄異形成症候群(MDS with isolated del(5q))、並びに他の既知のMDSサブタイプ（例えば、nbci.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC655460/、のWorld Wide Web で、利用可能な、2016 World Health Organization MDS classificationを参照）、を含む。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄増殖性新生物(myeloproliferative neoplasms (MPN))（例えば、骨髄線維症、真性赤血球増加症、本態性血小板血症(essential thrombocythemia)、慢性骨髄単球性白血病、慢性骨髄増殖性疾患-分類不能、慢性好中球性白血病、慢性好酸球性白血病、及びMPN-特に特定無し、等）を含む。更なる実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄腫を含む。

【００６４】

用語「免疫応答」としては、T細胞媒介性の、及び／又はB細胞媒介性の免疫応答、が挙げられる。例示的な免疫応答としては、T細胞応答、例えば、サイトカイン産生及び細胞傷害性、が挙げられる。加えて、用語免疫応答としては、T細胞活性化によって間接的に有効となる免疫応答、例えば、抗体産生(体液性応答)、及びサイトカイン応答性細胞（例えば、マクロファージ）の活性化、が挙げられる。

【００６５】

免疫応答又は免疫系を刺激する能力が増加することは、T細胞共-刺激レセプターのアゴニスト活性が高まること、及び／又は阻害レセプターのアンタゴニスト活性が高まること、から生じることがある。免疫応答又は免疫系を刺激する能力が増加することは、免疫応答を測定するアッセイ、例えば、サイトカイン又はケモカイン放出、細胞溶解活性(ターゲット細胞について直接的に、又はCD107aを、若しくはグランザイムを検出することを介して間接的に、測定される)及び増殖、の変化を測定するアッセイ、における、EC_{50}の倍数増加によって、又は活性の最大レベルによって、反映されることがある。免疫応答又は免疫系を刺激する能力は、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、250%、300%、350%、400%、500%、又はそれを超えて、高まることがある。

【００６６】

用語「免疫療法剤」としては、宿主の免疫系を刺激して、対象におけるウイルス感染に対する免疫応答を生じさせることができる、任意の分子、ペプチド、抗体又は他の薬剤、を挙げることができる。様々な免疫療法剤が、本出願に記載される組成物及び方法において、有用である。

【００６７】

用語「免疫細胞」は、骨髄における造血幹細胞［これは、2つの主要な系統：骨髄性始原細胞(progenitor cell)(例えば、単球、マクロファージ、樹状細胞、巨核球及び顆粒球、等の骨髄性細胞を生じる)；及びリンパ系始原細胞(progenitor cell)(例えば、T細胞、B細胞、及びナチュラル・キラー(NK)細胞、等のリンパ細胞を生じる)、を生じる］から生じる、前記免疫系の任意の細胞、を指す。例示的な免疫系細胞としては、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、CD4 CD8ダブル・ネガティブT細胞、gd T細胞、調節性T細胞、ナチュラル・キラー細胞、及び樹状細胞、が挙げられる。マクロファージ及び樹状細胞は、「抗原提示細胞」又は「APC」と呼ばれることがあり、これらは、ペプチドと複合体を形成したAPCの表面上の主要組織適合性遺伝子複合体(MHC)レセプターが、T細胞の表面上のTCRと相互作用する場合に、T細胞を活性化することができる、特殊化した細胞、である。

【００６８】

「単離されたタンパク質」は、細胞から単離した場合では、若しくは組み換えDNA技術によって産生した場合、他のタンパク質、細胞物質、分離培地、及び培養培地、を実質的に含まない、又は化学的に合成した場合では、化学的前駆体、若しくは他の化学物質、を実質的に含まない、タンパク質を指す。「単離された」、又は「精製された」、タンパク質、又はその生物学的に活性な部分は、前記結合タンパク質の、抗体の、ポリペプチドの、ペプチド又は融合タンパク質の由来源である、細胞、若しくは組織、に由来する、細胞物質若しくは他の混入タンパク質を、実質的に含まない、又は化学的に合成した場合では、化学的前駆体若しくは他の化学物質を、実質的に含まない。「細胞物質を実質的に含まない」という言葉は、前記タンパク質を単離する細胞の、又は前記タンパク質を組み換えにより産生する細胞の、細胞構成要素から、前記タンパク質を分離する、という、バイオマーカー・ポリペプチドの調製、又はそのフラグメントの調製、を含む。1つの実施形態では、「細胞物質を実質的に含まない」という言葉は、約30%(乾燥重量で)未満の非-バイオマーカー・タンパク質(本出願では、「混入タンパク質」とも呼ぶ)、若しくは、いくつかの実施形態では、約25%、20%、15%、10%、5%、1%、若しくはそれ未満、又は約1%から5%未満など、間の、包含的な、任意の範囲の、非-バイオマーカー・タンパ

ク質、を有する、バイオマーカー・タンパク質の調製、又はそのフラグメントの調製、を含む。結合タンパク質、抗体、ポリペプチド、ペプチド若しくは融合タンパク質、又はそれらのフラグメント、例えば、生物学的に活性なそれらのフラグメント、を組み換えにより生成する場合、それは、培養培地を実質的に含まないことがある、即ち、培養培地は、前記タンパク質調製物の体積の、約20%、15%、10%、5%、1%、若しくはそれ未満、又は約1%から5%未満など、間の、包含的な、任意の範囲、を表す。

【００６９】

本出願で使用する場合、用語「アイソタイプ」は、重鎖定常領域遺伝子によってコードされる抗体のクラス(例えば、IgM、IgG1、IgG2C等)を指す。

【００７０】

本出願で使用する場合、用語「K_D」は、特定の結合タンパク質-抗原相互作用の解離平衡定数を指すことが意図される。本発明によって包含される結合タンパク質の結合親和性を、標準的な結合タンパク質-ターゲット結合アッセイ、例えば、競合アッセイ、飽和アッセイ、又は標準的なイムノアッセイ、例えば、ELISA若しくはRIA等、によって、測定することがある、又は決定することがある。相対的により低いKd値は、相対的により高い結合親和性を示す(例えば、約$5x10^{-4}$ M(500 uM)以下のKd値は、$1x10^{-4}$M(100 uM)のKd値を含み、100 uMのKdは、500 uMのKdと比較して、相対的により高い結合親和性を示す)。

【００７１】

「キット」は、少なくとも1種の試薬（例えば、本発明によって包含されるマーカーの発現、を特異的に検出する為の、及び／又は、に影響を及ぼす為の、プローブ又は低分子）を含む任意の製造物（例えば、パッケージ、又は容器）である。前記キットを、本発明によって包含される方法を実施する為のユニットとして、宣伝する、配布する、又は販売する、ことがある。前記キットは、本発明によって包含される方法において有用な組成物を表すのに必要な、1種以上の試薬を、含むことがある。いくつかの実施形態では、前記キットは、参考基準（例えば、細胞増殖、分裂、移動、生存又はアポトーシス、を制御するシグナリング経路に影響を及ぼさない、又は調節しない、タンパク質をコードする核酸）を更に含むことがある。当業者は、多くのそのようなコントロール・タンパク質、例えば、限定されるものではないが、一般的な分子タグ(例えば、緑色蛍光タンパク質及びベータ-ガラクトシダーゼ)、GeneOntologyを参照して、細胞増殖、分裂、移動、生存若しくはアポトーシス、を包含する任意の経路の中で、分類されないタンパク質類、又はユビキタスなハウスキーピング・タンパク質（ubiquitous housekeeping proteins）等、を想定することができる。前記キット中の試薬を、個々の容器に入れて、又は2種以上の試薬の混合物を単一の容器に入れて、提供することがある。更に、キット内に、前記組成物の使用を記載する、説明資料、が含まれることがある。

【００７２】

本出願で使用する場合、用語「連結した」は、2つ以上の分子の会合を指す。その結合は、共有結合であっても非-共有結合であってもよい。前記結合はまた、遺伝的(即ち、組み換え的に融合した)であってもよい。そのような結合を、例えば、化学的なコンジュゲーション、及び組み換えタンパク質の産生などの、当技術分野で認識されている、多種多様な技術を用いて達成することができる。

【００７３】

「リンカー」は、いくつかの実施形態では、2つの、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、ドメイン、領域、又はモチーフ、を連結する、アミノ酸配列を指すことがある、及び2つのサブ-結合ドメインの相互作用に適合するスペーサー機能を提供することがあり、その結果、得られるポリペプチドは、ターゲット分子に対する特異的な結合親和性(例えば、scTCR)を保持する、又はシグナリング活性(例えば、TCR複合体)を保持する。いくつかの実施形態では、リンカーは、約2から約35個のアミノ酸、例えば、約4から約20個のアミノ酸、若しくは約8から約15個のアミノ酸、又は約15から約25個のアミノ酸、から構成される。

【００７４】
「主要組織適合性遺伝子複合体」(ＭＨＣ)は、ペプチド抗原を細胞表面に送達する糖タンパク質を指す。ＭＨＣクラスI分子は、膜を貫通する鎖(3つのドメインを有する)及び非-共有結合的に会合したb2ミクログロブリン、を有するヘテロ二量体である。ＭＨＣクラスII分子は、2つの膜貫通糖タンパク質、a及びbから構成され、両方とも膜を貫通する。それぞれの鎖には2つのドメインがある。ＭＨＣクラスI分子は、細胞質ゾルに由来するペプチドを細胞表面に送達し、その細胞表面で、ペプチド抗原-ＭＨＣ(ｐＭＨＣ)複合体は、$CD8^+$ Ｔ細胞によって認識される。ＭＨＣクラスII分子は、小胞システムに由来するペプチドを細胞表面に送達し、その細胞表面で、それらは、$CD4^+$ Ｔ細胞によって認識される。ヒトＭＨＣは、ヒト白血球抗原(human leukocyte antigen (HLA))と呼ばれる。

【００７５】
用語「予防する（prevent）」、「予防すること（preventing）」、「予防（prevention）」、「予防的治療（prophylactic treatment）」等は、疾患、障害、又は症状、を発症する可能性を、対象（この対象は、疾患、障害、又は症状、を有さないが、疾患、障害、又は症状、を発症するリスクがある、又は発症しやすい）において、低下させることを指す。

【００７６】
用語「予後予測(prognosis)」は、ウイルス感染症の可能性のある経過及び結果、又はその疾患からの回復の可能性、に関する予測を含む。いくつかの実施形態では、統計的アルゴリズムを使用することで、個体におけるウイルス感染の予後予測を行う。例えば、前記予後予測は、手術、ウイルス感染症の臨床的なサブタイプの発症、1種以上の臨床的な因子の発生、又はその疾患からの回復、であることがある。

【００７７】
本出願で使用する場合、アミノ酸配列間の「同一性パーセント（percent identity）」は、「相同性パーセント（percent homology）」と同義であり、これを、Karlin and Altschul (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268の、Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877によって改変を受けた、アルゴリズムを用いて、決定する。この記載されたアルゴリズムは、Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410の、ＮＢＬＡＳＴ及びＸＢＬＡＳＴ、のプログラムの中に組み込まれている。ＢＬＡＳＴヌクレオチド検索を、ＮＢＬＡＳＴプログラム、スコア=100、ワード長=12、を用いて行い、本出願に記載されるポリヌクレオチドに相同なヌクレオチド配列を得る。ＢＬＡＳＴタンパク質検索を、ＸＢＬＡＳＴプログラム、スコア=50、ワード長=3、を用いて行い、参考ポリペプチドに相同なアミノ酸配列を得る。比較の為のギャップが入ったアラインメント(gapped alignment)を得る為には、Altschul et al. (1997) Nuc. Acids Res. 25:3389-3402に記載されているように、Gapped ＢＬＡＳＴを利用する。ＢＬＡＳＴ及びGapped ＢＬＡＳＴプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム(例えば、ＸＢＬＡＳＴ及びＮＢＬＡＳＴ)の既定パラメーターを、使用しても良い。

【００７８】
語句「薬学的に許容される担体」は、薬学的に許容される物質、組成物又は媒体、例えば、身体のある臓器、又は部分から、身体の別の臓器、又は部分に、対象化合物を運搬すること、又は輸送すること、に関与する、物質を封入する、液状又は固形の充填剤、希釈剤、賦形剤、又は溶媒、等、を意味する。

【００７９】
用語「組み換え宿主細胞」(又は、単に「宿主細胞」)は、細胞中に天然に存在しない核酸を含む細胞、例えば、組み換え発現ベクターを導入した細胞等、を指す。本発明に係る細胞は、特定の対象細胞だけでなく、そのような細胞の後代も含む、ということは理解されるべきである。ある特定の改変は、変異又は環境の影響のいずれかにより、後の世代において起こることがあるので、そのような後代は、実際には、その親細胞と同一ではないかもしれないが、依然として本発明に係る細胞の用語の範囲内に含まれる。

【００８０】

用語「がん応答」、「免疫療法に対する応答」、又は「T-細胞媒介性の細胞傷害の調節剤／免疫療法の併用療法に対する応答（response to modulators of T-cell mediated cytotoxicity/immunotherapy combination therapy）」は、がん薬剤、例えば、T-細胞媒介性の細胞傷害の調節剤、及び免疫療法、に対する、過剰増殖性障害(例えば、がん)の任意の応答、好ましくは、ネオアジュバント又はアジュバント療法を開始した後の、腫瘍重量及び／又は体積の変化、に関する。用語「ネオアジュバント療法」は、一次治療の前に与えられる治療を指す。ネオアジュバント療法の例としては、化学療法、放射線療法、及びホルモン療法、を挙げることができる。過剰増殖性障害の応答性を、例えば、有効性について、又はネオアジュバント、若しくはアジュバント、の状況において、評価することがあるが、その場合、CT、PET、マンモグラム、超音波又は触診、によって測定して、全身性に介入を行った後の腫瘍のサイズを、初期のサイズ及び寸法と、比較することがある。応答はまた、生検又は外科的切除後の腫瘍を、キャリパー測定することによって、又は病理学的な検査をすることによって、評価することもある。応答を、腫瘍体積におけるパーセンテージ変化のような定量的様式で、又は「病理学的完全奏功」(“pathological complete response”(pCR))、「臨床的完全寛解」(“clinical complete remission”(cCR))、「臨床的部分寛解」(“clinical partial remission”(cPR))、「臨床的安定」(“clinical stable disease”(cSD))、「臨床的進行」(“clinical progressive disease”(cPD))、若しくは他の定性的基準のような定性的様式で、記録することがある。過剰増殖性障害への応答性の評価を、ネオアジュバント療法又はアジュバント療法、の開始後早期に、例えば、数時間後、数日後、数週間後、又は好ましくは数ヶ月後に、行うことがある。応答性の評価の為の典型的なエンドポイントは、ネオアジュバント化学療法の終了時、又は残存腫瘍細胞、及び／若しくは腫瘍床、を外科的に切除した時、である。これは、典型的には、ネオアジュバント療法の開始後3ヶ月である。いくつかの実施形態では、本出願に記載される治療的処置の臨床的な有効性を、臨床的有用率(clinical benefit rate (CBR))を測定することによって、決定することがある。臨床的有用率は、治療終了から少なくとも6ヶ月の時点で、完全寛解(complete remission (CR))にある患者のパーセンテージ、部分寛解(partial remission (PR))にある患者の数、及び安定 (stable disease (SD))である患者の数、の合計を決定することによって、測定する。この式を簡潔に表すと、6ヶ月にわたるCBR=CR+PR+SDである。いくつかの実施形態では、ある特定のがん治療レジメンのCBRは、少なくとも25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、又はそれを超える。がん療法に対する応答性を評価する為の更なる基準は、「生存」に関する、これは、以下の全てを含む：死亡までの生存、全生存としても知られる（ここで、前記死亡は、因果関係又は腫瘍関連のいずれかにもよらない)；「無再発生存（recurrence-free survival）」(ここで、用語再発は、局所再発及び遠隔再発、の両方を含む)；無転移生存（metastasis free survival）；無病生存（disease free survival）(ここで、用語疾患は、がん及びそれに関連する疾患、を含む)。前記生存の長さを、定義した開始点(例えば、診断の時間又は治療の開始)及び終了点(例えば、死亡、再発又は転移)を参考とすることによって、計算することがある。更に、治療の有効性の基準を、化学療法に対する応答性、生存の確率、所与の時間期間内での転移の確率、及び腫瘍再発の確率、を含むように、拡張することがある。例えば、適切な敷居値を決定する為に、ある特定のがん治療レジメンを、対象の集団に処方することがある、及びそのアウトカム(outcome)は、任意のがん治療を処方する前に決定したバイオマーカー測定値と、相関することがある。アウトカムの測定は、ネオアジュバントの設定において、処方される治療に対する病理学的な応答性であることがある。或いは、例えば、全生存及び無病生存等の、アウトカムの測定値を、バイオマーカー測定値が知られているがん療法後の対象について、ある期間にわたってモニタリングすることがある。ある特定の実施形態では、投与する用量は、がん治療薬剤について、当技術分野で既知の、標準的な用量である。対象をモニタリングする時間の期間は、変動することがある。例えば、対象を、少なくとも2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、45、50、55、又は60ヶ月間、モ

ニタリングすることがある。がん療法のアウトカムと相関するバイオマーカー測定の閾値は、実施例のセクションに記載されているものなど、当技術分野で周知の方法を用いて、決定することがある。

【００８１】

示されるように、これらの用語はまた、例えば、再発までの時間（これは、最初のイベントとしての二次原発がん、若しくは再発のエビデンスを伴わない死亡、によって打ち切られる、最初の再発までの期間、である）の増加によって反映されるような、又は全生存（これは、治療から任意の要因による死亡までの期間である）の増加によって反映されるような、改善した予後、を指すこともある。応答すること、又は応答性があることは、刺激に曝露されたときに、達成される有益なエンドポイントが存在すること、を意味する。或いは、刺激への曝露時に、ネガティブな又は有害な症状(symptom)は、最小化する、緩和する、又は減弱する。腫瘍又は対象が好ましい応答を示す可能性を評価することは、腫瘍又は対象が好ましい応答性を示さない(即ち、応答の欠如を示すか、又は非-応答性、を示す)可能性を評価することと、均等であることが理解される。

【００８２】

用語「抵抗性」は、がん療法に対する、がんサンプル又は哺乳動物の、後天的な又は自然の、抵抗性(即ち、治療的処置に応答しないか、又は治療的処置への応答が減少している、若しくは限定的である)を指し、例えば、５％，１０％，１５％，２０％，２５％，３０％，３５％，４０％，４５％，５０％，５５％，６０％，６５％，７０％，７５％，８０％，８５％，９０％，９５％，１００％，若しくはそれを超えて、例えば、2-倍，3-倍，4-倍，5-倍，１０-倍，１５-倍，２０-倍 若しくはそれを超えて、又は間の、包含的な、任意の範囲、で．治療的処置への応答性が減少する。応答性の低下を、抵抗性が獲得される前の、同じがんサンプル若しくは哺乳動物、と比較することによって、又は前記治療的処置に対して抵抗性を有さないことが知られている、種々のがんサンプル若しくは哺乳動物、と比較することによって、測定することがある。化学療法に対する典型的な後天的な抵抗性は「多剤耐性」と呼ばれる。多剤耐性は、P-糖タンパク質によって媒介されることがある、若しくは他のメカニズムによって媒介されることがある、又は哺乳動物が、多剤耐性微生物若しくは微生物の組み合わせ、に感染した場合に生じることがある。治療的処置に対する抵抗性を判定することは、当技術分野においてルーチンである、及び当業者である臨床医の技術の範囲内である、例えば、「感作(sensitizing)」として、本出願に記載されるような、細胞増殖アッセイ及び細胞死アッセイ、によって測定することがある。いくつかの実施形態では、用語「抵抗性を逆転させる(reverses resistance)」は、一次がん療法(例えば、化学療法又は放射線療法)と併せて、第2の薬剤を使用することによって、一次がん療法(例えば、化学療法又は放射線療法)単独では、非処置の腫瘍の腫瘍体積と比較して、腫瘍体積を統計的有意に減少させることができない状況において、非処置の腫瘍の腫瘍体積と比較して、統計的有意なレベル(例えば、p〈0.05)で、腫瘍体積を有意に減少させることができること、を意味する。これを、一般に、未処置の腫瘍が対数的に成長しているときに、腫瘍体積の測定を行うことに、適用する。

【００８３】

少なくとも1種のバイオマーカーの、不存在若しくは存在、又はレベルを、検出する、又は決定する、為に使用される用語「サンプル」は、典型的には、脳組織、脳脊髄流体、全血、血漿、血清、唾液、尿、糞便(stool)(例えば、糞便(feces))、涙、及び任意の他の身体の流体(例えば、「体液」としての定義のもとで上述される)、又は組織サンプル(例えば、生検)、例えば、小腸、大腸サンプル、又は外科的切除組織である。いくつかの実施形態では、本発明によって包含される方法は、前記サンプル中の少なくとも1種のマーカーの、不存在若しくは存在、又はレベルを、検出する、又は決定する、前に、その個体から前記サンプルを得るステップ、を更に含む。

【００８４】

用語「感受性にする」は、がん細胞又は腫瘍細胞を、がん療法(例えば、抗-免疫チェックポイント、化学療法、及び／又は放射線療法)を使って、その関連がんを、より効果的

に治療することができるようにする為の方法で、変化させることを意味する。いくつかの実施形態では、前記治療によって、正常な細胞が過度に傷つく程には、前記正常な細胞は、影響を受けない。治療的処置に対する、感受性の増加を、又は感受性の減少を、例えば、限定されるものではないが、細胞増殖アッセイ(Tanigawa et al. (1982) Cancer Res. 42:2159-2164)、及び細胞死アッセイ(Weisenthal et al. (1984) Cancer Res. 94:161-173; Weisenthal et al. (1985) Cancer Treat Rep. 69:615-632; Weisenthal et al., In: Kaspers G J L, Pieters R, Twentyman P R, Weisenthal L M, Veerman A J P, eds. Drug Resistance in Leukemia and Lymphoma. Langhorne, P A: Harwood Academic Publishers, 1993:415-432; Weisenthal (1994) Contrib. Gynecol. Obstet. 19:82-90) 等、本出願において以下に記載する、特定の治療及び方法の為の、当技術分野における既知の方法に従って、測定する。感受性又は抵抗性をまた、動物において、ある期間（例えば、ヒトについては6月、及びマウスについては4～6週）での腫瘍サイズの減少を測定することによって、測定することもある。組成物は又は方法は、そのような組成物が又はそのような方法が無い場合での治療への感受性又は抵抗性と比較して、治療への感受性の増加が、又は抵抗性の減少が、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、若しくはそれを超えて、例えば、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、15倍、20倍、若しくはそれを超えて、又は間の、包含的な、任意の範囲、になる場合、治療的処置への応答性を感受性にする。治療的処置に対する、感受性の決定は、又は抵抗性の決定は、当技術分野において、ルーチンである、及び通常の技術を有する臨床医の技術の範囲内である。がん療法の有効性を高める為の、本出願に記載される任意の方法を、過剰増殖性の細胞を、又はその他のがん性細胞（例えば、抵抗性細胞）を、前記がん療法に対して感受性にさせる為の方法に、等しく適用することができることを、理解されたい。

【００８５】

用語「低分子」は、当技術分野の用語である、及び分子量約1000未満の分子、又は分子量約500未満の分子、を含む。1つの実施形態では、低分子は、ペプチド結合だけで構成されているわけではない。別の実施形態では、低分子は、オリゴマーではない。活性をスクリーニングすることがある例示的な低分子化合物としては、限定されるものではないが、ペプチド、ペプチドミメティック（peptidomimetics）、核酸、糖類(carbohydrates)、有機低分子(例えば、ポリケチド(polyketides))(Cane et al. (1998) Science 282:63-68)、及び天然物抽出ライブラリ、が挙げられる。別の実施形態では、前記化合物は、低分子有機非-ペプチド化合物である。更なる実施形態では、低分子は、生合成的ではない。

【００８６】

用語「特異的結合」は、結合タンパク質が所定の抗原に結合することを指す。典型的には、結合アッセイ、例えば、分析物として関心とする抗原を、及びリガンドとして結合タンパク質を、使用する、BIAcore^{TM} アッセイ装置での表面プラズモン共鳴(SPR)技術、で測定した場合、前記結合タンパク質は、凡そ、約$5x10^{-4}$ M以下、約$1x10^{-4}$ M以下、約$5x10^{-5}$M以下、約$1x10^{-5}$ M以下、約$5x10^{-6}$ M以下、約$1x10^{-6}$M以下、約$5x10^{-7}$ M以下、約$1x10^{-7}$ M以下、約$5x10^{-8}$M以下、約$1x10^{-8}$ M以下、約$5x10^{-9}$ M以下、約$1x10^{-9}$M以下、約$5x10^{-10}$ M以下、約$1x10^{-10}$ M以下、約$5x10^{-11}$M以下、約$1x10^{-11}$ M以下、約$5x10^{-12}$ M以下、約$1x10^{-12}$M以下、若しくは更により小さな値の、又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、約1-50 μM（マイクロモラ）、1-100 μM（マイクロモラ）、0.1-500 μM（マイクロモラ）等、という親和性（K_D）で結合する。いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、所定の抗原以外の、又は密接に関連する抗原以外の、非-特異的抗原(例えば、BSA、カゼイン)への結合に対するその親和性よりも、少なくとも1.1-、1.2-、1.3-、1.4-、1.5-、1.6-、1.7-、1.8-、1.9-、2.0-、2.5-、3.0-、3.5-、4.0-、4.5-、5.0-、6.0-、7.0-、8.0-、9.0-、若しくは10.0-倍、又はより大きい、親和性で、所定の抗原に結合する。語句「抗原を認識

する結合タンパク質」及び「抗原に特異的な結合タンパク質」を、本出願では、用語「抗原に特異的に結合する結合タンパク質」と互換的に使用する。選択的な結合は、ある抗原の結合を、別の抗原の結合から（例えば、特定のファミリーのメンバー又は抗原ターゲットの結合を、関連するファミリーのメンバー又は抗原ターゲットの結合から）識別する結合タンパク質の能力を指す、関連する用語である。例えば、実施例のセクションで提供する解析データは、本出願に記載される結合タンパク質が、HA-1免疫原性エピトープに特異的に結合すること、及び／又は多くの関連するエピトープ(例えば、HA-1免疫原性エピトープ及び密接な関連する配列)に選択的に結合すること（そのようなターゲットを、大多数の、ヒト・ゲノムにおいて利用可能な他の考えられるエピトープから区別する）、を実証する。

【００８７】

用語「対象」は、任意の健常な動物、哺乳動物若しくはヒト、又はHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に罹患している、任意の動物、哺乳動物若しくはヒト、を指す。用語「対象」は、「患者」と互換である。

【００８８】

用語「生存（survive）」は、以下の全てを含む：全生存としても知られる、死亡までの生存（ここで、前記死亡は、原因又は腫瘍関連のいずれとも無関係であっても良い）;「無再発生存(recurrence-free survival)」（ここで、再発という用語は、局所での再発及び遠隔での再発、の両方を含む）；無転移生存（metastasis free survival）；無病生存（disease free survival）（ここで、病（疾患）（disease）という用語は、がん及びそれに関連する疾患、を含む）。前記生存の長さを、定義した開始点（例えば、診断又は治療の開始、の時間）及び終了点（例えば、死亡、再発又は転移）を参照することによって、計算することができる。更に、治療の有効性の基準を、拡張して、化学療法に対する応答性、生存の確率、所与の時間期間内での転移の確率、及び腫瘍再発の確率、を挙げることができる。

【００８９】

用語「相乗効果」は、がん薬剤／療法単独の別個の効果の合計よりも大きい、2種以上の薬剤（例えば、本出願に記載されるHA-1-関連薬剤、及びHA-1の発現を特徴とする障害を治療する為の別の療法）の併用効果、を指す。

【００９０】

本出願で使用される場合、用語「T細胞-媒介性応答（T cell-mediated response）」は、T細胞、例えば、エフェクターT細胞(例えば、$CD8^+$細胞)及びヘルパーT細胞(例えば、$CD4^+$細胞)等、によって媒介される応答を指す。T細胞-媒介性応答としては、例えば、T細胞の細胞傷害及び増殖、が挙げられる。

【００９１】

「転写されたポリヌクレオチド」又は「ヌクレオチド転写物」は、バイオマーカー核酸の転写、並びに、もしあれば、RNA転写物の正常な転写後プロセシング(例えば、スプライシング)、及び前記RNA転写物の逆転写、によって作製される、成熟mRNAの、全部と又は一部と、相補的である又は相同的である、ポリヌクレオチド(例えば、mRNA、hnRNA、cDNA、又はそのようなRNAの若しくはcDNAのアナログ)である。

【００９２】

「T細胞」は、胸腺において成熟する、及びT細胞レセプター(TCR)を産生する、免疫系細胞である。T細胞は、ナイーブ(抗原に曝露されていない；T_{CM}と比較して、CD62L、CCR7、CD28、CD3、CD127、及びCD45RAの発現が増加している、並びにCD45ROの発現が減少している)、メモリーT細胞(T_M)(抗原-経験済み、及び長く生存している)、並びにエフェクター細胞(抗原-経験済み、細胞傷害性)、であることがある。T_Mは、セントラル・メモリーT細胞(central memory T cell)(T_{CM}、ナイーブT細胞と比較した場合、CD62L、CCR7、CD28、CD127、CD45RO、及びCD95の発現が増加している、並びにCD54RAの発現が減少している)、並びにエフェクター・メモリーT細胞(eff

ector memory T cell)(T_{EM}、ナイーブT細胞又はT_{CM}と比較した場合、CD62L、CCR7、CD28、CD45RAの発現が減少している、並びにCD127の発現が増加している)、のサブセットに、更に分けることができる。エフェクターT細胞(T_E)は、T_{CM}と比較して、CD62L、CCR7、CD28の発現が減少している、並びにグランザイム及びパーフォリンについてポジティブである、抗原-経験済みのCD8+細胞傷害性Tリンパ球、を指す。他の例示的なT細胞としては、調節性T細胞、例えば$CD4^+$ $CD25^+$($Foxp3^+$)調節性T細胞、及びTregl7細胞、並びにTrl、Th3、$CD8^+$ CD28、及びQa-1拘束性T細胞（Qa-1 restricted T cell）、が挙げられる。

【００９３】

従来のT細胞（Tconv又はTeffとしても知られる）は、エフェクター機能（例えば、サイトカイン分泌、細胞傷害活性、抗-自己-認識、等）を有し、1種以上のT細胞レセプターが発現することによって、免疫応答を増大させる。Tcon又はTeffは、一般に、Tregではない任意のT細胞集団として定義され、例えば、ナイーブT細胞、活性化T細胞、メモリーT細胞、休止Tcon（resting Tcon）、又は、例えば、Th1系統に若しくはTh2系統に向かって分化したTcon、が挙げられる。いくつかの実施形態では、Teffは、非-Treg T細胞のサブセットである。いくつかの実施形態では、Teffは、CD4+ Teff、又はCD8+ Teff、例えばCD4+ヘルパーTリンパ球（例えば、Th0、Th1、Tfh、若しくはTh17）、及びCD8+細胞傷害性Tリンパ球、である。本出願で更に記載されるように、細胞傷害性T細胞は、CD8+ Tリンパ球である。「ナイーブTcon」は、骨髄で分化した$CD4^+$ T細胞である、並びに胸腺における中心選択（central selection）の、ポジティブ・プロセス及びネガティブ・プロセスを、首尾よく経たが、抗原への曝露によってまだ活性化されていない。ナイーブTconは、一般に、L-セレクチン(CD62L)の表面発現、CD25、CD44又はCD69等の活性化マーカーが存在しないこと、及びCD45RO等のメモリー・マーカーが存在しないこと、を特徴とする。従って、ナイーブTconは、静止している、及び非-分裂である、ホメオスタシス生存の為に、インターロイキン-7(IL-7)及びインターロイキン-15(IL-15)、を必要とすると考えられている（少なくとも、WO 2010/101870を参照されたい)。そのような細胞の、存在及び活性は、免疫応答を抑制する状況において、望ましくない。Tregとは異なり、Tconは、アネルギー性(anergic)ではない、及び抗原に基づくT細胞レセプター活性化に応じて、増殖することがある(Lechler et al. (2001) Philos. Trans. R. Soc. Lond. Biol. Sci. 356:625-637)。

【００９４】

「Tエフェクター」(「T_{eff}」又は「T_E」)細胞は、細胞溶解活性を有するT細胞(例えば、CD4+及びCD8+ T細胞)、並びにTヘルパー(Th)細胞を指し、サイトカインを分泌する、並びに他の免疫細胞を活性化する及び他の免疫細胞に指令を送る、しかし、調節性T細胞(Treg細胞)を含まない。

【００９５】

「T細胞レセプター」又は「TCR」は、MHCレセプターに結合した抗原ペプチドに（例えば、特異的に、及び／又は選択的に）結合することができる、免疫グロブリン・スーパーファミリーのメンバー（可変結合ドメイン、定常ドメイン、膜貫通領域、及び短い細胞質尾部、を有する；例えば、Janeway et al. (1997) Curr. Biol. Publ. 4:33、を参照)である。TCRは、細胞の表面上に、又は可溶型として、見出すことができる、及び一般的に、アルファ鎖及びベータ鎖（それぞれ、TCRα及びTCRβ、としても知られる）を、又はγ鎖及びδ鎖（それぞれ、TCRγ及びTCRδ、としても知られる）を、有するヘテロ二量体からなる。免疫グロブリン（例えば、抗体）のように、TCR鎖（例えば、α鎖及びβ鎖）の細胞外部分は、2つの免疫グロブリン・ドメイン：N-末端に、可変ドメイン（例えば、α-鎖可変ドメイン又はV_α、及びβ-鎖可変ドメイン又はV_β；典型的には、Kabat番号付けに基づいたアミノ酸1から116（Kabat et al. (1991) "Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, Public Health Service National Institutes of Health, 第5版)）、並びにC-末端に及び細胞膜に近接して、1つの定常ドメイン（例えば、α-鎖定常ドメイ

ン又はCα、典型的には、Kabatに基づいたアミノ酸117から259、β-鎖定常ドメイン又はCβ、典型的には、Kabatに基づいたアミノ酸117から295）、を含む。免疫グロブリンとまた同様に、前記可変ドメインは、骨格領域(「FR」)によって分離された、相補性決定領域（「CDR」、超可変領域又は「HVR」とも呼ばれる）を含む（例えば、Fores et al. (1990) Proc. Natl. Acad Sci. US.A. 87:9138; Chothia et al. (1988) EMBO J. 7:3745; Lefranc et al. (2003) Dev. Comp. Immunol. 27:55、を参照）。いくつかの実施形態では、TCRは、T細胞（又はTリンパ球）の表面上に見出され、CD3複合体と会合する。本発明によって包含されるTCRの供給源は、様々な動物種、例えば、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、又は他の哺乳動物等、に由来することがある。

【００９６】

用語「T細胞レセプター」又は「TCR」は、完全なTCR、並びにその抗原-結合部分又は抗原-結合フラグメント、を包含すると理解されるべきである。いくつかの実施形態では、前記TCRは、インタクトな又は完全長のTCR、例えば、αβ型のTCR又はγδ型のTCR等、である。いくつかの実施形態では、前記TCRは、完全長TCRよりも短いが、MHC分子中に結合した特定のペプチドに結合する、例えば、MHC-ペプチド複合体に結合する、抗原-結合部分である。いくつかの場合では、TCRの抗原-結合部分又はフラグメントは、完全長のTCRの又はインタクトなTCRの、構造ドメインの一部分しか含まないが、完全長のTCRが結合する、ペプチド・エピトープ（例えば、MHC-ペプチド複合体等）に、依然として結合することができる。いくつかの場合では、抗原-結合部分は、特定のMHC-ペプチド複合体への結合の為の結合部位を形成するのに十分な、TCRの可変ドメイン（例えば、TCRの、可変α鎖及び可変β鎖等）を含む。一般的に、TCRの可変鎖は、ペプチド、MHC及び／又はMHC-ペプチド複合体の認識に関与する、相補性決定領域(CDR)、を含む。

【００９７】

命名法は、国際免疫遺伝学情報システム(International Immunogenetics Information System (IMGT))によって確立された(Scaviner and Lefranc (2000) Exp. Clin. Immunogenet. 17:83-96 and 97-106; Folch and Lefranc (2000) Exp. Clin. Immunogenet, 17:107-114; T Cell Receptor Factsbook", (2001) LeFranc and LeFranc, Academic Press, ISBN 0-12-441352-8も参照)。前記IMGTは、TCRを記載する為に使用される固有の配列を提供する、及び本出願で記載される配列を、本出願で提供されるそのような固有の配列を参考とすることによって、同定することがある。TCR配列は、imgt.orgのIMGTデータベースで、公に入手可能である。

【００９８】

上記のように、天然のアルファ／ベータ・ヘテロ二量体TCRは、アルファ鎖及びベータ鎖を有する。概して、それぞれの鎖は、可変領域、連結領域（joining region）、及び定常領域を含む、並びに前記ベータ鎖はまた、通常、可変領域と連結領域との間に、短い多様性領域（diversity region）を含む、しかし、この多様性領域は、しばしば、連結領域の一部とみなされる。各々の可変領域は、骨格配列に埋め込まれた、3つの超可変CDR(相補性決定領域)を含む。CDR3は、抗原認識の主なメディエーター(mediator)であることがよく知られている。いくつかのタイプのアルファ鎖可変(Vα)領域、及びいくつかのタイプのベータ鎖可変(Vβ)領域があり、これらは、それらの骨格、CDR1及びCDR2配列によって、並びに部分的に定義されたCDR3配列によって、区別される。前記Vαタイプを、IMGT命名法において、固有のTRAV番号によって、参照する。例えば、「TRAV4」は、固有の骨格、並びにCDR1及びCDR2配列、を有する、並びにTCRからTCRまで保存されるアミノ酸配列によって部分的に定義されるが、TCRからTCRまで変化するアミノ酸配列も含む、CDR3配列を有する、TCR Vα領域を定義する。同様に、「TRBV2」は、固有の骨格、並びにCDR1及びCDR2配列、を有するが、部分的に定義されたCDR3配列のみを有する、TCR Vβ領域を定義する。それぞれ、アルファ遺伝子座内に

、及びベータ遺伝子座内に、54種のアルファ可変遺伝子が存在すること（そのうち44種が機能的である）、及び67種のベータ可変遺伝子が存在すること（そのうち42種が機能的である）、が知られている。

【００９９】

同様に、前記TCRの連結領域は、固有のIMGT TRAJ及びTRBJ命名法によって、定義される、並びに前記定常領域は、IMGT TRAC及びTRBC命名法によって、定義される。ベータ鎖の多様性領域は、IMGT命名法では、略語TRBDと呼ばれる、及び、記載したように、連結したTRBD/TRBJ領域は、しばしば、一緒に連結領域とみなされる。

【０１００】

TCRアルファ及びベータ鎖をコードする遺伝子プールは、種々の染色体上に位置し、別個のV、(D)、J及びC遺伝子セグメントを含み、これらは、T細胞発生の過程での再配列化によって、一緒になる。これは、54種のTCRアルファ可変遺伝子と61種のアルファJ遺伝子との間、又は67種のベータ可変遺伝子、2種のベータD遺伝子と13種のベータJ遺伝子との間、で起こる得る多数の組み換え事象の為に、T細胞アルファ及びベータ鎖に対して、非常に高度な多様性をもたらす。組み換えプロセスは正確ではなく、前記CDR3領域内に更なる多様性を導入する。各々のアルファ及びベータ可変遺伝子はまた、IMGT命名法において、それぞれTRAVxx*01及び*02、又はTRBVx-x*01及び*02、と命名される対立遺伝子バリアントを含むこともあり、それ故に、多様性の量が更に増加する。同様に、TRBJ配列のいくつかは、2種の既知の多様性を有する。(なお、「*」修飾子がないことは、関連する配列について、1種の対立遺伝子のみが知られていることを意味する)。組み換え及び胸腺での選択から生じるヒトTCRの天然のレパートリーは、CDR3多様性から決定される、約10^6種の固有のベータ鎖配列を含むと推定されており(Arstila et al. (1999) Science 286:958-961)、更に高くなることすらあり得る(Robins et al. (2009) Blood 114:4099-4107)。各々のベータ鎖は、少なくとも25種の異なったアルファ鎖と対合すると推定され、それ故に、種々の多様性が生じる(Arstila et al. (1999) Science286:958-961)。

【０１０１】

従って、用語「TCRアルファ可変ドメイン」は、TRAV及びTRAJ領域が連結したもの；TRAV領域のみ；又はTRAV及び一部のTRAJ領域、を指す、並びに用語TCRアルファ定常ドメインは、細胞外TRAC領域、又はC-末端が切り取られた若しくは全長のTRAC配列、を指す。同様に、用語「TCRベータ可変ドメイン」は、TRBV及びTRBD/TRBJ領域が連結したもの；TRBV及びTRBD領域のみ；TRBV及びTRBJ領域のみ；又はTRBV並びに一部のTRBD及び／若しくはTRBJ領域、を指す。そして、用語TCRベータ定常ドメインは、細胞外TRBC領域、又はC-末端が切り取られた若しくは全長のTRBC配列、を指す。これらのTCRアルファ可変ドメイン及びTCRベータ可変ドメインの命名法は、ガンマ／デルタTCRについて、それぞれ、TCRガンマ鎖及びTCRデルタ鎖の可変ドメインに、同様に、適用される。当業者は、例えば、公的に利用可能なIMGTデータベースを介して等、TRAV、TRAJ、TRAC、TRBV、TRBJ、及びTRBCの遺伝子配列を、得ることができる。

【０１０２】

用語「TCR複合体」は、CD3とTCRとの会合によって形成される複合体を指す。例えば、TCR複合体は、CD3γ鎖、CD3δ鎖、2つのCD3ε鎖、CD3ζ鎖のホモ二量体、TCRα鎖、及びTCRβ鎖、から構成されることがある。或いは、TCR複合体は、CD3γ鎖、CD3δ鎖、2つのCD3ε鎖、CD3ζ鎖のホモ二量体、TCRγ鎖、及びTCRδ鎖、から構成されることがある。

【０１０３】

用語「治療効果」は、薬学的に活性な物質によって引き起こされる、動物、特に哺乳動物、より具体的にはヒト、における、局所的な又は全身的な効果、を指す。それ故に、その用語は、疾患の診断、治癒、軽減、治療又は予防、の際に、又は動物若しくはヒトにおける、望ましい、身体的な若しくは精神的な、発達及び状態、を向上させる際に、使用す

ることを意図した任意の物質、を意味する。

【０１０４】

用語「治療有効量」及び「有効量」は、任意の治療に適用可能な、合理的な利益／リスク比で、動物の中の細胞の少なくともサブ集団において、何らかの所望の効果（例えば、所望の局所的な又は全身的な治療効果等）をもたらす物質の量を意味する。いくつかの実施形態では、物質の治療有効量は、前記物質の、治療指数、溶解性、薬物動態、半減期、等に依存する。対象化合物の毒性及び治療有効性を、細胞培養又は実験動物における、標準的な薬学的な方法（例えば、LD_{50}及びED_{50}を決定する為の方法）によって、決定することがある。いくつかの実施形態では、大きな治療指数を示す化合物を使用する。いくつかの実施形態では、LD_{50}(致死用量)を、測定することがあり、例えば、前記薬剤を投与しない場合と比較して、前記薬剤について、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、又はそれを超えて、減少することがある。同様に、ED_{50}(即ち、症状(symptom)を、最大の半分で、阻害することができる濃度)を、測定することがあり、例えば、前記薬剤を投与しない場合と比較して、前記薬剤について、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、又はそれを超えて、増加することがある。また、同様に、IC_{50}を測定することがあり、例えば、前記薬剤を投与しない場合と比較して、前記薬剤について、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%、又はそれを超えて、増加することがある。いくつかの実施形態では、アッセイにおけるT細胞免疫応答は、少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又は更に100%、増加することがある。別の実施形態では、ウイルス負荷は、少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又は100%すら、減少することがある。

【０１０５】

用語「治療する」は、関心とする症状（例えば、疾患又は障害）の、治療的な管理又は改善、を指す。治療としては、限定されるものではないが、薬剤又は組成物（例えば、医薬組成物）を対象に投与すること、が挙げられる。治療は、典型的には、前記対象に有益な様式で、疾患（この用語は、任意の疾患、障害、症候群、又は療法を正当化する若しくは潜在的に正当化する望ましくない症状、を示す為に使用される）の経過を変える為に行われる。治療の効果としては、疾患、又は疾患の1つ以上の症状(symptom)若しくは兆候(manifestation)、を逆転すること、を軽減すること、の重症度を低減すること、の発症を遅延させること、を治癒すること、の進行を阻害すること、及び／又は、の発生若しくは再発の可能性を低減すること、が挙げられる。治療の望ましい効果としては、限定されるものではないが、疾患の発症又は再発の予防、症状(symptom)の緩和、疾患に関する任意の直接的な又は間接的な病態結果の減少、転移の予防、疾患進行の速度の減少、疾患状態の改善又は緩和、及び寛解又は予後の改善、が挙げられる。治療薬剤を、一般集団のメンバーと比較して、疾患を有する、又は疾患を発症するリスクが高い、対象に投与することがある。いくつかの実施形態では、治療薬剤を、疾患を有していたが、もはや疾患のエビデンスを示さない、対象に投与することがある。前記薬剤を、例えば、疾患がはっきりと再発する可能性を低減する為に、投与することがある。治療薬剤を、予防的に、即ち、疾患の任意の症状(symptom)又は兆候(manifestation)を発症する前に、投与することがある。「予防的治療（prophylactic treatment）」とは、例えば、疾患が発生する可能性を減らす為に、又は疾患が発生した場合に疾患の重症度を減らす為に、疾患を発症していないか、又は疾患の証拠を示さない、対象に内科的な及び／又は外科的な治療を提供すること、を指す。前記対象は、前記疾患を発症するリスクがあるとして(例えば、一般集団と比較してリスクが高い、又は疾患を発症する可能性を増大させるリスク

・ファクターを有する、として)、同定されていることがある。

【０１０６】

用語「不応答性」としては、治療に対するがん細胞の不応性(refractivity)、又は刺激（例えば、活性化レセプター又はサイトカインを介する刺激）に対する治療用細胞（例えば、免疫細胞等）の不応性(refractivity)、が挙げられる。不応答性は、例えば、免疫抑制剤への曝露、又は高用量の抗原への曝露の為に、生じることがある。本出願で使用する場合、用語「アネルギー」又は「寛容」としては、活性化レセプター媒介性刺激に対する不応性(refractivity)、が挙げられる。そのような不応性(refractivity)は、広く抗原-特異的であり、寛容化抗原への曝露が止んだ後も持続する。例えば、T細胞におけるアネルギー（不応答性とは対照的に）は、サイトカイン（例えば、IL-2）産生の欠如、を特徴とする。T細胞アネルギーは、T細胞が抗原に曝露され、且つ第2のシグナル(共-刺激シグナル)の非存在下で第1のシグナル(T細胞レセプター又はCD-3媒介シグナル)を受ける場合に、起こる。これらの条件下では、同じ抗原に前記細胞が再曝露されると（たとえ共-刺激ポリペプチドの存在下で再曝露が起こったとしても)、サイトカインを産生することができず、それ故に増殖することができない。しかしながら、アネルギー性T細胞は、サイトカイン(例えば、IL-2)と共に培養した場合、増殖することがある。例えば、T細胞アネルギーはまた、ELISA又は指標細胞株を使用する増殖アッセイによって測定する場合、Tリンパ球によるIL-2産生の欠如によって、観察されることもある。或いは、レポーター遺伝子構築物を使用してもよい。例えば、アネルギー性T細胞は、5' IL-2遺伝子エンハンサーの制御下でヘテロなプロモーターによって、又は前記エンハンサー内に見出され得るAP1配列の多量体によって、誘導されるIL-2遺伝子の転写を、開始することができない(Kang et al. (1992) Science 257:1134)。

【０１０７】

用語「可変領域」又は「可変ドメイン」は、免疫グロブリン・スーパーファミリー結合タンパク質(例えば、TCR)が抗原に結合することに関与する、免疫グロブリン・スーパーファミリー結合タンパク質（例えば、TCR α-鎖若しくはβ-鎖［又はγδ TCRのγ鎖及びδ鎖］）のドメインを指す。天然TCRのα-鎖及びβ-鎖の可変ドメイン(それぞれ、Vα及びVβ)は、一般に、類似した構造を有し、各々のドメインは、4つの保存された骨格領域(FR)及び3つのCDR、を含む。Vαドメインは、2つの別々のDNAセグメント、可変遺伝子セグメント及び連結遺伝子セグメント(V-J)によってコードされる；Vβドメインは、3つの別々のDNAセグメント、可変遺伝子セグメント、多様性遺伝子セグメント、及び連結遺伝子セグメント(V-D-J)によってコードされる。単一のVα又はVβドメインは、抗原-結合特異性を付与するのに十分であり得る。更に、特定の抗原に結合するTCRを、前記抗原に結合するTCRに由来するVα又はVβドメインを使用して、単離し、それぞれ、相補的なVα又はVβドメインのライブラリをスクリーニングすることがある。

【０１０８】

用語「ベクター」は、それに連結している別の核酸を輸送することができる核酸分子を指す。いくつかの実施形態では、ベクターは、エピソーム、即ち、染色体-外の複製が可能な核酸である。いくつかの実施形態では、ベクターは、それに連結している核酸を、自律的に複製することが、及び／又は発現することが、可能なベクター、である。遺伝子の発現を指示することができるベクター（その遺伝子は、ベクターに、作動可能に、連結している）を、本出願において、「発現ベクター」と呼ぶ。概して、組み換えDNA技術において有用な発現ベクターは、しばしば、「プラスミド」（これは、一般に環状二本鎖DNAループを指し、それらのベクターの形態では、染色体に結合していない）の形態である。本明細書では、プラスミドがベクターの最も一般的に使用される形態であるので、「プラスミド」及び「ベクター」を、互換的に使用する。しかし、当業者によって理解されるように、本発明は、均等な機能を果たし、その後当技術分野で既知になるような、他の形態の発現ベクター、を含むことが意図される。

【０１０９】

特定のタンパク質のアミノ酸配列と、前記タンパク質をコードすることができるヌクレ

オチド配列との間には、遺伝コードによって定義されるように(以下に示す)、既知の明確な対応がある。同様に、特定の核酸のヌクレオチド配列と、その核酸によってコードされるアミノ酸配列との間には、遺伝コードによって定義されるように、既知の明確な対応がある。

【０１１０】

【表１】

遺伝コード	
アラニン(Ala、A)	GCA, GCC, GCG, GCT
アルギニン(Arg、R)	AGA, ACG, CGA, CGC, CGG, CGT
アスパラギン(Asn、N)	AAC, AAT
アスパラギン酸(Asp, D)	GAC, GAT
システイン(Cys、C)	TGC, TGT
グルタミン酸(Glu, E)	GAA, GAG
グルタミン(Gln、Q)	CAA, CAG
グリシン(Gly、G)	GGA, GGC, GGG, GGT
ヒスチジン(His、H)	CAC, CAT
イソロイシン(Ile、I)	ATA, ATC, ATT
ロイシン(Leu、L)	CTA, CTC, CTG, CTT, TTA, TTG
リジン(Lys、K)	AAA, AAG
メチオニン(Met、M)	ATG
フェニルアラニン(Phe、F)	TTC, TTT
プロリン(Pro、P)	CCA, CCC, CCG, CCT
セリン(Ser、S)	AGC, AGT, TCA, TCC, TCG, TCT
スレオニン(Thr、T)	ACA, ACC, ACG, ACT
トリプトファン(Trp、W)	TGG
チロシン(Tyr、Y)	TAC, TAT
バリン(Val、V)	GTA, GTC, GTG, GTT
終止シグナル(終止)	TAA, TAG, TGA

【０１１１】

前記遺伝コードの、重要な且つ周知の特徴は、その冗長性であり、それによって、タンパク質を作製する為に使用されるアミノ酸の大部分について、2つ以上のコーディング・ヌクレオチド・トリプレットが使用され得る（上記した）。従って、いくつかの様々なヌクレオチド配列が、所与のアミノ酸配列をコードし得る。そのようなヌクレオチド配列は、すべての生物において、同じアミノ酸配列の産生をもたらすので、機能的に均等であると考えられる（しかし、ある種の生物は、ある種の配列を、他の生物よりも効率的に、翻訳することができる）。更に、時折、プリン又はピリミジンのメチル化バリアントが、所与のヌクレオチド配列中に見出されることがある。そのようなメチル化は、トリヌクレオチド・コドンとその対応するアミノ酸との間のコード関係に、影響を及ぼすことは無い。

【０１１２】

上記を考慮して、バイオマーカー核酸（又はその任意の一部）をコードするDNA又はRNAのヌクレオチド配列を使用して、DNA又はRNAをアミノ酸配列に翻訳する為の遺伝コードを使用しながら、ポリペプチド・アミノ酸配列を導くことがある。同様に、ポリペプチド・アミノ酸配列について、前記ポリペプチドをコードすることがある対応するヌクレ

オチド配列を、前記遺伝コードから推定することができる（これは、その冗長性の為に、任意の所与のアミノ酸配列について、複数の核酸配列が生成される）。従って、ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列に関する本出願における記載及び／又は開示には、前記ヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列の記載及び／又は開示も含まれる、と考えるべきである。同様に、本出願におけるポリペプチド・アミノ酸配列の記載及び／又は開示には、前記アミノ酸配列をコードすることができる、全ての考えられるヌクレオチド配列の記載及び／又は開示も含まれる、と考えるべきである。

【０１１３】

II．結合タンパク質

本発明によって包含される態様では、本出願は、MHC分子(例えば、MHCクラスI分子)の中にHA-1免疫原性ペプチドを含む、ペプチド-MHC(pMHC)複合体に、（例えば、特異的に及び／又は選択的に）結合する、結合タンパク質を提供する。いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、約$5x10^{-4}$ M以下、約$1x10^{-4}$ M以下、約$5x10^{-5}$M以下、約$1x10^{-5}$ M以下、約$5x10^{-6}$ M以下、約$1x10^{-6}$M以下、約$5x10^{-7}$ M以下、約$1x10^{-7}$ M以下、約$5x10^{-8}$M以下、約$1x10^{-8}$ M以下、約$5x10^{-9}$ M以下、約$1x10^{-9}$M以下、約$5x10^{-10}$ M以下、約$1x10^{-10}$ M以下、約$5x10^{-11}$M以下、約$1x10^{-11}$ M以下、約$5x10^{-12}$ M以下、約$1x10^{-12}$M以下、又は、間の、包含的な、任意の範囲、例えば、約1-50 μM、1-100 μM、0.1-500 μM、の間等の、Kdで、HA-1ペプチド-MHC(pMHC)複合体に、（例えば、特異的に及び／又は選択的に）結合することができる。いくつかの実施形態では、前記MHC分子は、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖、を含む。いくつかの実施形態では、前記HLA対立遺伝子を、HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*0203、HLA-A*0205、HLA-A*0206、及びHLA-A*207対立遺伝子からなる群より選択する。特定の実施形態では、前記HLA対立遺伝子は、HLA-A*0201である。いくつかの実施形態では、本出願で提供される結合タンパク質は、遺伝子操作されている、単離されている、及び／又は精製されている。

【０１１４】

いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、HA-1ペプチド-MHC(pMHC)に対して、既知のT-細胞レセプター（例えば、本出願に記載されるフレッド・ハッチンソンTCR [Fred Hutchinson TCR]）が有しているよりも、より高い結合親和性を有する。例えば、前記結合タンパク質は、HA-1ペプチド-MHC(pMHC)に対して、既知のT-細胞レセプター（例えば、本出願に記載されるフレッド・ハッチンソンTCR [Fred Hutchinson TCR]）が有しているよりも、少なくとも1.2倍、1.5倍、1.8倍、2.0倍、2.2倍、2.5倍、2.8倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、5.5倍、6倍、6.5倍、7倍、7.5倍、8倍、8.5倍、9倍、9.5倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍、1000倍、5000倍、10000倍、50000倍、100000倍、500000倍、1000000倍、若しくはそれを超えて、又は、間の、包含的な、任意の範囲、例えば、1.2倍から2倍まで、等、より高い結合親和性を有する。

【０１１５】

いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、HA-1の発現が一定以下であるターゲット細胞と接触させた場合、既知のT-細胞レセプター（例えば、本出願に記載されるフレッド・ハッチンソンTCR [Fred Hutchinson TCR]）が有しているよりも、より高いT細胞増殖、サイトカイン放出、及び／又は細胞傷害性傷害(cytotoxic killing)、を誘導する。例えば、本出願に記載される任意の態様のいくつかの実施形態では、HA-1レベルを、100万当たりの転写物(transcript per million)、として、表すことがある、並びに、例えば、約1000の、100万個の転写物当たりの転写物(transcript per million transcripts (TPM))（約1000 TPM）以下、950 TPM、900 TPM、850 TPM、800 TPM、750 TPM、700 TPM、650 TPM、600 TPM、550 TPM、500 TPM、450 TPM、400 TPM、350 TPM、300 TPM、250 TPM、200 TPM、150 TPM、100 TPM、95 TPM、90 TPM、85 TPM、80 TPM、75 TPM、70 TPM、

65 TPM、60 TPM、55 TPM、50 TPM、45 TPM、40 TPM、35 TPM、34 TPM、33 TPM、32 TPM、31 TPM、30 TPM、29 TPM、28 TPM、27 TPM、26 TPM、25 TPM、24 TPM、23 TPM、22 TPM、21 TPM、20 TPM、19 TPM、18 TPM、17 TPM、16 TPM、15 TPM、14 TPM、13 TPM、12 TPM、11 TPM、10 TPM、9 TPM、8 TPM、7 TPM、6 TPM、5 TPM、4 TPM、3 TPM、2 TPM、及び1 TPM、以下、又は、間の、包含的な、任意の範囲、例えば、約1000 TPM以下から約35TPM以下まで、であることがある。いくつかの実施形態では、低いHA-1発現レベルは、「ヘテロ接合性発現」と呼ばれ、約1 TPMと約35 TPMとの間、又は、間の、包含的な、任意の範囲、例えば、32 TPM若しくは1-32TPM、等、を意味する。より高い発現は、36 TPM以上である。本出願に更に記載されるように、TPMを、周知の技術（例えば、RNA-Seq等）に従って測定する、及び遺伝子発現TPMデータは、様々な細胞株、組織型、等について、当技術分野で周知である（例えば、portals.broadinstitute.orgのワールド・ワイド・ウェブ［World Wide Web］上にある、the Broad Institute Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE)を参照されたい)。いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、HA-1をヘテロ接合性に発現しているターゲット細胞に接触させた場合、T細胞の増殖、サイトカインの放出、及び／又は細胞傷害性傷害は、既知のT-細胞レセプター（例えば、本出願に記載されるフレッド・ハッチンソンTCR［Fred Hutchinson TCR])が増加させるよりも、少なくとも1.2倍、1.5倍、1.8倍、2.0倍、2.2倍、2.5倍、2.8倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、5.5倍、6倍、6.5倍、7倍、7.5倍、8倍、8.5倍、9倍、9.5倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍、1000倍、若しくはそれを超えて、又は、間の、包含的な、任意の範囲、例えば、1.2倍から2倍まで、増加する。

【０１１６】

いくつかの実施形態では、HA-1の発現を、RNA-シークエンシング(RNA-seq)を用いて、検出する。RNA-seqは、一般に、以下のステップを含む：遺伝物質を含むサンプルを得るステップ、その得られたサンプルから全RNAを単離するステップ、前記全RNAから増幅済みcDNAライブラリを調製するステップ、前記増幅済みcDNAライブラリをシークエンシングするステップ、及び様々な転写物の発現レベルを評価する為に、前記増幅済みcDNAを、解析するステップ及びプロファイリングするステップ。前記サンプルは、細胞の集団、組織サンプル、生検サンプル、細胞培養物、又は単一の細胞、であることがある。全RNAを、当技術分野で既知の任意の方法を用いて、生物学的サンプルから単離することができる。ある特定の実施形態では、全RNAを、血漿から抽出する。血漿RNAの抽出は、Enders et al., “The Concentration of Circulating Corticotropin-Releasing Homer mRNA in Material Plasma Is Inclined in Preclampsia,” Clinr、に記載されている。そこに記載されているように、遠心分離ステップ後に回収した血漿を、Trizol LS試薬(Invitrogen)及びクロロホルムと、混合する。その混合物を、遠心分離し、その水層を新しいチューブに移す。この水層に、エタノールを加える。次いで、その混合物を、RNeasyミニカラム(Qiagen)に入れ、製造業者の推奨に従って、処理する。

【０１１７】

いくつかの実施形態では、本出願に記載されるRNA-seqは、全RNAから増幅済みcDNAを調製するステップを含む。例えば、cDNAを調製し、単離したRNAサンプルを希釈せずに無作為に増幅する、又は単離したRNA中の遺伝物質の混合物を、個々の反応サンプルの中に分散させる。ある特定の実施形態では、mRNA及び非-ポリアデニル化転写物の両方を増幅する為に、前記サンプル中の、転写物の3'末端で、及び転写物全体にわたって、増幅を、無作為に開始させる。このようにして、次世代シークエンシング・プラットフォームの為のシークエンシング・ライブラリを生成する為に、二本鎖cDNA増幅産物を、最適化する。本発明によって包含される方法による、cDNAの増幅に適したキットとしては、例えば、Ovation（登録商標） RNA-Seqシステム、が挙げられる。

【０１１８】
いくつかの実施形態では、本出願に記載されるRNA-seqは、前記増幅済みcDNAをシークエンシングするステップを含む。任意の既知のシークエンシング方法を用いて、増幅済みcDNA混合物をシークエンシングすることがあり、例えば、単一分子シークエンシング法、等が挙げられる。ある特定の実施形態では、前記増幅済みcDNAを、全トランスクリプトーム・ショットガン・シークエンシング（whole transcriptome shotgun sequencing）によって、シークエンシングする。全トランスクリプトーム・ショットガン・シークエンシングを、様々な次世代シークエンシング・プラットフォーム（例えば、Illumina(登録商標)Genome Analyzerプラットフォーム、ABI SOLiD™シークエンシング・プラットフォーム、又はLife Scienceの454シークエンシング・プラットフォーム、等）を使用して、行うことがある。
【０１１９】
いくつかの実施形態では、本出願に記載されるRNA-seqは、更に、cDNAに対して、デジタル計数を行うことを、及び解析を行うことを、含む。増幅済みサンプル中の各々の転写物についての増幅済み配列の数を、配列リーディング(sequence reading)（増幅済みストランド（strand）当たりの1つのリーディング［reading］）によって、定量化することがある。いくつかの実施形態では、100万当たりの転写物(transcript per million (TPM))を使用して、特定の転写物の発現レベルを、定量化する。TPMを、Wagner et al. (2012) Theory in Biosciences 131:281-285に示されるように、計算することができ、その内容は、その全体が本出願に参照により取り込まれる。
【０１２０】
いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、HA-1^{R}ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合しない、ここで、前記HA-1^{R}ペプチドは、アミノ酸配列VLRDDLLEAを含む。
【０１２１】
いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、CCDC114ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合しない。
【０１２２】
いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、以下を含む（例えば、以下を含む、以下から本質的になる、又は以下からなる）：a)表１に列挙されるTCRアルファ配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくはそれを超えて、の同一性を有する、TCRアルファ鎖配列；及び／又はb) 表１に列挙されるTCRベータ鎖からなる群より選択されるTCRベータ鎖配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくはそれを超えて、の同一性を有する、TCRベータ鎖配列。
【０１２３】
いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、以下を含む（例えば、以下を含む、以下から本質的になる、又は以下からなる）： a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖配列；及び／又はb)表１に列挙されるTCRベータ鎖配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖配列。
【０１２４】
いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、以下を含む（例えば、以下を含む、以下から本質的になる、又は以下からなる）： a)表１に列挙されるTCR Vαドメイン配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖可変(Vα)ドメイン配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくはそれを超えて、の同一性を有するTCRアルファ鎖可変(Vα)ドメイン配列；及び／又はb) 表１に列挙されるTCR Vβドメイン配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖可変(Vβ)ドメ

イン配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくはそれを超えて、の同一性を有するTCRベータ鎖可変(Vβ)ドメイン配列。

【0125】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、以下を含む（例えば、以下を含む、以下から本質的になる、又は以下からなる）：a)表1に列挙されるTCR Vαドメイン配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖可変(Vα)ドメイン配列；及び／又はb)表1に列挙されるTCR Vβドメイン配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖可変(Vβ)ドメイン配列。

【0126】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、表1に列挙されるTCRアルファ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖CDR配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて、の同一性を有する、少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ又は3つ、例えば、CDR3単独、又はCDR1及びCDR2との組み合わせ）のTCRアルファ鎖の相補性決定領域(CDR)配列、を含む（例えば、を含む、から本質的になる、又は、からなる）。CDR3は、プロセシングを受けた抗原を認識することを担う主要なCDRであると考えられる、並びにCDR1及びCDR2は、MHCと主に相互作用する。そうして、いくつかの実施形態では、表1に列挙される、TCRアルファ鎖由来のCDR3単独、及び／又はTCRベータ鎖由来のCDR3単独、を含む結合タンパク質、が提供される（各々のCDR3は、この段落に列挙されるような配列相同性を有する）。

【0127】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質はまた、表1に列挙されるTCRベータ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖CDR配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて、の同一性を有する、少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ又は3つ、例えば、CDR3単独、又はCDR1及びCDR2との組み合わせ）のTCRベータ鎖の相補性決定領域(CDR)配列、を含むこともある（例えば、を含むこともある、から本質的になることもある、又は、からなることもある）。上記のように、CDR3は、プロセシングを受けた抗原を認識することを担う主要なCDRであると考えられる、並びにCDR1及びCDR2は、MHCと主に相互作用する。そうして、いくつかの実施形態では、表1に列挙される、TCRベータ鎖由来のCDR3単独、及び／又はTCRアルファ鎖由来のCDR3単独、を含む結合タンパク質、が提供される（各々のCDR3は、この段落に列挙されるような配列相同性を有する）。

【0128】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、表1に列挙される、少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ又は3つ）のTCRアルファ鎖の相補性決定領域（CDR）、を含む（例えば、を含む、から本質的になる、又は、からなる）。

【0129】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質はまた、表1に列挙される、少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ又は3つ）のTCRベータ鎖の相補性決定領域（CDR）、を含むこともある（例えば、を含むこともある、から本質的になることもある、又は、からなることもある）。

【0130】

いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、表1に列挙される、TCR Cα配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて、の同一性を有する、TCRアルファ鎖定常領域(Cα)配列、を含む（例えば、を含む、から本質的になる、又は、からなる）。

【０１３１】
いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、表１に列挙される、ＴＣＲ Ｃβ配列に対して、少なくとも約８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又はそれを超えて、の同一性を有する、ＴＣＲベータ鎖定常領域(Ｃβ)配列、を含むこともある（例えば、を含むこともある、から本質的になることもある、又は、からなることもある）。

【０１３２】
いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、表１に列挙される、ＴＣＲ Ｃα 配列からなる群より選択されるＴＣＲアルファ鎖定常領域(Ｃα)配列、を含む（例えば、を含む、から本質的になる、又は、からなる）。

【０１３３】
いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、表１に列挙される、ＴＣＲ Ｃβ 配列からなる群より選択されるＴＣＲベータ鎖定常領域(Ｃβ)配列、を含むこともある（例えば、を含むこともある、から本質的になることもある、又は、からなることもある）。

【０１３４】
いくつかの実施形態では、本出願が提供する結合タンパク質は、キメラ、ヒト化、ヒト、霊長類、又はげっ歯類（例えば、ラット又はマウス）である、定常領域を含む。例えば、ヒト可変領域を、マウス定常領域を使って、キメラ化することがある、又はマウス可変領域を、ヒト定常領域及び／若しくはヒト骨格領域を使って、ヒト化することがある。いくつかの実施形態では、前記定常領域に変異を入れて、機能を改変することがある（例えば、ＴＣＲアルファ鎖とＴＣＲベータ鎖との間の親和性を増大させるのに有用なジスルフィド結合を提供する為に、ＴＣＲアルファ鎖及びＴＣＲベータ鎖の中の、対向する残基位置の中に、非-天然のシステイン置換を導入する）。同様に、前記定常領域の膜貫通ドメインの中に変異を入れて、機能を改変することがある（例えば、ある残基に、疎水性アミノ酸を使った、天然に存在しない置換を導入することによって、疎水性を増大させる）。いくつかの実施形態では、変異を前記定常領域に入れて、細胞表面での発現を増大させることがある。

【０１３５】
表１

ＨＡ１-ＴＳＣ-１００ 野生型配列(「ＴＣＲ-１００ａ」と同じＣＤＲ)：

アルファ鎖：

ＴＲＡＶ２１/ＴＲＡＪ４０/ＴＲＡＣ

【化１】

METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTQIPAALSVPEGENLVLNCSFT**DSAIYN**LQWFR
QDPGKGLTSLLL**IQSSQRE**QTSGRLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYL**CAVR**
GGTSGTYKYIFGTGTRLKVLANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvld
mrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpspesscdvklveksfetdtnlnfqnlsvigfrilllkvagfnllmtlrl
ws(配列番号：1(SEQ ID NO: 1))

ベータ鎖:

ＴＲＢＶ７-９/ＴＲＢＪ２-３/ＴＲＢＣ１

【化２】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPI**SEHNR**LYWY
RQTLGQGPEFLTY**FQNEAQ**LEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL
CASSRTAGDTQYFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepseaeishtqkatlvclatgffpdhvelswwvngk
evhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgft
svsyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf(配列番号：2(SEQ ID NO: 2))

HA1-TSC-100 CDTM配列(「TCR-100a」としても知られる):
アルファ鎖:
TRAV21/TRAJ40
【化３】

METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTQIPAALSVPEGENLVLNCSFT**DSAIYNL**QWFR
QDPGKGLTSLLLI**QSSQRE**QTSGRLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYL**CAVR**
GGTSGTYKYIFGTGTRLKVLANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvld
mrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrl
ws(配列番号：3(SEQ ID NO: 3))

ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ2-3
【化４】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPI**SEHNR**LYWY
RQTLGQGPEFLTY**FQNEAQ**LEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL
CASSRTAGDTQYFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvng
kevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgi
tsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf(配列番号：4(SEQ ID NO: 4))

HA1-1-12 CDTM 配列:
アルファ鎖:
TRAV20/TRAJ52
【化５】

MEKMLECAFIVLWLQLGWLSGEDQVTQSPEALRLQEGESSSLNCSYT**VSGLRG**LF
WYRQDPGKGPEFLFT**LYSAGEE**KEKERLKATLTKKESFLHITAPKPEDSATYL**CAV**
HLNAGGTSYGKLTFGQGTILTVHPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdk
tvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnll
mtlrlws(配列番号：5(SEQ ID NO: 5))

ベータ鎖:
TRBV5-5/TRBJ1-2
【化６】

MGPGLLCWVLLCLLGAGPVDAGVTQSPTHLIKTRGQHVTLRCSPI**SGHKS**VSWYQ
QVLGQGPQFIFQ**YYEKEE**RGRGNFPDRFSARQFPNYSSELNVNALLLGDSALYL**CA**
SSFDRGTNGYTFGSGTRLTVVedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngke
vhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgits
asyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf(配列番号：6(SEQ ID NO: 6))

HA1-9-46 CDTM 配列:
アルファ鎖:
TRAV13-1/TRAJ43

【化７】

MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYS**DSASNY**FPWYK
QELGKRPQLIID**IRSNVGE**KKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYF**CAASI**
MRFGAGTRLTVKPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsa
vawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws（配列
番号：7(SEQ ID NO: 7)）

ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ2-1

【化８】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQNPRHKITKRGQNVTFRCDPI**SEHNR**LYWY
RQTLGQGPEFLTY**FQNEAQ**LEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL
CASSLSVVDEQFFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngk
evhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgit
sasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf（配列番号：8(SEQ ID NO: 8)）

HA1-9-105 CDTM 配列:
アルファ鎖:
TRAV13-1/TRAJ26

【化９】

MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYS**DSASNY**FPWYK
QELGKRPQLIID**IRSNVGE**KKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYF**CAVGQ**
NFVFGPGTRLSVLPYiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsa
vawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws（配列
番号：9(SEQ ID NO: 9)）

ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ1-1

【化１０】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPI**SEHNR**LYWY
RQTLGQGPEFLTY**FQNEAQ**LEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL
CASSPTTINEAFFGQGTRLTVVedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngk
evhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgit
sasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf（配列番号：10(SEQ ID NO: 10)）

HA1-10-104 CDTM 配列:
アルファ鎖:
TRAV8-3/TRAJ52

【化１１】

MLLELIPLLGIHFVLRTARAQSVTQPDIHITVSEGASLELRCNYS**YGATPY**LFWYVQ
SPGQGLQLLLK**YFSGDTLV**QGIKGFEAEFKRSQSSFNLRKPSVHWSDAAEYF**CAV**
ANAGGTSYGKLTFGQGTILTVHPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdkt
vldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllm
tlrlws（配列番号：11(SEQ ID NO: 11)）

ベータ鎖:
TRBV6-2/TRBJ2-1
【化１２】

MSLGLLCCGAFSLLWAGPVNAGVTQTPKFRVLKTGQSMTLLCAQD**MNHEY**MYW
YRQDPGMGLRLIHY**SVGEGT**TAKGEVPDGYNVSRLKKQNFLLGLESAAPSQTSVY
F**CASGRSGTKFF**GPGTRLTVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngke
vhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgits
asyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf(配列番号：12(SEQ ID NO: 12))

HA1-10-93 CDTM 配列:
アルファ鎖:
TRAV13-1/TRAJ49
【化１３】

MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYS**DSASNY**FPWYK
QELGKRPQLIID**IRSNVGE**KKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYF**CPIRQ**
FYFGTGTSLTVIPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsava
wsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws(配列
番号：13(SEQ ID NO: 13))

ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ2-3
【化１４】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPI**SEHNR**LYWY
RQTLGQGPEFLTY**FQNEAQ**LEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL
CASSLVVVDTQYFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngk
evhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgit
sasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf(配列番号：14(SEQ ID NO: 14))

HA1-2-23 CDTM 配列:
アルファ鎖:
TRAV21/TRAJ40
【化１５】

METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTQIPAALSVPEGENLVLNCSFT**DSAIYN**LQWFR
QDPGKGLTSLLL**IQSSQRE**QTSGRLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYL**CAVR**
PTTSGTYKYIFGTGTRLKVLANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldm
rsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlw
s(配列番号：15(SEQ ID NO: 15))

ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ1-1
【化１６】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPI**SEHNR**LYWY
RQTLGQGPEFLTY**FQNEAQ**LEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL
CASILVGGTEAFFGQGTRLTVVedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngk
evhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgit
sasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf(配列番号：16(SEQ ID NO: 16))

HA1-10-34 野生型配列（“TCR-100b”と同じCDR):
アルファ鎖:
TRAV13-1/TRAJ40
【化１７】

MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYS**DSASNY**FPWYK
QELGKRPQLIID**IRSNVGE**KKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYF**CAARG**
PGTYKYIFGTGTRLKVLANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsm
dfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpspesscdvklveksfetdtnlnfqnlsvigfrilllkvagfnllmtlrlws
(配列番号：17(SEQ ID NO: 17))

ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ2-1
【化１８】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPI**SEHNR**LYWY
RQTLGQGPEFLTY**FQNEAQ**LEKSRLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL**C**
ASVAGTVYNEQFFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepseaeishtqkatlvclatgffpdhvelswwvngk
evhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgft
svsyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf(配列番号：18(SEQ ID NO: 18))

HA1-10-34 CDTM 配列（“TCR-100b”としても知られる): TCR-100b
アルファ鎖:
TRAV13-1/TRAJ40
【化１９】

MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYS**DSASNY**FPWYK
QELGKRPQLIID**IRSNVGE**KKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYF**CAARG**
PGTYKYIFGTGTRLKVLANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsm
dfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws
(配列番号：19(SEQ ID NO: 19))

ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ2-1
【化２０】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPI**SEHNR**LYWY
RQTLGQGPEFLTY**FQNEAQ**LEKSRLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL**C**
ASVAGTVYNEQFFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvng
kevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgi
tsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf(配列番号：20(SEQ ID NO: 20))

HA1-10-26 野生型配列（“TCR-100c”と同じCDR):
アルファ鎖:
TRAV13-1/TRAJ28

【化２１】

MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYS**DSASNY**FPWYK
QELGKRPQLIID**IRSNVGE**KKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYF**CAASG**
LGSGAGSYQLTFGKGTKLSVIPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvld
mrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpspesscdvklveksfetdtnlnfqnlsvigfrilllkvagfnllmtlrl

ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ1-4

【化２２】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPI**SEHNR**LYWY
RQTLGQGPEFLTY**FQNEAQ**LEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL
CASSLLAGEKLFFGSGTQLSVLedlnkvfppevavfepseaeishtqkatlvclatgffpdhvelswwvngk
evhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgft
svsyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf(配列番号：22(SEQ ID NO: 22))

HA1-10-26 CDTM 配列(“TCR-100c”としても知られる):
アルファ鎖:
TRAV13-1/TRAJ28

【化２３】

MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYS**DSASNY**FPWYK
QELGKRPQLIID**IRSNVGE**KKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYF**CAASG**
LGSGAGSYQLTFGKGTKLSVIPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvld
mrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrl

ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ1-4

【化２４】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPI**SEHNR**LYWY
RQTLGQGPEFLTY**FQNEAQ**LEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL
CASSLLAGEKLFFGSGTQLSVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngk
evhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgit
sasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf(配列番号：24(SEQ ID NO: 24))

HA1-2-21 CDTM 配列:
アルファ鎖:
TRAV25/TRAJ29

【化２５】

MLLITSMLVLWMQLSQVNGQQVMQIPQYQHVQEGEDFTTYCNSS**TTLSN**IQWYK
QRPGGHPVFLIQ**LVKSGEV**KKQKRLTFQFGEAKKNSSLHITATQTTDVGTYF**CAGP**
SGNTPLVFGKGTRLSVIANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmd
fksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws
(配列番号：25(SEQ ID NO: 25))

ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ2-1
【化２６】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPI**SEHNR**LYWY
RQTLGQGPEFLTY**FQNEAQ**LEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL
CASSLLTTNEQFFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngk
evhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgit
sasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf（配列番号：26(SEQ ID NO: 26)）

HA1-6-2 CDTM 配列:
アルファ鎖:
TRAV38-1/TRAJ28
【化２７】

MTRVSLLWAVVVSTCLESGMAQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCTYD**TSESNYY**LF
WYKQPPSRQMILVIR**QEAYKQQN**ATENRFSVNFQKAAKSFSLKISDSQLGDTAMY
F**CALYSGAGSYQLTF**GKGTKLSVIPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitd
ktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnll
mtlrlws（配列番号：27(SEQ ID NO: 27)）

ベータ鎖:
TRBV7-9/TRBJ2-1
【化２８】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPI**SEHNR**LYWY
RQTLGQGPEFLTY**FQNEAQ**LEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL
CASFELAGGYEQFFGPGTRLTVLedlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvn
gkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradc
gitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf（配列番号：28(SEQ ID NO: 28)）

【０１３６】
表２
HA1-フレッド・ハッチ（Fred Hutch） 配列:
アルファ鎖（T48C改変を有する）
TRAV21/TRAJ40/TRAC
【化２９】

METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTQIPAALSVPEGENLVLNCSFT**DSAIYN**LQWFR
QDPGKGLTSLLLI**QSSQRE**QTSGRLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYL**CAVIG**
LGGTYKYIFGTGTRLKVLANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdkcvldmrs
mdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpspesscdvklveksfetdtnlnfqnlsvigfrilllkvagfnllmtlrlws
（配列番号：29(SEQ ID NO: 29)）

ベータ鎖（S57C改変を有する）
TRBV7-9/TRBJ2-3/TRBC1

【化３０】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQDPRHKITKRGQNVTFRCDPI**SEHNR**LYWY
RQTLGQGPEFLTY**FQNEAQ**LEKSRLLSDRFSAERPKGSFSTLEIQRTEQGDSAMYL
CASSLVKGEKLFFGSGTQLSVLedlnkvfppevavfepseaeishtqkatlvclatgffpdhvelswwvngk
evhsgvctdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgft
svsyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf（配列番号：30(SEQ ID NO: 30)）

【０１３７】

* 表１が提供する代表的なＴＣＲ配列は、ＭＨＣ血清型提示に従ってグループ分けされている、及びサブ-グループ分けされている（ＭＨＣ血清型が提示する、及びそのサブグループ分けされたＴＣＲが結合する、種々のペプチド、に従ってサブ-グループ分けされている）。個々のＴＣＲ（例えば、表中に代表的に例示されているもの）が、記載される、及び特許請求がされる、並びに、単独である、又はＭＨＣ（例えば、本出願で提供される表中でグループ分けされているＭＨＣ等）との複合体である、本出願に記載されるペプチド・エピトープ配列、に結合する結合タンパク質の属（ｇｅｎｕｓ）も同様に、記載される、及び特許請求がされる。更に、本出願に記載される各々のＴＣＲアルファ鎖の、ＴＲＡＶ、ＴＲＡＪ、及びＴＲＡＣ遺伝子、並びに本出願に記載される各々のＴＣＲベータ鎖の、ＴＲＢＶ、ＴＲＢＪ、及びＴＲＢＣ遺伝子、が提供される。本出願に記載される各々のＴＣＲの配列は、命名されているＴＣＲの各々について、同種のアルファ鎖及びベータ鎖の対として、提供される。本出願に記載されるＴＣＲ配列には、注釈がつけられている。可変ドメイン配列は、大文字にしてある。定常ドメイン配列は、小文字である。ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３配列は、太字及び下線付きのテキストを使用して、注釈が付けられている。ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３を、左側(Ｎ末端)から右側(Ｃ末端)への体裁、という標準的な順序で示す。本出願に記載される各々のＴＣＲアルファ鎖の、ＴＲＡＶ、ＴＲＡＪ、及びＴＲＡＣ遺伝子、並びに本出願に記載される各々のＴＣＲベータ鎖の、ＴＲＢＶ、ＴＲＢＪ、及びＴＲＢＣ遺伝子は、本出願に記載される既知のＩＭＧＴ命名法に従って、注釈が付けられている。

【０１３８】

表３

ベクター：ｐＴＳＬＶ１０２-ＭＳＣＶ-ＨＡ１-１０-３０-ＭＧＴＭ-Ｑ-ＣＤ８：
(配列番号(ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ): ３１)

【化３１－１】

tggaagggctaattcactcccaaagaagacaagatatccttgatctgtggatctaccacacacaaggctacttccctgattagcagaa
ctacacaccagggccaggggtcagatatccactgacctttggatggtgctacaagctagtaccagttgagccagataaggtagaag
aggccaataaaggagagaacaccagcttgttacaccctgtgagcctgcatgggatggatgacccggagagagaagtgttagagtg
gaggtttgacagccgcctagcatttcatcacgtggcccgagagctgcatccggagtacttcaagaactgctgatatcgagcttgctac
aagggactttccgctggggactttccagggaggcgtggcctgggcgggactggggagtggcgagccctcagatcctgcatataa
gcagctgctttttgcctgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaacccactgctta
agcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttta
gtcagtgtggaaaatctctagcagtggcgcccgaacagggacttgaaagcgaaagggaaaccagaggagctctctcgacgcagg
actcggcttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgaggggcggcgactggtgagtacgccaaaaattttgactagcggaggcta
gaaggagagagatgggtgcgagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcgatgggaaaaaattcggttaaggccagg
gggaaagaaaaaatataaattaaaacatatagtatgggcaagcagggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaac
atcagaaggctgtagacaaatactgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagta
gcaaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaaggaagctttagacaagatagaggaagagcaaaacaaaa
gtaagaccaccgcacagcaagcggccggccgctgatcttcagacctggaggaggagatatgagggacaattggagaagtgaatt
atataaatataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcacccaccaaggcaaagagaagagtggtgcagagagaaaaaaga
gcagtgggaataggagctttgttccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcgtcaatgacgctgacggtaca
ggccagacaattattgtctggtatagtgcagcagcagaacaatttgctgagggctattgaggcgcaacagcatctgttgcaactcaca
gtctggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagatacctaaaggatcaacagctcctggggatttggggttg
ctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgccttggaatgctagttggagtaataaatctctggaacagatttggaatcacacgacct

【化３１－２】

ggatggagtgggacagagaaattaacaattacacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaat
gaacaagaattattggaattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataacaaattggctgtggtatataaaattattcataat
gatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagtttttgctgtactttctatagtgaatagagttaggcagggatattcaccattatcgtttc
agacccacctcccaaccccgaggggacccgacaggcccgaaggaatagaagaagaaggtggagagagagacagagacagat
ccattcgattagtgaacggatctcgacggtatcgccgaattaattcacaaatggcagtattcatccacaattttaaaagaaaaggggg
gattgggggtacagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaactaaagaattacaaaaacaaattaca
aaaattcaaaattttcgggtttattacaggCGcGCcagagatccagtttggacCTgcAGGTGAAAGACCCCAC
CTGTAGGTTTGGCAAGtTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCATGGAA
AATACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTTAGGAACAGAGAG
ACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCC
CGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGC
AGTTTCTAGCGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAAT
GACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTtGCTTCTtGCTTCTGTTtGt
GtGCTTCTGCTCCCtGAGCTCAATAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTtGGtGg
GCCAGTCCTCtGATAGACTGtGTCcCCtGGaTACCCGTAcggtaccgctagcgccacc***ATGGG***
CACCAGCCTCCTCTGCTGGATGGCCCTGTGTCTCCTGGGGGCAGATCACGCAGAT
ACTGGAGTCTCCCAGGACCCCAGACACAAGATCACAAAGAGGGGACAGAATGTT
ACTTTCAGGTGTGATCCAATTTCTGAACACAACCGCCTTTATTGGTACCGCCAGA
CCCTGGGGCAGGGCCCAGAGTTTCTGACTTACTTCCAGAATGAAGCTCAACTTGA
AAAATCAAGGCTGCTCAGTGATCGGTTCTCTGCAGAGAGGCCTAAGGGATCTTTC
TCCACCTTGGAGATCCAGCGCACAGAGCAGGGGGACTCTGCCATGTATCTCTGTG
CCAGCAGCCGCACTGCTGGAGATACTCAGTATTTTGGCCCAGGCACCCGGCTGA
CAGTGCTCGAAGATCTGAACAAGGTGTTCCCTCCAGAGGTGGCCGTGTTCGAGC
CTTCTaAGGCCGAGATCgccCACACaCAaAAAGCCACCCTCGTGTGCCTGGCCACC
GGCTTTTTCCCCGACCACGTGGAACTGTCTTGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTG
CACTCCGGCGTGtcAACgGATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGCCTGCCCTGAACGA
CAGCCGGTACTGCCTGAGCTCCAGACTGAGAGTGTCCGCCACCTTCTGGCAGAA
CCCCCGGAACCACTTCAGATGCCAGGTGCAGTTTTACGGCCTGAGCGAGAACGA
CGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACACAAATCGTGTCTGCCGAAGC
CTGGGGAAGAGCCGATTGCGGCATCACCAGCGCCTCCTATCACCAGGGCGTGCT
GAGCGCCACAATCCTGTACGAAATCCTGCTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCCGT
GCTGGTGTCTGCTCTGGTGCTGATGGCCATGGTCAAGCGGAAGGACTTTGGCAG
CGGCAGAGCCAAAAGGTCCGGGAGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAAC
AAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCGGACCT**ATGGAAACCCTcTTGGGCCT**
GCTTATCCTTTGGCTGCAGCTGCAATGGGTGAGCAGCAAACAGGAGGTGA
CTCAGATTCCTGCAGCTCTGAGTGTCCCAGAAGGAGAAAACTTGGTTCTCA
ACTGCAGTTTCACTGATAGCGCTATTTACAACCTCCAGTGGTTTAGGCAGG
ACCCTGGGAAAGGCCTCACATCTCTGTTGCTTATTCAGTCAAGTCAGAGAG
AGCAAACAAGTGGACGCCTTAATGCCTCTCTGGATAAATCATCAGGACGCA
GTACTCTTTACATTGCAGCTTCTCAGCCTGGTGATTCAGCCACCTACCTGT
GCGCTGTGAGGGGTGGTACCTCAGGAACCTACAAATACATCTTTGGAACA
GGCACCAGGCTGAAGGTTCTTGCAAACATCCAGAACCCCGACCCCGCCGT
GTACCAGCTGAGGGACTCCAAGTCCAGCGACAAGAGCGTGTGTCTGTTTA
CGGACTTCGACAGCCAGACCAACGTGAGTCAAAGCAAGGACAGCGACGTC
TACATAACGGATAAGACCGTGCTGGACATGCGGAGCATGGACTTCAAGAG
CAACAGCGCCGTGGCCTGGTCCAACAAGAGCGACTTCGCCTGCGCCAACG
CCTTCAACAACAGCATCATCCCCGAGGACACCTTCTTCCCCAGCAGCGACG
TGCCCTGCGACGTGAAACTGGTGGAGAAGTCCTTCGAGACAGACACCAAT
CTGAACTTTCAGAACCTGCTGGTGATCGTGCTGCGGATTCTGCTGCTGAAA
GTGGCCGGCTTCAATCTGCTGATGACCCTGCGGCTGTGGAGCAGCAGGGC

【化３１－３】

TAAGAGGTCCGGCAGCGGAGCCACCAATTTTTCCCTGCTGAAACAGGCTGGTG
ACGTGGAAGAAAACCCTGGCCCCATGGCGCTGCCCGTCACCGCGCTGCTGCTG
CCCCTGGCGCTGCTGTTACACGCCGCTCGGCCA*GAGCTTCCCACCCAGGGCACAT*
*TCTCCAACGTGTCCACCAATGTGTCG*GGAGGCGGCGGATCGTCCCAGTTCAGAGTG
TCCCCTCTGGACCGCACCTGGAACCTGGGCGAGACCGTGGAGCTGAAATGTCAGGT
CCTGCTGAGCAACCCGACCTCCGGGTGCAGTTGGCTGTTCCAGCCGCGTGGTGCTG
CCGCAAGCCCTACGTTCCTGCTTTACCTGAGCCAGAACAAGCCCAAGGCGGCCGAG
GGCCTGGACACCCAGAGATTCTCCGGCAAGCGCCTGGGGGGACACATTCGTGCTTAC
TTTGAGCGATTTCCGCAGAGAGAACGAGGGCTACTATTTCTGTTCGGCGCTGAGCAA
TTCCATCATGTATTTCAGCCACTTTGTGCCAGTGTTCCTGCCTGCCAAGCCTACCACA
ACACCAGCTCCCCGTCCCCCGACTCCGGCGCCTACCATCGCGAGTCAACCGTTGAG
CCTGAGGCCTGAGGCTTGTCGGCCCGCTGCGGGGGGTGCCGTCCACACCAGGGGC
CTCGACTTTGCGTGCGACATCTATATTTGGGCGCCTCTGGCGGGTACCTGCGGGGT
GCTGCTGCTGTCATTGGTGATTACCCTGTACTGCAATCACCGCAACCGCCGGCGGGT
CTGTAAGTGCCCACGGCCTGTGGTCAAGTCCGGTGACAAACCGTCGCTCTCGGCTC
*GCTACGTG*CGCGCTAAGCGCAGCGGTTCCGGGGCCACCAACTTTTCATTGCTGA
AGCAGGCCGGTGATGTGGAGGAGAATCCAGGGCCCATGCGCCCCAGGCTTTGG
CTCCTTCTTGCTGCTCAGCTCACTGTCTTGCATGGCAACTCCGTTCTGCAGCAGA
CTCCCGCCTACATCAAGGTGCAGACGAACAAGATGGTGATGCTGTCATGCGAG
GCCAAGATCTCTCTTTCAAATATGAGAATTTATTGGCTACGACAGCGCCAGGCC
CCCTCCAGCGACAGCCACCACGAGTTCCTGGCGCTTTGGGATTCTGCTAAAGGC
ACCATCCATGGAGAGGAGGTGGAACAGGAGAAGATAGCTGTCTTCCGCGACGC
ATCCCGCTTCATCCTGAACCTGACCAGCGTGAAGCCGGAGGACAGCGGCATCT
ACTTCTGTATGATCGTTGGCTCCCCCGAGCTGACCTTCGGCAAAGGCACCCAGC
TGTCCGTGGTGGACTTCCTGCCCACCACAGCCCAGCCAACCAAGAAATCCACCC
TCAAGAAGCGCGTGTGCCGACTGCCCCGCCCTGAAACCCAGAAGGGCCCTCTG
TGCTCCCCCATCACCCTTGGACTGCTGGTGGCGGGAGTCCTGGTGCTGCTCGTA
TCTCTGGGTGTCGCCATCCACCTGTGCTGCCGCCGCCGCCGCGCCCGCCTGAGG
TTTATGAAACAGTTTTACAAGTGATAAatcgatagatcctaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaag
attgactggtattcttaactatgttgctccttttacgctatgtggatacgctgctttaatgcctttgtatcatgctattgcttcccgtatggcttt
catttttctcctccttgtataaatcctggttgctgtctctttatgaggagttgtggcccgttgtcaggcaacgtggcgtggtgtgcactgtgt
ttgctgacgcaacccccactggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgctttcccctccctattgccacg
gcggaactcatcgccgcctgccttgcccgctgctggacaggggctcggctgttgggcactgacaattccgtggtgttgtcggggaa
atcatcgtcctttccttggctgctcgcctgtgttgccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatcca
gcggaccttccttcccgcggcctgctgccggctctgcggcctcttccgcgtcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctccctttt
gggccgcctccccgcctgaggatcctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccacttttaaaagaaaaggggggg
actggaagggctaattcactcccaacgaagacaagatctgctttttgcttgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctggg
agctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtg
actctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagtatttat
aacttgcaaagaaatgaatatcagagagtgagaggcccgggttaattaaggaaagggctagatcattcttgaagacgaaagggcct
cgtgatacgcctatttttataggttaatgtcatgataataatggtttcttagacgtcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacc
cctatttgtttatttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaag
agtatgagtattcaacatttccgtgtcgcccttattcccttttttgcggcattttgccttcctgtttttgctcacccagaaacgctggtgaaa
gtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtgggttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagttttcgcc
ccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaaagttctgctatgtggcgcggtattatcccgtgttgacgccgggcaagagcaactc
ggtcgccgcatacactattctcagaatgacttggttgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaaga
gaattatgcagtgctgccataaccatgagtgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaac
cgcttttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcg
tgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaactattaactggcgaactacttactctagcttcccggcaacaatta
atagactggatggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttccggctggctggtttattgctgataaatctggag

【化３１－４】

ccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtagttatctacacgacgggg
agtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagcattggtaactgtcagaccaagttt
actcatatatactttagattgatttaaaacttcatttttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctcatgaccaaaatccctt
aacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctttttttctgcgcgtaatctgctg
cttgcaaacaaaaaaaccaccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttca
gcagagcgcagataccaaatactgttcttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacct
cgctctgctaatcctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttggactcaagacgatagttaccggat
aaggcgcagcggtcgggctgaacgggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacct
acagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggcggacaggtatccggtaagcggcagggtcggaaca
ggagagcgcacgagggagcttccagggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtcg
atttttgtgatgctcgtcaggggggcggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttacggttcctggccttttgctggcctt
ttgctcacatgttctttcctgcgttatccCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTG
AGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCG
AGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCG
ATTCATTAATGCAGCAAGCTCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGC
CGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGG
AGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTCCCCGTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGA
AAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCA
CCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCG
GATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACATGATTACGAATTTCACAAAT
AAAGCATTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTAT
CTTATCATGTCTGGATCAACTGGATAACTCAAGCTAACCAAAATCATCCCAAAC
TTCCCACCCCATACCCTATTACCACTGCCAATTACCTGTGGTTTCATTTACTCTA
AACCTGTGATTCCTCTGAATTATTTTCATTTTAAAGAAATTGTATTTGTTAAATA
TGTACTACAAACTtagtagt

【０１３９】

*ＭＳＣＶプロモーターは太字である。ベータ鎖には、太字及びイタリック体のテキストを使用して、注釈が付けられている。アルファ鎖には、太字及び下線付きのテキストを使用して、注釈が付けられている。Ｑタグは、イタリック体及び下線付きのテキストを使用して、注釈が付けられている。ＣＤ８-アルファは、イタリック体である。ＣＤ８-ベータには、下線が付けられている。

【０１４０】

ベクター：ＴＳＣ-１００ ｎｐＤＮＡトランスポゾン：
(配列番号(ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ)：３２)

【化３２－１】

AATTAATTGCTTGCAATTAACCCTTTAACGGTTATAAGGATCTAGATGAGATAGAAAGATTTGGTTTTCGGA
TTTGTGTTACATAAGATGCCTAAAATAAAAATTGAGATTCAATTTTTTTTAAACTTTTTTTTAATTGGTGGTA
AGAATATTCCCTCTACCTGTTTGAGAGTAATGAAATTGTAGTATGATTTTTCAACAAACTAAAAAAACAACA
TAAATCTCACATAATAACTTTATTTCAATCACACAATTGAATACCAATATTAATTAATGGTTGACAGTACTTA
CCAGCCTGCAGGTGAAAGACCCCACCTGTAGGTTTGGCAAGTTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCAT
GGAAAATACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTTAGGAACAGAGAGACAGCAGAATATGGGC
CAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGT
CCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGCGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTG
CCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTTGCTTCTTGCTTCTGTTTGTGTGCTTCTGCTCCCTGAGCTCAATAAAA
GAGCCCACAACCCCTCACTTGGTGGGCCAGTCCTCTGATAGACTGTGTCCCCTGGATACCCGTACGGTACCG
CTAGCGCCACCATGGGCACCAGCCTCCTCTGCTGGATGGCCCTGTGTCTCCTGGGGGCAGATCACGCAGATA
CTGGAGTCTCCCAGGACCCCAGACACAAGATCACAAAGAGGGGACAGAATGTTACTTTCAGGTGTGATCCA
ATTTCTGAACACAACCGCCTTTATTGGTACCGCCAGACCCTGGGGCAGGGCCCAGAGTTTCTGACTTACTTC
CAGAATGAAGCTCAACTTGAAAAATCAAGGCTGCTCAGTGATCGGTTCTCTGCAGAGAGGCCTAAGGGATC

【化３２－２】

TTTCTCCACCTTGGAGATCCAGCGCACAGAGCAGGGGGACTCTGCCATGTATCTCTGTGCCAGCAGCCGCAC
TGCTGGAGATACTCAGTATTTTGGCCCAGGCACCCGGCTGACAGTGCTCGAAGATCTGAACAAGGTGTTCCC
TCCAGAGGTGGCCGTGTTCGAGCCTTCTAAGGCCGAGATCGCCCACACACAAAAAGCCACCCTCGTGTGCCT
GGCCACCGGCTTTTTCCCCGACCACGTGGAACTGTCTTGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACTCCGGCGT
GTCAACGGATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGCCTGCCCTGAACGACAGCCGGTACTGCCTGAGCTCCAGACT
GAGAGTGTCCGCCACCTTCTGGCAGAACCCCCGGAACCACTTCAGATGCCAGGTGCAGTTTTACGGCCTGAG
CGAGAACGACGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACACAAATCGTGTCTGCCGAAGCCTGGGGA
AGAGCCGATTGCGGCATCACCAGCGCCTCCTATCACCAGGGCGTGCTGAGCGCCACAATCCTGTACGAAAT
CCTGCTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCTGCTCTGGTGCTGATGGCCATGGTCAAGCGGAA
GGACTTTGGCAGCGGCAGAGCCAAAAGGTCCGGGAGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCG
GCGACGTTGAAGAGAACCCCGGACCTATGGAAACCCTCTTGGGCCTGCTTATCCTTTGGCTGCAGCTGCAATGG
GTGAGCAGCAAACAGGAGGTGACTCAGATTCCTGCAGCTCTGAGTGTCCCAGAAGGAGAAAACTTGGTTCTC
AACTGCAGTTTCACTGATAGCGCTATTTACAACCTCCAGTGGTTTAGGCAGGACCCTGGGAAAGGCCTCACA
TCTCTGTTGCTTATTCAGTCAAGTCAGAGAGAGCAAACAAGTGGACGCCTTAATGCCTCTCTGGATAAATCA
TCAGGACGCAGTACTCTTTACATTGCAGCTTCTCAGCCTGGTGATTCAGCCACCTACCTGTGCGCTGTGAGGGGT
GGTACCTCAGGAACCTACAAATACATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGTTCTTGCAAACATCCAGAAC
CCCGACCCCGCCGTGTACCAGCTGAGGGACTCCAAGTCCAGCGACAAGAGCGTGTGTCTGTTTACGGACTTC
GACAGCCAGACCAACGTGAGTCAAAGCAAGGACAGCGACGTCTACATAACGGATAAGACCGTGCTGGACA
TGCGGAGCATGGACTTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTGGTCCAACAAGAGCGACTTCGCCTGCGCCAAC
GCCTTCAACAACAGCATCATCCCCGAGGACACCTTCTTCCCCAGCAGCGACGTGCCCTGCGACGTGAAACTG
GTGGAGAAGTCCTTCGAGACAGACACCAATCTGAACTTTCAGAACCTGCTGGTGATCGTGCTGCGGATTCTGCT
GCTGAAAGTGGCCGGCTTCAATCTGCTGATGACCCTGCGGCTGTGGAGCAGCAGGGCTAAGAGGTCCGGCAG
CGGAGCCACCAATTTTTCCCTGCTGAAACAGGCTGGTGACGTGGAAGAAAACCCTGGCCCCATGGCGCTGC
CCGTCACCGCGCTGCTGCTGCCCCTGGCGCTGCTGTTACACGCCGCTCGGCCAGAGCTTCCCACCCAGGGCA
CATTCTCCAACGTGTCCACCAATGTGTCGGGAGGCGGCGGATCGTCCCAGTTCAGAGTGTCCCCTCTGGACC
GCACCTGGAACCTGGGCGAGACCGTGGAGCTGAAATGTCAGGTCCTGCTGAGCAACCCGACCTCCGGGTGC
AGTTGGCTGTTCCAGCCGCGTGGTGCTGCCGCAAGCCCTACGTTCCTGCTTTACCTGAGCCAGAACAAGCCC
AAGGCGGCCGAGGGCCTGGACACCCAGAGATTCTCCGGCAAGCGCCTGGGGGACACATTCGTGCTTACTTT
GAGCGATTTCCGCAGAGAGAACGAGGGCTACTATTTCTGTTCGGCGCTGAGCAATTCCATCATGTATTTCAG
CCACTTTGTGCCAGTGTTCCTGCCTGCCAAGCCTACCACAACACCAGCTCCCCGTCCCCCGACTCCGGCGCC
TACCATCGCGAGTCAACCGTTGAGCCTGAGGCCTGAGGCTTGTCGGCCCGCTGCGGGGGGTGCCGTCCACA
CCAGGGGCCTCGACTTTGCGTGCGACATCTATATTTGGGCGCCTCTGGCGGGTACCTGCGGGGTGCTGCTGC
TGTCATTGGTGATTACCCTGTACTGCAATCACCGCAACCGCCGGCGGGTCTGTAAGTGCCCACGGCCTGTGG
TCAAGTCCGGTGACAAACCGTCGCTCTCGGCTCGCTACGTGCGCGCTAAGCGCAGCGGTTCCGGGGCCACC
AACTTTTCATTGCTGAAGCAGGCCGGTGATGTGGAGGAGAATCCAGGGCCCATGCGCCCCAGGCTTTGGCTC
CTTCTTGCTGCTCAGCTCACTGTCTTGCATGGCAACTCCGTTCTGCAGCAGACTCCCGCCTACATCAAGGTGC
AGACGAACAAGATGGTGATGCTGTCATGCGAGGCCAAGATCTCTCTTTCAAATATGAGAATTTATTGGCTAC
GACAGCGCCAGGCCCCCTCCAGCGACAGCCACCACGAGTTCCTGGCGCTTTGGGATTCTGCTAAAGGCACCA
TCCATGGAGAGGAGGTGGAACAGGAGAAGATAGCTGTCTTCCGCGACGCATCCCGCTTCATCCTGAACCTG
ACCAGCGTGAAGCCGGAGGACAGCGGCATCTACTTCTGTATGATCGTTGGCTCCCCCGAGCTGACCTTCGGC
AAAGGCACCCAGCTGTCCGTGGTGGACTTCCTGCCCACCACAGCCCAGCCAACCAAGAAATCCACCCTCAA
GAAGCGCGTGTGCCGACTGCCCCGCCCTGAAACCCAGAAGGGCCCTCTGTGCTCCCCCATCACCCTTGGACT
GCTGGTGGCGGGAGTCCTGGTGCTGCTCGTATCTCTGGGTGTCGCCATCCACCTGTGCTGCCGCCGCCGCCG
CGCCCGCCTGAGGTTTATGAAACAGTTTTACAAGTGATAAATCGATAGATCCTAATCAACCTCTGGATTACA
AAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATG

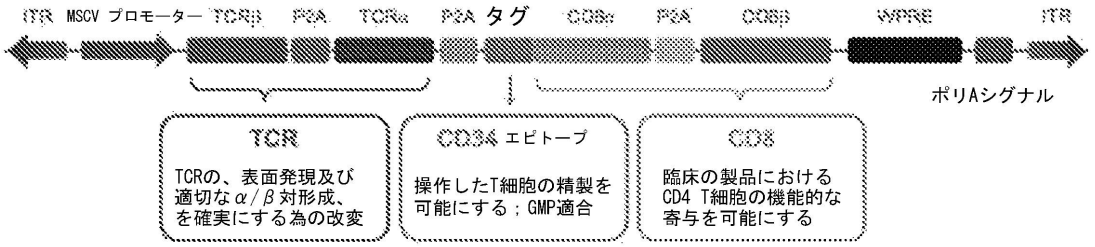
【化３２－３】

CCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTT
TATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACT
GGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGG
AACTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTT
GTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTC
TGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTC
CGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCCTGAGATCCTTTAAGA
CCAATGCTGGAGTTCTTCGCCCACCCCAACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGC
ATCACAAATTTCACAAATAAAGCATTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATC
TTATCATGTCTGTATACAGGTTACCTCAGTCTCCTAGGTACGTCTTATATCTATGAAAAAACATTCAAAAGCA
CAACATCTAGAAGAACTTACCTTTTTTCACCACTCTATTGCAAAGATATGTACCGATTTCTCTCGAAGTACAA
AAAACCGCTAGTTTTCAAATTCACCTCAAGACTTTGAAAAAAAATTGAATCTGTCAATGTCAAATAAAATCA
GAAACAAATGTCATAATGTTACGTTAATGTTGTCAGGTCGAAAAATAAAATTGCAAATAGAAATTTTGTTCCTT
TTTTATTGGTTTTTATTGGTGGGAAAAATATTCCCTCTAACTGCAAAAGGGTTAATTATGTTAGAGGTAGAGTC
GACGCTAGCTGGCTTGTTGTCCACAACCATTAAACCTTAAAAGCTTTAAAAGCCTTATATATTCTTTTTTTTC
TTATAAAACTTAAAACCTTAGAGGCTATTTAAGTTGCTGATTTATATTAATTTTATTGTTCAAACATGAGAGC
TTAGTACGTGAAACATGAGAGCTTAGTACATTAGCCATGAGAGCTTAGTACATTAGCCATGAGGGTTTAGTT
CATTAAACATGAGAGCTTAGTACATTAAACATGAGAGCTTAGTACATACTATCAACAGGTTGAACTGCTGAT
CTGTACAGTAGAATTGGTAAAGAGAGTTGTGTAAAATATTGAGTTCGCACATCTTGTTGTCTGATTATTGATT
TTTGGCGAAACCATTTGATCATATGACAAGATGTGTATCTACCTTAACTTAATGATTTTGATAAAAATCATTA
GGTACC

【０１４１】

TSC-100 npDNAトランスポゾン・ベクター・カセットの模式図：

【化３３】



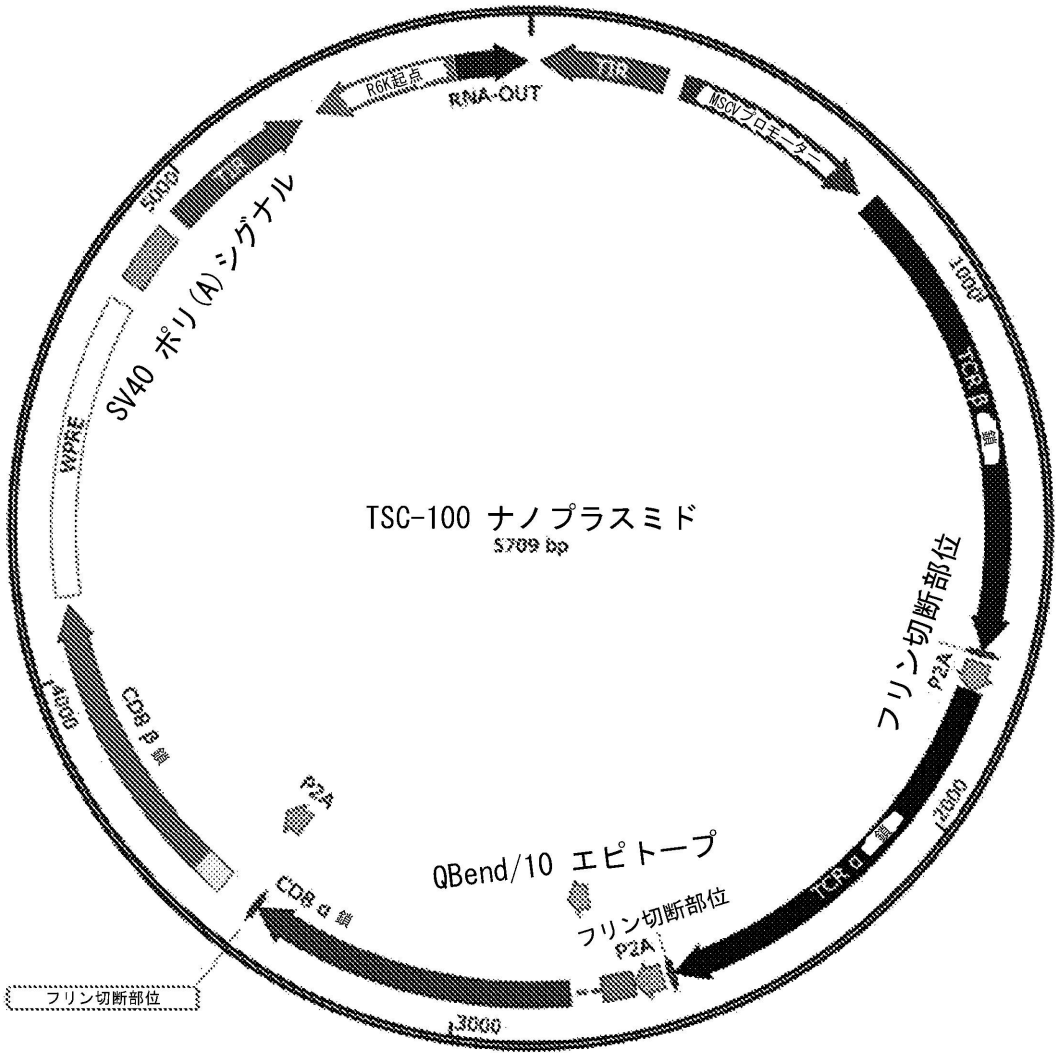
【０１４２】

キー(Key)： CD: 分化クラスター(cluster of differentiation)、ITR: 逆方向末端反復(inverted terminal repeat)、npDNA: ナノプラスミド、MSCV: マウス幹細胞ウイルス、TBD: 測定予定(To be Determined)、TCR: T細胞レセプター、WPRE: ウッドチャック肝炎ウイルス

【０１４３】

TSC-100 npDNAトランスポゾン・ベクター・カセットの地図：

【化３４】



【０１４４】

キー(Key)： CD: 分化クラスター(cluster of differentiation)、RNA-OUT: sacBによってコードされるバクテリア・レバンスクラーゼ(bacterial levansucrase)に対するアンチ-センスRNA、SV: サルウイルス、TCR: T細胞レセプター、TIR: 末端逆方向反復(terminal inverted repeat)、QBend: マウス抗ヒトCD34抗体、WPRE: ウッドチャック肝炎ウイルス

【０１４５】

TSC-100 npDNAトランスポゾンは、5,709-bpのスーパーコイル状の、最小限R6Kバクテリア複製起点を、及びアンチ-センスRNA-ベースの抗生物質フリー選択マーカー(RNA-OUT)を、有する、Nanoplasmid™ DNA(npDNA)である。アワヨトウの幼虫(armyworm)のスポドプテラ・フルギペルダ(Spodoptera frugiperda)トランスポゾンの末端逆方向反復(TIR) (トランスポザーゼ-媒介の組み込みに必要)を、外因性DNA配列の2つの末端に、繋げる。TSC-100 HA-1-特異的なTCR α-及びβ-鎖遺伝子、並びにコドン多様化CD8 α-及びβ-鎖遺伝子を、マウス幹細胞ウイルス(MSCV)プロモーターの制御下に置く。TCR α-及びβ-鎖の定常領域は、操作したT細胞の表面上でのそれらの発現を安定化するアミノ酸置換を含む。これらの4つのオープン・リーディング・フレームは、遺伝子発現を増強することが知られているウッドチャック転写後調節エレメント(woodchuck post-transcriptional regulatory element (WPRE))と共に、単一

のmRNA分子上にコードされる(Loeb、1999)。自己-切断ペプチドP2A上で起こるリボソーム・スキッピングによって、4つの別々のポリペプチドを産生するようになる。マウス・モノクローナル抗体QBend/10によって認識されるCD34エピトープを、外因性のCD8 α-鎖のN末端に融合し、これにより、導入遺伝子を発現する細胞を精製することが可能になり、その結果、製剤原料の安全性及び効力が増大する。ナノプラスミド・ベクターのバックボーン(〈500塩基対)は、従来のプラスミド(〉1500塩基対)よりも実質的に小さい。それは、抗生物質抵抗性遺伝子を含まない、及びプラスミド調製に必要な複製起点(R6K)は、一般的に使用される起点(pUC)よりも狭いバクテリア種での伝搬をサポートすることができる。

【０１４６】

表４

配列番号(SEQ ID NO):33　ヒトCCDC114 cDNA配列バリアント１
(NM_001364171.2; CDS: 358-2481)

【化３５】

```
   1 ccgccctcca gcgcgcggac gtggtaggcg gccaagcgtt tttggctgct tcccgggaag
  61 ccgttggtcg cgcttgcgta gtgaaccgct gaggctgtgt tgagcgctcc ttctccgcgc
 121 aactcccggc ttcgacaccg ccttccttcc tatgaatcct taatttaacg tggtcacagt
 181 cagcttaaga ccggcacctc tcgggctccg tcttgtagga cctcggcctg gcttcgaggg
 241 cttccataca ggtcaccgca ggctctttca actcccgccg cttccaggcc cgcgtaacca
 301 gaccacaaca ctgaacttgg agcaccaaga acaggagccc caccctgttt ggccaggatg
 361 cctttgggac gcttggcagg gagcgcccgc tccgaggagg gaagcgaggc atttctggag
 421 ggaatggtgg attgggagct gagtaggctg cagcgacaat gcaaagtgat ggaaggggag
 481 aggcgggcct acagcaagga agtccaccag cgcatcaaca agcaacttga ggagatccgg
 541 cgcttggagg aggtacgggg cgatctccag gtgcagatca gcgcagccca gaaccaggtc
 601 aagcggcttc gggacagtca gcggctggag aacatggacc gcctgctgaa gggccgggcc
 661 caggtgcagg cggagatcga ggagctgcag gagcagacca gggccctgga caagcagatc
 721 caggagtggg agacgcggat ctttacccac agtaagaatg tcaggtcccc gggattcatc
 781 ctggatcaga aggtcaagat caggcgaagg atcaggatcc tagaaaacca gttggacagg
 841 gtcacctgtc actttgacaa ccagctggta cggaatgcgg ccctgcggga ggagctggat
 901 ctgctgcgga tcgacaggaa ccgctatctg aacgtggacc gcaagctgaa gaaggagatc
 961 caccacctgc atcacctggt cagcaccctt atcctctcct ccacctctgc ctacgccgtc
1021 agggaggagg cgaaggccaa gatgggcttg ctgcgggagc gcgcggagaa agaggaggcc
1081 cagagcgaga tggaggcgca ggtcctgcag cggcagatct tgcacctgga gcagctgcac
1141 cacttcctca agctcaagaa caacgaccgg cagccggatc ccgatgtcct ggagaagcgt
1201 gaaaagcagg ccggggaggt ggccgagggc gtctggaaga cctcccagga gaggctggtg
1261 ctttgctacg aggacgccct gaataaactg tcccagctga tgggggagag tgaccctgac
1321 ctgttggtgc agaagtatct ggagatcgag gagcgcaact ttgctgagtt caacttcatc
1381 aacgagcaga acttggagct ggagcatgtg caggaagaga tcaaggagat gcaggaggct
1441 ttggtgagcg cacgtgccag caaggatgac cagcatttgc tgcaggagca gcagcagaag
1501 gtgttgcagc agcgcatgga caaggtgcac tcggaggctg agcgccttga ggcccgcttc
1561 caggatgtgc ggggacagct ggagaagctc aaggctgata tccagctcct cttcaccaag
1621 gcccattgcg acagcagcat gatcgatgac ctccttgggg tcaagaccag catgggagac
1681 cgggacatgg gcctcttcct gagcctcatt gagaagcggc tggtggagct cctgacagtg
1741 caggccttcc tacatgccca gagcttcacc tccctggccg acgctgccct cctagtgctg
1801 ggccagagcc tggaggacct tccgaagaag atggccccac ttcagccccc tgacactcta
1861 gaagaccccc cgggttttga ggccagcgat gactacccca tgagcaggga ggagctgctg
1921 agccaagtgg agaagctggt ggagctccag gagcaggcgg aggcgcagcg ccagaaggac
1981 ctggccgccg ccgccgcgaa gctggacggc accctgagcg tggacctggc cagcacccag
2041 agggccggct ccagtaccgt cctggtgccc accaggcacc cccatgccat ccccgggtcc
2101 attttgagcc acaagactag cagagaccgt ggctctcttg gccacgtcac ttttggcggc
2161 ctcagctcca gcactgggca tttgcccagc cacatcacgc acggtgaccc caacactggc
2221 cacgtgacct tcggctccac cagtgcctcg agtgggggcc acgtgacctt cagacccgtc
2281 agcgccagca gctacctggg ctccactgga tacgtggggt ccagcagggg cggagaaaac
2341 acagagggtg gtgtggagag cggaggcaca gcgtctgatt cgagcggagg cctcgggtcc
2401 agcagagacc acgtctccag caccggccct gcctccagca ctggcccggg ctcctccacc
2461 agcaaagact cccggggcta acacgagggg cacgcagccc ccaccctgcc ctggctctct
2521 gtggggtctt tttttgtgtc tctacttccc ctgtttgcct tgtgggtctc tgtctttttc
2581 tcccagtggc aggcctctgt ctttttgccc cttcaactgt tttcatctgc ccttcatcac
2641 cgcctcacct gtgtctcccg gttcctttct ctctgctcct gacactgctt ttccctctga
2701 ctcctgatct cctgttctct gggcttcctg gtcagtgtct gtccgtcttg tctccatatc
2761 tgccccttcc ctgtctgctg agccctggcc ccctgtggat cccccacctc ctgtttccgg
2821 ctctctctcc tcatctccat ctcccaggct ctccacgcat cctgtgtccc tgtctctgta
2881 gctccttact ccccaagagc cccccagtgc tgacaggtgt gggaaaagtc agggcgaaga
2941 cgccaggttc agcatgggaa aatgggactg tggaaataaa gtatatgtgt ggaga
```

配列番号(SEQ ID NO):34　ヒトCCDC114 cDNA配列バリアント2 (NM_144577.4; CDS: 108-2120)

【化３６】

```
   1 aatcacccgc tgattgaaaa ctactgggcc tttggagatg gggagcatac gggcaagact
  61 ggagagtgga ttgggagctg agtaggctgc agcgacaatg caaagtgatg gaaggggaga
 121 ggcgggccta cagcaaggaa gtccaccagc gcatcaacaa gcaacttgag gagatccggc
 181 gcttggagga ggtacggggc gatctccagg tgcagatcag cgcagcccag aaccaggtca
 241 agcggcttcg ggacagtcag cggctggaga acatggaccg cctgctgaag ggccgggccc
 301 aggtgcaggc ggagatcgag gagctgcagg agcagaccag ggccctggac aagcagatcc
 361 aggagtggga gacgcggatc tttacccaca gtaagaatgt caggtccccg ggattcatcc
 421 tggatcagaa ggtcaagatc aggcgaagga tcaggatcct agaaaaccag ttggacaggg
 481 tcacctgtca ctttgacaac cagctggtac ggaatgcggc cctgcgggag gagctggatc
 541 tgctgcggat cgacaggaac cgctatctga acgtggaccg caagctgaag aaggagatcc
 601 accacctgca tcacctggtc agcaccctta tcctctcctc cacctctgcc tacgccgtca
 661 gggaggaggc gaaggccaag atgggcttgc tgcgggagcg cgcggagaaa gaggaggccc
 721 agagcgagat ggaggcgcag gtcctgcagc ggcagatctt gcacctggag cagctgcacc
 781 acttcctcaa gctcaagaac aacgaccggc agccggatcc cgatgtcctg gagaagcgtg
 841 aaaagcaggc cggggaggtg gccgagggcg tctggaagac ctcccaggag aggctggtgc
 901 tttgctacga ggacgccctg aataaactgt cccagctgat gggggagagt gaccctgacc
 961 tgttggtgca gaagtatctg gagatcgagg agcgcaactt tgctgagttc aacttcatca
1021 acgagcagaa cttggagctg gagcatgtgc aggaagagat caaggagatg caggaggctt
1081 tggtgagcgc acgtgccagc aaggatgacc agcatttgct gcaggagcag cagcagaagg
1141 tgttgcagca gcgcatggac aaggtgcact cggaggctga gcgccttgag gcccgcttcc
1201 aggatgtgcg gggacagctg gagaagctca aggctgatat ccagctcctc ttcaccaagg
1261 cccattgcga cagcagcatg atcgatgacc tccttggggt caagaccagc atgggagacc
1321 gggacatggg cctcttcctg agcctcattg agaagcggct ggtggagctc ctgacagtgc
1381 aggccttcct acatgcccag agcttcacct ccctggccga cgctgccctc ctagtgctgg
1441 gccagagcct ggaggacctt ccgaagaaga tggccccact tcagcccct gacactctag
1501 aagacccccc gggttttgag gccagcgatg actaccccat gagcagggag gagctgctga
1561 gccaagtgga gaagctggtg gagctccagg agcaggcgga ggcgcagcgc cagaaggacc
1621 tggccgccgc cgccgcgaag ctggacggca ccctgagcgt ggacctggcc agcacccaga
1681 gggccggctc cagtaccgtc ctggtgccca ccaggcaccc ccatgccatc cccgggtcca
1741 ttttgagcca caagactagc agagaccgtg gctctcttgg ccacgtcact tttggcggcc
1801 tcagctccag cactgggcat ttgcccagcc acatcacgca cggtgacccc aacactggcc
1861 acgtgacctt cggctccacc agtgcctcga gtgggggcca cgtgaccttc agacccgtca
1921 gcgccagcag ctacctgggc tccactggat acgtggggtc cagcaggggc ggagaaaaca
1981 cagagggtgg tgtggagagc ggaggcacag cgtctgattc gagcggaggc ctcgggtcca
2041 gcagagacca cgtctccagc accggccctg cctccagcac tggcccgggc tcctccacca
2101 gcaaagactc ccggggctaa cacgaggggc acgcagcccc caccctgccc tggctctctg
2161 tggggtcttt ttttgtgtct ctacttcccc tgtttgcctt gtgggtctct gtctttttct
2221 cccagtggca ggcctctgtc tttttgcccc ttcaactgtt ttcatctgcc cttcatcacc
2281 gcctcacctg tgtctcccgg ttcctttctc tctgctcctg acactgcttt tccctctgac
2341 tcctgatctc ctgttctctg ggcttcctgg tcagtgtctg tccgtcttgt ctccatatct
2401 gccccttccc tgtctgctga gccctggccc cctgtggatc ccccacctcc tgtttccggc
2461 tctctctcct catctccatc tcccaggctc tccacgcatc ctgtgtccct gtctctgtag
2521 ctccttactc cccaagagcc ccccagtgct gacaggtgtg ggaaaagtca gggcgaagac
2581 gccaggttca gcatgggaaa atgggactgt ggaaataaag tatatgtgtg gagagctggc
2641 ttcaaaaaaa aaaaaaaa
```

配列番号(SEQ ID NO):35　ヒトCCDC114アミノ酸配列アイソフォーム１（NP_001351100.1）

【化３７】

```
   1 mplgrlagsa rseegseafl egmvdwelsr lqrqckvmeg errayskevh qrinkqleei
  61 rrleevrgdl qvqisaaqnq vkrlrdsqrl enmdrllkgr aqvqaeieel qeqtraldkq
 121 iqewetrift hsknvrspgf ildqkvkirr ririlenqld rvtchfdnql vrnaalreel
 181 dllridrnry lnvdrklkke ihhlhhlvst lilsstsaya vreeakakmg llreraekee
 241 aqsemeaqvl qrqilhleql hhflklknnd rqpdpdvlek rekqagevae gvwktsqerl
 301 vlcyedalnk lsqlmgesdp dllvqkylei eernfaefnf ineqnleleh vqeeikemqe
 361 alvsaraskd dqhllqeqqq kvlqqrmdkv hseaerlear fqdvrgqlek lkadiqllft
 421 kahcdssmid dllgvktsmg drdmglflsl iekrlvellt vqaflhaqsf tsladaallv
 481 lgqsledlpk kmaplqppdt ledppgfeas ddypmsreel lsqveklvel qeqaeaqrqk
 541 dlaaaaakld gtlsvdlast qragsstvlv ptrhphaipg silshktsrd rgslghvtfg
 601 glssstghlp shithgdpnt ghvtfgstsa ssgghvtfrp vsassylgst gyvgssrgge
 661 nteggvesgg tasdssgglg ssrdhvsstg passtgpgss tskdsrg
```

配列番号(SEQ ID NO):36　ヒトCCDC114アミノ酸配列アイソフォーム2（NP_653178.3）

【化３８】

```
  1 megerraysk evhqrinkql eeirrleevr gdlqvqisaa qnqvkrlrds qrlenmdrll
 61 kgraqvqaei eelqeqtral dkqiqewetr ifthsknvrs pgfildqkvk irrririlen
121 qldrvtchfd nqlvrnaalr eeldllridr nrylnvdrkl kkeihhlhhl vstlilssts
181 ayavreeaka kmgllrerae keeaqsemea qvlqrqilhl eqlhhflklk nndrqpdpdv
241 lekrekqage vaegvwktsq erlvlcyeda lnklsqlmge sdpdllvqky leieernfae
301 fnfineqnle lehvqeeike mqealvsara skddqhllqe qqqkvlqqrm dkvhseaerl
361 earfqdvrgq leklkadiql lftkahcdss middllgvkt smgdrdmglf lsliekrlve
421 lltvqaflha qsftsladaa llvlgqsled lpkkmaplqp pdtledppgf easddypmsr
481 eellsqvekl velqeqaeaq rqkdlaaaaa kldgtlsvdl astqragsst vlvptrhpha
541 ipgsilshkt srdrgslghv tfgglssstg hlpshithgd pntghvtfgs tsassgghvt
601 frpvsassyl gstgyvgssr ggenteggve sggtasdssg glgssrdhvs stgpasstgp
661 gsstskdsrg
```

【０１４７】

*本出願の表１、表２及び表４には、表１、表２及び表４に列挙した任意の配列番号のアミノ酸配列との、又はその一部との、それらの全長にわたって、少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、又はそれを超えて、の同一性を有するアミノ酸配列、を含む、ペプチド・エピトープ、並びにポリペプチド分子、が含まれる。そのようなポリペプチドは、本出願において更に記載されるような、全長ペプチドの、又はポリペプチドの、機能を有することがある。

【０１４８】

*表３及び４には、表３及び４に列挙した任意の配列の、又はその一部の、核酸配列と、それらの全長にわたって、少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、又はそれを超えて、の同一性を有する核酸配列、を含む、RNA核酸分子（例えば、チミンがウリジン（uredine）で置換されている）、そのコードされたタンパク質のオルソログをコードする核酸分子、並びにDNA又はRNA核酸配列、が含まれる。そのような核酸分子は、本出願において更に記載されるような、全長核酸の機能を有することがある。

【０１４９】

いくつかの実施形態では、本出願に開示される結合タンパク質は、T細胞レセプター(TCR)、TCRの抗原-結合フラグメント、又はキメラ抗原レセプター(CAR)、を含むことがある。いくつかの実施形態では、本出願に開示される結合タンパク質は、2つのポリペプチド鎖を含むことがある、その各々は、TCRアルファ鎖のCDR3及びTCRベータ鎖のCDR3、又はTCRアルファ鎖及びTCRベータ鎖の両方のCDR1、CDR2、及びCDR3、を含む可変領域、を含む。いくつかの実施形態では、結合タンパク質は、単鎖TCR(scTCR)を含む、それは、TCR V_α及びTCR V_βドメインの両方を含むが、TCR定常ドメインは1つだけ(C_α又はC_β)を含む。用語「キメラ抗原レセプター(chimeric antigen receptor)」(CAR)は、天然に存在しない方法で、又は宿主細胞中に天然に存在しない方法で、一緒に連結した、2つ以上の天然に存在するアミノ酸配列、を含むように操作した融合タンパク質を指す、ここで、その融合タンパク質は、細胞の表面上に存在する場合に、レセプターとして機能することがある。本発明によって包含されるCARは、膜貫通ドメイン及び1つ以上の細胞内シグナリング・ドメイン（任意選択的に、共-刺激ドメインを含む)、に連結した、抗原結合ドメイン（即ち、免疫グロブリン又は免疫グロブリン様分子［例えば、抗体若しくはTCR、又はNK細胞由来のキラー免疫レセプター、に由来する、又は、から取得した、抗原結合ドメイン］から取得した、又は、に由来する）を含む細胞外部分、を含むことがある（例えば、Sadelain et al. (2013) Cancer Discov. 3:388, Harris and Kranz (2016) Trends Pharmacol. Sci. 37:220, 及び Stone

et al. (2014) Cancer Immunol. Immunother. 63:1163、を参照）。

【０１５０】

いくつかの実施形態では、1)TCRアルファ鎖CDR、TCR Vαドメイン、及び／若しくはTCRアルファ鎖は、表１に列挙される、TRAV、TRAJ、及びTRAC遺伝子、の群より選択される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、によってコードされる、並びに／又は2) TCRベータ鎖CDR、TCR Vβドメイン、及び／若しくはTCRベータ鎖は、表１に列挙される、TRBV、TRBJ、及びTRBC遺伝子、の群より選択される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、によってコードされる、並びに／又は3)前記結合タンパク質の各々のCDRは、表１に列挙される同種の参考CDR配列と比較して、最大5個のアミノ酸置換、挿入、欠失、若しくはそれらの組み合わせ、を有する。

【０１５１】

いくつかの実施形態では、本出願に開示される結合タンパク質（例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、又はキメラ抗原レセプター(chimeric antigen receptor)(CAR))は、キメラ（例えば、2つ以上のドナー(donor)又は種由来の、アミノ酸残基又はモチーフ、を含む)、ヒト化（例えば、ヒトにおける免疫原性のリスクを低減するように、改変された又は置換された、非-ヒト生物由来の残基を含む)、又はヒト、である。

【０１５２】

操作した結合タンパク質（例えば、TCR、CAR、及びそれらの抗原-結合フラグメント、等）を産生する為の方法は、当技術分野において周知である（例えば、Bowerman et al. (2009) Mol. Immunol. 5:3000; U.S. Pat. No. 6,410,319; U.S. Pat. No. 7,446,191; U.S. Pat. Publ. No. 2010/065818; U.S. Pat. No. 8,822,647; PCT Publ. No. WO 2014/031687; U.S. Pat. No. 7,514,537; 及びBrentjens et al. (2007) Clin. Cancer Res. 73:5426）。

【０１５３】

いくつかの実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質は、細胞表面上に発現する、TCR、又はその抗原-結合フラグメント、である、ここで、その細胞表面上に発現するTCRは、内因性のTCRと比較して、CD3タンパク質と、より効率的に会合することができる。本発明によって包含される結合タンパク質（例えば、TCR等）は、T細胞のような細胞の表面上に発現させた場合、内因性の結合タンパク質（例えば、内因性のTCR等）と比較して、前記細胞上で、より高く表面発現をする。いくつかの実施形態では、本出願において、CARが提供される、ここで、前記CARの結合ドメインは、抗原-特異的なTCR結合ドメインを含む（例えば、Walseng et al. (2017) Scientific Reports 7:10713を参照されたい)。

【０１５４】

また、出発結合タンパク質から特性が変わっていることがある、改変済み結合タンパク質を操作する為の出発材料として、本出願に開示されるVα及び／又はVβ配列の1つ以上を有する結合タンパク質を使用して、周知の方法に従って、調製することがある、改変済み結合タンパク質(例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、又はCAR)も提供される。1つ又は両方の可変領域(即ち、Vα及び／又はVβ)内の、例えば、1つ以上のCDR領域内の、及び／又は1つ以上の骨格領域内の、1つ以上の残基を改変することによって、結合タンパク質を操作することがある。追加的に又は代替的に、結合タンパク質を、前記定常領域内の残基を改変することによって、操作することがある。

【０１５５】

別のタイプの可変領域の改変は、Vα及び／又はVβのCDR1、CDR2及び／又はCDR3領域内のアミノ酸残基を変異させて、それによって、関心とする結合タンパク質の1つ以上の結合特性（例えば、親和性）を改善すること、である。部位-指向的な変異誘発、又はPCR-媒介の変異誘発を、実施して、変異を導入することがある、並びにタンパク質結合に対する効果を、又は関心とする他の機能的な特性を、本出願に記載されるように、及び実施例において提供されるように、in vitro、ex vivo、又はin vivoアッセイにおい

て、評価することがある。いくつかの実施形態では、(上述のような)保存的な改変を導入することがある。前記変異は、アミノ酸置換、付加又は欠失であってもよい。いくつかの実施形態では、前記変異は、置換である。更に、典型的には、CDR領域内の1、2、3、4又は5個以下の残基を、改変する。

【０１５６】

いくつかの実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質(例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、又はCAR)は、天然に存在するTCRと比較して、1つ以上のアミノ酸置換、欠失、又は付加、を有することがある。いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質の各々のCDRは、表１に列挙した同種の参考CDR配列と比較して、最大5個の、アミノ酸置換、挿入、欠失、又はそれらの組み合わせ、を有する。アミノ酸の保存的な置換は、周知である、及び、天然に存在しても良い、又は前記結合タンパク質を組み換えにより産生する場合に、導入されてもよい。アミノ酸置換、欠失、及び付加を、当技術分野で既知の変異誘発法を使用して、タンパク質に導入することがある（例えば、Sambrook et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第3版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY）。オリゴヌクレオチド-指向性の部位-特異的(又は、セグメント-特異的)変異誘発法を用いて、所望の置換、欠失、又は挿入に従って改変した特定のコドン、を有する改変したポリヌクレオチド、を提供することがある。或いは、ランダム変異誘発技術又は飽和変異誘発技術、例えば、アラニン・スキャニング変異誘発、エラーを引き起こしやすいポリメラーゼ連鎖反応の変異誘発、及びオリゴヌクレオチド-指向性の変異誘発、などを使用して、免疫原ポリペプチド・バリアントを調製することがある（例えば、前掲のSambrook et al. を参照）。

【０１５７】

当業者に既知の様々な基準によって、ペプチド中の又はポリペプチド中の特定の位置で置換されるアミノ酸が保存的（又は類似）であるかどうかが示される。例えば、類似アミノ酸の置換又は保存的アミノ酸の置換は、アミノ酸残基が、類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換される、置換である。類似のアミノ酸は、以下のカテゴリーに含まれることがある：塩基性側鎖を有するアミノ酸(例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン)；酸性側鎖を有するアミノ酸(例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸)；非荷電の極性側鎖を有するアミノ酸(例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン、ヒスチジン)；非極性側鎖を有するアミノ酸(例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン)；ベータ-分岐側鎖を有するアミノ酸(例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン)、及び芳香族側鎖を有するアミノ酸(例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン)。プロリン（これは、分類がより困難と考えられる）は、脂肪族側鎖を有するアミノ酸(例えば、ロイシン、バリン、イソロイシン、及びアラニン)と特性を共通する。いくつかの実施形態では、グルタミンをグルタミン酸に置換することは、又はアスパラギンをアスパラギン酸に置換することは、グルタミン及びアスパラギンが、それぞれグルタミン酸及びアスパラギン酸のアミド誘導体である点で、類似の置換と考えることができる。当技術分野で理解されるように、2つのポリペプチド間の「類似性」を、前記ポリペプチドのアミノ酸配列及びそれに対する保存されたアミノ酸置換を、第2のポリペプチドの配列と比較することによって(例えば、GENEWORKS^{TM}、Align、BLASTアルゴリズム、又は本出願に記載される、及び当技術分野で実施される他のアルゴリズム、を使用して)、決定する。

【０１５８】

いくつかの実施形態では、コードされた結合タンパク質(例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、又はCAR)は、「シグナル・ペプチド」(リーダー配列、リーダー・ペプチド、又は移行ペプチド(transit peptide)、としても知られる)を含むことがある。シグナル・ペプチドは、新たに合成されたポリペプチドを、細胞の内部又は外部の適切な位置へ、ターゲット化する。シグナル・ペプチドは、局在化若しくは分泌の過程で、又は局在化若しくは分泌が一度完了すると、前記ポリペプチドから除去されることがある。

シグナル・ペプチドを有するポリペプチドは、本出願では、「プレ-タンパク質」と呼ばれる、及びシグナル・ペプチドが除去されたポリペプチドは、本出願では、「成熟」タンパク質又はポリペプチドと呼ばれる。いくつかの実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質(例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、又はCAR)は、成熟Vαドメイン、成熟Vβドメイン、又はその両方、を含む。いくつかの実施形態では、本出願に記載される結合タンパク質(例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、又はCAR)は、成熟TCR β-鎖、成熟TCR α-鎖、又はその両方、を含む。

【０１５９】

いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、以下を含む融合タンパク質である：(a)TCR又はその抗原-結合フラグメントを含む細胞外構成要素；(b)エフェクター・ドメイン又はその機能的部分を含む細胞内構成要素；及び(c)細胞外の及び細胞内の構成要素を繋げる膜貫通ドメイン。いくつかの実施形態では、前記融合タンパク質は、MHC分子(例えば、MHCクラスI分子)の中にHA-1免疫原性ペプチドを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体に、(例えば、特異的に及び／又は選択的に)結合することができる。いくつかの実施形態では、前記MHC分子は、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖を含む。いくつかの実施形態では、前記HLA対立遺伝子は、HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*0203、HLA-A*0205、HLA-A*0206、及びHLA-A*207対立遺伝子からなる群より選択される。特定の実施形態では、前記HLA対立遺伝子は、HLA-A*0201である。

【０１６０】

本出願で使用する場合、「エフェクター・ドメイン」又は「免疫エフェクター・ドメイン」は、適切なシグナルを受け取ったときに、細胞における免疫応答を、直接的に又は間接的に、促進することがある、融合タンパク質の又はレセプターの、細胞内の部分又はドメイン、である。いくつかの実施形態では、エフェクター・ドメインは、結合(例えば、CD3ζ)したときに、又は免疫細胞タンパク質若しくはその部分若しくは免疫細胞タンパク質複合体がターゲット分子に直接的に結合し、免疫細胞において、前記エフェクター・ドメインからのシグナル伝達が誘発されるときに、シグナルを受け取る、免疫細胞タンパク質若しくはその部分又は免疫細胞タンパク質複合体、に由来する。

【０１６１】

エフェクター・ドメインは、それが、1つ以上のシグナリング・ドメイン又はモチーフ、（例えば、細胞内チロシン-ベースの活性化モチーフ(intracellular tyrosine-based activation motif (ITAM))等［例えば、共-刺激分子中に見られるモチーフ等］）を含む場合、細胞応答を、直接的に促進することがある。理論に拘束されることを望むものではないが、ITAMは、T細胞レセプターによる、又はT細胞エフェクター・ドメインを含む融合タンパク質による、リガンド係合後のT細胞活性化に有益であると考えられる。いくつかの実施形態では、前記細胞内構成要素又はその機能的部位は、ITAMを含む。例示的な免疫エフェクター・ドメインとしては、限定されるものではないが、CD3ε, CD3δ, CD3ζ, CD25, CD79A, CD79B, CARD11, DAP10, FcRα, FcRβ, FcRγ, Fyn, HVEM, ICOS, Lck, LAG3, LAT, LRP, NKG2D, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, Wnt, ROR2, Ryk, SLAMF1, Slp76, pTα, TCRα, TCRβ, TRIM, Zap70, PTCH2、又はこれらの任意の組み合わせ、に由来する免疫エフェクター・ドメインが挙げられる。いくつかの実施形態では、エフェクター・ドメインは、リンパ球レセプター・シグナリング・ドメイン(例えば、CD3ζ、又はその機能的部位若しくはバリアント)を含む。

【０１６２】

更なる実施形態では、前記融合タンパク質の細胞内構成要素は、CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40 (CD134), CD2, CD5, ICAM-l (CD54), LFA-l (CD11a/CD18), ICOS (CD278), GITR, CD30, CD40, BAFF-R, HVEM, LIGHT, MKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3,CD83と(例えば、特異的に及び／若しくは選択的に)結合するリガンド、若しくはそれらの機能的バリアント、又はそれらの任意の組み合わせ、より選択される、共-刺激ドメイン又はそれらの機能的部分、を含む。いくつかの実施

形態では、前記細胞内構成要素は、CD28共-刺激ドメイン、若しくはその機能的部分若しくはバリアント（これらは、天然CD28タンパク質の186-187位でのLL-GG変異を、任意選択的に、含むことがある［例えば、Nguyen et al. (2003) Blood 702:4320］）、4-1BB共-刺激ドメイン、若しくはその機能的部分若しくはバリアント、又はその両方、を含む。

【０１６３】

いくつかの実施形態では、エフェクター・ドメインは、CD3εエンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナリング)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、CD27エンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナリング)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、CD28エンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナリング)部分、又はその機能的バリアント、を含む。なお更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、4-1BBエンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナリング)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、OX40エンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナリング)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、CD2エンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナリング)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、CD5エンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナリング)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、ICAM-1エンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナリング)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、LFA-1エンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナリング)部分、又はその機能的バリアント、を含む。更なる実施形態では、エフェクター・ドメインは、ICOSエンドドメイン若しくはその機能的(例えば、シグナリング)部分、又はその機能的バリアント、を含む。

【０１６４】

本発明によって包含される、細胞外構成要素及び細胞内構成要素は、膜貫通ドメインによって、繋がっている。「膜貫通ドメイン」は、本出願で使用する場合、細胞膜の中に挿入されることが可能な、又は細胞膜を貫通することが可能な、膜貫通タンパク質の一部分である。膜貫通ドメインは、細胞膜中で熱力学的に安定である、及び一般的に長さが約15アミノ酸から約30アミノ酸までの範囲である、三次元構造を有する。膜貫通ドメインの構造は、アルファ・ヘリックス、ベータ・バレル、ベータ・シート、ベータ・ヘリックス、又はそれらの任意の組み合わせ、を含むことがある。いくつかの実施形態では、前記膜貫通ドメインは、既知の膜貫通タンパク質（例えば、CD4膜貫通ドメイン、CD8膜貫通ドメイン、CD27膜貫通ドメイン、CD28膜貫通ドメイン、若しくはそれらの任意の組み合わせ）、を含む、又は、に由来する。

【０１６５】

いくつかの実施形態では、前記融合タンパク質の細胞外構成要素は、前記結合ドメインと前記膜貫通ドメインとの間に配置されたリンカー、を更に含む。前記結合ドメイン及び前記膜貫通ドメインが繋がっている融合タンパク質の構成要素に言及する時に、本出願で使用される場合、「リンカー」は、約2個のアミノ酸から約500個のアミノ酸までを有する、アミノ酸配列であることがある、これは、前記リンカーによって繋がる、2つの、領域、ドメイン、モチーフ、フラグメント、又はモジュール、の間のコンホメーション運動の為の、柔軟性を、及び、余地を、提供することがある。例えば、本発明によって包含されるリンカーは、前記結合ドメインを、前記融合タンパク質を発現する宿主細胞の表面から離れた位置に配置して、宿主細胞とターゲット細胞との間の適切な接触、抗原結合、及び活性化、を可能にすることがある（Patel et al. (1999) Gene Therapy 6:412-419）。選択したターゲット分子、選択した結合エピトープ、又は抗原結合ドメインの捕捉性及び親和性、に基づいて、抗原認識を最大化するように、リンカー長を、変化させることができる(例えば、Guest et al. (2005) Immunother. 28:203-11 及び PCT

Publ. No. WO 2014/031687)。例示的なリンカーとしては、Gly_xSer_yの1個から約10個の繰り返しを有する、グリシン-セリン・アミノ酸鎖を有するリンカーが挙げられる、ここで、x及びyは、それぞれ独立して、0から10までの整数である、但し、x及びyは、両方ともが0ではない（例えば、$(Gly_4Ser)_2$、$(Gly_3Ser)_2$、Gly_2Ser、又はそれらの組み合わせ［例えば、$((Gly_3Ser)_2Gly_2Ser$等］）。

【０１６６】

本発明によって包含される結合タンパク質は、いくつかの実施形態では、部分構造に共有結合することがある。いくつかの実施形態では、共有結合した部分構造は、親和性タグ(affinity tag)又は標識を含む。前記親和性タグを、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)、カルモジュリン結合タンパク質(CBP)、タンパク質Cタグ、Mycタグ、HaloTag、HAタグ、Flagタグ、Hisタグ、ビオチン・タグ、及びV5タグ、からなる群より選択することがある。前記標識は、蛍光タンパク質であることがある。いくつかの実施形態では、前記共有結合した部分構造を、炎症性薬剤、抗-炎症性薬剤、サイトカイン、毒素、細胞傷害性分子、放射性同位体、又は単鎖Fvなどの抗体、からなる群より選択する。

【０１６７】

結合タンパク質を、イメージング、研究、治療、セラノスティクス(theranostics)、医薬品、化学療法、キレート療法、ターゲット化した薬物送達、及び放射線療法、において使用する薬剤に、コンジュゲートすることがある。いくつかの実施形態では、結合タンパク質を、検出可能な薬剤、例えば、蛍光色素分子、近-赤外色素、造影剤、ナノ粒子、含金属ナノ粒子、金属キレート、X-線造影剤、PET剤、金属、放射性同位体、色素、放射性核種キレート化剤、又はイメージングに使用することがある別の好適な物質、と、コンジュゲートすることがある、又は融合することがある。いくつかの実施形態では、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又はそれより多く、の検出可能な部分構造を、結合タンパク質に連結することがある。放射性同位体の非-限定的な例としては、アルファ放射体、ベータ放射体、陽電子放射体、及びガンマ放射体、が挙げられる。いくつかの実施形態では、前記金属又は放射性同位体を、アクチニウム、アメリシウム、ビスマス、カドミウム、セシウム、コバルト、ユーロピウム、ガドリニウム、イリジウム、鉛、ルテチウム、マンガン、パラジウム、ポロニウム、ラジウム、ルテニウム、サマリウム、ストロンチウム、テクネチウム、タリウム、及びイットリウム、からなる群より選択する。いくつかの実施形態では、前記金属は、アクチニウム、ビスマス、鉛、ラジウム、ストロンチウム、サマリウム、又はイットリウム、である。いくつかの実施形態では、前記放射性同位体は、アクチニウム-225又は鉛-212である。いくつかの実施形態では、前記近-赤外色素は、生物学的な組織及び流体によって容易にクエンチ(quench)しない。いくつかの実施形態では、前記蛍光色素分子は、650 nmと4000 nmとの間の波長で、電磁波を放出する蛍光薬剤であり、そのような電磁波を利用して、そのような薬剤を検出する。コンジュゲート分子として使用することがある蛍光色素の非-限定的な例としては、DyLight-680、DyLight-750、VivoTag-750、DyLight-800、IRDye-800、VivoTag-680、Cy5.5、ZQ800、又はインドシアニン・グリーン(ICG)、が挙げられる。いくつかの実施形態では、しばしば、近赤外色素として、シアニン色素(例えば、Cy7、Cy5.5、及びCy5)が挙げられる。本発明に従ってコンジュゲート分子として使用する為の蛍光色素に関する追加の非-限定的な例としては、アクラジン・オレンジ又はイエロー(acradine orange or yellow)、Alexa Fluors(登録商標)(例えば、Alexa Fluor(登録商標)790、750、700、680、660、及び647)並びにそれらの任意の誘導体、7-アクチノマイシンD、8-アニリノナフタレン-1-スルホン酸、ATTO（登録商標）色素及びその任意の誘導体、オーラミン-ローダミン染色剤及びその任意の誘導体、ベンサントロン（bensantrhone）、ビマン、9-10-ビス(フェニルエチニル)アントラセン、5,12-ビス(フェニルエチニル)ナタセン（5,12-bis(phenylethynyl)naththacene）、ビスベンズイミド、ブレインボウ（brainbow）、カルセイン、カルボディフルオレセイン(carbodyfluorescein)及びその任意の誘導体、1-クロロ-9,10-ビス(フェニルエチニル)アントラセン及びその任意の誘導体、DAPI、DiOC6、DyLight（登録商標）Fluors（登録商標）及び

その任意の誘導体、エピコッコノン(epicocconone)、エチジウム・ブロマイド、FlAsH-EDT2（登録商標）、Fluo色素及びその任意の誘導体、FluoProbe（登録商標）及びその任意の誘導体、フルオレセイン及びその任意の誘導体、Fura（登録商標）及びその任意の誘導体、GelGreen（登録商標）及びその任意の誘導体、GelRed（登録商標）及びその任意の誘導体、蛍光タンパク質及びその任意の誘導体、例えば、mCherry等のmアイソフォーム・タンパク質及びその任意の誘導体、ヘタメチン色素（hetamethine dye）及びその任意の誘導体、ヘキスト染色（hoeschst stain）、イミノクマリン（iminocoumarin）、インディアン・イエロー（indian yellow）、indo-1及びその任意の誘導体、ラウルダン（laurdan）、ルシファー・イエロー及びその任意の誘導体、ルシフェリン及びその任意の誘導体、ルシフェラーゼ及びその任意の誘導体、メルコシアニン及びその任意の誘導体、ナイル色素及びその任意の誘導体、ペリレン（perylene）、フロキシン、フィコ色素（phyco dye）及びその任意の誘導体、ヨウ化プロピウム、ピラニン、ローダミン及びその任意の誘導体、リボグリーン、RoGFP、ルブレン、スチルベン及びその任意の誘導体、スルホローダミン及びその任意の誘導体、SYBR及びその任意の誘導体、シナプト-フルオニン（synapto-pHluorin）、テトラフェニル・ブタジエン、トリス四ナトリウム（tetrasodium tris）、テキサス・レッド、チタン・イエロー、TSQ、ウンベリフェロン（umbelliferone）、ビオラントロン（violanthrone）、黄色蛍光タンパク質（yellow fluorescent protein）及びYOYO-1、が挙げられる。他の好適な蛍光色素としては、限定されるものではないが、フルオレセイン及びフルオレセイン色素（例えば、フルオレセイン・イソチオシアニン又はFITC、ナフトフルオレセイン、4',5'-ジクロロ-2',7'-ジメトキシフルオレセイン、6-カルボキシフルオレセイン又はFAM、等)、カルボシアニン、メロシアニン、スチリル系色素、オキソノール色素、フィコエリスリン（phycoerythrin）、エリスロシン、エオシン、ローダミン色素（例えば、カルボキシテトラメチル-ローダミン又はTAMRA、カルボキシルローダミン6G、カルボキシ-X-ローダミン(ROX)、リサミン・ローダミンB、ローダミン6G、ローダミン・グリーン（rhodamine Green）、ローダミン・レッド（rhodamine Red）、テトラメチルローダミン(TMR)、等)、クマリン及びクマリン色素（例えば、メトキシクマリン、ジアルキルアミノクマリン、ヒドロキシクマリン、アミノメチルクマリン(AMCA)、等)、オレゴン・グリーン（Oregon Green™）色素（例、Oregon Green™ 488, 500, 514、等)、テキサス・レッド（Texas Red登録商標）、テキサス・レッド（Texas Red登録商標）-X、スペクトラム・レッド（SPECTRUM RED登録商標）、スペクトラム・グリーン（SPECTRUM GREEN登録商標）、シアニン色素（例えば、CY-3、Cy-5、CY-3.5、CY-5.5、等)、Alexa Fluor登録商標 色素（例えば、Alexa Fluor登録商標 350, 488, 532, 546, 568, 594, 633, 660, 680、等)、BODIPY登録商標 色素（例えば、BODIPY登録商標 FL、R6G、TMR、TR、 530/550、558/568、564/570、576/589、581/591、630/650、650/665、等)、IRD色素（例えば、IRD40™、IRD700™、IRD800™、等)、等が挙げられる。更なる好適な検出可能な薬剤は、当技術分野において周知である（例えば、PCT公開番号PCT/US14/56177)。放射性同位体の非-限定的な例としては、アルファ放射体、ベータ放射体、陽電子放射体、及びガンマ放射体、が挙げられる。いくつかの実施形態では、前記金属又は放射性同位体を、アクチニウム、アメリシウム、ビスマス、カドミウム、セシウム、コバルト、ユーロピウム、ガドリニウム、イリジウム、鉛、ルテチウム、マンガン、パラジウム、ポロニウム、ラジウム、ルテニウム、サマリウム、ストロンチウム、テクネチウム、タリウム、及びイットリウム、からなる群より選択する。いくつかの実施形態では、前記金属は、アクチニウム、ビスマス、鉛、ラジウム、ストロンチウム、サマリウム、又はイットリウムである。いくつかの実施形態では、前記放射性同位体は、アクチニウム-225又は鉛-212である。

【０１６８】

結合タンパク質を、放射線増感剤又は光増感剤にコンジュゲートすることがある。放射線増感剤としては、限定されるものではないが、以下が挙げられる：ABT-263、ABT-199、WEHI-539、パクリタキセル、カルボプラチン、シスプラチン、オキサリプラチン

、ゲムシタビン、エタニダゾール、ミソニダゾール、チラパザミン、及び核酸塩基誘導体（例えば、5-フルオロデオキシウリジン等のハロゲン化プリン又はピリミジン)。光増感剤の例としては、限定されるものではないが、照射した場合に熱を生成する蛍光分子又はビーズ、ナノ粒子、ポルフィリン類及びポルフィリン誘導体類（例えば、クロリン類、バクテリオクロリン類、イソバクテリオクロリン類、フタロシアニン類、及びナフタロシアニン類)、メタロポルフィリン類、メタロフタロシアニン類、アンゲリシン類、カルコゲンアピリリウム色素（chalcogenapyrrillium dyes）、クロロフィル類、クマリン類、フラビン類並びにアロキサジン及びリボフラビン等の関連化合物、フラーレン類、フェオホルビド類、ピロフェオホルビド類、シアニン類（例えば、メロシアニン540）、フェオフィチン類、サフィリン類、テキサフィリン類、プルプリン類、ポルフィセン類、フェノチアジニウム類、メチレン・ブルー誘導体、ナフタルイミド類、ナイル・ブルー誘導体、キノン類、ペリレンキノン類（例えば、ヒペリシン類、ヒポクレリン類、及びセルコスポリン類)、ソラレン類、キノン類、レチノイド類、ローダミン類、チオフェン類、ベルジン類、キサンテン色素（例えば、エオシン類、エリスロシン類、ローズ・ベンガル類）、ポルフィリン類の二量体及びオリゴマー体、並びに5-アミノレブリン酸のようなプロドラッグ、が挙げられる。有利なことに、この手法によって、治療薬剤(例えば、薬物)及び電磁気的なエネルギー(例えば、照射又は光)の両方を同時に使用して、関心とする細胞(例えば、免疫細胞)を、非常に特異的にターゲット化することが可能になる。いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質を、例えば、直接的に又はリンカーを介して、前記薬剤と融合する、又は共有結合的に若しくは非-共有結合的に連結する。

【０１６９】

いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質を化学的に改変することがある。例えば、結合タンパク質に変異を加えて、ペプチド特性、例えば、検出可能性、安定性、体内分布、薬物動態、半減期、表面荷電、疎水性、コンジュゲーション部位、pH、機能等を改変することがある。N-メチル化は、本発明によって包含される結合タンパク質において起こり得るメチル化の1つの例である。いくつかの実施形態では、結合タンパク質を、遊離アミン上のメチル化によって、例えば、ホルムアルデヒド及びシアノ水素化ホウ素ナトリウムによる還元性メチル化等によって、改変することがある。

【０１７０】

化学的な改変は、ポリマー、ポリエーテル、ポリエチレン・グリコール、バイオポリマー、両性ポリマー、ポリアミノ酸、脂肪酸、デンドリマー、Fc領域、パルミチン酸若しくはミリストレイン酸等の単飽和炭素鎖、又はアルブミン、を含むことがある。結合タンパク質のFc領域による化学的な改変は、融合Fc-タンパク質であることがある。ポリアミノ酸としては、例えば、単一アミノ酸が反復するポリ・アミノ酸配列(例えば、ポリ・グリシン)、及びパターンに従っていることもある、若しくは従っていないこともある、入り混じったポリ・アミノ酸配列を有するポリ・アミノ酸配列、又は前述の任意の組み合わせ、を挙げることができる。

【０１７１】

いくつかの実施形態では、本発明によって包含される結合タンパク質を改変することがある。いくつかの実施形態では、前記改変は、親結合タンパク質と実質的な又は有意な配列同一性を有し、前記親結合タンパク質の1つ以上の生物物理学的な及び／又は生物学的な活性を維持する(例えば、pMHC結合特異性を維持する)機能的バリアントを生成する。いくつかの実施形態では、前記変異は、保存的なアミノ酸置換である。

【０１７２】

いくつかの実施形態では、本発明によって包含される結合タンパク質は、1つ以上の天然アミノ酸の代わりに、合成アミノ酸を含むことがある。そのような合成アミノ酸は、当該技術分野において周知である、及び、例えば、アミノシクロヘキサン・カルボン酸、ノルロイシン、a-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-及びトランス-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-リジン、N',N'-ジベンジル-リジン、6-ヒドロキシリジン、オルニチン、a-アミノシクロペンタン・カルボン酸、oc-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、α,γ-ジアミノブチル酸、β-ジアミノプロピオン酸、ホモフェニルアラニン、及びoc-tert-ブチルグリシン、が挙げられる。

【０１７３】

本発明によって包含される結合タンパク質は、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、環化(例えば、ジスルフィド架橋を介して)、若しくは酸付加塩への変換、及び／又は任意選択的に二量体化若しくはポリマー化、若しくはコンジュゲート化、を受けていることがある。

【０１７４】

いくつかの実施形態では、疎水性部分構造のアタッチメント(attachment)、例えば、N-末端への、C-末端への、又は内部アミノ酸へのアタッチメント(attachment)を利用して、本発明によって包含されるペプチドの半減期を延ばすことがある。他の実施形態では、結合タンパク質は、例えば、血清半減期に影響を及ぼし得る、翻訳後修飾（例えば、メチル化及び／又はアミド化）を含むことがある。いくつかの実施形態では、（例えば、ミリストイル化及び／又はパルミチル化によって）簡単な炭素鎖を前記結合タンパク質にコンジュゲートすることがある。いくつかの実施形態では、前記簡単な炭素鎖によって、前記結合タンパク質は、コンジュゲートしていない物質から、容易に分離可能になることがある。例えば、前記結合タンパク質を、コンジュゲートしていない物質から分離する為に使用することがある方法としては、限定されるものではないが、溶媒抽出及び逆相クロマトグラフィ、が挙げられる。脂溶性の部分構造によって、血清アルブミンへの可逆的結合を介して、半減期が延びることがある。コンジュゲートした部分構造は、血清アルブミンへの可逆的結合を介して、ペプチドの半減期を延ばす脂溶性の部分構造であることがある。いくつかの実施形態では、前記脂溶性の部分構造は、コレステロール又はコレステロール誘導体、例えば、コレステン類、コレスタン類、コレスタジエン類及びオキシステロール類、等、であることがある。いくつかの実施形態では、前記結合タンパク質は、ミリスチン酸(テトラデカン酸)又はその誘導体、にコンジュゲートすることがある。他の実施形態では、結合タンパク質は、半減期を改変する薬剤にカップリング（例えば、コンジュゲート）することがある。半減期を改変する薬剤としては、限定されるものではないが、以下が挙げられる：ポリマー、ポリエチレン・グリコール(PEG)、ヒドロキシエチル・デンプン、ポリビニル・アルコール、水溶性ポリマー、両性イオン水溶性ポリマー、水溶性ポリ(アミノ酸)、プロリン、アラニン、及びセリンの水溶性ポリマー、グリシン、グルタミン酸、及びセリンを含む水溶性ポリマー、Fc領域、脂肪酸、パルミチン酸、又はアルブミンに結合する分子。いくつかの実施形態では、スペーサー又はリンカーは、結合タンパク質に、カップリングすることがあり、例えば、別の分子へのコンジュゲート又は融合を容易にする為に、及びそのようなコンジュゲートした又は融合した分子からのペプチドの切断を容易にする為に、スペーサー又はリンカーとして働く、1、2、3、4、又はそれより多くの、アミノ酸残基等、である。いくつかの実施形態では、結合タンパク質は、例えば、前記結合タンパク質の特性を改変することができる他の部分構造に、又は変化させることができる他の部分構造に、コンジュゲートすることがある。

【０１７５】

結合タンパク質を、組み換え的に又は合成的に、例えば、固相ペプチド合成又は液相ペプチド合成、等によって、生成することがある。ポリペプチド合成を、既知の合成方法によって、例えば、フルオレニルメチルオキシカルボニル(Fmoc)化学を使用して、又はブチルオキシカルボニル(Boc)化学によって、実施することがある。ポリペプチド・フラグメントを、酵素的に又は合成的に、一緒に連結することがある。

【０１７６】
本発明によって包含される態様では、本出願に記載される結合タンパク質を産生する方法を、本出願は提供する、ここで、前記方法は、以下のステップを含む：(i)本出願に記載される結合タンパク質をコードする配列を含む核酸によって形質転換をした、形質転換済み宿主細胞を、前記結合タンパク質の発現を可能にするのに適した条件下で、培養するステップ；及び(ii)その発現した結合タンパク質を回収するステップ。
【０１７７】
組み換え的に産生した結合タンパク質を、単離する為に及び精製する為に、有用な方法は、例えば、前記結合タンパク質を培養培地中に分泌することに適した宿主細胞／ベクター・システムから上清を得るステップ、次いで市販のフィルターを用いて、前記培地を濃縮するステップ、を含むことがある。濃縮した後、その濃縮物は、単一の好適な精製マトリックス、又は一連の好適なマトリックス、例えば、親和性マトリックス若しくはイオン交換樹脂、等、に適用することがある。1つ以上の逆相HPLCのステップを利用して、組み換えポリペプチドを更に精製することがある。これらの精製方法をまた、免疫原を、その自然環境から単離する場合に、使用することがある。本出願に記載される1種以上の結合タンパク質を大規模に産生させる為の方法は、バッチ細胞培養を含むことがある、そのバッチ細胞培養を、適切な培養条件を維持する為に、モニタリングする、及び制御する。前記結合タンパク質の精製を、本出願に記載された、及び当技術分野で既知である、方法に従って、実施することがある。
【０１７８】
本出願に開示される実施形態のいずれかにおいて、コードされる結合タンパク質は、MHC分子(例えば、MHCクラスI分子)の中にHA-1免疫原性ペプチドを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体に、結合することができる。いくつかの実施形態では、前記MHC分子は、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖、を含む。いくつかの実施形態では、そのHLA対立遺伝子を、HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*0203、HLA-A*0205、HLA-A*0206、及びHLA-A*207対立遺伝子からなる群より選択する。
【０１７９】
結合親和性を評価する為の、及び／又は結合分子が特定のリガンド(例えば、ペプチド抗原-MHC複合体)に、(例えば、特異的に及び／又は選択的に)結合するかどうかを決定する為の、様々なアッセイが周知である。ターゲット、例えば、T細胞ペプチド・エピトープというターゲット・ポリペプチド、に対する結合タンパク質の結合親和性を、例えば、当技術分野で周知の任意の多数の結合アッセイを使用すること等によって、決定することは、当業者のレベルの範囲内である。例えば、いくつかの実施形態では、Biacore^{TM}装置を使用して、2つのタンパク質間の複合体の結合定数を決定することがある。前記複合体の解離定数(K_D)を、バッファーがチップ上を通過するときの屈折率の経時変化をモニタリングすることによって、決定することがある。あるタンパク質が別のタンパク質に結合することを測定する為の他の好適なアッセイとしては、例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)及びラジオイムノアッセイ(RIA)等のイムノアッセイ、又は蛍光、UV吸収、円偏光二色性若しくは核磁気共鳴(NMR)によって、タンパク質の、分光学的な若しくは光学的な特性の変化をモニタリングすることによる結合の測定、が挙げられる。他の例示的なアッセイとしては、限定されるものではないが、ウェスタン・ブロット、ELISA、分析的超遠心分離、分光法及び表面プラズモン共鳴(Biacore^{TM})解析(例えば、Scatchard et al. (1949) Ann. N.Y. Acad. Sci. 51:660, Wilson (2002) Science 295:2103, Wolff et al. (1993) Cancer Res. 53:2560, 並びに米国特許第5,283,173号及び第5,468,614号、を参照)、フロー・サイトメトリー、シークエンシング及び発現した核酸を検出する為の他の方法、が挙げられる。1つの例では、ターゲットに対する見かけの親和性を、種々の濃度の四量体への結合を評価することによって、例えば、ラベルした多量体を、例えば、MHC-抗原四量体等を、用いたフロー・サイトメトリーによって、測定する。1つの代表的な例では、結合タンパク質の見かけのK_Dを、ある濃度範囲で、標識した四量体の2倍希釈を用いて、測定する、続いて、非-線形回帰による

結合曲線の決定を行う。見かけのK_Dを、最大結合の半分の結合を生じるリガンドの濃度として決定する。

【０１８０】

III．核酸及びベクター

本発明によって包含される態様では、本出願に記載される、結合タンパク質(例えば、TCR、TCRの抗原結合フラグメント、CAR、等)、ペプチド、及びそれらのフラグメント、をコードする核酸分子が、本出願で提供される。

【０１８１】

いくつかの実施形態では、前記核酸分子は、ストリンジェントな条件(stringent condition)下で、表１に列挙したポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて、の同一性を、例えば全長に渡って、有する、配列に対して、相補的にハイブリダイズする。

【０１８２】

いくつかの実施形態では、前記核酸分子は、ストリンジェントな条件(stringent condition)下で、表１に列挙したポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸に対して、相補的にハイブリダイズする。

【０１８３】

いくつかの実施形態では、前記核酸分子は、表１に列挙したポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む（例えば、を含む、から本質的になる、又は、からなる)。

【０１８４】

いくつかの実施形態では、前記核酸は、表１に記載した少なくとも1つ(例えば、1つ、2つ、又は3つ)のTCR α-鎖CDRをコードするヌクレオチド配列を含む（例えば、を含む、から本質的になる、又は、からなる)。いくつかの実施形態では、前記核酸は、表１に記載したTCR V_αドメイン配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて、同一であるアミノ酸配列を有するTCR V_αドメインをコードするヌクレオチド配列を含む(例えば、を含む、から本質的になる、又は、からなる)。いくつかの実施形態では、前記核酸は、表１に記載したTCR α-鎖配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて、同一であるアミノ酸配列を有するTCR α-鎖をコードするヌクレオチド配列を含む(例えば、を含む、から本質的になる、又は、からなる)。

【０１８５】

いくつかの実施形態では、前記核酸は、表１に記載した少なくとも1つ(例えば、1つ、2つ、又は3つ)のTCR β-鎖CDRをコードするヌクレオチド配列を含む（例えば、を含む、から本質的になる、又は、からなる)。いくつかの実施形態では、前記核酸は、表１に記載したTCR V_βドメイン配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて、同一であるアミノ酸配列を有するTCR V_βドメインをコードするヌクレオチド配列を含む(例えば、を含む、から本質的になる、又は、からなる)。いくつかの実施形態では、前記核酸は、表１に記載したTCR β-鎖配列に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて、同一であるアミノ酸配列を有するTCR β-鎖をコードするヌクレオチド配列を含む(例えば、を含む、から本質的になる、又は、からなる)。

【０１８６】

用語「核酸」は、「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、及び「核酸分子」

を含み、一般に、DNA又はRNAのポリマーを意味する。これは、一本鎖又は二本鎖であることがある、合成されることがある、又は天然の起源から取得されることがある(例えば、単離されることがある、及び／若しくは、精製されることがある)、これは、天然の、非-天然の、又は改変した、ヌクレオチドを含むことがある、並びにこれは、天然の、非-天然の、又は改変した、ヌクレオチド間の結合を、例えば、改変していないオリゴヌクレオチドのヌクレオチド間に見られるホスホジエステルの代わりの、ホスホロアミデート結合又はホスホロチオエート結合等を、含むことがある。1つの実施形態では、前記核酸は、相補的DNA(cDNA)を含む。

【０１８７】

いくつかの実施形態では、本発明によって包含される核酸は、組み換えである。本出願で使用される場合、用語「組み換え」は、(i) 生きている細胞中で複製することができる核酸分子に、天然の又は合成の核酸セグメントを繋げることによって、生きている細胞の外で構築される分子、又は(ii) 上記(i)に記載した分子の複製から生じる分子、を指す。本出願の目的の為に、前記複製は、in vitro/ex vivo複製又はin vivo複製であることがある。

【０１８８】

前記核酸を、当技術分野で既知の手順を用いて、化学合成及び／又は酵素的なライゲーション反応に基づいて、構築することができる。例えば、上述のGreen and Sambrook et al.、を参照されたい。例えば、天然に存在するヌクレオチドを使用して、又はその分子の生物学的安定性を増加させるように、又はハイブリダイゼーション時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、設計した、様々に改変したヌクレオチドを使用して、核酸を、化学的に合成することがある(例えば、ホスホロチオエート誘導体及びアクリジン置換ヌクレオチド)。前記核酸を生成する為に使用することがある改変したヌクレオチドの例としては、限定されるものではないが、5-フルウロウラシル(5-fiuorouracil)、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-D-ガラクトシルキューオシン、イノシン、N^6-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、N^6-置換アデニン、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-D-マンノシルキューオシン、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-N^6-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸(v)、ワイブトキソシン（wybutoxosine）、偽ウラシル（pseudouracil）、キューオシン、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、及び2,6-ジアミノプリン、が挙げられる。或いは、本発明によって包含される核酸の1種以上を、例えば、Integrated DNA Technologies(Coralville、IA)等の会社から購入することができる。

【０１８９】

1つの実施形態では、前記核酸は、コドン-最適化したヌクレオチド配列を含む。特定の理論又はメカニズムに束縛されるものではないが、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大させると考えられる。ヌクレオチド配列のコドン最適化としては、天然のコドンを、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によって翻訳されることがある、それ故に、翻訳効率が増加する、別のコドンに置換すること、が挙げられる。ヌクレオチド配列の最適化はまた、翻訳を妨害することがあるmRNAの二次構造を減少させることもあり、それ故に、翻訳効率が増加することがある。いくつかの実施形態では、本出願に記載されるヌクレオチド配列は、宿主細胞(例えば、T細胞等の免疫細胞)における発現の為に、コドン-最適化がなされる。

【０１９０】

本発明は、本出願に記載される任意の核酸のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列、又は本出願に記載される任意の核酸のヌクレオチド配列に、ストリンジェントな条件(stringent condition)下で、ハイブリダイズするヌクレオチド配列、を含む核酸も提供する。

【０１９１】

ストリンジェントな条件(stringent condition)下でハイブリダイズするヌクレオチド配列は、高ストリンジェンシーな条件(high stringency conditions)下でハイブリダイズすることがある。「高ストリンジェンシーな条件(high stringency conditions)」とは、前記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、より強く検出することができる量で、ターゲット配列(本出願に記載される任意の核酸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。高ストリンジェンシーな条件としては、全く正確に相補的な配列を有する、又は散在する僅かなミスマッチのみを含む、ポリヌクレオチドを、前記ヌクレオチド配列に対して、僅かな領域(例えば、3-10塩基)がたまたまマッチするランダムな配列から、区別できるであろう条件、が挙げられる。そのような僅かな相補性領域は、14-17塩基以上の全長の相補体よりも、容易に融解する、及び高ストリンジェンシーのハイブリダイゼーションによって、それらを容易に区別することが可能である。比較的な高ストリンジェンシーな条件としては、例えば、低塩の及び／又は高温の条件、例えば、約0.02-0.1 M NaCl又は均等物によって、約50-70℃の温度で、提供されるような条件、が挙げられるであろう。そのような高ストリンジェンシーな条件は、前記ヌクレオチド配列と鋳型又はターゲット鎖との間のミスマッチを、もしあれば、ほとんど許容しない、そして、本発明のTCRのいずれかの発現を検出することに、特に適している。ホルムアミドの添加量を増やすことによって、条件をよりストリンジェントにすることが可能であると、広く理解される。

【０１９２】

本発明は、本出願に記載される任意の核酸に対して、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて、同一であるヌクレオチド配列を含む核酸、も提供する。

【０１９３】

典型的には、前記核酸は、DNA又はRNA分子である、これは、好適なベクター、例えば、プラスミド、コスミド、エピソーム、人工染色体、ファージ、又はウイルス・ベクター等、に含まれることがある。

【０１９４】

用語「ベクター」、「クローニング・ベクター」及び「発現ベクター」は、DNA又はRNA配列(例えば、外来遺伝子)を宿主細胞の中に導入することができ、その結果、その宿主を形質転換し、その導入された配列の発現(例えば、転写及び翻訳)を促進する、ことができる媒体、を意味する。従って、本発明によって包含される更なる目的は、本発明によって包含される核酸を含むベクター、に関する。

【０１９５】

そのようなベクターは、調節エレメント、例えば、プロモーター、エンハンサー、ターミネーター等、を含み、対象への投与時に前記ポリペプチドの発現を、引き起こす、又は指令を出す、ことがある。動物細胞の発現ベクターに用いられるプロモーター及びエンハンサーの例としては、SV40の初期プロモーター及びエンハンサー(Mizukami T. et al. 1987)、モロニー・マウス白血病ウイルスのLTRプロモーター及びエンハンサー(Kuwana Y et al. 1987)、免疫グロブリンH鎖のプロモーター(Mason J O et al. 1985)及びエンハンサー(Gillies S D et al. 1983)等、が挙げられる。

【０１９６】

動物細胞の為の任意の発現ベクターを使用することができる。好適なベクターの例としては、pAGE107 (Miyaji H et al. 1990), pAGE103 (Mizukami T et al. 1987), pHSG274 (Brady G et al. 1984), pKCR (O'Hare K et al. 1981), pSG1

ベータ d2-4-(Miyaji H et al. 1990)等、が挙げられる。プラスミドの他の代表的な例としては、複製起点を含む複製プラスミド、又は例えば、pUC、pcDNA、pBR等の組み込みプラスミド（integrative plasmid）、が挙げられる。ウイルス・ベクターの代表的な例としては、例えば、アデノウイルス、レトロウイルス、レンチウイルス、ヘルペス・ウイルス、及びAAV、のベクター、が挙げられる。そのような組み換えウイルスを、当技術分野で既知の技術、例えば、パッケージング細胞をトランスフェクションすることによって、又はヘルパー・プラスミド若しくはウイルスを用いた一過性トランスフェクションによって、産生することがある。ウイルス・パッケージング細胞の典型的な例としては、PA317細胞、PsiCRIP細胞、GPenv-ポジティブ細胞、293細胞等、が挙げられる。そのような複製-欠損の組み換えウイルスを産生する為の詳細なプロトコルは、当技術分野において既知であり、例えば、PCT公開 WO 95/14785, PCT公開WO 96/22378, 米国特許第5,882,877号, 米国特許第6,013,516号, 米国特許第4,861,719号, 米国特許第 5,278,056号, 及びPCT公開 WO 94/19478、の記載に見出すことができる。

【０１９７】

いくつかの実施形態では、前記組成物は、本出願に記載される、結合タンパク質若しくはポリペプチド、又はそのフラグメント、をコードするオープン・リーディング・フレーム（open reading frame）を含む、発現ベクター、を含む。いくつかの実施形態では、前記核酸は、前記オープン・リーディング・フレーム（open reading frame）の発現に必須の調節エレメントを含む。このようなエレメントとしては、例えば、プロモーター、開始コドン、終止コドン、及びポリアデニル化シグナル、が挙げられる。更に、エンハンサーが挙げられる。これらの要素を、結合タンパク質、ポリペプチド又はそのフラグメント、をコードする配列に、作動可能に連結することがある。

【０１９８】

いくつかの実施形態では、前記ベクターは、CD8αを及び／又はCD8βをコードする核酸配列、を更に含む。ある特定の実施形態では、CD8αを又はCD8βをコードする核酸配列は、タグ（例えば、CD34濃縮タグ）をコードする核酸に、作動可能に連結する。特定の実施では、CD8αを及び／又はCD8βをコードする核酸配列は、配列内リボソーム進入部位(internal ribosome entry site)と、又は自己-切断ペプチドをコードする核酸配列、例えば、P2A、E2A、F2A若しくはT2A等、と、相互連結している。

【０１９９】

いくつかの実施形態では、本出願で提供される発現ベクターは、配列番号(SEQ ID NO):27として記載される核酸のいずれかと、少なくとも約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれを超えて、同一であるヌクレオチド配列を含む。

【０２００】

プロモーターの例としては、限定されるものではないが、サル・ウイルス40(Simian Virus 40 (SV40))、マウス乳がんウイルス(Mouse Mammary Tumor Virus (MMTV))プロモーター、ヒト免疫不全ウイルス(Human Immunodeficiency Virus (HIV))、例えば、HIV 長い末端反復(Long Terminal Repeat(LTR))プロモーター等、モロニー・ウイルス、サイトメガロウイルス(Cytomegalovirus (CMV))、例えば、CMV最初期プロモーター(CMV immediate early promoter)、エプスタイン・バー・ウイルス(Epstein Barr Virus (EBV))、ラウス肉腫ウイルス(Rous Sarcoma Virus (RSV))、由来のプロモーター、並びに、例えば、ヒト・アクチン、ヒト・ミオシン、ヒト・ヘモグロビン、ヒト筋肉クレアチン、及びヒト・メタロチオネイン、等のヒト遺伝子由来のプロモーター、が挙げられる。好適なポリアデニル化シグナルの例としては、限定されるものではないが、SV40ポリアデニル化シグナル及びLTRポリアデニル化シグナル、が挙げられる。

【０２０１】

発現に必要な調節エレメントに加えて、他のエレメントが前記核酸分子に含まれること

もある。そのような付加的な要素としては、エンハンサーが挙げられる。エンハンサーとしては、本出願に記載されるプロモーターが挙げられる。いくつかの実施形態では、エンハンサー／プロモーターとしては、例えば、ヒト・アクチン、ヒト・ミオシン、ヒト・ヘモグロビン、ヒト筋肉クレアチン、並びにCMV、RSV及びEBV由来のウイルス・エンハンサー等のウイルス・エンハンサー、が挙げられる。

【０２０２】

いくつかの実施形態では、前記核酸を、以下に更に記載されるように、担体又は送達ベクターに、作動可能に組み込むことがある。有用な送達ベクターとしては、限定されるものではないが、生分解性マイクロカプセル、免疫-刺激複合体(immuno-stimulating complexes (ISCOMs))又はリポソーム、及びウイルス若しくはバクテリア等の、遺伝子操作をした、弱毒化した生物担体、が挙げられる。

【０２０３】

いくつかの実施形態では、前記ベクターは、ウイルス・ベクター、例えば、レンチウイルス、レトロウイルス、ヘルペス・ウイルス、アデノウイルス、アデノ-随伴ウイルス、ワクシニア・ウイルス、バキュロウイルス、鶏痘、AV-痘、改変ワクシニア・アンカラ(modified vaccinia Ankara (MVA))、及び他の組み換えウイルス、等、である。例えば、レンチウイルス・ベクターを用いて、T細胞に感染させることがある。

【０２０４】

いくつかの実施形態では、組み換え発現ベクターは、適切な宿主細胞、例えば、T細胞又は抗原提示細胞、即ち、その細胞表面においてペプチド／MHC複合体を提示する細胞（例えば、樹状細胞）及びCD8を欠く細胞、に、ポリヌクレオチドを送達することができる。いくつかの実施形態では、前記宿主細胞は、造血始原細胞(hematopoietic progenitor cell)又はヒト免疫系細胞である。例えば、前記免疫系細胞は、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、CD4/CD8ダブル・ネガティブT細胞、gd T細胞、ナチュラル・キラー細胞、樹状細胞、又はそれらの任意の組み合わせ、であることがある。いくつかの実施形態では、ここで、T細胞は宿主である、前記T細胞は、ナイーブ、セントラル・メモリーT細胞(central memory T cell)、エフェクター・メモリーT細胞(effector memory T cell)、又はそれらの任意の組み合わせ、であることがある。従って、組み換え発現ベクターは、リンパ組織-特異的な転写調節エレメント(transcriptional regulatory elements (TREs))、例えば、Bリンパ球に、Tリンパ球に、又は樹状細胞に特異的なTRE、等、も含むことがある。リンパ組織特異的なTREは、当技術分野で既知である（例えば、Thompson et al. (1992) Mol. Cell. Biol. 72:1043, Todd et al. (1993) J. Exp. Med. 777:1663, 及び Penix et al. (1993) J. Exp. Med. 775:1483、を参照).

【０２０５】

いくつかの実施形態では、組み換え発現ベクターは、TCR α鎖、TCR β鎖、及び／又はリンカー・ペプチド、をコードするヌクレオチド配列、を含む。例えば、いくつかの実施形態では、前記組み換え発現ベクターは、前記結合タンパク質の全長TCRアルファ及びTCRベータ鎖をコードするヌクレオチド配列と、それらの間に位置するリンカーとを、含む、ここで、前記ベータ鎖をコードするヌクレオチド配列は、前記アルファ鎖をコードするヌクレオチド配列の5'に位置する。いくつかの実施形態では、前記ヌクレオチド配列は、前記全長TCRアルファ及びTCRベータ鎖と、それらの間に位置するリンカーとを、コードする。ここで、前記TCRベータ鎖をコードするヌクレオチド配列は、前記TCRアルファ鎖をコードするヌクレオチド配列の3'に位置する。いくつかの実施形態では、前記全長TCRアルファ及び／又はTCRベータ鎖を、それらのフラグメントで置き換える。

【０２０６】

以下に更に記載されるように、本発明によって包含される別の態様は、本発明による核酸及び／又はベクターによって、トランスフェクションされた、感染を受けた、又は形質転換された細胞、に関する。宿主細胞としては、ベクター、又は核酸及び／若しくはタン

パク質の取り込み、を受け取ることができる、任意の個々の細胞又は細胞培養物、並びに任意の後代細胞、を挙げることができる。当該用語はまた、遺伝的に又は表現型的に、同じであるか又は異なっているかにかかわらず、宿主細胞の後代も包含する。好適な宿主細胞は、前記ベクターに依存することがある、並びに好適な宿主細胞としては、哺乳動物細胞、動物細胞、ヒト細胞、サル細胞、昆虫細胞、酵母細胞、及びバクテリア細胞、を挙げることができる。これらの細胞は、ウイルス・ベクターの使用、リン酸カルシウム沈殿、DEAE-デキストラン、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、又は他の方法、を介した形質転換、によって、前記ベクター又は他の物質を取り込むように誘導され得る（例えば、Sambrook el al. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2d ed. (Cold Spring Harbor Laboratory)を参照されたい)。用語「形質転換」は、宿主細胞への「外来」（即ち、外因性の又は細胞外の）遺伝子、DNA又はRNA配列の導入を意味し、その結果、前記宿主細胞は、導入された遺伝子又は配列を発現して、所望の物質、典型的には、前記導入された遺伝子又は配列によってコードされる、タンパク質又は酵素、を産生する。導入されるDNA又はRNAを受け取り、発現する宿主細胞は、「形質転換されている」

【０２０７】

本発明によって包含される核酸を使用して、好適な発現システムにおいて、本発明によって包含される組み換えポリペプチドを産生することがある。用語「発現システム」は、例えば、前記ベクターによって運ばれた、及び前記宿主細胞に導入された外来DNAがコードするタンパク質を発現する為の、好適な条件下にある、宿主細胞及び適合性ベクター、を意味する。

【０２０８】

よくある発現システムとしては、E.coli（大腸菌）宿主細胞及びプラスミド・ベクター、昆虫宿主細胞及びバキュロウイルス・ベクター、並びに哺乳動物宿主細胞及びベクター、が挙げられる。宿主細胞の他の例としては、限定されるものではないが、原核生物細胞（例えば、バクテリア等）及び真核生物細胞（例えば、酵母細胞、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞等）、が挙げられる。具体的な例としては、大腸菌、クルイベロミセス又はサッカロミセス酵母（Kluyveromyces or Saccharomyces yeasts）、哺乳動物細胞株(例えば、Vero細胞、CHO細胞、3T3細胞、COS細胞、等)、並びに初代又は確立された哺乳動物細胞培養物(例えば、リンパ芽球、線維芽細胞、胚性細胞、上皮細胞、神経細胞、脂肪細胞、等から産生される)、が挙げられる。例としてはまた、マウスSP2/0-Ag14細胞(ATCC CRL1581)、マウスP3X63-Ag8.653細胞(ATCC CRL1580)、ジヒドロ葉酸レダクターゼ遺伝子(以下、「DHFR遺伝子」という)を欠損しているCHO細胞（Urlaub G et al. (1980)）、ラットYB2/3HL.P2.G11.16Ag.20細胞（ATCC CRL 1662、以下、「YB2/0細胞」という）、等が挙げられる。いくつかの実施形態では、前記YB2/0細胞を、キメラ又はヒト化結合タンパク質のADCC活性が、この細胞において発現される場合に、増強されるので、使用する。

【０２０９】

本発明はまた、結合タンパク質、ペプチド、及びそのフラグメント、を発現する組み換え宿主細胞を産生する方法を包含する、ここで、前記方法は、以下からなるステップを含む、(i)上記のような組み換え核酸又はベクターを、コンピテントな宿主細胞(competent host cell)の中に、in vitro又はex vivoで導入するステップ、(ii)得られた組み換え宿主細胞を、in vitro又はex vivoで培養するステップ、並びに(iii)任意選択的に、前記結合タンパク質、ペプチド、及びそれらのフラグメント、を発現する細胞を選択するステップ。そのような組み換え宿主細胞を、本発明によって包含される、診断方法に、予後予測方法に、及び／又は治療方法に、使用することができる。

【０２１０】

別の態様では、本発明は、選択的なハイブリダイゼーション条件下で、本出願に開示されるポリヌクレオチドにハイブリダイズする、単離された核酸を提供する。従って、この実施形態のポリヌクレオチドを、そのようなポリヌクレオチドを含む核酸を、単離する為

に、検出する為に、及び／又は定量する為に、使用することがある。例えば、本発明によって包含されるポリヌクレオチドを使用して、保管ライブラリ中の、部分的クローン又は全長クローンを、同定する、単離する、又は増幅する。いくつかの実施形態では、前記ポリヌクレオチドは、ヒトの又は哺乳動物の核酸ライブラリ由来であるcDNA、から単離された、又はその他、に対して相補的な、ゲノム配列又はcDNA配列、である。いくつかの実施形態では、そのcDNAライブラリは、少なくとも約75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、若しくはそれを超えて、又は、間の、包含的な、任意の範囲、例えば、少なくとも約80%-100%等、全長配列、を含む。前記cDNAライブラリを正規化して、稀な配列が表現されることを増大させる。低ストリンジェンシーな又は中ストリンジェンシーなハイブリダイゼーション条件は、典型的には、しかし排他的ではなく、相補的配列との比較で低い配列同一性を有する配列で、使用される。中ストリンジェンシーな及び高ストリンジェンシーな条件を、より高い同一性に関する配列の為に、任意選択的に使用することができる。低ストリンジェンシーな条件は、約70%の配列同一性を有する配列に関する選択的なハイブリダイゼーションを可能にし、オルソロガスな（orthologous）配列又はパラロガスな（paralogous）配列を同定する為に使用されることがある。任意選択的に、本発明によって包含されるポリヌクレオチドは、本出願に記載されるポリヌクレオチドによってコードされる結合タンパク質の少なくとも一部をコードする。本発明によって包含されるポリヌクレオチドは、本発明によって包含される結合タンパク質をコードするポリヌクレオチドへの選択的なハイブリダイゼーションの為に用いることができる核酸配列、を包含する（例えば、上掲のAusubel、及び上掲のColliganを参照されたい）。

【０２１１】

IV. 宿主細胞

本発明によって包含される態様では、本出願に記載される結合タンパク質（例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、CAR、又はTCR及びエフェクター・ドメインを含む融合タンパク質）を発現する宿主細胞、が本出願において提供される。いくつかの実施形態では、前記宿主細胞は、本出願に記載される、核酸又はベクター、を含む。

【０２１２】

いくつかの実施形態では、結合タンパク質をコードするポリヌクレオチドを使用して、養子移入療法における使用の為に宿主細胞(例えば、T細胞)を、形質転換する、トランスフェクションする、又は形質導入する。核酸シークエンシング及び特定のTCRシークエンシングにおける進歩は、記載されている（例えば、Robins et al. (2009) Blood 114:4099; Robins et al. (2010) Sci. Translat. Med. 2:47ra64, Robins et al. (2011) J. Imm. Meth., 及びWarren et al. (2011) Genome Res. 21:790）、並びに本発明によって包含される実施形態を実施する過程で、用いられることがある。同様に、所望の核酸で、T細胞を、トランスフェクションする為の又は形質導入する為の方法は、当技術分野で既知であり（例えば、米国特許出願公開第2004/0087025号）、所望の抗原-特異性のT細胞を使用する養子移入法を可能にする（例えば、Schmitt et al. (2009) Hum. Gen. 20:1240, Dossett et al. (2009) Mol. Ther. 77:742, Till et al. (2008) Blood 772:2261, Wang et al. (2007) Hum. Gene Ther. 18:112, Kuball et al. (2007) Blood 709:2331, U.S. Pat. Publ. 2011/0243972, U.S. Pat. Publ. 2011/0189141, 及びLeen et al. (2007) Ann. Rev. Immunol. 25:243）。

【０２１３】

任意の好適な免疫細胞を、本発明によって包含されるヘテロなポリヌクレオチドを含むように改変することがあり、例えば、T細胞、NK細胞、又はNK-T細胞、等が挙げられる。いくつかの実施形態では、前記細胞は、初代細胞又は細胞株の細胞、であってもよい。いくつかの実施形態では、前記改変した免疫細胞は、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、又はその両方、を含む。本出願の目的の為には、前記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、若しくは培養T細胞株由来の細胞、例えば、Jurkat、SupT1、等、又は哺乳動物から得られるT細胞、であってよい。哺乳動物から得る場合、前記T細胞を、多数の起源、例えば、限定されるものではないが、血液、骨髄、リンパ節、胸腺、又は他の組織若しくは流体、等、から得ることができる。T細胞をまた、富化することもある又は精製することもある。いくつかの実施形態では、前記T細胞は、ヒトT細胞である。いくつかの実施形態では、前記T細胞は、ヒトから単離したT細胞である。前記T細胞は、任意のタイプのT細胞であってもよく、任意の発生段階のものであってもよい。例えば、限定されるものではないが、細胞傷害性リンパ球、細胞傷害性リンパ球前駆細胞(precursor cell)、細胞傷害性リンパ球始原細胞(progenitor cell)、細胞傷害性リンパ球幹細胞、$CD4^+/CD8^+$ダブル・ポシティブT細胞(double positive T cells)、$CD4^+$ヘルパーT細胞、例えば、Th1及びTh2細胞、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞（例えば、細胞傷害性T細胞）、腫瘍浸潤リンパ球(tumor infiltrating lymphocytes (TILs))、メモリーT細胞（例えば、セントラル・メモリーT細胞(central memory T cell)及びエフェクター・メモリーT細胞(effector memory T cell))、ナイーブT細胞、等、が挙げられる。

【０２１４】

任意の適切な方法を使用して、前記細胞（例えば、T細胞）、にトランスフェクションすることがある、若しくは、に形質導入することがある、又は本出願に記載される方法によって包含される、ヌクレオチド配列物若しくは組成物、を投与することがある。ポリヌクレオチドを宿主細胞に送達する為の方法としては、例えば、カチオン性ポリマー、脂質様分子、及びある特定の市販品、例えば、in vivo-jetPEI(登録商標)、の使用、が挙げられる。他の方法としては、ex vivo形質導入、注入、エレクトロポレーション、DEAE-デキストラン、音波処理負荷、リポソーム-媒介性トランスフェクション、レセプター-媒介性形質導入、微粒子銃(microprojectile bombardment)、トランスポゾン-媒介性移入、等、が挙げられる。宿主細胞をトランスフェクションする又は形質導入する、尚更なる方法は、本出願において更に詳しく記載されるベクターを用いる。

【０２１５】

本出願に記載される改変した免疫細胞を、T細胞活性をアッセイする（例えば、T細胞結合の、活性化の、又は誘導の測定、及び抗原-特異的であるT細胞応答の測定、等も）為の方法論を使用して、機能的に特徴付けることがある。例としては、T細胞増殖、T細胞サイトカイン放出、抗原-特異的T細胞刺激、MHC拘束性T細胞刺激、CTL活性（例えば、^{51}Cr放出を、予め負荷したターゲット細胞から検出することによる)、T細胞表現型マーカー発現の変化、及びT-細胞機能の他の尺度、の測定等が挙げられる。

【０２１６】

これらの及び類似のアッセイを実施する為の手順は、例えば、Lefkovits(Immunology Methods Manual: Hie Comprehensive Sourcebook of Techniques, 1998)、並びにCurrent Protocols in Immunology, Weir, (1986) Handbook of Experimental Immunology, Blackwell Scientific, Boston, MA; Mishell and Shigii (eds.) (1979) Selected Methods in Cellular Immunology, Freeman Publishing, San Francisco, CA; Green and Reed (1998) Science 281:1309, 及びそこで引用された参考文献、に記載されていることがある。

【０２１７】

いくつかの実施形態では、結合タンパク質（例えば、TCR又はその抗原-結合部分等）に対する見かけの親和性を、様々な濃度のMHC多量体への結合を評価することによって、測定することができる。「MHC-ペプチド多量体染色」とは、抗原-特異的T細胞を検出する為に使用するアッセイを指し、これは、いくつかの実施形態では、MHC分子の四量体を特徴とし、各々は、少なくとも1つの抗原(例えば、HA-1免疫原性ペプチド)と同種である(例えば、同一である又は関連する)アミノ酸配列を有する同一のペプチドを含む、ここで、前記複合体は、その同種抗原を認識する結合タンパク質（例えば、TCR又はその抗原-結合部分等）に結合することができる。前記MHC分子の各々は、ビオチン分子で

タグ付けされることがある。ビオチン化MHC／ペプチドは、ストレプトアビジン（これは、蛍光標識されていることがある）を加えることによって、多量体化(例えば、四量体化)することがある。

【０２１８】

前記多量体を、蛍光標識を介したフロー・サイトメトリーによって、検出することができる。いくつかの実施形態では、pMHC多量体アッセイを用いて、本発明によって包含される、親和性が増強した結合タンパク質（例えば、TCR又はその抗原-結合部分）を、検出する又は選択する。いくつかの例では、結合タンパク質（例えばTCR又はその抗原-結合部分）の見かけのK_Dを、ある範囲の濃度で標識された多量体の2倍希釈を用いて、測定する、その後、非-線形回帰によって結合曲線を決定することによって、見かけのK_Dを、最大結合の半分を生じるリガンドの濃度として、決定する。

【０２１９】

サイトカインのレベルを、本出願に記載される方法、例えばELISA、ELISPOT、細胞内サイトカイン染色、及びフロー・サイトメトリー、並びにそれらの組み合わせ（例えば、細胞内サイトカイン染色及びフロー・サイトメトリー）等、を用いて決定することがある。

【０２２０】

抗原-特異的な、免疫応答の、誘発又は刺激、から生じる、免疫細胞増殖及びクローン増殖を、リンパ球（例えば、末梢血細胞のサンプル中の循環しているリンパ球、又はリンパ節由来の細胞、等）を単離し、その細胞を抗原で刺激し、並びにサイトカイン産生、細胞増殖、及び／又は細胞生存性を測定することによって（例えば、トリチウム化チミジンの取り込み、又は非-放射性アッセイ［例えば、MTTアッセイ等］によって等）、決定することがある。Thl免疫応答とTh2免疫応答との間のバランスへの、本出願に記載される免疫原の効果を、例えば、Thlサイトカイン（例えば、IFN-g、IL-12、IL-2、及びTNF-b等）、並びにタイプ2サイトカイン（例えば、IL-4、IL-5、IL-9、IL-10、及びIL-l3等）、のレベルを決定することによって、検討することがある。

【０２２１】

本発明によって包含される宿主細胞は、本出願に記載される結合タンパク質をコードする単一のポリヌクレオチドを含むことがある、又は前記結合タンパク質は、2つ以上のポリヌクレオチドによってコードされることがある。言い換えれば、結合タンパク質の構成要素又は部分は、2つ以上のポリヌクレオチド（これは、単一の核酸分子上に含まれ得る、又は2つ以上の核酸分子上に含まれ得る）によってコードされることがある。

【０２２２】

いくつかの実施形態では、本発明によって包含される結合タンパク質の、2つ以上の構成要素又は部分、をコードするポリヌクレオチドは、単一のオープン・リーディング・フレームの中で、作動可能に関連付けられた、2つ以上のコーディング配列を含む。有利なことに、このような配置によって、所望の遺伝子産物を、連係を取りながら発現させる（例えば、TCRのアルファ-鎖及びベータ-鎖を同時に発現させ、その結果それらは、約1:1の比で産生される、等）ことが、可能になる。いくつかの実施形態では、本発明によって包含される結合タンパク質の2つ以上の置換可能な遺伝子産物（例えば、TCR［例えば、アルファ-鎖及びベータ-鎖］又はCAR等）は、別々の分子として発現し、翻訳後に会合する。更なる実施形態では、本発明によって包含される結合タンパク質のうちの2つ以上の置換可能な遺伝子は、切断可能な又は除去可能な、セグメントによって分離された部分を有する単一のペプチドとして、発現する。例えば、単一のポリヌクレオチド又はベクターによってコードされる、分離可能なポリペプチドを発現させるのに有用な自己-切断ペプチドは、当技術分野において既知である、並びに、例えば、ブタ・テッショウウイルス-1 2 A(porcine teschovirus-1 2 A (P2A))ペプチド、ゾセアアシグナ・ウイルス2A(thoseaasigna virus 2A (T2A))ペプチド、ウマ鼻炎Aウイルス(equine rhinitis A virus (ERAV))2A(E2A)ペプチド、及び口蹄疫vims 2A(F2A)ペプチド、が挙げられる。

【０２２３】
いくつかの実施形態では、本発明によって包含される結合タンパク質は、1つ以上の結合アミノ酸を含む。「結合アミノ酸」又は「結合アミノ酸残基」とは、ポリペプチドの、2つの隣接するモチーフの、領域の、又はドメインの間（例えば、結合ドメインと隣接する定常ドメインとの間、又はTCR鎖と隣接する自己-切断ペプチドとの間、等）の1個以上(例えば、2から約10個)のアミノ酸残基、を指す。結合アミノ酸は、融合タンパク質をコードする構築物の設計から（例えば、融合タンパク質をコードする核酸分子を構築する過程で、制限酵素部位を使用すること、から生じるアミノ酸残基）、又は、例えば、本発明によって包含される、コードされた結合タンパク質の1つ以上のドメインに隣接する自己-切断ペプチドの切断から（例えば、TCR a-鎖とTCR β-鎖との間に配置されたP2Aペプチド、その自己-切断によって、a-鎖、TCR β-鎖、又は両方において、1つ以上の結合アミノ酸が残ることがある）、生じることがある。

【０２２４】
本発明によって包含される操作した免疫細胞を、例えば、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の為の治療剤として、投与することがある。いくつかの状況では、細胞性の免疫療法に関連する活性を、低減させることが、又は停止させることが、望ましい場合がある。従って、いくつかの実施形態では、本発明によって包含される操作した免疫細胞は、所望の場合、そのような細胞の活性を選択的に調節する（例えば、低下させる又は除去する）為に、同種の薬物を又は他の化合物を使用して、ターゲット化することが可能である、結合タンパク質及びアクセサリー・タンパク質（例えば、安全スイッチ・タンパク質等）、をコードするヘテロなポリヌクレオチド、を含む。この点に関して使用される安全スイッチ・タンパク質としては、例えば、細胞外N-末端リガンド結合ドメイン及び細胞内レセプター・チロシン・キナーゼ活性を欠くが、天然アミノ酸配列、タイプI膜貫通細胞表面局在化、及び医薬品-グレードの抗-EGFRモノクローナル抗体［セツキシマブ(Erbitux)］に対する、コンフォメーション的にインタクトな結合エピトープ、を保持する、切り取りを受けたEGFレセプター・ポリペプチド（huEGFRt）tEGFレセプター(tEGFr; Wang et al. (2011) Blood 118:1255-1263))、カスパーゼ・ポリペプチド（例えば、iCasp9; Straathof et al. (2005) Blood 105:4247-4254, Di Stasi et al. (2011) N. Engl. J. Med. 365:1673-1683, Zhou and Brenner (2016) Hematol. pii:S0301-472X:30513-30516)、RQR8(Philip et al. (2014) Blood 124:1277-1287)、及びヒトc-mycタンパク質タグ(Kieback et al. (2008) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:623-628)、が挙げられる。

【０２２５】
治療用細胞に有用な他のアクセサリ構成要素は、前記細胞を、同定する、選別する、単離する、富化する、又は追跡する、ことを可能にする、タグ又は選択マーカー（例えば、CD34濃縮タグ)、を含む。例えば、所望の特性（例えば、抗原-特異的なTCR及び安全スイッチ・タンパク質）を有する、印を付けた免疫細胞を、サンプル中の印が付けられていない細胞から選別し、より効率的に、活性化することができる、及び、所望の純度の治療用製品の中に含有させる為に増殖させることができる。

【０２２６】
本出願で使用する場合、用語「選択マーカー」は、選択マーカーを含むポリヌクレオチドで形質導入された免疫細胞を、検知できるようにする為の、及びポジティブな選択を可能にする為の、細胞に同定可能な変化を与える核酸構築物、を含む。例えば、RQRは、CD20の主要な細胞外ループ及び2つの最小限CD34結合部位を含む選択マーカーである。いくつかの実施形態では、RQRをコードするポリヌクレオチドは、16アミノ酸のCD34最小エピトープをコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態（例えば、本出願の実施例において提供されるある特定の実施形態等）では、前記CD34最小エピトープは、CD8ストーク・ドメイン(stalk domain)(Q8)のアミノ末端位置に組み込まれる。更なる実施形態では、そのCD34最小結合部位配列を、CD20のターゲット・エピトー

プと組み合わせて、T細胞にとってのコンパクトなマーカー／自殺遺伝子(RQR8)を形成することができる(Philip et al. 2014)。この構築物によって、例えば、磁気ビーズに結合したCD34-特異的抗体（ミルテニー)を使って、その構築物を発現する免疫細胞の選択が可能になる、及び、臨床的に承認済みの医薬品抗体であるリツキシマブを利用して、導入遺伝子を発現する操作したT細胞を選択的に除くことが可能になる（例えば、Philip et al. (2014) Blood 124:1277-1287, 米国特許出願公開2015-0093401, 及び米国特許出願公開2018-0051089）。

【０２２７】

更なる例示的な選択マーカーとしては、T細胞上で通常発現していない、いくつかの切り取りを受けたタイプI膜貫通タンパク質：切り取りを受けた低-親和性神経増殖因子、切り取りを受けたCD19、及び切り取りを受けたCD34、が挙げられる（例えば、Di Stasi et al. (2011) N. Engl. J. Med. 365:1673-1683, Mavilio et al. (1994) Blood 83:1988-1997, 及び Fehse et al. (2000) Mol. Ther. 7:448-456)。CD19及びCD34の特に魅力的な特徴は、臨床-グレードを選別する為に、これらのマーカーをターゲットとすることができる、既成のMiltenyi CliniMACs^{TM}選択システムが利用可能であることである。しかしながら、CD19及びCD34は比較的大きな表面タンパク質であり、ベクターのパッケージング能、及び組み込みベクターの転写効率、を損なう可能性がある。細胞外、非-シグナリング・ドメイン、又は様々なタンパク質(例えば、CD19、CD34、LNGFR、等)を含む表面マーカーを使用することもある。任意の選択マーカーを、使用することができ、医薬品の製造管理及び品質管理の基準（good manufacturing practices）に認められるべきである。いくつかの実施形態では、選択マーカーは、関心とする遺伝子産物をコードするポリヌクレオチド(例えば、本発明によって包含される結合タンパク質、例えば、TCR若しくはCAR、又はそれらの抗原-結合フラグメント等)と一緒に発現する。選択マーカーの更なる例としては、例えば、GFP、EGFP、β-gal又はクロラムフェニコール・アセチルトランスフェラーゼ(chloramphenicol acetyltransferase (CAT))などのレポーター、が挙げられる。いくつかの実施形態では、例えば、細胞はCD34などの選択マーカーを発現する、及び前記CD34を使用して、本出願に記載される方法における使用の為の、関心とする形質導入された細胞を、選択し富化することがある、又は単離することがある（例えば、免疫磁気選択によって）。本出願で使用する場合、CD34マーカーは、抗-CD34抗体、又は、例えば、CD34に結合するscFv、TCR、又は他の抗原認識部分、と区別される。

【０２２８】

いくつかの実施形態では、選択マーカーは、RQRポリペプチド、切り取りを受けた低-親和性神経増殖因子(tNGFR)、切り取りを受けたCD19(tCD19)、切り取りを受けたCD34(tCD34)、又はそれらの任意の組み合わせ、を含む。

【０２２９】

背景として、CD4^{+} T細胞を免疫療法細胞産物に含めることにより、抗原-誘導性にIL-2を分泌させることが可能になり、移入した細胞傷害性CD8^{+} T細胞の、持続性及び機能、を増強することができる（例えば、Kennedy et al. (2008) Immunol. Rev. 222:129 及びNakanishi et al. Nature (2009) 52:510)。いくつかの実施形態では、クラスI HLAペプチド複合体に対するTCRの感度を高める為に、CD4^{+} T細胞におけるクラスI-拘束性TCRは、CD8共-レセプターの移入を必要とすることがある。CD4共-レセプターは、CD8とは構造が異なり、CD8共-レセプターを効果的に置換することができない（例えば、Stone & Kranz (2013) Front. Immunol. 4:244 及びCole et al. (2012) Immunology 737:139）。それ故に、本発明によって包含される、組成物及び方法、の中で使用する為の別のアクセサリー・タンパク質は、CD8共-レセプター又はその構成要素、を含む。本発明によって包含される結合タンパク質をコードするヘテロなポリヌクレオチドを含む操作した免疫細胞は、いくつかの実施形態では、CD8共-レセプター・タンパク質、又はそのベータ-鎖の、若しくはアルファ-鎖の、構成要素、をコードするヘテロなポリヌクレオチドを、更に含むことがある。

【０２３０】
宿主細胞は、効率的に形質導入を受けて、前記結合タンパク質、安全スイッチ・タンパク質、選択マーカー、及びCD8共-レセプター・タンパク質、をコードする単一のポリヌクレオチドを、含むようになることがある、及び効率的に発現することがある。
【０２３１】
1つの実施形態では、本発明によって包含される宿主細胞は、共-刺激分子をコードする核酸を更に含み、その結果、前記改変したT細胞は、前記共-刺激分子を発現する。いくつかの実施形態では、共-刺激ドメインを、CD3、CD27、CD28、CD83、CD86、CD127、4-1BB、4-1BBL、PD1及びPD1L、より選択する。
【０２３２】
前述の実施形態のいずれかでは、本出願に記載される結合タンパク質を発現する宿主細胞は、汎用免疫細胞であることがある。「汎用免疫細胞（universal immune cell）」は、PD-l、LAG-3、CTLA4、TIM3、TIGIT、HLA分子、TCR分子、又はそれらの任意の組み合わせ、より選択されるポリペプチド産物をコードする1つ以上の内因性遺伝子の発現を、低減するように、又は排除するように、改変した免疫細胞を含む。理論に拘束されることを望むものではないが、特定の内因性に発現した免疫細胞タンパク質は、改変した免疫細胞の免疫活性を下方制御することがある（例えば、PD-l、LAG-3、CTLA4、TIGIT）、又は本発明によって包含されるヘテロに発現した結合タンパク質の結合活性を妨害することがある（例えば、非-HA-1抗原に結合する、及びHA-1抗原［例えば、MHC分子の中にアミノ酸配列VLHDDLLEAを含むHA-1免疫原性ペプチド等］を発現するターゲット細胞に、改変した免疫細胞が結合することを妨害する、内因性のTCR）。更に、ドナー(donor)免疫細胞上で発現する内因性タンパク質（例えば、免疫細胞タンパク質、例えば、HLA対立遺伝子等）は、同種異系の宿主によって、異物として認識されることがある、これにより、その改変したドナー(donor)免疫細胞は、同種異系の宿主によって、結果的に、除去されることがある、又は抑制されることがある。
【０２３３】
従って、そのような内因性遺伝子又はタンパク質の、発現又は活性を、減少させることにより、又は排除することにより、自己の又は同種の宿主環境において、改変した免疫細胞の活性、寛容性又は持続性を改善することができる、及び前記細胞を（例えば、HLAタイプにかかわらず、任意のレシピエント(recipient)に)汎用的に投与することが可能になる。いくつかの実施形態では、本発明に係る細胞は同系である、即ち、それらは、遺伝的に同一であるか、又は十分に同一である、及び免疫学的に互換的であり、その結果、移植が可能になる。いくつかの実施形態では、汎用免疫細胞は、ドナー(donor)細胞（例えば、同種異系）、又は自己細胞、である。いくつかの実施形態では、本発明によって包含される改変した免疫細胞（例えば、汎用免疫細胞）は、PD-l、LAG-3、CTLA4、TIM3、TIGIT、HLA構成要素（例えば、αlマクログロブリン、α2マクログロブリン、α3マクログロブリン、β1ミクログロブリン、若しくはβ2ミクログロブリンをコードする遺伝子）、又はTCR構成要素（例えば、TCR可変領域若しくはTCR定常領域をコードする遺伝子）、をコードする1種以上の遺伝子に関する、染色体遺伝子ノックアウトを含む（例えば、Torikai el al. (2016) Nature Sci. Rep. 6:21757; Torikai et al. (2012) Blood 179:5697; 及び Torikai et al. (2013) Blood 722:1341、を参照、これらはまた、本発明に係る有用な、代表的な、例示的な、遺伝子編集技術、組成物、及び養子細胞療法、も提供する。）
【０２３４】
本出願で使用する場合、用語「染色体遺伝子ノックアウト」とは、宿主細胞における、遺伝子改変又は導入された阻害的な作用因子を指し、これらは、前記宿主細胞による、機能的に活性な内因性ポリペプチド産物の産生を防止する（例えば、減少させる、遅延させる、抑制する、又は消失させる）。染色体遺伝子ノックアウトをもたらす改変としては、例えば、ナンセンス変異(nonsense mutation)（例えば、終止コドンを途中に導入すること等）、ミスセンス変異(missense mutation)、遺伝子欠失、及び鎖切断、並び

に前記宿主細胞における内因性遺伝子発現を阻害する阻害性核酸分子のヘテロな発現、を導入すること、が挙げることができる。

【０２３５】

いくつかの実施形態では、染色体遺伝子ノック-アウト又は遺伝子ノック-インを、宿主細胞の染色体編集によって作製することがある。染色体編集を、例えば、エンドヌクレアーゼを用いて行うことができる。本出願で使用する場合、「エンドヌクレアーゼ」とは、ポリヌクレオチド鎖内のホスホジエステル結合の切断を触媒することができる酵素を指す。いくつかの実施形態では、エンドヌクレアーゼは、ターゲット遺伝子を切断し、それによって、前記ターゲット遺伝子を不活性化又は「ノックアウト」することができる。エンドヌクレアーゼは、天然、組み換え、遺伝子改変、又は融合エンドヌクレアーゼ、であることがある。前記エンドヌクレアーゼによって引き起こされる核酸鎖の切断は一般に、相同組み換え又は非-相同末端結合(non-homologous end joining)(NHEJ)という異なるメカニズムを介して修復される。相同組み換えの過程で、ドナー(donor)の核酸分子を、ドナー(donor)の遺伝子の「ノックイン」の為に、ターゲット遺伝子の「ノックアウト」の為に、及び任意選択的に、ドナー(donor)遺伝子のノックインというイベント又はターゲット遺伝子のノックアウトというイベント事象を介してターゲット遺伝子を不活性化する為に、使用することがある。NHEJは、しばしば、切断部位でのDNA配列の変化（例えば、少なくとも1つのヌクレオチドの置換、欠失、又は付加）をもたらすエラーを引き起こし易い修復プロセスである。NHEJを利用して、ターゲット遺伝子を「ノックアウト」することがある。エンドヌクレアーゼの例としては、ジンク・フィンガー・ヌクレアーゼ（zinc finger nuclease）、TALE-ヌクレアーゼ、CRISPR-Casヌクレアーゼ、メガヌクレアーゼ、メガTAL（megaTAL）、等が挙げられる。

【０２３６】

本出願で使用する場合、「ジンク・フィンガー・ヌクレアーゼ（zinc finger nuclease）」(ZFN)とは、非-特異的なDNA切断ドメイン（例えば、Fok1エンドヌクレアーゼ等）に融合したジンク・フィンガーDNA結合ドメインを含む融合タンパク質を指す。約30アミノ酸の各ジンク・フィンガー・モチーフは、約3塩基対のDNAに結合し、特定の残基のアミノ酸はトリプレット配列特異性を変更するように変わる（例えば、Desjarlais et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. 90:2256-2260 及びWolfe et al. (1999) J. Mol. Biol. 255:1917-1934）。複数のジンク・フィンガー・モチーフをタンデムに連結して、所望のDNA配列（例えば、約9から約18塩基対までの範囲の長さを有する領域等）に対する結合特異性を作り出すことができる。背景として、ZFNは、ゲノム中に部位-特異的なDNA二本鎖切断(double strand break (DSB))の生成を触媒することによって、ゲノム編集を媒介する、及びDSBの部位でのゲノムに対して相同な隣接配列を含む導入遺伝子のターゲット化した組み込みは、相同組み換え修復(homology directed repair)によって促進される。或いは、ZFNによって生成されるDSBは、非-相同末端結合(non-homologous end joining)(NHEJ)による修復を介して、ターゲット遺伝子のノックアウトをもたらすことがある。これは、切断部位におけるヌクレオチドの挿入又は欠失をもたらす、エラーを引き起こし易い細胞修復経路である。いくつかの実施形態では、遺伝子ノックアウトは、ZFN分子を用いて作製された、挿入、欠失、変異、又はそれらの組み合わせ、を含む。

【０２３７】

本出願で使用する場合、「転写活性化因子-様エフェクター・ヌクレアーゼ(transcription activator-like effector nuclease)」(TALEN)は、TALE DNA-結合ドメイン及びDNA切断ドメイン（例えば、Fok1エンドヌクレアーゼ等）を含む融合タンパク質を指す。「TALE DNA結合ドメイン」又は「TALE」は、1つ以上のTALE反復ドメイン／単位から構成され、各々は、一般に、多様な第12及び第13アミノ酸を有する、高度に保存された33-35アミノ酸配列を有する。そのTALE反復ドメインは、TALEがターゲットDNA配列に結合することに関与する。前記多様なアミノ酸の残基は（繰り返し可変性二残基(repeat variable diresidue (RVD))と呼ぶ）、特異的なヌクレオチド認識と相

関する。これらのTALEのDNA認識の為の天然(カノニカル(canonical))コードが決定されてきていて、TALEの12位及び13位のHD(ヒスチン-アスパラギン酸)配列によって、TALEがシトシン(C)に結合するようになる、NG(アスパラギン-グリシン)によって、Tヌクレオチドに結合するようになる、NI(アスパラギン-イソロイシン)によって、Aに結合するようになる、NN(アスパラギン-アスパラギン)によって、G又はAヌクレオチドに結合するようになる、及びNG(アスパラギン-グリシン)によって、Tヌクレオチドに結合するようになる。非-カノニカル(非定型)RVDもまた、当技術分野において既知である（例えば、米国特許出願公開第2011/0301073号、非定型RVDの全体が本出願に参照により取り込まれる）。TALENを、T細胞のゲノム中の部位特異的な二本鎖切断(DSB)を指示する為に使用することがある。非-相同末端結合(Non-homologous end joining)(NHEJ)は、アニーリングする為の配列重複がほとんど又は全く無い、二本鎖切断の両側のDNAを、ライゲート(ligate)する、それによって、遺伝子発現をノックアウトするエラーが導入される。或いは、相同組み換え修復(homology directed repair)によって、DSBの部位（前記導入遺伝子中に存在する相同隣接配列を提供する）に導入遺伝子を導入することがある。いくつかの実施形態では、遺伝子ノックアウトは、挿入、欠失、変異又はそれらの組み合わせ、を含み、TALEN分子を用いて作製される。

【０２３８】

本出願で使用する場合、「クラスター化された規則的に間隔を置いて配置された短いパリンドローム・リピート(clustered regularly interspaced short palindromic repeats)/Cas」(CRISPR/Cas)ヌクレアーゼ・システムとは、CRISPR RNA(crRNA)-ガイドCasヌクレアーゼを使用して、塩基-対合の相補性を介してゲノム内のターゲット部位（プロトスペーサー(protospacer)として知られる）を認識し、次いで、短い、保存されたプロトスペーサー関連モチーフ(protospacer associated motif (PAM))が相補的ターゲット配列の3'のすぐ後に続く場合、DNAを切断するシステム、を指す。CRISPR/Casシステムは、Casヌクレアーゼの配列と構造に基づいて、3つのタイプ（即ち、タイプI、タイプII、及びタイプIII）に分類される。タイプI及びタイプIIIのcrRNA-ガイドを受けるサーベイランス複合体は、複数のCasサブユニットを必要とする。タイプIIシステム（最も研究されている）は、少なくとも3つの構成要素を含む：RNA-ガイドを受けるCas9ヌクレアーゼ、crRNA、及びトランス作用性crRNA(tracrRNA)。前記tracrRNAは、二本鎖形成領域を含む。crRNA及びtracrRNAは、二重鎖を形成し、これは、Cas9ヌクレアーゼと相互作用することができる、及びcrRNA上のスペーサーと、PAMから上流のターゲットDNA上のプロトスペーサーとの間の、ワトソン-クリック（Watson-Crick）塩基-対合を介して、ターゲットDNA上の特定部位に、Cas9/crRNA:tracrRNA複合体をガイドすることができる。Cas9ヌクレアーゼは、前記crRNAスペーサによって画定される領域内で、二本鎖切断を切断する。NHEJによる修復の結果、挿入及び／又は削除が生じ、そのターゲット遺伝子座の発現が破壊される。或いは、相同隣接配列を有する導入遺伝子が、相同組み換え修復(homology directed repair)を介して、DSBの部位に導入されることがある。crRNA及びtracrRNAを、操作して、単一のガイドRNA(sgRNA又はgRNA)へとすることがある(例えば、Jinek et al. (2012) Science 337:816-821)。更に、前記ターゲット部位に相補的なガイドRNAの領域を、所望の配列をターゲットとするように改変することがある、又はプログラムすることがある（Xie et al. (2014) PLOS One 9:el00448, 米国特許出願公開US 2014/0068797, 米国特許出願公開US 2014/0186843, 米国特許8,697,359, 及びPCT出願公開WO 2015/071474）。いくつかの実施形態では、遺伝子ノックアウトは、挿入、欠失、変異、又はそれらの組み合わせ、を含み、CRISPR/Casヌクレアーゼ・システムを用いて作製される。

【０２３９】

例示的なgRNA配列、及び免疫細胞タンパク質をコードする内因性遺伝子をノックアウトする為にgRNA配列を使用する例示的な方法としては、Ren et al. (2017) Clin. Cancer Res. 23:2255-2266（これは、代表的な、例示的な、gRNA、CAS9DNA、ベ

クター、及び遺伝子ノックアウト技術、を提供する）に記載されるものが挙げられる。

【０２４０】

本出願で使用する場合、「メガヌクレアーゼ(meganuclease)」（「ホーミング・エンドヌクレアーゼ(homing endonuclease)」とも呼ぶ）とは、大きな認識部位(約12から約40塩基対の二本鎖DNA配列)を特徴とするエンドデオキシリボヌクレアーゼ、を指す。メガヌクレアーゼは、配列及び構造モチーフに基づいて、5つのファミリーに分けることができる：LAGLIDADG, GIY-YIG, HNH, His-Cys ボックス(box), 及びPD-(D/E)XK。例示的なメガヌクレアーゼとしては、I-SceI, I-CeuI, PI-PspI, RI-Sce, I-SceIV, I-CsmI, I-PanI, I-SceII, I-PpoI, I-SceIII, I-CreI, I-TevI, I-TevII 及びI-TevIII、が挙げられる、そして、それらの認識配列は既知である（例えば、米国特許5,420,032 及び6,833,252, Belfort et al. (1997) Nucl. Acids Res. 25:3379-3388, Dujon et al. (1989) Gene 52:115-118, Perler et al. (1994) Nucl. Acids Res. 22:1125-1127, Jasin (1996) Trends Genet. 72:224-228, Gimble et al. (1996) J. Mol. Biol. 263:163-180, 並びに Argast et al. (1998) J. Mol. Biol. 280: 345-353）。

【０２４１】

いくつかの実施形態では、天然に存在するメガヌクレアーゼを使用して、関心とするターゲット（例えば、免疫チェックポイント、HLA-コード遺伝子、又はTCR構成要素-コード遺伝子等）の部位-特異的なゲノム改変を促進することがある。

【０２４２】

他の実施形態では、ターゲット遺伝子に対する新規な結合特異性を有する、操作したメガヌクレアーゼを、部位特異的なゲノム改変に使用する（例えば、Porteus et al. (2005) Nat. Biotechnol. 23:967-73, Sussman et al. (2004) J. Mol. Biol. 342:31-41, Epinat et al. (2003) Nucl. Acids Res. 37:2952-2962, Chevalier et al. (2002) Mol. Cell 70:895-905, Ashworth et al. (2006) Nature 441:656-659, Paques et al. (2007) Curr. Gene Ther. 7:49-66, 並びに 米国特許出願公開US 2007/0117128, US 2006/0206949, US 2006/0153826, US 2006/0078552, 及びUS 2004/0002092、を参照）。更なる実施形態では、megaTALとして知られる融合タンパク質を作製するように、TALENのモジュラーDNA結合ドメインを改変したホーミング・エンドヌクレアーゼ(homing endonuclease)を使用して、染色体遺伝子ノックアウトを作製する。megaTALを、1つ以上のターゲット遺伝子をノック-アウトする為にだけでなく、関心とするポリペプチドをコードする外因性のドナー(donor)の鋳型と併用する場合、異種性の又は外因性のポリヌクレオチドを導入(ノック-イン)する為にも、利用することがある。

【０２４３】

いくつかの実施形態では、染色体遺伝子ノックアウトは、HA-1抗原に（例えば、特異的に及び／又は選択的に）結合する抗原-特異的なレセプターをコードするヘテロなポリヌクレオチドを含む宿主細胞（例えば、免疫細胞）に導入された阻害性核酸分子を含む、ここで、前記阻害性核酸分子は、ターゲット-特異的なインヒビターをコードする、及びここで、そのコードされたターゲット-特異的なインヒビターは、前記宿主免疫細胞における内因性遺伝子（即ち、免疫チェックポイント、HLA構成要素、又はTCR構成要素、又はそれらの任意の組み合わせ）の発現を阻害する。

【０２４４】

染色体遺伝子ノックアウトを、そのノックアウト手順を又は作用因子を使用した後に、前記宿主免疫細胞のDNAシークエンシングを行うことによって、直接的に確認することがある。

【０２４５】

染色体遺伝子ノックアウトをまた、ノックアウト後の遺伝子発現の非存在(例えば、前記遺伝子によってコードされる、mRNA又はポリペプチド産物の非存在)から推測することもある。

【０２４６】
いくつかの実施形態では、本発明によって包含される宿主細胞は、ＭＨＣ分子の中にＨＡ-１免疫原性ペプチドを含むペプチド-ＭＨＣ(ｐＭＨＣ)複合体を含むターゲット細胞を、特異的に、及び／又は選択的に、５０％以上含むことがある。
【０２４７】
いくつかの実施形態では、前記改変した免疫細胞は、ＭＨＣ分子の中にＨＡ-１免疫原性ペプチドを含むペプチド-ＭＨＣ(ｐＭＨＣ)複合体を含むターゲット細胞と接触した場合に、サイトカインを産生することができる。
【０２４８】
いくつかの実施形態では、前記サイトカインは、ＩＦＮ-γ又はＩＬ２を含む。いくつかの実施形態では、前記サイトカインは、ＴＮＦ-αを含む。
【０２４９】
いくつかの実施形態では、前記宿主細胞は、約１０００の、１００万個の転写物当たりの転写物(transcript per million transcripts (TPM))（約１０００ ＴＰＭ）以下、９５０ ＴＰＭ, ９００ ＴＰＭ, ８５０ ＴＰＭ, ８００ ＴＰＭ, ７５０ ＴＰＭ, ７００ ＴＰＭ, ６５０ ＴＰＭ, ６００ ＴＰＭ, ５５０ ＴＰＭ, ５００ ＴＰＭ, ４５０ ＴＰＭ, ４００ ＴＰＭ, ３５０ ＴＰＭ, ３００ ＴＰＭ, ２５０ ＴＰＭ, ２００ ＴＰＭ, １５０ ＴＰＭ, １００ ＴＰＭ, ９５ ＴＰＭ, ９０ ＴＰＭ, ８５ ＴＰＭ, ８０ ＴＰＭ, ７５ ＴＰＭ, ７０ ＴＰＭ, ６５ ＴＰＭ, ６０ ＴＰＭ, ５５ ＴＰＭ, ５０ ＴＰＭ, ４５ ＴＰＭ, ４０ ＴＰＭ, ３５ ＴＰＭ, ３４ ＴＰＭ, ３３ ＴＰＭ, ３２ ＴＰＭ, ３１ ＴＰＭ, ３０ ＴＰＭ, ２９ ＴＰＭ, ２８ ＴＰＭ, ２７ ＴＰＭ, ２６ ＴＰＭ, ２５ ＴＰＭ, ２４ ＴＰＭ, ２３ ＴＰＭ, ２２ ＴＰＭ, ２１ ＴＰＭ, ２０ ＴＰＭ, １９ ＴＰＭ, １８ ＴＰＭ, １７ ＴＰＭ, １６ ＴＰＭ, １５ ＴＰＭ, １４ ＴＰＭ, １３ ＴＰＭ, １２ ＴＰＭ, １１ ＴＰＭ, １０ ＴＰＭ, ９ ＴＰＭ, ８ ＴＰＭ, ７ ＴＰＭ, ６ ＴＰＭ, ５ ＴＰＭ, ４ ＴＰＭ, ３ ＴＰＭ, ２ ＴＰＭ, 及び １ ＴＰＭ、以下、又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、約１０００ ＴＰＭ以下から約３５ ＴＰＭ以下まで等、のレベルで、ＨＡ-１の発現があるターゲット細胞と接触した場合に、より高いレベルのサイトカイン、又は細胞傷害性分子を産生することができる。いくつかの実施形態では、低いＨＡ-１発現レベルは、「ヘテロ接合性発現」と呼ばれ、約１ ＴＰＭと約３５ ＴＰＭとの間、又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、１-３２ ＴＰＭ等、を意味する。例えば、前記宿主細胞は、少なくとも１.２倍、１.５倍、１.８倍、２.０倍、２.２倍、２.５倍、２.８倍、３倍、３.５倍、４倍、４.５倍、５倍、５.５倍、６倍、６.５倍、７倍、７.５倍、８倍、８.５倍、９倍、９.５倍、１０倍、１１倍、１２倍、１３倍、１４倍、１５倍、１６倍、１７倍、１８倍、１９倍、２０倍、２５倍、３０倍、３５倍、４０倍、４５倍、５０倍、６０倍、７０倍、８０倍、９０倍、１００倍、１０００倍、若しくはそれを超えて、又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、１.２倍から２倍まで等、より高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子、を産生することができる。
【０２５０】
いくつかの実施形態では、前記宿主細胞は、ＨＡ-１を発現するターゲット細胞（例えば、ＨＡ-１を発現する過剰増殖性細胞）を、特異的に及び／又は選択的に、傷害することができる。ある特定の実施形態では、前記ターゲット細胞は、以下を発現する：(i)アミノ酸配列ＶＬＨＤＤＬＬＥＡ、を含む、又は、からなる、ポリペプチド；及び(ii)マッチしたＭＨＣ分子。
【０２５１】
いくつかの実施形態では、宿主細胞は、ＨＡ-１抗原を発現しない、請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質によって認識されない、血清型ＨＬＡ-Ａ*０２ではない、及び／又はＨＬＡ-Ａ*０２対立遺伝子、例えばＨＬＡ-Ａ*０２:０１、ＨＬＡ-Ａ*０２:０２、ＨＬＡ-Ａ*０２:０３、ＨＬＡ-Ａ*０２:０５、ＨＬＡ-Ａ*０２:０６、若しくはＨＬＡ-Ａ*０２:０７対立遺伝子、を発現しない。例えば、患者は、ＨＡ-１-ネガティブである、又はＨＬＡ-Ａ*０２:０１-ネガティブである、健常なドナー(donor)から宿主細胞を受けることがある。前記ドナー(donor)から単離した幹細胞（例えば、造血幹細胞等）を（又は操作した自己細胞を）、移植物質の供給源として使用することがある。並行して、同じドナー(donor)から単離したＴ細胞を、遺伝子的に改変して、例えば、本出願に記載されるＨＡ-１結合タンパク質を発現させ

ることによって等、HA-1を認識するようにすることがある。ドナー(Donor)幹細胞を使用して、前記患者の中に、細胞集団（例えば、再構成された免疫系等）を生着させることがある、及び宿主細胞を、高度に特異的な抗-腫瘍効果を誘発する目的で、前記患者の中に注射投与することがある。その操作したドナー(donor)T細胞を、HA-1-発現細胞、例えば、全ての患者の天然の血中細胞等、例えば、残存白血病細胞のようながん細胞（これは、HA-1-ポジティブである）等、を認識するように、及び除去するように、設計することがある、それによって再発が防止され、完全な治癒が促進される。患者の新しい健康な血液細胞は、前記ドナー(donor)に由来し、それ故に、HA-1-ネガティブ、HLA-A*02血清型ネガティブ、及び／又はHLA-A*02:01-ネガティブ、のいずれかであるので、本出願に記載される操作した細胞が有する毒性副作用を、最小限にすることができる。そのような患者-適合化した、宿主細胞を及び治療方法を、以下に更に記載される治療方法に従って、使用することがある。

【０２５２】

いくつかの実施形態では、傷害を、傷害アッセイによって、決定する。いくつかの実施形態では、前記宿主細胞とターゲット細胞とを、20:1から0.625:1までの比で（例えば、15:1から1.25:1まで、10:1から1.5:1まで、8:1から3:1まで、6:1から5:1まで、20:1から5:1まで、10:1から2.5:1まで、の比等で）、共培養することによって、前記傷害アッセイを、実施する。いくつかの実施形態では、前記ターゲット細胞を、1 μg/mLから50 pg/mLまで（例えば、1 ug/mLから10 ng/mLまで、500 ng/mLから0.5 ng/mLまで、10ng/mLから10pg/mLまで、250 ng/mLから1 ng/mLまで、50 ng/mLから5 ng/mLまで、20 ng/mLから10 ng/mLまで、等）のHA-1ペプチドを使って、パルスする。

【０２５３】

いくつかの実施形態では、前記宿主細胞は、約1000の、100万個の転写物当たりの転写物(transcript per million transcripts (TPM))（約1000 TPM）以下、950 TPM, 900 TPM, 850 TPM, 800 TPM, 750 TPM, 700 TPM, 650 TPM, 600 TPM, 550 TPM, 500 TPM, 450 TPM, 400 TPM, 350 TPM, 300 TPM, 250 TPM, 200 TPM, 150 TPM, 100 TPM, 95 TPM, 90 TPM, 85 TPM, 80 TPM, 75 TPM, 70 TPM, 65 TPM, 60 TPM, 55 TPM, 50 TPM, 45 TPM, 40 TPM, 35 TPM, 34 TPM, 33 TPM, 32 TPM, 31 TPM, 30 TPM, 29 TPM, 28 TPM, 27 TPM, 26 TPM, 25 TPM, 24 TPM, 23 TPM, 22 TPM, 21 TPM, 20 TPM, 19 TPM, 18 TPM, 17 TPM, 16 TPM, 15 TPM, 14 TPM, 13 TPM, 12 TPM, 11 TPM, 10 TPM, 9 TPM, 8 TPM, 7 TPM, 6 TPM, 5 TPM, 4 TPM, 3 TPM, 2 TPM, 及び 1 TPM、以下、又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、約1000 TPM以下から約35 TPM以下まで等、のHA-1のレベルであるターゲット細胞と接触した場合に、より多くのターゲット細胞を傷害することができる。いくつかの実施形態では、低いHA-1発現レベルは、「ヘテロ接合性発現」と呼ばれ、約1 TPMと約35 TPMとの間、又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、1-32 TPM等、を意味する。例えば、前記宿主細胞は、少なくとも1.2倍、1.5倍、1.8倍、2.0倍、2.2倍、2.5倍、2.8倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、5.5倍、6倍、6.5倍、7倍、7.5倍、8倍、8.5倍、9倍、9.5倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍、1000倍、若しくはそれを超えて、又は間の、包含的な、任意の範囲、例えば、1.2倍から2倍まで等、より多くのターゲット細胞を傷害することができる。

【０２５４】

本発明は、更に、本出願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を提供する。細胞の集団は、記載された組み換え発現ベクターの何れかを含む宿主細胞を、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）、これは、組み換え発現ベクターの何れも含まない、又は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、等）］に加えて、含

むヘテロな集団であってもよい。或いは、前記細胞の集団は、実質的にホモな集団（その中で、前記集団は、前記組み換え発現ベクターを含む宿主細胞を主に含む［例えば、本質的に、それからなる］）であってもよい。前記集団はまた、細胞のクローン集団（その中で、前記集団の全ての細胞は、組み換え発現ベクターを含む単一宿主細胞のクローンであり、その結果、前記集団の全ての細胞は、組み換え発現ベクターを含む）であってもよい。本発明によって包含される1つの実施形態では、前記細胞の集団は、本出願に記載される組み換え発現ベクターを含む宿主細胞を含むクローン集団である。

【０２５５】

本発明によって包含される実施形態では、前記集団中の細胞の数を、素早く拡大することがある。T細胞の数の拡大を、当技術分野で既知の多数の方法によって、達成することがある（例えば、米国特許8,034,334 及び 8,383,099, 米国特許出願公開. 2012/0244133, Dudley et al. (2003) J. Immunother. 26:332-242, 並びに Riddell et al. (1990) J. Immunol. Methods 128:189-201）。例えば、T細胞の数の拡大を、OKT3抗体、IL-2、及びフィーダーPBMC（例えば、照射を受けた同種異系PBMC）を使って、T細胞を培養することによって、実施することがある。

【０２５６】

V. 医薬組成物

本発明によって包含される別の態様では、本出願は、本出願に記載される組成物（例えば、結合タンパク質、核酸、細胞、等）及び薬学的に許容可能な担体、希釈剤、又は賦形剤、を含む医薬組成物を提供する。

【０２５７】

用語「薬学的に許容される」は、健全な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激性、アレルギー反応、又は他の問題若しくは合併症を伴わずに、合理的な利益／リスク比に相応して、ヒト及び動物の組織と接触して使用するのに適した、薬剤、材料、組成物、及び／又は剤形、を指す。

【０２５８】

本発明によって包含される、薬剤及び他の組成物を、固体で、又は液体で、例えば、様々な投与経路［例えば、(1)経口投与、例えば、ドレンチ（水性の若しくは非-水性の、溶液若しくは懸濁液）、錠剤、ボーラス、粉末、顆粒、ペースト；(2)非経口投与、例えば、滅菌溶液若しくは懸濁液として、例えば、皮下、筋肉内若しくは静脈内注射投与；(3)局所投与、例えば、皮膚に適用する、クリーム、軟膏若しくはスプレー；(4)膣内投与若しくは直腸内投与、例えば、ペッサリー、クリーム若しくはフォーム（foam）として；又は(5)エアロゾル、例えば、前記化合物を含む水性エアロゾル、リポソーム製剤若しくは固体粒子として、等］に適合した固体、又は液体、等で、投与する為に、特別に製剤化することがある。本出願に記載される、薬剤又は組成物、の為の任意の適切な形態ファクターが企図される（例えば、限定されるものではないが、錠剤、カプセル、液体シロップ、ソフト・ゲル、座薬、又は浣腸、等）。

【０２５９】

本発明によって包含される医薬組成物を、離散的な剤形(discrete dosage form)（例えば、カプセル剤、サシェ剤、若しくは錠剤、又は液体若しくはエアロゾル・スプレー、等、各々は、粉、又は顆粒、溶液、又は水性若しくは非-水性の懸濁液、水中油型乳化、油中水型液体乳化、再構成用粉末、経口摂取用粉末、ボトル（例えば、ボトルに入った粉末又は液体、等)、口腔内溶融フィルム、トローチ、ペースト、チューブ、ガム、及びパック、として所定量の活性成分を含む）として、提供することがある。そのような剤形を、薬学の方法の何れかによって調製することができる。

【０２６０】

好適な賦形剤としては、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロール等、及びこれらの組み合わせ、が挙げられる。いくつかの実施形態では、本出願に開示される宿主細胞、結合タンパク質、又は融合タンパク質を含む組成物は、好適な注入媒体を更に含む。好適な注入媒体は、任意の等張媒体配合であってよく、典型的には通常の生理食塩水、Nor

mosol™-R(Abbott)又はPlasma-Lyte™A(Baxter)、5%デキストロース水溶液、乳酸リンゲル液を利用することができる。注入媒体に、ヒト血清アルブミン又は他のヒト血清構成要素を補充することがある。有効量の宿主細胞を含む単位用量もまた企図される。

【０２６１】

また、本出願は、有効量の宿主細胞を、又は宿主細胞を含む有効量の組成物を、含む単位用量を提供もする。本出願に記載される場合、宿主細胞としては、免疫細胞、T細胞(CD4+ T細胞及び／又はCD8+ T細胞)、細胞傷害性リンパ球(例えば、細胞傷害性T細胞及び／又はナチュラル・キラー(NK)細胞)、等、が挙げられる。例えば、いくつかの実施形態では、単位用量は、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、又は少なくとも約95%の操作した細胞を、単独で、又は他の細胞と組み合わせて（例えば、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、又は少なくとも約95%の他の細胞を含む）、含む組成物を含む。いくつかの実施形態では、望ましくない細胞は、減少した量で存在するか、又は実質的に存在しない（例えば、前記組成物中の細胞の集団の約50%未満、約40%未満、約30%未満、約20%未満、約10%未満、約5%未満、又は約1%未満、等）。

【０２６２】

組成物中の又は単位用量中の細胞の量は、少なくとも1つの細胞（例えば、少なくとも1つの改変したCD8+ T細胞、改変したCD4+ T細胞、及び／又はNK細胞)である、又はより典型的には、10^2細胞より多く、例えば、最大10^6、最大10^7、最大10^8細胞、最大10^9細胞、又は10^{10}細胞より多い。いくつかの実施形態では、前記細胞を、約106から約10^{10}細胞/m^2までの範囲、例えば、約10^5から約10^9細胞/m^2までの範囲、で投与する。細胞の数は、最終的な用途（その用途の為に、前記配合物が意図される、並びにその中に含まれる細胞の種類が意図される）に依存する。例えば、特定の抗原に対して特異的な結合タンパク質を含むように改変した細胞は、少なくとも30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又はそれを超えたそのような細胞を含む細胞集団、を含む。本出願で提供される使用の為に、細胞は一般に、1リットル以下、500 ml以下、250 ml以下、又は100 ml以下の体積である。実施形態では、所望の細胞の密度は、典型的には、10^4細胞/mlを超え、及び一般的には、10^7細胞/mlを超え、一般的には、10^8細胞/ml以上である。前記細胞を、ある範囲の時間をかけた、単回の点滴として、又は複数回の点滴として、投与することがある。臨床的に関連する数の免疫細胞を、累積的に、10^6、10^7、10^8、10^9、10^{10}、又は10^{11}細胞以上になるように、複数回の点滴に割り当てることがある。いくつかの実施形態では、操作した免疫細胞の単位用量を、同種ドナー(donor)由来の造血幹細胞と一緒に（例えば、同時に(simultaneously)又は同時に(contemporaneously))共-投与することがある。

【０２６３】

医療分野の当業者によって決定されるように、医薬組成物を、治療するべき（又は、予防するべき）疾患に又は症状に適した様式で、投与することがある。適切な用量、並びに前記組成物の投与の好適な期間及び頻度を、前記患者の健康状態、前記患者のサイズ（即ち、体重、大きさ、又は体表）、前記患者の症状のタイプ及び重症度、活性成分の特定の形態、及び投与方法、等の因子によって、決定する。一般的に、適切な用量及び治療レジメンは、治療的利益及び／又は予防的利益（例えば、本出願に記載されるような、改善した臨床アウトカム(clinical outcome)、例えば、より頻繁に完全寛解する若しくは部分寛解する、若しくは、無-疾患及び／若しくは全生存がより長くなる、又は症状(symptom)重症度の軽減、等）を、提供するのに十分な量の組成物、を提供する。

【０２６４】

医薬組成物の有効量とは、本出願に記載される場合、所望の臨床結果又は有益な治療を達成する為に、必要とされる投薬量での及び時間期間にとっての、十分な量を指す。有効

量を、1回以上の投与で送達することがある。前記投与が、疾患を又は疾患-状態を有することが、既に知られているか又は確認されている対象に対する投与である場合、用語「治療的有効量」を、治療に関して使用することがある、一方で、「予防的有効量」を、予防過程として、疾患を又は疾患-状態（例えば、再発）を発症しやすいか又は発症するリスクがある対象に、有効量を投与することを説明する為に、使用することがある。

【０２６５】

本出願に記載される医薬組成物を、単位-用量の又は複数-用量の容器（例えば、密封アンプル又はバイアル等）で、提供することがある。そのような容器を、その製剤の安定性を維持する為に、前記患者に注入されるまで、凍結することがある。いくつかの実施形態では、単位用量は、本出願に記載される宿主細胞を、約10^7細胞/m^2から約10^{11}細胞/m^2までの用量で、含む。様々な治療レジメンにおいて、本出願に記載される特定の組成物を使用する為の、好適な投薬及び治療レジメンが開発される（例えば、非経口の又は静脈内の、投与又は製剤、等）。

【０２６６】

対象組成物を非経口的に投与する場合、前記組成物はまた、無菌の、水性の又は油性の、溶液又は懸濁液、を含むこともある。好適な非-毒性の非経口的に許容される希釈剤又は溶媒としては、水、リンゲル液、等張食塩水、1,3-ブタンジオール、エタノール、水との混合物中の、プロピレン・グリコール又はポリエチレン・グリコール、が挙げられる。水性の溶液又は懸濁液は、1種以上の緩衝薬剤（例えば、酢酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム又は酒石酸ナトリウム、等）を更に含むことがある。もちろん、任意の投薬単位製剤を調製する際に使用される任意の材料は、薬学的に純粋であるべきである、及び使用される量で実質的に非-毒性であるべきである。更に、活性化合物を、徐放性の調合(preparation)及び製剤(formulation)に取り込ませることがある。投薬単位形態とは、本出願で使用する場合、治療するべき対象の為の単位投薬量として適した物理的に別個の単位を指す；各単位は、適切な薬学的担体との関係において、所望の効果を生じるように計算された、所定量の操作した免疫細胞又は活性化合物、を含むことがある。

【０２６７】

いくつかの実施形態では、記載された医薬組成物は、対象に投与される場合、HA-1を発現する関心とする細胞、に対する免疫応答を誘発することができる。そのような医薬組成物は、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の予防的な及び／又は治療的な処置の為のワクチンとして有用であることがある。

【０２６８】

いくつかの実施形態では、前記医薬組成物は、生理学的に許容されるアジュバントを更に含む。いくつかの実施形態では、前記アジュバントを使用することによって、前記医薬組成物の免疫原性を増加させる。このような更なる免疫応答刺激化合物又はアジュバントは、(i)前記ペプチドを再構成した後に、本発明による医薬組成物と混合されることがあり、任意選択的に、上記で定義される油ベースのアジュバントと一緒に乳化していることがある、(ii)上記で定義される本発明によって包含される再構成組成物の一部であることがある、(iii)再構成するべきペプチドに物理的に連結することがある、又は(iv)治療するべき対象、哺乳動物又はヒト、に別々に投与されることがある。前記アジュバントは、抗原を徐放化するものであってもよく（例えば、アジュバントは、リポソームであることがある）、又はそれ自体が免疫原性であり、それによって抗原と相乗的に機能するアジュバントであってもよい。例えば、前記アジュバントは、抗原の取り込みを促進する、免疫系細胞を投与部位に動員する、又は応答するリンパ系細胞の免疫活性化を促進する、既知のアジュバント又は他の物質、であることがある。アジュバントとしては、限定されるものではないが、免疫調節分子(例えば、サイトカイン)、油及び水のエマルジョン、水酸化アルミニウム、グルカン、デキストラン硫酸、酸化鉄、アルギン酸ナトリウム、バクト-アジュバント、ポリ・アミノ酸などの合成ポリマー及びアミノ酸の共-ポリマー、サポニ

ン、パラフィン・オイル、並びにムラミル・ジペプチド、が挙げられる。いくつかの実施形態では、前記アジュバントは、アジュバント65、α-GalCer、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、リン酸カルシウム、β-グルカン・ペプチド、CpG DNA、GM-CSF、GPI-0100、IFA、IFN-γ、IL-17、脂質A、リポ多糖、リポバント(Lipovant)、モンタナイド(Montanide™)、N-アセチル-ムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン、pam3CSK4、キルA（quil A）、トレハロース・ジマイコレート(trehalose dimycolate)、又はザイモサン、である。

【０２６９】

いくつかの実施形態では、前記アジュバントは、免疫調節分子である。例えば、前記免疫調節分子は、免疫応答を増強するように設計された、組み換えタンパク質サイトカイン、ケモカイン、若しくは免疫刺激性作用因子、又はサイトカイン、ケモカイン、若しくは免疫刺激性作用因子をコードする核酸、であることがある。

【０２７０】

免疫調節性サイトカインの例としては、インターフェロン（例えば、IFNα、IFNβ及びIFNγ）、インターロイキン（例えば、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12、IL-17及びIL-20）、腫瘍壊死因子（例えば、TNFα及びTNFβ）、エリスロポエチン(EPO)、FLT-3リガンド、gIp10、TCA-3、MCP-1、MIF、MIP-1.アルファ、MIP-1β、ランテス（Rantes）、マクロファージ・コロニー刺激因子(M-CSF)、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、及び顆粒球-マクロファージ・コロニー刺激因子(GM-CSF)、並びに前記の何れかの機能的なフラグメント、が挙げられる。

【０２７１】

いくつかの実施形態では、ケモカイン・レセプター（即ち、CXC、CC、C、又はCX3Cケモカイン・レセプター）に結合する免疫調節性ケモカインもまた、本出願で提供される組成物に含まれることがある。ケモカインの例としては、限定されるものではないが、Mip1α, Mip-1β, Mip-3α (Larc), Mip-3β, ランテス（Rantes）, Hcc-1, Mpif-1, Mpif-2, Mcp-1, Mcp-2, Mcp-3, Mcp-4, Mcp-5, エオタキシン(Eotaxin), タルク(Tarc), Elc, I309, IL-8, Gcp-2 Gro-α, Gro-β, Gro-γ, Nap-2, Ena-78, Gcp-2, Ip-10, Mig, I-Tac, Sdf-1, 及び Bca-1 (Blc), 並びに前記の何れかの機能的なフラグメント、が挙げられる。

【０２７２】

いくつかの実施形態では、前記組成物は、本出願に記載される、結合タンパク質（例えば、TCR、TCRの抗原結合フラグメント、CAR、若しくはTCR及びエフェクター・ドメインを含む融合タンパク質)、TCRα及び／又はTCRβポリペプチド、を含む。いくつかの実施形態では、前記組成物は、本出願に記載される、結合タンパク質を、TCRα及び／又はTCRβポリペプチドを、コードする核酸、例えば、結合タンパク質を、TCRα及び／又はTCRβポリペプチドを、コードするDNA分子、を含む。いくつかの実施形態では、前記組成物は、結合タンパク質、TCRα及び／又はTCRβポリペプチド、をコードするオープン・リーディング・フレームを含む発現ベクター、を含む。

【０２７３】

細胞(例えば、T細胞、NK細胞、等)によって取り込まれる場合、DNA分子は、染色体外分子として細胞中に存在することがある、及び／又は染色体中に組み込まれることがある。DNAを、別々の遺伝物質のままであるプラスミドの形態で、細胞の中に導入することがある。或いは、染色体に組み込まれ得る線状DNAを、前記細胞の中に導入することがある。任意選択的に、DNAを細胞の中に導入する場合、染色体の中にDNAが組み込まれることを促進する試薬を添加してもよい。

【０２７４】

VI. 使用と方法

本出願に記載される組成物を、様々な診断用途、予後予測用途、及び治療用途に使用することができる。本出願に記載される任意の方法（例えば、診断方法、予後予測方法、治

療方法、又はそれらの組み合わせ、等）では、前記方法の全てのステップを、単一の行為者によって、或いは2人以上の行為者によって、実施することがある。例えば、診断は、治療的処置を提供する行為者によって直接的に、行われることがある。或いは、治療薬剤を提供する者が、診断アッセイを実施することを、要請することがある。診断医及び／又は治療介入医は、診断アッセイの結果を解釈して治療戦略を決定することがある。同様に、そのような代替プロセスを、他のアッセイ（例えば、予後予測アッセイ等）に適用することがある。

【０２７５】

本発明によって包含されるいくつかの使用及び方法では、対象又は対象サンプルが利用される。いくつかの実施形態では、前記対象は、動物である。前記動物は、いずれの性別の動物であってもよく、発生発達の任意の段階にあってもよい。いくつかの実施形態では、前記動物は、脊椎動物（例えば、哺乳動物等）である。いくつかの実施形態では、前記対象は、非-ヒト哺乳動物である。いくつかの実施形態では、前記対象は、飼いならされた動物(domesticated animal)（例えば、イヌ、ネコ、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、又はヤギ、等）である。いくつかの実施形態では、前記対象は、コンパニオン動物（例えば、イヌ又はネコ、等）である。いくつかの実施形態では、前記対象は、家畜(livestock animal)（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、又はヤギ、等）である。いくつかの実施形態では、前記対象は、動物園の動物である。いくつかの実施形態では、前記対象は、研究用動物（例えば、齧歯類［例えば、マウス又はラット］、イヌ、ブタ、又は非-ヒト霊長類、等）である。いくつかの実施形態では、前記動物は、遺伝子操作をした動物である。いくつかの実施形態では、前記動物は、トランスジェニック動物(例えば、トランスジェニック・マウス及びトランスジェニック・ブタ)である。いくつかの実施形態では、前記対象は、魚類又は爬虫類である。

【０２７６】

いくつかの実施形態では、前記対象は、げっ歯類（例えば、マウス等）である。いくつかのそのような実施形態では、前記マウスは、トランスジェニック・マウス（例えば、ヒトMHC［即ち、HLA］分子を発現するマウス等）である（例えば、Nicholson et al. (2012) Adv. Hematol. 2012:404081）。いくつかの実施形態では、前記対象は、ヒトTCRを発現するトランスジェニック・マウスである、又は抗原-ネガティブなマウスである（例えば、Li et al. (2010) Nat. Med. 16:1029-1034 及び Obenaus et al. (2015) Nat. Biotechnol. 33:402-407）。いくつかの実施形態では、前記対象は、ヒトHLA分子及びヒトTCRを発現する、トランスジェニック・マウスである。いくつかの実施形態では、例えば、前記対象が遺伝子組み換えHLAマウスである場合、その同定されたTCRは改変されている（例えば、キメラである、又はヒト化されている）。いくつかの実施形態では、TCRスキャフォールドは、改変されている（例えば、既知の結合タンパク質ヒト化方法に類似する等）。

【０２７７】

いくつかの実施形態では、前記対象は、ヒトである。いくつかの実施形態では、前記対象は、HA-1の発現を特徴とする疾患（例えば、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発）の動物モデルである。例えば、前記動物モデルは、ヒト-由来がんに関する同所性異種移植動物モデルであることがある。

【０２７８】

いくつかの実施形態では、前記対象は、ヒト（例えば、HA-1の発現を特徴とする障害を有するヒト等）である。

【０２７９】

本出願に記載される方法を使用して、それを必要とする対象を治療することがある。本出願で使用する場合、「それを必要とする対象（subject in need thereof）」としては、HA-1の発現を特徴とする障害を有する対象、HA-1の発現を特徴とする障害の再発を有する対象、及び／又はHA-1の発現を特徴とする障害を起こしやすい対象、が挙げられる。本出願に記載されるように、HA-1の発現を特徴とする障害は、HA-1抗原の発現

を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、であることがある。

【０２８０】

本発明によって包含される方法のいくつかの実施形態では、前記対象は、HA-1の発現を特徴とする障害の為の治療（例えば、化学療法、放射線療法、ターゲット化療法(targeted therapy)、及び／又は免疫療法、等）を受けたことがない。いくつかの実施形態では、前記対象は、HA-1の発現を特徴とする障害の為の治療（例えば、化学療法、放射線療法、ターゲット化療法(targeted therapy)、及び／又は免疫療法、等）を受けたことがある。

【０２８１】

いくつかの実施形態では、前記対象は、がん性組織又は前がん性組織を除去する為の外科的処置を受けたことがある。いくつかの実施形態では、前記がん性組織は、除去されていない（例えば、前記がん性組織は、身体の手術不能な領域に［例えば、生命に不可欠な組織等に］、又は外科的処置が、前記患者に対して危害に関するかなりのリスクを引き起こすであろう領域に、位置していることがある）。

【０２８２】

いくつかの実施形態では、前記対象又はその細胞は、関連性のある療法に対して抵抗性である（例えば、標準治療療法、免疫チェックポイント・インヒビター療法、等に対して抵抗性である）。例えば、本発明によって包含される1種以上のバイオマーカーを調節することは、免疫チェックポイント・インヒビター療法に対する抵抗性を克服することがある。

【０２８３】

いくつかの実施形態では、前記対象は、例えば、HA-1発現の、望ましくない、非存在、存在、又は異常、を有すると同定されているように、本出願に記載される組成物及び方法に係る調節を必要としている。

【０２８４】

a. 診断方法

本発明によって包含される態様では、HA-1抗原の、及び／又はHA-1を発現する関心とする細胞の、存在を又は不存在を、検出する為の診断方法、ここで、前記方法は、本出願に記載される、少なくとも1種の結合タンパク質、又は少なくとも1種の宿主細胞、を使用することによって、サンプル中の前記HA-1抗原の、存在を又は不存在を、検出ステップを含む、が本出願で提供される。いくつかの実施形態では、前記方法は、前記サンプルを（例えば、対象から）得るステップを更に含む。いくつかの実施形態では、前記少なくとも1種の結合タンパク質又は少なくとも1種の宿主細胞は、MHC分子の中でHA-1ペプチド・エピトープとの複合体を形成し、前記複合体を、蛍光活性化細胞選別(fluorescence activated cell sorting)(FACS)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、放射免疫アッセイ(RIA)、免疫化学的、ウェスタン・ブロット、又は細胞内フロー・アッセイ、の形態で、検出する。

【０２８５】

本発明によって包含される態様では、
対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、のレベルを検出する為の診断方法、ここで前記方法は、以下を含む：

a)前記対象から得られたサンプルを、本出願に記載される、少なくとも1種の結合タンパク質、少なくとも1種の宿主細胞、又は宿主細胞の集団、と接触させるステップ；及び、

b)応答性のレベルを検出するステップ、ここで、コントロールのレベルと比較して、より高いレベルの応答性は、前記対象における、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、のレベルを示す、
が本出願で提供される。

【０２８６】

いくつかの実施形態では、応答性のレベルを、T細胞活性化又はエフェクター機能、例えば、限定されるものではないが、T細胞増殖、傷害、又はサイトカイン放出、等、によって、示す。コントロール・レベルは、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に曝露されていない健常対象の、参考数字又はレベル、であることがある。

【０２８７】

本出願に記載されるペプチド抗原（例えば、HA-1抗原）に対する免疫応答の、存在及びレベル、を決定する為に、生物学的サンプルを、対象から得ることがある。本出願で使用される「生物学的サンプル」は、血液サンプル(それから血清又は血漿を調製することがある)、生検標本、体液（例えば、血液、単離したＰＢＭＣ、単離したT細胞、肺洗浄(lung lavage)、腹水、粘膜洗浄液、滑膜流体、等)、骨髄、リンパ節、組織の外植片、臓器培養物、又は前記対象若しくは生物学的供給源に由来する任意の他の組織若しくは細胞調製物、であることがある。生物学的サンプルをまた、任意の医薬組成物を受ける前の対象から得ることもあり、その生物学的サンプルは、ベースライン・データを確立する為のコントロールとして有用である。

【０２８８】

抗原-特異的なT細胞応答を、典型的には、適切な状況にある同種抗原（例えば、免疫適合性抗原提示細胞によって提示されると、T細胞を、プライミングする、又は活性化する、ように使用される抗原）に曝露されたT細胞と、代わりに構造的に異なる、又は無関係なコントロール抗原に曝露された、起源が同じ集団由来のT細胞との、間で、生じた、本出願に記載されるT細胞の機能パラメーター（例えば、増殖、サイトカイン放出、CTL活性、細胞表面マーカー表現型の変化、等）の何れかに係る、観察されたT細胞応答を、比較することによって、決定する。コントロール抗原に対する応答性よりも、統計的有意性をもって、より大きな、同種抗原に対する応答性は、抗原特異性を意味する。

【０２８９】

免疫応答（例えば、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)の免疫応答等）のレベルを、本出願に記載され、当技術分野でルーチンに実施される、多数の免疫学的方法の何れか1つによって、決定することがある。例えば、CTL免疫応答のレベルを、例えば、T細胞が発現する本出願に記載される何れか1種の結合タンパク質を投与する前に及び後に、決定することがある。CTL活性を決定する為の細胞傷害アッセイを、当技術分野でルーチンに実施されている、いくつかの技術及び方法の何れか1つを用いて、実施することがある（例えば、Henkart el al., "Cytotoxic T-Lymphocytes" in Fundamental Immunology, Paul (ed.) (2003 Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA), 頁1127-50、及びそこに引用されている参考文献)。

【０２９０】

本発明は、部分的には、生物学的サンプルが、HA-1等の関心とするターゲットの発現等の、関心とするアウトプットに関連しているかどうかを、正確に分類する為の、方法、システム、及び体系、を提供する。いくつかの実施形態では、HA-1の発現を特徴とする障害の療法に、応答すること、又は応答しないこと、に関連性がある、又は、のリスクがある、サンプル（例えば、対象由来）を、統計的アルゴリズム及び／又は経験的データを用いて、分類する目的に、本発明は有用である。

【０２９１】

HA-1の、量又は活性、を検出する為の例示的な方法、それ故に、サンプルが、HA-1の発現を特徴とする障害の療法に、応答する可能性があるか、又は応答する可能性が低いか、を分類する目的に有用な例示的な方法は、生物学的サンプルを、薬剤（例えば、前記生物学的サンプル中のHA-1の、量又は活性、を検出することができる、本出願に記載される、HA-1免疫原性ペプチド又は結合剤、等）と接触させるステップを含む。いくつかの実施形態では、前記方法は、例えば、試験対象から等の、生物学的サンプルを得るステップを更に含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1種の薬剤が使用され、ここで、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又はそれを超えた種の、このような薬剤を、組み合わ

せて(例えば、サンドイッチELISAにおいて)又は連続して、使用することがある。ある特定の例では、前記統計的アルゴリズムは、単一学習統計分類子システム（single learning statistical classifier system）である。例えば、単一学習統計分類子システム（single learning statistical classifier system）を使用して、バイオマーカーの予測値又は確率値及び存在又はレベルに基づいて、サンプルを分類することがある。単一学習統計分類子システム（single learning statistical classifier system）を使用することで、典型的には、少なくとも約75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の、感度、特異性、ポジティブ予測値、ネガティブ予測値、及び／又は全精度、をもって、前記サンプルが分類される。

【０２９２】

他の好適な統計的アルゴリズムは、当業者に既知である。例えば、学習統計分類子システム(learning statistical classifier system)としては、複雑なデータセット（例えば、関心とするマーカーのパネル）に適応し、そのようなデータセットに基づいて決定を行うことができる、機械学習アルゴリズム技術、が挙げられる。いくつかの実施形態では、分類ツリー(classification tree)（例えば、ランダム・フォレスト(random forest)）のような単一学習統計分類子システム（single learning statistical classifier system）を使用する。他の実施形態では、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又はそれを超えた数の学習統計分類子システムを組み合わせて、好ましくはタンデムに、使用する。学習統計分類子システム(learning statistical classifier system)の例としては、限定されるものではないが、帰納的学習（例えば、決定／分類ツリー(decision/classification tree)、例えば、ランダム・フォレスト(random forest)、分類及び回帰ツリー(classification and regression tree (C&RT))、ブースト・ツリー(boosted tree)、等）、確率的で近似的に正しい学習（Probably Approximately Correct (PAC) learning）、コネクショニスト学習(connectionist learning)（例えば、ニューラル・ネットワーク(neural network (NN))、人工ニューラル・ネットワーク(artificial neural network (ANN))、ニューロ・ファジー・ネットワーク(neuro fuzzy network (NFN))、ネットワーク構造、マルチ層パーセプトロン等のパーセプトロン、マルチ層フィード-フォワード・ネットワーク、ニューラル・ネットワークの応用、信念ネットワークにおけるベイズ学習(Bayesian learning in belief network)、等）、強化学習(例えば、ナイーブ学習、適応型動的学習、及び時間的差分学習などの既知の環境における受動的学習、未知の環境における受動的学習、未知の環境における能動的学習、行動-価値関数の学習(learning action-value function)、強化学習の応用、等)、並びに遺伝的アルゴリズム及び進化的プログラミング、を使用するシステムが挙げられる。他の学習統計分類子システム(learning statistical classifier system)としては、サポート・ベクター・マシン(support vector machine)（例えば、カーネル法(Kernel method)）、多変量適応的回帰スプライン(multivariate adaptive regression spline (MARS))、レーベンバーグ-マルカート・アルゴリズム（Levenberg-Marquardt algorithm）、ガウス-ニュートン・アルゴリズム(Gauss-Newton algorithm)、ガウシアンの混合（mixtures of Gaussian）、勾配降下アルゴリズム（gradient descent algorithm）、及び学習ベクトル量子化(learning vector quantization(LVQ))、が挙げられる。ある特定の実施形態では、本発明によって包含される方法は、サンプルの分類結果を臨床医、例えば、腫瘍医、に送信することを更に含む。

【０２９３】

いくつかの実施形態では、対象を診断した後に、その診断に基づいて、規定される治療の治療有効量を、その個人に処方する。

【０２９４】

いくつかの実施形態では、前記方法は、コントロールの生物学的サンプル（例えば、HA-1の発現を特徴とする障害を有しない対象、寛解状態にある対象、治療に感受性のある

障害を有する対象、障害が進行している対象、又は他の関心とする対象、由来の生物学的サンプル）を得ることを、更に含む。

【０２９５】

本出願に記載される解析方法のいくつかの実施形態では、（例えば、対象由来のサンプルにおける）HA-1の発現を、所定のコントロール(基準)サンプルと比較する。前記対象由来のサンプルは、典型的には、がん細胞又はがん組織等の疾患組織に由来する。前記コントロール・サンプルは、同じ対象に由来してもよいし、別の対象に由来してもよい。前記コントロール・サンプルは、典型的には、正常な、非-疾患サンプルである。しかしながら、いくつかの実施形態（例えば、病期分類の為の実施形態、又は治療の有効性を評価する為の実施形態、等）では、前記コントロール・サンプルは、病変組織由来であってもよい。前記コントロール・サンプルは、いくつかの別の対象由来のサンプルの組み合わせであってもよい。いくつかの実施形態では、対象からのHA-1の発現測定値を、所定のレベルと比較する。この所定のレベルは、典型的には、正常サンプルから得られる。本出願に記載されるように、「所定の」という表現を使用して、単なる例示ではあるが、治療の為に選択され得る対象を評価することがある、がんに対する応答性を評価することがある、及び／又は併用がん療法に対する応答性を評価することがある。所定のバイオマーカーの、量及び／又は活性、の測定値を、HA-1の発現を特徴とする障害を、有する又は有さない、患者の集団において、決定することがある。前記所定のバイオマーカーの、量及び／又は活性、の測定値は、どの患者にも等しく適用可能な単一の数字であってもよく、又は前記所定のバイオマーカーの、量及び／又は活性、の測定値は、患者の、特定のサブ-集団に応じて変化してもよい。対象の、年齢、体重、身長、及び他の要因は、その個人の、所定のバイオマーカーの、量及び／又は活性、の測定値、に影響を与えることがある。更に、所定のバイオマーカーの、量及び／又は活性、を、各対象について個々に決定することがある。1つの実施形態では、本出願に記載される方法において、決定される及び／又は比較される、量は、絶対的な測定値に基づく。

【０２９６】

別の実施形態では、本出願に記載される方法において、決定される及び／又は比較される、量は、相対的な測定値、例えば、比率（例えば、治療前対治療後の、バイオマーカーのコピー数、レベル、及び／又は活性、例えば、スパイクした制御又は人為的な制御、に対するバイオマーカーの測定値、ハウスキーピング遺伝子の発現に対するバイオマーカー測定値、等）等、に基づく。例えば、その相対解析は、治療後バイオマーカー測定値と比較した治療前バイオマーカー測定値の比率に基づくことがある。治療前バイオマーカー測定を、療法を開始する前の任意の時点で行うことがある。治療後バイオマーカー測定を、療法を開始した後の任意の時点で行うことがある。いくつかの実施形態では、治療後バイオマーカー測定を、療法を開始した後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20週間、又はより長く、無期限に、継続的なモニタリングの為に、行う。治療は、HA-1の発現を特徴とする障害を治療する為の療法を、単独で、又は他の薬剤（例えば、化学療法若しくは免疫チェックポイント・インヒビター、のような抗-がん薬剤）と併用して、含むことがある。

【０２９７】

所定のHA-1の発現は、任意の適切な基準であってよい。例えば、所定のHA-1の発現を、対象選択が評価されている、同じ対象又は異なる対象、から得ることがある。1つの実施形態では、前記所定のバイオマーカーの、量及び／又は活性、の測定値を、同一の患者の、以前の評価から得ることがある。このようにして、患者の選択の進行を、時間経過でモニタリングすることがある。更に、前記コントロールを、前記対象がヒトである場合、別のヒト又は複数のヒト、例えば、選択されたヒトの群、の評価から得ることがある。このようにして、選択が評価されているヒトの選択の程度を、好適な他のヒト、例えば、関心とするヒトと類似の状況にある他のヒト、例えば、類似した症状若しくは同一の症状、に罹患している他のヒト、及び／又は同一の民族集団の他のヒト、等、と比較することがある。

【０２９８】
いくつかの実施形態では、所定のレベルからのHA-1の発現の変化は、約0.1，0.2，0.3，0.4，0.5，0.6，0.7，0.8，0.9，1.0，1.5，2.0，2.5，3.0，3.5，4.0，4.5，若しくは 5.0倍以上、又は間の、包括的な、任意の範囲である。そのようなカット-オフ値を、その測定値が、相対的な変化に基づく（例えば、治療後バイオマーカー測定値と比較した治療前バイオマーカー測定値の比率に基づく等）場合、等しく適用する。
【０２９９】
いくつかの実施形態では、HA-1ポリペプチドを又はその抗原を、検出することによって、又は定量することによって、例えば、本出願に記載される組成物を使用することによって、HA-1の発現を、検出することがある、及び／又は定量することがある。前記ポリペプチドを、当業者にとって既知の多くの手段の何れかによって（例えば、免疫拡散、免疫電気泳動、ラジオイムノアッセイ(RIA)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、免疫蛍光アッセイ、ウェスタン・ブロッティング、結合剤-リガンド・アッセイ、免疫組織化学的技術、凝集(agglutination)、補体アッセイ、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、薄層クロマトグラフィー(TLC)、超拡散クロマトグラフィー(hyperdiffusion chromatography)、等によって）、検出することがある、及び定量することがある（例えば、Basic and Clinical Immunology, Sites and Terr, eds., Appleton and Lange, Norwalk, Conn. pp 217-262, 1991)。
【０３００】
b. 治療方法
本発明によって包含される態様において、本出願は、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、若しくは過剰増殖性障害の再発、を、予防する為の、及び／若しくは治療する為の、方法、並びに／又はHA-1抗原を発現する関心とする細胞、例えば過剰増殖性細胞等、に対する免疫応答を誘導する為の方法、を提供する。いくつかの実施形態では、前記方法は、本出願に記載される結合タンパク質を少なくとも1種発現する細胞を含む組成物の治療有効量を、対象に投与するステップ、を含む。本発明によって包含される方法を使用して、対象におけるHA-1の発現を特徴とする多くの様々な障害（例えば、本出願に記載される障害等）の療法に対する応答性を決定することもある。
【０３０１】
いくつかの実施形態では、本出願は、ある特定の過剰増殖性障害（例えば、血液悪性腫瘍(hematological malignancy)）を、予防する為の、及び／又は治療する為の、方法、を提供する。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、白血病（例えば、急性白血病又は慢性白血病）を含む。特定の実施形態では、前記白血病は、急性骨髄性白血病(AML)、急性リンパ球性白血病(ALL)、混合表現型急性白血病(MPAL)、慢性骨髄性白血病(CML)、B細胞前リンパ球性白血病(prolymphocytic leukemia)，ヘアリー細胞白血病(hairy cell leukemia)、又は慢性リンパ球性白血病(CLL)、を含む。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、リンパ腫を含む。ある特定の実施形態では、前記リンパ腫は、ホジキン・リンパ腫(Hodgkin's lymphoma(HL))，非-ホジキン・リンパ腫(non-Hodgkin's lymphoma(NHL))，中枢神経系リンパ腫、小リンパ球性リンパ腫(small lymphocytic lymphoma(SLL))、CD37+樹状細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、形質細胞骨髄腫、髄外性形質細胞腫、粘膜関連（MALT）リンパ組織の節外辺縁帯B-細胞リンパ腫、節性辺縁帯B-細胞リンパ腫、濾胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B-細胞リンパ腫、縦隔（胸腺）大細胞型B-細胞リンパ腫、前駆B-リンパ芽球性リンパ腫、免疫芽球性大細胞リンパ腫、血管内大細胞型B-細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、バーキット・リンパ腫／白血病、悪性度不明なB-細胞増殖症、リンパ腫様肉芽腫症(lymphomatoid granulomatosis)、及び移植後リンパ球増殖性障害、が挙げられる。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄異形成障害(MDS)、例えば、単一血球系統の異形成を伴う不応性血球減少症(不応性貧血、不応性好中球減少症、及び不応性血小板減少症)、環状鉄芽球を

伴う不応性貧血(refractory anemia with ring sideroblasts (RARS))、環状鉄芽球を伴う不応性貧血-血小板増加症(refractory anemia with ring sideroblasts - thrombocytosis (RARS-t))、多血球系統の異形成を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia (RCMD))、多血球系統の異形成と環状鉄芽球を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia and ring sideroblasts (RCMD-RS))、芽球増加を伴う不応性貧血(refractory anemia with excess blasts (RAEB))、分類不能型骨髄異形成症候群、小児不応性血球減少症、5番染色体長腕の単独欠失を伴う骨髄異形成症候群(MDS with isolated del(5q))、並びに他の既知のMDSサブタイプ（例えば、nbci.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC655460/、のWorld Wide Web で、利用可能な、2016 World Health Organization MDS classificationを参照）、を含む。ある特定の実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄増殖性新生物(myeloproliferative neoplasms (MPN))（例えば、骨髄線維症、真性赤血球増加症、本態性血小板血症(essential thrombocythemia)、慢性骨髄単球性白血病、慢性骨髄増殖性疾患-分類不能、慢性好中球性白血病、慢性好酸球性白血病、及びMPN-特に特定無し、等）を含む。更なる実施形態では、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄腫を含む。

【０３０２】

いくつかの実施形態では、本出願は、非-悪性障害を、予防する為の、及び／又は治療する為の、方法、を提供する。ある特定の実施形態では、これらの非-悪性障害に罹患している対象は、造血細胞移植を受けたことがあるか、又は受けている。いくつかの実施形態では、前記非-悪性障害を、非-悪性血液障害（例えば、鎌状赤血球貧血, サラセミア、再生不良性貧血、血球貪食性リンパ組織症(hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH))、重度の再生不良性貧血、骨髄不全症候群［例えば、ファンコニ貧血(Fanconi anemia)、ダイアモンド-ブラックファン貧血(Diamond-Blackfan anemia)、シュワックマン・ダイアモンド症候群(Schwachman Diamond syndrome)、及びその他等］）；免疫不全障害（例えば、重度複合免疫不全症(SCID)、ウィスコット-アルドリッチ症候群(Wiskott-Aldrich syndrome)、オーメン症候群（Omenn syndrome）、X-連鎖リンパ増殖症候群、慢性肉芽腫病、白血球接着不全症、ディジョージ症候群(DiGeorge syndrome)、及びその他の既知の障害、例えば、bethematchclinical.org/workarea/downloadasset.aspx?id-3545で列挙されている障害のような造血幹細胞移植(hematopoietic stem cell transplantation (HCT))の適応症）；並びに自己免疫障害（例えば、全身性硬化症、糸球体腎炎、関節炎、拡張型心筋症-様疾患、潰瘍性大腸炎(ulceous colitis)、シェーグレン症候群、クローン病、全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ、多発性硬化症、乾癬、アレルギー性接触皮膚炎、多発性筋炎(polymyosiis)、皮膚肥厚、結節性動脈周囲炎、リウマチ熱、尋常性白斑、インスリン依存性糖尿病、ベーチェット病(Behcet disease)、橋本病(Hashimoto disease)、アジソン病(Addison disease)、皮膚筋炎、重症筋無力症、ライター症候群(Reiter syndrome)、グレーブス病(Graves' disease)、悪性貧血(anaemia perniciosa)、グッドパスチャー症候群(Goodpasture's syndrome)、不妊症、慢性活動性肝炎、天疱瘡、自己免疫性血小板減少性紫斑病、及び自己免疫性溶血性貧血、活動性慢性肝炎、アジソン病(Addison disease)、抗-リン脂質症候群、アトピー性アレルギー、自己免疫性萎縮性胃炎、無酸自己免疫(achlorhydra autoimmune)、セリアック病、クッシング症候群、皮膚筋炎、円板状ループス、エリテマトーデス、グッドパスチャー症候群(Goodpasture's syndrome)、橋本甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、特発性副腎萎縮症、特発性血小板減少症、インスリン依存性糖尿病、ランバート-イートン症候群（Lambert-Eaton syndrome）、ルポイド肝炎、リンパ球減少症のある症例、混合性結合組織病、類天疱瘡、尋常性天疱瘡、悪性貧血(pernicious anema)、水晶体起因性ブドウ膜炎、結節性多発動脈炎、多腺性自己免疫症候群(polyglandular autosyndromes)、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、レイノー症候群(Raynaud's syndrome)、再

発性多発性軟骨炎、シュミット症候群(Schmidt's syndrome)、限局性強皮症（又はクレスト症候群(crest syndrome)）、交感性眼炎(sympathetic ophthalmia)、全身性エリテマトーデス、高安動脈炎(Takayasu's arteritis)、側頭動脈炎、甲状腺機能亢進症、タイプbインスリン抵抗性、潰瘍性大腸炎、及びウェゲナー肉芽腫症）、からなる群より選択する。特定の実施形態では、前記自己免疫障害は、全身性硬化症又は多発性硬化症である。

【０３０３】

更に、本出願に記載される組成物を、所望の活性を更に調節する為に、併用療法として投与することもある。更なる薬剤としては、限定されるものではないが、化学療法薬剤、ホルモン、抗血管新生剤、放射性標識化合物、又は手術、凍結療法、及び／若しくは放射線療法、が挙げられる。前述の治療方法を、従来の療法（例えば、当業者に既知である、がんの為の標準治療）の他の形態と併せて、従来の療法の前又は従来の療法の後、のいずれかで、連続的に処方することがある。例えば、これらの調節薬剤を、治療有効用量の化学療法薬剤と共に、投与することがある。別の実施形態では、これらの調節薬剤を、化学療法と併せて投与し、化学療法薬剤の活性及び有効性を増強する。Physicians' Desk Reference (PDR)は、各種がんの治療に使用されている化学療法薬剤の投与量を開示する。治療的に効果的であるこれらの前記の化学療法薬物の、投薬レジメン及び投薬量は、治療する特定のメラノーマ、その疾患の程度、及び当業者である医師には良く分かる他の要因、に依存し、前記医師によって決定されることがある。

【０３０４】

本出願に記載される1つ以上の組成物を使用する療法を、単独で、若しくはがん療法等の他の療法との併用で、使用して、HA-1発現細胞と接触させることがある、及び／又は所望の対象（例えば、療法に対する応答者である可能性が示されている対象）に処方することがある。別の実施形態では、そのような療法を、対象が前記療法に対する応答者ではない可能性が示されると（例えば、本出願に記載される、診断方法又は予後予測方法、に従って評価されると）、回避することができ、代替の治療レジメン（例えば、ターゲット化がん療法、及び／又は非ターゲット化がん療法、等）が、推奨されることがある、及び／又は処方されることがある。

【０３０５】

用語「ターゲット化療法(targeted therapy)」とは、選択された生体分子と選択的に相互作用し、それによってがんを治療する、薬剤の投与を指す。例えば、免疫チェックポイント・インヒビターを阻害することに関するターゲット化療法(targeted therapy)は、本発明によって包含される方法との併用の際に、有用である。

【０３０６】

用語「免疫療法(immunotherapy)」又は「免疫療法(immunotherapies)」とは、一般に、免疫応答を、有益な様式で、調節する為の任意の方策を指し、免疫応答を誘導するステップ、増強するステップ、抑制するステップ、又はその他、改変するステップ、を含む方法によって、疾患に罹患している、又は疾患を再発するリスクがある、若しくは疾患の再発を経験している、対象を治療すること、並びにがん等の疾患と戦う為に、対象の免疫系の特定の部分を使用する任意の治療、を包含する。対象自身の免疫系は、刺激される(又は抑制される)（その目的の為の1種以上の薬剤の投与を、伴う、又は伴わない）。免疫応答を、誘発するように、又は増幅するように、設計された免疫療法を、「活性化免疫療法(activation immunotherapy)」と呼ぶ。免疫応答を、低減するように、又は抑制するように、設計された免疫療法を、「抑制化免疫療法(suppression immunotherapy)」と呼ぶ。いくつかの実施形態では、免疫療法は、がん細胞等の、関心とする細胞に特異的である。いくつかの実施形態では、免疫療法は、「非ターゲット化(untargeted)」ことがある、これは、免疫系細胞との相互作用は選択的ではないが、免疫系機能を調節する、薬剤を投与すること、を指す。非ターゲット化治療の代表的な例としては、限定されるものではないが、化学療法、遺伝子治療、及び放射線療法、が挙げられる。

【０３０７】

免疫療法のいくつかの形態は、例えば、がんワクチンの使用、及び／又は感作済み抗原提示細胞の使用、を含むことがあるターゲット化療法(targeted therapy)、である。例えば、腫瘍溶解性ウイルスは、がん細胞に感染し、がん細胞を溶解することができるウイルスである、その一方で、正常な細胞を損なわずに残し、それらをがん治療において有益にすることがある。腫瘍溶解性ウイルスが複製すると、腫瘍細胞の破壊が促進される、及びまた、腫瘍部位で、用量が増幅される。それらはまた、抗がん遺伝子のベクターとしても働き、それら遺伝子が、腫瘍部位に特異的に送達されることを可能にする。前記免疫療法としては、宿主を短期に保護する為の受動免疫が挙げられ、これは、がん抗原又は疾患抗原、に対する予め形成された抗体の投与（例えば、腫瘍抗原に対するモノクローナル抗体［任意選択的に、化学療法薬剤に、又は毒素に連結している］の投与）によって達成される。免疫療法は、細胞傷害性リンパ球が認識する、がん細胞株のエピトープを使用することに焦点を当てることもある。或いは、アンチセンス・ポリヌクレオチド、リボザイム、RNA干渉分子、三重らせんポリヌクレオチド、等を使用して、腫瘍又はがん、の開始、進行、及び／又は病態、に関連する生体分子を、選択的に調節することがある。同様に、免疫療法は、細胞-ベースの療法の形態をとることがある。例えば、養子細胞免疫療法は、患者のがんに対して、天然の、又は遺伝子操作をした、応答性を有する、生成される、及び次いでそのがん患者に戻される、T細胞等の免疫細胞、を使用する免疫療法の一種である。多数の活性化した腫瘍-特異的T細胞を注射投与すると、がんの完全で持続的な退縮を誘導することがある。

【０３０８】

前記免疫療法としては、宿主を短期に保護する為の受動免疫が挙げられ、これは、がん抗原又は疾患抗原、に対する予め形成された抗体の投与（例えば、腫瘍抗原に対するモノクローナル抗体［任意選択的に、化学療法薬剤に、又は毒素に連結している］の投与）によって達成される。免疫療法は、細胞傷害性リンパ球が認識する、がん細胞株のエピトープを使用することに焦点を当てることもある。或いは、アンチセンス・ポリヌクレオチド、リボザイム、RNA干渉分子、三重らせんポリヌクレオチド、等を使用して、腫瘍又はがん、の開始、進行、及び／又は病態、に関連する生体分子を、選択的に調節することがある。

【０３０９】

いくつかの実施形態では、免疫療法剤は、免疫-刺激性分子のアゴニスト；免疫-阻害性分子のアンタゴニスト；ケモカインのアンタゴニスト；T細胞活性化を刺激するサイトカインのアゴニスト；T細胞活性化を阻害するサイトカイン、に拮抗する、若しくは、を阻害する、薬剤；及び／又は、B7ファミリーの膜結合タンパク質に結合する薬剤、である。いくつかの実施形態では、前記免疫療法剤は、免疫-阻害性分子のアンタゴニストである。いくつかの実施形態では、前記免疫療法剤は、サイトカイン、ケモカイン及び増殖因子、の為の薬剤（例えば、腫瘍関連サイトカイン、ケモカイン、増殖因子及び他の可溶性因子、例えば、IL-10、TGF-β及びVEGF等、の阻害効果を中和する中和抗体）、であることがある。

【０３１０】

いくつかの実施形態では、免疫療法は、1種以上の免疫チェックポイントのインヒビターを含む。用語「免疫チェックポイント」とは、抗-がん免疫応答を調節することによって、免疫応答を微調整する（例えば、抗-腫瘍免疫応答を、下方調節する、又は阻害する）、CD4+及び／又はCD8+ T細胞の細胞表面上の分子の群を指す。免疫チェックポイント・タンパク質は当技術分野で既知であり、限定されるものではないが、CTLA-4, PD-1, VISTA, B7-H2, B7-H3, PD-L1, B7-H4, B7-H6, ICOS, HVEM, PD-L2, CD200R, CD160, gp49B, PIR-B, KRLG-1, KIRファミリー・レセプター, TIM-1, TIM-3, TIM-4, LAG-3 (CD223), IDO, GITR, 4-IBB, OX-40, BTLA, SIRPalpha (CD47), CD48, 2B4 (CD244), B7.1, B7.2, ILT-2, ILT-4, TIGIT, HHLA2, ブチロフィリン(butyrophilins)、及びA2aR 、が挙げられる（例えば、WO 2012/177624を参照のこと）。前記用語は、生物学的に活性なタンパク質フラグメントを、及び全

長の免疫チェックポイント・タンパク質をコードする核酸を更に包含する。

【０３１１】

いくつかの免疫チェックポイントは、免疫系の機能（例えば、免疫応答）を阻害する、下方制御する、又は抑制する、分子（例えば、タンパク質）を包含する「免疫-阻害性の免疫チェックポイント」である。例えば、CD274又はB7-H1としても知られる、PD-L1(プログラム死-リガンド1 (programmed death-ligand 1))は、免疫系を抑制する為に、T細胞の増殖を減少させる阻害性シグナルを伝達するタンパク質である。CD152としても知られる、CTLA-4(細胞傷害性T-リンパ球-関連タンパク質4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4))は、免疫応答を下方制御する為の免疫チェックポイント(「オフ」スイッチ)として働く、抗原提示細胞の表面上のタンパク質レセプターである。HAVCR2としても知られる、TIM-3（T-細胞免疫グロブリン及びムチン-ドメイン含有-3 (T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3)）は、マクロファージ活性化を調節する免疫チェックポイントとして働く、細胞表面タンパク質である。VISTA (T細胞活性化のV-ドメインIgサプレッサー(V-domain Ig suppressor of T cell activation))は、T細胞のエフェクター機能を阻害する、及び末梢のトレランスを維持する、免疫チェックポイントとして機能する、タイプI膜貫通タンパク質である。LAG-3(リンパ球-活性化遺伝子3 (lymphocyte-activation gene 3))は、T細胞の、増殖、活性化、及び恒常性、を負に調節する、免疫チェックポイント・レセプターである。BTLA(B-及びT-リンパ球アテニュエーター(B and T lymphocyte attenuator))は、腫瘍壊死ファミリー・レセプター(TNF-R)との相互作用を介して、T細胞抑制を示すタンパク質である。KIR(キラー細胞免疫グロブリン-様レセプター (killer-cell immunoglobulin-like receptor))は、NK細胞、及び少数のT細胞上に発現し、NK細胞の細胞傷害活性を抑制する、タンパク質のファミリーである。いくつかの実施形態では、免疫療法剤は、免疫抑制性の酵素に対して特異的な薬剤、例えば、アルギナーゼ(ARG)及びインドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)の活性を遮断することがあるインヒビター、T細胞及びNK細胞、を抑制する免疫チェックポイント・タンパク質、であることがある（これらは、免疫抑制性の腫瘍微小環境において、アミノ酸であるアルギニン及びトリプトファンの異化を変化させる）。前記インヒビターとしては、限定されるものではないが、ARG発現M2マクロファージをターゲットとするN-ヒドロキシ-L-Arg(NOHA)、ARG及び一酸化窒素合成酵素(NOS)を同時に遮断するニトロアスピリン又はシルデナフィル(Viagra(登録商標))、並びに1-メチル-トリプトファン等のIDO阻害剤、が挙げられる。前記用語は、生物学的に活性なタンパク質フラグメント、並びに全長の免疫チェックポイント・タンパク質及びその生物学的に活性なタンパク質フラグメントをコードする核酸、を更に包含する。いくつかの実施形態では、前記用語は、本出願に提供されるホモロジー記載に従う任意のフラグメントを更に包含する。

【０３１２】

対照的に、他の免疫チェックポイントは、免疫系の機能（例えば、免疫応答）を活性化する、刺激する、又は促進する、分子（例えば、タンパク質）を包含する「免疫-刺激性」である。いくつかの実施形態では、前記免疫-刺激性分子は、CD28, CD80 (B7.1), CD86 (B7.2), 4-1BB (CD137), 4-1BBL (CD137L), CD27, CD70, CD40, CD40L, CD122, CD226, CD30, CD30L, OX40, OX40L, HVEM, BTLA, GITR and its ligand GITRL, LIGHT, LTβR, LTαβ, ICOS (CD278), ICOSL (B7-H2), 及び NKG2D、である。CD40(分化クラスター40)は、抗原提示細胞上に見出される、それらの活性化に必要な、共-刺激タンパク質である。OX40（腫瘍壊死因子レセプター・スーパーファミリー・メンバー4(TNFRSF4)又はCD134としても知られる）は、T-細胞死を防ぐことによって、及び続いてサイトカイン産生を増加させることによって、活性化後の免疫応答の維持に関与する。CD137は、活性化したT細胞を共-刺激して、増殖及びT細胞生存を増強する、腫瘍壊死因子レセプター(TNF-R)ファミリーのメンバーである。CD122は、インターロイキン-2レセプター(IL-2)タンパク質のサブユニットであり、これは、未成熟T細胞が、調節性、エフェクター、又はメモリーT細胞へと分化すること

を促進する。CD27は、腫瘍壊死因子レセプター・スーパーファミリーのメンバーである、及び共-刺激免疫チェックポイント分子として働く。CD28(分化クラスター28)は、T細胞の活性化及び生存に必要な、共-刺激シグナルを提供する、T細胞上で発現するタンパク質である。GITR(グルココルチコイド-誘導性TNFR-関連タンパク質 (glucocorticoid-induced TNFR-related protein))（TNFRSF18及びAITRとしても知られる）は、調節性T細胞によって維持される優性免疫自己-寛容（dominant immunological self-tolerance）において、重要な役割を果たすタンパク質である。ICOS(誘導性T-細胞共-刺激因子 (inducible T-cell co-stimulator))（CD278としても知られる）は、活性化T細胞上で発現する、並びにT細胞シグナリング及び免疫応答において役割を果たす、CD28-スーパーファミリー共-刺激分子である。

【０３１３】

免疫チェックポイント及びそれらの配列は、当技術分野において既知であり、代表的な実施形態を以下に更に記載する。免疫チェックポイントは、一般に、阻害性レセプター及び天然の結合パートナー（例えば、リガンド）、の対合に関する。例えば、PD-1ポリペプチドは、例えば、水溶性、モノマー形態で存在する場合、阻害性シグナルを免疫細胞に伝達し、それによって免疫細胞エフェクター機能を阻害することができる、又は免疫細胞の共刺激を（例えば、競合的阻害によって）促進することができる、阻害レセプターである。好ましいPD-1ファミリーのメンバーは、PD-1と配列同一性を共有する、及び1種以上のB7ファミリーのメンバー、例えば、B7-1、B7-2、PD-1リガンド、及び／又は抗原提示細胞上の他のポリペプチド、に結合する。用語「PD-1活性」としては、例えば、抗原提示細胞上の天然のPD-1リガンドと結合することによって、活性化した免疫細胞における阻害性シグナルを調節するという、PD-1ポリペプチドの作用能、が挙げられる。免疫細胞における阻害性シグナルの調節は、免疫細胞の増殖の調節、及び／又は免疫細胞によるサイトカイン分泌の調節、をもたらす。従って、用語「PD-1活性」には、PD-1ポリペプチドがその天然リガンドに結合する作用能、免疫細胞阻害性シグナルを調節する作用能、及び免疫応答を調節する作用能、が含まれる。用語「PD-1リガンド」とは、PD-1レセプターの結合パートナーを指し、PD-L1（Freeman et al. (2000) J. Exp. Med. 192:1027-1034）及びPD-L2（Latchman et al. (2001) Nat. Immunol. 2:261）の両方が含まれる。用語「PD-1リガンド活性」としては、PD-1リガンド・ポリペプチドがその天然のレセプター（例えば、PD-1又はB7-1)に結合する作用能、免疫細胞阻害性シグナルを調節する作用能、及び免疫応答を調節する作用能、が挙げられる。

【０３１４】

本出願で使用する場合、用語「免疫チェックポイント療法」とは、免疫-阻害性の免疫チェックポイントを阻害する（例えば、それらの核酸及び／又はタンパク質を阻害する）薬剤を使用すること、を指す。1種以上のそのような免疫チェックポイントの阻害は、阻害性シグナリングを遮断することがある、又はその他、中和することがある、それによって、がんをより有効に治療する為に、免疫応答を上方制御する。免疫チェックポイントを阻害するのに有用な例示的な薬剤としては、抗体、低分子、ペプチド、ペプチドミメティック、天然リガンド、及び天然リガンドの誘導体、それらは、免疫チェックポイント・タンパク質、又はそのフラグメント、に結合することができる、及び／又は不活性化することができる、若しくは阻害することができる；並びに免疫チェックポイント核酸の、又はそのフラグメントの、発現及び／又は活性、を下方制御することができる、RNA干渉、アンチセンス、核酸アプタマー、等、が挙げられる。免疫応答を上方制御する為の例示的な薬剤としては、1種以上の免疫チェックポイント・タンパク質に対する抗体（これは、前記タンパク質とその天然レセプターとの間の相互作用を遮断する）；1種以上の免疫チェックポイント・タンパク質の非-活性化形態（例えば、ドミナント・ネガティブ・ポリペプチド(dominant negative polypeptide)）；1種以上の免疫チェックポイント・タンパク質とその天然レセプターとの間の相互作用を遮断する、低分子又はペプチド；融合タンパク質（例えば、抗体又は免疫グロブリンのFc部分に融合した、免疫チェックポイント抑制タンパク質の細胞外部分）（これは、その天然レセプターに結合する）；免

疫チェックポイント核酸の、転写又は翻訳、を遮断する核酸分子；等、が挙げられる。そのような薬剤（例えば、抗体）は、1種以上の免疫チェックポイントとその天然レセプターとの間の相互作用を、直接的に遮断して、阻害性シグナリングを阻止することがある、及び免疫応答を上方制御することがある。或いは、薬剤は、1種以上の免疫チェックポイント・タンパク質とその天然レセプターとの間の相互作用を、間接的に遮断して、阻害性シグナリングを阻止することがある、及び免疫応答を上方制御することがある。例えば、安定化した細胞外ドメイン等の、免疫チェックポイント・タンパク質リガンドの可溶型は、そのレセプターに結合し、適切なリガンドに結合するレセプターの実効濃度を、間接的に低下させることがある。1つの実施形態では、抗-PD-1抗体、抗-PD-L1抗体、及び／又は抗-PD-L2抗体を、単独又は併用、のいずれかで使用して、免疫チェックポイントを阻害する。PD-1経路を遮断する為に使用する治療薬剤としては、アンタゴニスト抗体及び可溶性PD-L1リガンド、が挙げられる。PD-1及びPD-L1/2阻害性経路に対するアンタゴニスト薬剤としては、限定されるものではないが、PD-1又はPD-L1/2、に対するアンタゴニスト抗体（例えば、米国特許第8,008,449号に開示される、17D8、2D3、4H1、5C4［ニボルマブ又はBMS-936558としても知られる］、4A11、7D3及び5F4；AMP-224、ピジリズマブ(CT-011)、ペムブロリズマブ、並びに米国特許8,779,105; 8,552,154; 8,217,149; 8,168,757; 8,008,449; 7,488,802; 7,943,743; 7,635,757; 及び 6,808,710、に開示される抗体）、が挙げられる。同様に、更なる代表的なチェックポイント・インヒビターは、限定されるものではないが、阻害性調節因子CTLA-4（抗-細胞傷害性T-リンパ球抗原4抗-細胞傷害性T-リンパ球抗原4）に対する抗体、例えばイピリムマブ、トレメリムマブ（完全ヒト化）、抗-CD28抗体、抗-CTLA-4アドネクチン、抗-CTLA-4ドメイン抗体、一本鎖抗-CTLA-4抗体フラグメント、重鎖抗-CTLA-4フラグメント、軽鎖抗-CTLA-4フラグメント、及び他の抗体、例えば、米国特許8,748,815; 8,529,902; 8,318,916; 8,017,114; 7,744,875; 7,605,238; 7,465,446; 7,109,003; 7,132,281; 6,984,720; 6,682,736; 6,207,156; 及び5,977,318, 並びに欧州特許1212422, 米国特許出願公開2002/0039581 及び2002/086014, 並びに Hurwitz et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95:10067-10071、に開示される抗体、である。

【０３１５】

PD-1、PD-L1、PD-L2、及びCTLA-4について例示される、免疫チェックポイント活性、リガンド、遮断、等に関する典型的な定義は、一般に、他の免疫チェックポイントに、適用される。

【０３１６】

用語「非ターゲット化療法(untargeted therapy)」とは、選択された生体分子と選択的に相互作用をしないが、それでもがんを治療する、薬剤を投与すること、を指す。非ターゲット化療法の代表的な例としては、限定されるものではないが、化学療法、遺伝子治療、及び放射線療法、が挙げられる。

【０３１７】

1つの実施形態では、化学療法を使用する。化学療法は、化学療法薬剤を投与すること、を含む。そのような化学療法薬剤は、限定されるものではないが、以下の化合物の群の中より選択されるものであってもよい：白金化合物、細胞傷害性抗生物質、代謝拮抗剤、抗-有糸分裂剤、アルキル化剤、ヒ素化合物、DNAトポイソメラーゼ阻害剤、タキサン類、ヌクレオシド類似体、植物アルカロイド、及び毒素；並びにそれらの合成誘導体。例示的な薬剤としては、限定されるものではないが、アルキル化剤：ナイトロジェン・マスタード類（例えば、シクロホスファミド、イホスファミド（ifosfamide)、トロホスファミド、クロラムブシル、エストラムスチン、及びメルファラン）、ニトロソウレア類（例えば、カルムスチン（BCNU）及びロムスチン（CCNU））、アルキルスルホン酸塩類（例えば、ブスルファン及びトレオスルファン)、トリアゼン類（例えば、ダカルバジン、テモゾロミド）、シスプラチン、トレオスルファン、及びトロホスファミド；植物アルカロイド類：ビンブラスチン、パクリタキセル、ドセタキソール；DNAトポイソメラーゼ

阻害剤：テニポシド、クリスナトール、及びマイトマイシン；抗-葉酸剤：メトトレキサート、ミコフェノール酸、及びヒドロキシウレア；ピリミジン類似体： 5-フルオロウラシル、ドキシフルリジン、及びシトシン・アラビノシド；プリン類似体：メルカプトプリン及びチオグアニン；DNA代謝拮抗剤：2'-デオキシ-5-フルオロウリジン、アフィジコリン・グリシネート、及びピラゾロイミダゾール；及び抗有糸分裂剤：ハリコンドリン、コルヒチン、並びにリゾキシン、が挙げられる。同様に、更なる例示的な薬剤としては、白金-含有化合物（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン）、ビンカアルカロイド類（例えば、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビンデシン、及びビノレルビン）、タキソイド類（例えば、パクリタキセル、又はナノ粒子アルブミン-結合パクリタキセル（ABRAXANE）等のパクリタキセルの均等物、ドコサヘキサエン酸結合-パクリタキセル（DHA-パクリタキセル、タキソプレキシン)、ポリグルタミン酸結合-パクリタキセル（PG-パクリタキセル、パクリタキセル・ポリグルメックス、CT-2103、XYOTAX）、腫瘍-活性化プロドラッグ（TAP）ANG1005（パクリタキセル3分子と結合したAngiopep-2）、パクリタキセル-EC-1（erbB2-認識ペプチドEC-1に結合したパクリタキセル）、及びグルコース-コンジュゲート・パクリタキセル、例えば、2'-パクリタキセル・メチル2-グルコピラノシル・サクシネート；ドセタキセル、タキソール）、エピポドフィリン（例えば、エトポシド、エトポシド・リン酸塩、テニポシド、トポテカン、9-アミノカンプトテシン、カンプトイリノテカン、イリノテカン、クリスナトール、マイトマイシン C）、抗-代謝剤、DHFR阻害剤（例えば、メトトレキサート、ジクロロメトトレキサート、トリメトレキサート、エダトレキサート）、IMPデヒドロゲナーゼ阻害剤（例えば、ミコフェノール酸、チアゾフリン、リバビリン、及びEICAR）、リボヌクレオチド還元酵素阻害剤（ribonuclotide reductase inhibitors）（例えば、ヒドロキシウレア、及びデフェロキサミン）、ウラシル類縁体（例えば、5-フルオロウラシル(5-FU)、フロクスウリジン、ドキシフルリジン、ラルチトレキセド(ratitrexed)、テガフール-ウラシル、カペシタビン）、シトシン類縁体（例えば、シタラビン（ara C）、シトシン・アラビノシド、及びフルダラビン)、プリン類縁体（例えば、メルカプトプリン及びチオグアニン)、ビタミンD3類縁体（例えば、EB 1089、CB 1093、及びKH 1060)、イソプレニル化阻害剤（例えば、ロバスタチン）、ドーパミン作動性神経毒（例えば、1-メチル-4-フェニルピリジニウム・イオン)、細胞周期阻害剤（例えば、スタウロスポリン）、アクチノマイシン（例えば、アクチノマイシンD、ダクチノマイシン）、ブレオマイシン（例えば、ブレオマイシンA2、ブレオマイシンB2、ペプロマイシン）、アントラサイクリン（例えば、ダウノルビシン、ドキソルビシン、ペグ化リポソーム・ドキソルビシン、イダルビシン、エピルビシン、ピラルビシン、ゾルビシン、ミトキサントロン）、MDR阻害剤（例えば、ベラパミル）、Ca^{2+} ATPase阻害剤（例えば、タプシガルギン）、イマチニブ、サリドマイド、レナリドマイド、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、アキシチニブ（AG013736）、ボスチニブ(SKI-606)、セディラニブ（レセンチン(RECENTIN)™、AZD2171)、ダサチニブ（スプリセル(SPRYCEL)(商標登録)、BMS-354825）、エルロチニブ（タルセバ(TARCEVA)(登録商標)）、ゲフィチニブ（イレッサ(IRESSA)(登録商標)）、イマチニブ（グリベック(Gleevec)(登録商標)、CGP57148B、STI-571）、ラパチニブ（タイカーブ(TYKERB)(登録商標)、タイバーブ(TYVERB)(登録商標)）、レスタウルチニブ（CEP-701）、ネラチニブ（HKI-272）、ニロチニブ（タシグナ(TASIGNA)(登録商標)）、セマキサニブ（セマキシニブ、SU5416）、スニチニブ（スーテント(SUTENT)(登録商標)）、SU11248）、トセラニブ（パラディア(PALLADIA)(登録商標)）、バンデタニブ（ザクティマ(ZACTIMA)(登録商標)）、ZD6474）、バタラニブ（PTK787、PTK/ZK)、トラスツズマブ（ハーゼプチン(HERCEPTIN)(登録商標)）、ベバシズマブ（アバスチン(AVASTIN)(登録商標)）、リツキシマブ（リツキサン(RITUXAN)(登録商標)）、セツキシマブ（アービタックス(ERBITUX)(登録商標)）、パニツムマブ（ベクティビックス(VECTIBIX)(登録商標)）、ラニビズマブ（ルセンティス(Lucentis)(登録商標)）、ニロチニブ（タシグナ(TASIGNA)(登録商標)）、ソラフェニブ（ネクサバール(NEXAVAR)(登録商標)）、エベロリムス（アフィニト

ール(AFINITOR)（登録商標）、アレムツズマブ（キャンパス(CAMPATH)（登録商標）、ゲムツズマブ・オゾガマイシン（マイロターグ(MYLOTARG)（登録商標）、テムシロリムス（トーリセル(TORISEL)（登録商標）、ENMD-2076、PCI-32765、AC220、ドビチニブ乳酸塩（TKI258、CHIR-258)、BIBW 2992（TOVOK™）、SGX523、PF-04217903、PF-02341066、PF-299804、BMS-777607、ABT-869、MP470、BIBF 1120（バルガテフ(VARGATEF)（登録商標）、AP24534、JNJ-26483327、MGCD265、DCC-2036、BMS-690154、CEP-11981、チボザニブ(AV-951)、OSI-930、MM-121、XL-184、XL-647、及び／又はXL228）、プロテアソーム阻害剤（例えば、ボルテゾミブ（ベルケイド(VELCADE)（登録商標）、mTOR阻害剤（例えば、ラパマイシン、テムシロリムス（CCI-779)、エベロリムス(RAD-001)、リダホロリムス、AP23573 (Ariad)、AZD8055 (アストラゼネカ)、BEZ235 (ノバルティス)、BGT226 （ノルバルティス）、XL765（サノフィ・アベンティス）、PF-4691502（ファイザー）、GDC0980 (ジェネンテック)、SF1126（セマフォ(Semafoe)）、及びOSI-027（OSI))、オブリメルセン、ゲムシタビン、カルミノマイシン、ロイコボリン、ペメトレキセド、シクロホスファミド、ダカルバジン、プロカルビジン、プレドニゾロン、デキサメタゾン、カンパテシン、プリカマイシン、アスパラギナーゼ、アミノプテリン、メトプテリン、ポルフィロマイシン、メルファラン、ロイロシジン(leurosidine)、ロイロシン(leurosine)、クロラムブシル、トラベクテジン、プロカルバジン、ディスコデルモライド、カルミノマイシン、アミノプテリン、並びにヘキサメチル・メラミン、が挙げられる。1種以上の化学療法薬剤を含む組成物を使用することもある（例えば、FLAG、CHOP）。FLAGは、フルダラビン、シトシン・アラビノシド(Ara-C)及びG-CSF、を含む。CHOPは、シクロフォスファミド, ビンクリスチン、ドキソルビシン、及びプレドニゾン、を含む。別の実施形態では、PARP（例えば、PARP-1及び／又はPARP-2）阻害剤を使用する、並びにそのような阻害剤は当該分野で既知である(例えば、オラパリブ、ABT-888、BSI-201、BGP-15(N-Gene Research Laboratories, Inc.)；INO-1001(Inotek Pharmaceuticals Inc.)；PJ34(Soriano et al., 2001；Pacher et al., 2002b)；3-アミノベンズアミド(Trevigen)；4-アミノ-1,8-ナフタルイミド；(Trevigen)；6(5H)-フェナントリジノン(Trevigen)；ベンズアミド(米国特許第36,397号)；及びNU1025(Bowman et al.))。その作用機序は、一般に、PARP阻害剤がPARPに結合し、その活性を低下させる作用能に関連する。PARPは、ベータ-ニコチンアミド・アデニン・ジヌクレオチド(NAD+)が、ニコチンアミド及びポリ-ADP-リボース(PAR)、へ転換することを触媒する。ポリ (ADP-リボース)及びPARPの両方は、転写、細胞増殖、ゲノムの安定性、及び発がん、の調節に、関連付いている（Bouchard et.al. (2003) Exp. Hematol. 31:446-454; Herceg (2001) Mut. Res. 477:97-110）。ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ1(PARP1)は、DNA一本鎖切断(single-strand break (SSB))の修復における、重要な分子である（de Murcia J. et al. (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94:7303-7307; Schreiber et al. (2006) Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 7:517-528; Wang et al. (1997) Genes Dev. 11:2347-2358）。PARP1機能の抑制によってSSB修復をノックアウトすると、DNA二本鎖切断(double-strand break (DSB))が誘導される、これは、相同性-指向性DSB修復に欠陥があるがん細胞においては、合成致死性(synthetic lethality)を引き起こすことがある（Bryant et al. (2005) Nature 434:913-917; Farmer et al. (2005) Nature 434:917-921）。化学療法薬剤の前述の例は、例示的なものである、及び限定することを意図するものではない。

【０３１８】

別の実施形態では、放射線療法が使用される。前記放射線療法に使用される放射線は、電離放射線であることがある。放射線療法はまた、ガンマ線、X-線、又は陽子線であることがある。放射線療法の例としては、限定されるものではないが、外部-ビーム照射療法、放射性同位体(I-125、パラジウム、イリジウム)の組織内移植、ストロンチウム-89等の放射性同位体、胸部放射線療法、腹腔内P-32放射線療法、並びに／又は全体の腹部

及び骨盤の放射線療法、が挙げられる。放射線療法の概略については、Hellman, 第16章: Principles of Cancer Management: Radiation Therapy, 第6版, 2001, DeVita et al., eds., J. B. Lippencott Company, Philadelphia を参照。前記放射線療法は、外部ビーム放射線又は遠隔治療として処方されることがある、ここで、前記放射線は、遠隔の発生源から向けられて来る。その放射線治療をまた、内部療法又は近接照射療法として処方されることもある、ここで、放射線発生源を、がん細胞又は腫瘤に近接して、体内に配置する。また、ヘマトポルフィリン及びその誘導体、ベルトポルフィン(Vertoporfin)(BPD-MA)、フタロシアニン、光増感剤Pc4、デメトキシ-ヒポクレリンA；及び2BA-2-DMHA、等の光増感剤の投与を含む光線力学療法の使用も包含される。

【０３１９】

別の実施形態では、ホルモン療法が使用される。ホルモン療法的な治療は、例えば、ホルモン・アゴニスト、ホルモン・アンタゴニスト(例えば、フルタミド、ビカルタミド、タモキシフェン、ラロキシフェン、ロイプロリド酢酸塩(LUPRON)、LH-RHアンタゴニスト)、ホルモンの生合成及びプロセシングの阻害剤、並びにステロイド（例えば、デキサメタゾン、レチノイド、デルトイド、ベタメタゾン、コルチゾール、コルチゾン、プレドニゾン、デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、ミネラルコルチコイド、エストロゲン、テストステロン、プロゲスチン）、ビタミンA誘導体（例えば、オール-トランス・レチノイン酸(all-trans retinoic acid (ATRA))）；ビタミンD3類似体；抗ゲスターゲン(例えば、ミフェプリストン、オナプリストン)、又は抗アンドロゲン（例えば、シプロテロン酢酸塩）、を含むことがある。

【０３２０】

1つの態様では、HA-1抗原を発現する細胞に対する免疫応答を、対象において、誘発する方法を、本出願は提供する。いくつかの実施形態では、前記方法は、本出願に記載される医薬組成物を、前記対象に投与するステップを含む、ここで、前記医薬組成物は、前記対象に投与されると、HA-1抗原を発現する細胞に対する免疫応答を、誘発する。

【０３２１】

いくつかの実施形態では、前記免疫応答としては、細胞-媒介性の免疫応答を、挙げることができる。細胞性免疫応答は、T細胞を含む応答である、及びin vitro、ex vivo、又はin vivoで、測定されることがある。例えば、全般的な細胞性免疫応答を、医薬組成物の投与後の好適な時に、前記対象からサンプリングした細胞（例えば、末梢血リンパ球(peripheral blood leukocyte (PBL)))における、T細胞増殖活性として測定することがある。例えば、PBMCを刺激剤と共に適切な時間のインキュベーションを行った後、[^{3}H]チミジン取り込みを測定することがある。増殖しているT細胞のサブセットを、フロー・サイトメトリーを用いて、決定することがある。

【０３２２】

本発明によって包含される別の態様では、本出願で提供される方法は、上記のように、ヒトの及び非-ヒトの哺乳動物の両方に、処方するステップを含む。獣医学的用途も企図される。いくつかの実施形態では、前記対象は、免疫応答が誘発され得る、任意の生命体であることがある。

【０３２３】

いくつかの実施形態では、前記医薬組成物を、適切な任意の時点で投与することができる。例えば、前記投与するステップを、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を有する対象の、治療前に又は治療過程に、実施することがある、及び、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を臨床的に検出できなくなった後に、継続することがある。前記投与するステップをまた、再発の徴候を示す対象において、継続することもある。

【０３２４】

いくつかの実施形態では、前記医薬組成物を、治療的に又は予防的に有効な量で、投与することがある。前記医薬組成物を前記対象に投与するステップを、既知の手順を用いて

、並びに所望の効果を達成するのに十分な、投薬量及び時間期間、で行うことがある。

【０３２５】

いくつかの実施形態では、前記医薬組成物を、任意の好適な部位で、前記対象に投与することがある。投与を、当技術分野において一般的に知られている方法を用いて、実施することがある。細胞を含む薬剤を、直接的な注射投与によって、又は当技術分野で使用される任意の他の方法（例えば、限定されるものではないが、血管内、大脳内(intracerebral)、非経口、腹腔内、静脈内、硬膜外、髄腔内(intraspinal)、胸骨内、関節内、滑膜内、くも膜下腔(intrathecal)、動脈内、心臓内、又は筋肉内、の投与等）によって、所望の部位に導入することができる。例えば、関心とする対象に、様々な経路によって移植された細胞が生着することがある。そのような経路としては、限定されるものではないが、静脈内投与、皮下投与、特定の組織への投与（例えば、病巣への移植）、大腿骨骨髄腔の中への注射投与、脾臓の中への注射投与、胎児肝臓の腎被膜下への投与（administration under the renal capsule of fetal liver）、等、が挙げられる。ある特定の実施形態では、本発明によって包含されるがんワクチンを、腫瘍内に又は皮下に、前記対象に、注射投与することがある。細胞を、1回の点滴によって、又は所望の効果を生じさせるのに十分な、規定の時間期間をかけた連続的な点滴によって、投与することがある。移植、生着評価、及び移植された細胞のマーカー表現型解析、の為の例示的な方法は、当技術分野において既知である（例えば、Pearson et al. (2008) Curr. Protoc. Immunol. 81:15.21.1-15.21.21; Ito et al. (2002) Blood 100:3175-3182; Traggiai et al. (2004) Science 304:104-107; Ishikawa et al. Blood (2005) 106:1565-1573; Shultz et al. (2005) J. Immunol. 174:6477-6489; 及び Holyoake et al. (1999) Exp. Hematol. 27:1418-1427、を参照）。いくつかの実施形態では、前記用量を、所望の応答を引き起こすのに有効な、量で及び時間期間で、投与することがある、それは、前記免疫応答を誘発することがある、又は、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、若しくは過剰増殖性障害の再発、及び／又はそれらに関連した症状（symptom）、の予防的な若しくは治療的な処置、であることがある。

【０３２６】

前記薬学的組成物を、他の療法（例えば、前記対象において免疫応答も誘発する療法等）、に続いて、に先行して、又は、と同時に、投与することがある。例えば、前記対象は、他の形態の免疫調節薬剤によって、以前に又は同時に、治療されてもよく、そのような他の療法は、本出願に記載される組成物の免疫原性を妨害しないような方法で提供されることがある。

【０３２７】

投与を、介護者（例えば、医師、獣医師）は、適切に計時することができる、並びに投与は、前記対象の臨床症状、投与の目的、及び／又は、企図される若しくは投与される他の療法、に依存することがある。いくつかの実施形態では、初回投与量を投与し、前記対象を、免疫学的な及び／又は臨床的な応答について、モニタリングすることがある。免疫学的モニタリングの好適な方法は、応答者としての患者の末梢血リンパ球(peripheral blood lymphocyte (PBL))の使用、及び刺激剤としての本出願に記載される免疫原性ペプチド又はペプチド-MHC複合体の使用、が挙げられる。免疫学的な応答をまた、投与部位での遅延性の炎症反応によって、測定することもある。初回用量に続く1回以上の用量を、所望の効果が達成されるまで、必要に応じて、典型的には毎月、半毎月、又は毎週、投与することがある。その後、必要に応じて、特に、免疫学的な又は臨床的な利益が弱まってきていると思われる場合には、更なる、ブースター用量又は維持用量、を投与することがある。

【０３２８】

概して、適切な投薬量及び治療レジメンによって、利益を提供するのに十分な量の、活性分子又は細胞、が提供される。そのような応答を、治療した対象において、非-治療の対象と比較して、改善された臨床アウトカム（例えば、より頻繁な寛解、完全な若しくは

部分的な、又はより長い無病生存）を確立することによって、モニタリングすることがある。ウイルス・タンパク質に対する既存の免疫応答の増大は、一般に、改善された臨床アウトカムと相関する。そのような免疫応答を、標準的な、増殖アッセイ、細胞傷害アッセイ又はサイトカイン・アッセイ、を用いて、一般的に、評価することがあり、これは、ルーチンである。

【０３２９】

予防的使用の場合、疾患に若しくは障害に関連する、疾患の発症を、予防するのに、遅延させるのに、又は疾患に若しくは障害に関連する、疾患の重症度を減少させるのに、用量は十分であるべきである。本出願に記載される方法に従って投与される免疫原性組成物に関する予防的利益を、前-臨床(例えば、in vitro、ex vivo、及びin vivo、の動物研究、等)及び臨床研究を実施し、そこから得られたデータを、適切な、統計的、生物学的、及び臨床的、方法及び技術、によって解析することによって、測定することができる。これらのすべてを、当業者は、容易に実施することができる。

【０３３０】

本出願で使用する場合、組成物の投与は、同物を、送達の経路又は様式にかかわらず、対象に送達すること、を指す。投与を、連続的に又は断続的に、及び非経口的に、行うことがある。投与は、認識された症状、疾患若しくは疾患状態を有すると既に確認済みの対象を治療する為、又はそのような症状、疾患若しくは疾患状態、に対して感受性である、若しくはを発症するリスクがある、対象を治療する為、であることがある。補助療法との共-投与としては、任意の順序で、及び任意の投薬スケジュールで、複数の薬剤を、同時に及び／又は連続的に、送達すること（例えば、操作した免疫細胞と1種以上のサイトカイン；カルシニューリン阻害剤、コルチコステロイド、微小管阻害剤、低用量のミコフェノール酸プロドラッグ、又はそれらの任意の組み合わせ、等の免疫抑制療法)、が挙げられる。

【０３３１】

いくつかの実施形態では、本出願に記載される宿主細胞（例えば、操作した免疫細胞）の複数の用量を、前記対象に投与する、それを、約2週間から約4週間までの投与の間の間隔で、投与することがある。

【０３３２】

本発明によって包含される、治療方法を又は予防方法を、治療コースの一部又は治療レジメンの一部として、対象に処方することがある、それは、本開示の単位用量の投与の、細胞の投与の、又は組成物の投与の、前に又は後に、追加的な治療を含むことがある。例えば、いくつかの実施形態では、前記宿主細胞（例えば、操作した免疫細胞）の単位用量を受ける対象は、造血細胞移植（ＨＣＴ；例えば、骨髄破壊的ＨＣＴ及び非-骨髄破壊的ＨＣＴ、等）を受けているか、又は以前に受けたことがある。前述の実施形態の何れかでは、ＨＣＴにおいて使用される造血細胞は、ＭＨＣ、抗原、及び結合タンパク質、より選択されるポリペプチド産物をコードする1つ以上の内因性遺伝子の発現を、低減させる又は除去する、ように（例えば、本出願に記載される方法による、染色体遺伝子ノックアウトによって）改変した「ユニバーサル・ドナー(universal donor)」細胞、であることがある。

【０３３３】

細胞移植を実施する為の、技術は及びレジメンは、当技術分野において既知である、及び任意の好適なドナー(donor)細胞（例えば、臍帯血、骨髄、又は末梢血に由来する細胞、造血幹細胞、動員した幹細胞、又は羊膜流体由来の細胞、等）の移植を含むことがある。従って、いくつかの実施形態では、本発明によって包含される宿主細胞（例えば、操作した免疫細胞）を、幹細胞療法と一緒に、又はその直後に、投与することがある。

【０３３４】

本発明によって包含される方法は、いくつかの実施形態では、併用療法において、疾患又は障害（例えば、ＨＡ-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発）を治療する為の、1つ以上の追加的な薬剤を投与するステップを、更に含むことがある。例えば、いくつかの実施形態では、併用療法は、抗ウイルス薬

剤と一緒に（同時に(concurrently)、同時に(simultaneously)、又は連続して）、本発明によって包含される、宿主細胞又は結合タンパク質、を投与するステップを含む。いくつかの実施形態では、併用療法は、ロピナビル／リトナビル、クロロキン、リバビリン、ステロイド薬、ヒドロキシクロロキン、及び／又はインターフェロンα、と一緒に、本発明によって包含される、宿主細胞又は結合タンパク質、を投与するステップを含む。いくつかの実施形態では、併用療法は、二次的な療法（例えば、外科手術、抗体、ワクチン、又はそれらの任意の組み合わせ、等）と一緒に、本発明によって包含される、宿主細胞、組成物、又は前記宿主細胞の単位用量、を投与するステップを含む。

【０３３５】

いくつかの実施形態では、前記対象は、ヒト（例えば、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を有するヒト等）である。いくつかの実施形態では、前記対象は、げっ歯類（例えば、マウス等）である。いくつかのそのような実施形態では、前記マウスは、トランスジェニック・マウス（例えば、ヒトMHC(即ち、HLA)分子［例えば、HLA-A2（例えば、Nicholson et al. (2012) Adv. Hematol. 2012:404081）等］を発現するマウス等）である。

【０３３６】

いくつかの実施形態では、前記対象は、ヒトTCRを発現するトランスジェニック・マウスである、又は抗原ネガティブ・マウスである（Li et al. (2010) Nat. Med. 16: 1029-1034 及びObenaus et al. (2015) Nat. Biotechnol. 33:402-407）。いくつかの実施形態では、前記対象は、ヒトHLA分子及びヒトTCR、を発現するトランスジェニック・マウスである。

【０３３７】

いくつかの実施形態では、例えば、前記対象が、トランスジェニックHLAマウスである場合、その同定されたTCRは、例えば、キメラであるように又はヒト化であるように、改変される。いくつかの実施形態では、そのTCRスキャフォールドを、例えば、既知の結合タンパク質ヒト化方法に類似するように、改変する。

【０３３８】

c. スクリーニング方法

本発明によって包含される別の態様は、スクリーニング・アッセイを包含する。

【０３３９】

本発明は、HA-1又はその抗原、に結合する、又は、の活性を調節する、試験タンパク質等の薬剤をスクリーニングする為のアッセイを包含する。そのような薬剤としては、限定されるものではないが、抗体、タンパク質、融合タンパク質、低分子、及び核酸、が挙げられる。いくつかの実施形態では、免疫応答を調節する薬剤を同定する為の方法は、HA-1活性を調節し、更に関心とする免疫応答を調節する（例えば、調節された、細胞傷害性T細胞の活性化、及び／又は細胞傷害性T細胞の活性、免疫チェックポイント療法に対するがん細胞の感受性、等）候補薬剤の作用能を測定するステップ、を伴う。

【０３４０】

いくつかの実施形態では、アッセイは、無細胞の、又は細胞に基づく、アッセイである、ここで、前記アッセイは、ターゲットを試験薬剤と接触させるステップ、並びに前記ターゲットの、量及び／又は活性、を調節する(例えば、上方制御する又は下方制御する)という、前記試験薬剤の作用能を、例えば、以下に記載するように、直接的パラメーター又は間接的パラメーター、を測定すること等によって、測定するステップ、を含む。

【０３４１】

いくつかの実施形態では、アッセイは、細胞に基づくアッセイである、例えば、前記アッセイは、(a)関心とする細胞を試験薬剤と接触させるステップ、並びに前記ターゲットの、量及び／又は活性、を調節するという、前記試験薬剤の作用能（例えば、結合特性等）を、測定するステップ、を含む。前記ポリペプチドが、互いに、結合する、又は相互作用する、という作用能を決定するステップを、例えば、直接的な結合を測定することによって、又は免疫細胞の、活性化若しくは機能、のパラメーターを測定することによって、

実施することがある。

【０３４２】

別の実施形態では、アッセイは、細胞に基づくアッセイである、ここで、前記アッセイは、がん細胞等の細胞を、免疫細胞（例えば、細胞傷害性T細胞）及び試験薬剤、と接触させるステップ、並びに、以下に記載するように、直接的パラメーターを又は間接的パラメーターを、測定すること等によって、前記ターゲットの、量及び／若しくは活性、を調節するという、前記試験薬剤の作用能を、並びに／又は、例えば、調節された免疫応答を、測定するステップ、を含む。

【０３４３】

上記及び本出願に記載される方法をまた採用して、本出願に記載される1種以上のバイオマーカーの、量及び／若しくは活性、を調節することが既に知られている、1種以上の薬剤を試験することがある、並びに／又は所望の表現型の測定値に対する薬剤の作用（例えば、調節された免疫応答、免疫チェックポイント遮断に対する感受性、等）を確認することがある。

【０３４４】

いくつかの実施形態では、所与のポリペプチドセット間の相互作用を調節するという試験薬剤（例えば、抗体、融合タンパク質、ペプチド、又は低分子）の作用能を測定するステップは、ポリペプチドのセットの1つ以上のメンバーの活性を測定することによって、行うことがある。例えば、タンパク質の活性を、及び／又は1つ以上の結合パートナーの活性を、細胞セカンド・メッセンジャー（例えば、細胞内シグナリング）の誘導を検出することによって、適切な基質の触媒活性／酵素活性を検出することによって、レポーター遺伝子（検出可能なマーカー［例えば、クロラムフェニコール・アセチル・トランスフェラーゼ］をコードする核酸に作動可能に連結したターゲット-応答性の調節エレメントを含む）の誘導を検出することによって、又は前記タンパク質及び／若しくは1つ以上の結合パートナーによって調節される細胞応答を検出することによって、測定することがある。前記ポリペプチドに結合する、又は前記ポリペプチドと相互作用する、という前記試験薬剤の作用能を測定するステップを、例えば、増殖アッセイにおいて、免疫細胞の、共刺激又は抑制、を調節するという、化合物の作用能、を測定することによって、又は前記ポリペプチドの一部を認識する抗体に結合するという、前記ポリペプチドの作用能、を妨害することによって、行うことがある。

【０３４５】

ターゲットの、量及び／又は活性（例えば、1種以上の結合パートナーとの相互作用等）を調節する薬剤を、in vitroアッセイに添加した場合に、免疫細胞の増殖、及び／若しくはエフェクター機能、を阻害するという薬剤の作用能によって、又はアネルギー、クローン欠失、及び／若しくは疲弊、を誘導するという薬剤の作用能によって、同定することがある。例えば、細胞を、活性化レセプターを介してシグナル伝達を刺激する薬剤の存在下で、培養することがある。細胞活性化に関する、多くの認識された測定値を用いて、前記薬剤の存在下で、細胞増殖又はエフェクター機能（例えば、抗体産生、サイトカイン産生、ファゴサイトーシス）を測定することがある。この活性化を遮断するという試験薬剤の作用能を、当該技術分野において既知の技術を用いて、測定される増殖又はエフェクター機能が低下するという前記薬剤の作用能を測定することによって、容易に測定することができる。

【０３４６】

例えば、本発明によって包含される薬剤は、Freeman et al. (2000) J. Exp. Med. 192:1027 及び Latchman et al. (2001) Nat. Immunol. 2:261に記載されるように、T細胞アッセイにおいて、共刺激を阻害するという、又は増強するという作用能について試験をすることがある。CD4+ T細胞を、ヒトPBMCから単離し、活性化させる抗-CD3抗体を使って刺激することがある。T細胞の増殖を、^{3}Hチミジン取り込みによって、測定することがある。アッセイを、前記アッセイにおいて、CD28共-刺激を、伴って、又は伴わずに、実施することがある。同様のアッセイを、Jurkat T細胞及びPBMC由

来のPHA-芽球を用いて、実施することがある。

【０３４７】

或いは、本発明によって包含される薬剤は、細胞でのサイトカイン産生を変調する作用能について、試験をすることがある（このサイトカインは、1種以上のバイオマーカーの変調によって産生する、又はこのサイトカインの産生は、1種以上のバイオマーカーの変調に応じて、増強する、若しくは阻害を受ける）。（例えば、本実施例のセクションに記載されているように）関心とする免疫細胞によって放出される指標サイトカインを、ELISAによって、又は抗体（この抗体は、前記サイトカインを遮断し、その結果、前記サイトカインによって誘導される、免疫細胞の増殖、若しくは他の細胞型の増殖、を阻害する）の作用能によって、同定することがある。in vitro免疫細胞共刺激アッセイを、1種以上のバイオマーカーの変調によって変調を受けることがあるサイトカインを同定する為の方法において、使用することもある。例えば、共刺激時に誘導される特定の活性（例えば、免疫細胞増殖）を、既知のサイトカインに対する遮断抗体の添加によって、阻害することができない場合、前記活性は、未知のサイトカインの作用から生じている可能性がある。共刺激後、このサイトカインを、従来の方法によって、媒体から精製することがある、及びその活性を、免疫細胞増殖を誘導するというその作用能によって、測定することがある。トレランスの誘導において役割を果たすことがあるサイトカインを同定する為に、上記のin vitro T細胞共刺激アッセイを使用することがある。このケースでは、T細胞は、一次活性化シグナルが与えられる、及び選択したサイトカインに接触させる、しかし、共刺激シグナルは与えられない。前記免疫細胞を洗って一旦置いた後、前記細胞を、一次活性化シグナル及び共刺激シグナルの両方で、再刺激する。前記免疫細胞が応答（例えば、増殖する又はサイトカイン類を産生する）をしない場合、それらはトレランス状態になっている、及び前記サイトカインは、トレランスの誘導を阻んではいない。しかしながら、前記免疫細胞が応答する場合、トレランスの誘導は、前記サイトカインによって阻まれている。トレランスの誘導を阻むことができるこれらのサイトカインを、移植レシピエント(recipient)又は自己免疫疾患を有する対象において、より効率的にトレランスを誘導する方法として、Bリンパ球抗原を遮断する試薬と組み合わせて、in vivoでの遮断のターゲットとすることができる。

【０３４８】

いくつかの実施形態では、本発明によって包含されるアッセイは、バイオマーカー及び／又は1つ以上の結合パートナー間の相互作用を調節する薬剤をスクリーニングする為の無細胞アッセイである、ここで、前記アッセイは、ポリペプチド、及び1つ以上の天然の結合パートナー、又はそれらの生物学的な活性部分を、試験薬剤と接触させるステップ、並びに前記ポリペプチドと、1つ以上の天然の結合パートナーとの、又はそれらの生物学的な活性部分との間の相互作用を調節する試験化合物の作用能を測定するステップ、を含む。試験化合物の結合を、上記のように、直接的に又は間接的に、の何れかで測定することがある。1つの実施形態では、前記アッセイは、アッセイ混合物を形成する為に、前記ポリペプチドを、又はその生物学的な活性部分を、その結合パートナーと接触させるステップ、前記アッセイ混合物を試験化合物と接触させるステップ、及び前記アッセイ混合物中のポリペプチドと相互作用するという前記試験薬剤の作用能を測定するステップ、を含む、ここで、前記ポリペプチドと相互作用するという前記試験薬剤の作用能を測定するステップは、前記ポリペプチド又はその生物学的な活性部分に、前記結合パートナーと比較して、選択的に結合するという前記試験薬剤の作用能を測定するステップ、を含む。

【０３４９】

いくつかの実施形態では、細胞に基づくアッセイ又は無細胞のアッセイのいずれについても、試験薬剤を更にアッセイして、前記ポリペプチドと1つ以上の結合パートナーとの間の、他の結合パートナーとの、結合及び／又は相互作用の活性、に影響を及ぼすかどうかを測定することがある。他の有用な結合解析方法としては、リアルタイム生体分子相互作用解析(Biomolecular Interaction Analysis (BIA))の使用が挙げられる(Sjolander and Urbaniczky (1991) Anal. Chem. 63:2338-2345 及び Szabo et al.

(1995) Curr. Opin. Struct. Biol. 5:699-705)。本出願で使用する場合、「BIA」は、任意の相互作用物質を標識することなく、生体特異的な相互作用をリアルタイムで研究する為の技術である(例えば、Biacore(登録商標))。表面プラズモン共鳴(surface plasmon resonance (SPR))の光学現象における変化を、生物学的ポリペプチド間のリアルタイムな反応の指標として、使用することがある。関心とするポリペプチドを、Biacore(登録商標)チップ上に固定化し、多数の薬剤（遮断抗体、融合タンパク質、ペプチド、又は低分子）を、関心とするポリペプチドへの結合について、試験することがある。BIA技術を使用する例は、Fitz et al. (1997) Oncogene 15:613に記載されている。

【０３５０】

本発明によって包含される無細胞のアッセイは、タンパク質の、可溶型及び／又は膜結合型、の両方の使用に適している。膜結合型タンパク質を使用する無細胞のアッセイでは、前記タンパク質の膜結合型が溶液状態に維持されるように、可溶化薬剤を利用することが望ましいことがある。そのような可溶化薬剤の例としては、非-イオン性界面活性剤（例えば、n-オクチルグルコシド、n-ドデシルグルコシド、n-ドデシルマルトシド、オクタノイル-N-メチルグルカミド、デカノイル-N-メチルグルカミド、Triton(登録商標)X-100、Triton(登録商標)X-114、Thesit(登録商標)、イソトリデシルポリ(エチレン・グリコール・エーテル)$_n$ (Isotridecypoly(ethylene glycol ether)n)、3-[(3-コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-1-プロパン・スルホン酸塩(CHAPS)、3-[(3-コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-2-ヒドロキシ-1-プロパン・スルホン酸塩(CHAPSO)、又はN-ドデシル=N,N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパン・スルホン酸塩、等）が挙げられる。

【０３５１】

上記のアッセイ方法の1つ以上の実施形態では、何れかのポリペプチドを固定化して、タンパク質の一方又は両方に関して、複合体化されていない形態から複合体化されている形態を分離し易くすること、並びに前記アッセイの自動化に適応させること、が望ましいことがある。試験化合物のポリペプチドへの結合は、その反応物を含有するのに適した任意の容器中で行うことがある。そのような容器の例としては、マイクロタイター・プレート、試験チューブ、及びマイクロ遠心分離チューブ、が挙げられる。1つの実施形態では、タンパク質の一方又は両方がマトリクスに結合することを可能にするドメインを加える融合タンパク質が提供されることがある。例えば、グルタチオン-S-トランスフェラーゼをベースとしたポリペプチド融合タンパク質、又はグルタチオン-S-トランスフェラーゼ／ターゲット融合タンパク質を、グルタチオン・セファロース・ビーズ(Sigma Chemical, St. Louis, MO)又はグルタチオン誘導体化したマイクロタイター・プレート上に吸着させることがある、次いで、これらを前記試験化合物と合わせ、その混合物を、複合体形成が促進される条件下で（例えば、塩及びpHについて、生理学的な条件）、インキュベーションを行う。インキュベーションを行った後、前記ビーズ又はマイクロタイター・プレートのウェルを洗浄して、あらゆる結合していない構成要素を除去し、ビーズの場合では、そのマトリックスに固定化された複合体を、例えば上記のように、直接的に又は間接的に、測定する。或いは、前記複合体を、前記マトリックスから解離させ、ポリペプチドの、結合又は活性、のレベルを、標準的な技術を用いて、測定することができる。

【０３５２】

本発明は更に、上記のスクリーニング・アッセイによって同定される新規薬剤に関する。従って、本出願に記載されるように同定した薬剤を、適切なモデル・システムにおいて、更に使用することは、本発明の範囲内である。例えば、本出願に記載されるように同定した薬剤をモデル・システムで使用して、そのような薬剤を使った治療に関する、有効性、毒性、又は副作用、を決定することがある。或いは、本出願に記載されるように同定した薬剤を使用して、そのような薬剤の作用機序を決定することがある。更に、本発明は、本出願に記載される治療の為の、上記スクリーニング・アッセイによって同定した新規薬剤の使用、に関する。

【０３５３】

d. 臨床試験中での効果のモニタリング

免疫応答性（例えば、T細胞の応答性［例えば、結合の存在及び／又はT細胞活性化及び／又はエフェクター機能］等）に対する、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の療法（例えば、化合物、薬物、ワクチン、細胞療法、等）の影響をモニタリングすることを、基本的な候補HA-1抗原結合分子のスクリーニングにおいてだけでなく、臨床試験においても、適用することがある。例えば、HA-1抗原を発現する関心とする細胞（例えば、過剰増殖性細胞等）に対する免疫応答性（例えば、T細胞の免疫応答性）を増大させるという、本出願に記載される、結合タンパク質及び関連する組成物（例えば、核酸、宿主細胞、医薬製剤、等）の効果を、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に罹患している対象に関する、臨床試験において、モニタリングすることがある。そのような臨床試験では、結合の存在、並びに／又はT細胞活性化、並びに／又はエフェクター機能（例えば、T細胞増殖、傷害、及び／若しくはサイトカイン放出）を、特定の細胞、組織、又はシステムの表現型に関する、「測定値(read out)」又はマーカー、として使用することがある。同様に、HA-1抗原を発現する関心とする細胞（例えば、過剰増殖性細胞等）に対する免疫応答性を増大させるという、本出願に記載される結合タンパク質（例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、CAR、又はTCR及びエフェクター・ドメインを含む融合タンパク質）を発現するように操作したT細胞を用いた適応性T細胞療法（adaptive T cell therapy）の効果を、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を有する対象に関する、臨床試験において、モニタリングすることがある。そのような臨床試験では、結合の存在、並びに／又はT細胞活性化、並びに／又はエフェクター機能（例えば、T細胞増殖、傷害、及び／若しくはサイトカイン放出）を、特定の細胞、組織、又はシステムの表現型に関する、「測定値(read out)」又はマーカー、として使用することがある。

【０３５４】

例えば、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の療法の処方を増加させることは、前記対象から得られるサンプルと、1つ以上の結合タンパク質又は関連組成物との間の応答性の、存在又はレベル、を増大させる為に（例えば、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の療法の効果を増大させる為に）、望ましいことがある。そのような実施形態によれば、前記対象から得られるサンプルと、1つ以上の結合タンパク質又は関連組成物との間の応答性の、存在又はレベル、を、表現型応答が観察できない場合であっても、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の療法の効果の指標として、使用することがある。同様に、前記対象から得られるサンプルと、1つ以上の結合タンパク質又は関連組成物との間の応答性の、存在を又はレベルを、（例えば、直接結合アッセイ、蛍光活性化細胞選別(fluorescence activated cell sorting)(FACS)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、放射免疫アッセイ(RIA)、免疫化学的、ウェスタン・ブロット、又は細胞内フロー・アッセイ、等によって）解析して、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の療法を受けるであろう患者を選択することもある。

【０３５５】

例えば、直接結合アッセイでは、免疫原性ペプチド又は抗原ペプチド-MHC(pMHC)複合体を、放射性同位体標識又は酵素標識、とカップリングさせて、その結果、その標識した、免疫原性ペプチド又はpMHC複合体、を検出することによって、結合を測定することがある。例えば、免疫原性ペプチド又はpMHC複合体を、^{125}I、^{35}S、^{14}C、又は^{3}Hで、直接的に又は間接的に、標識することがある、及び前記放射性同位体を、放射放出の直接計数によって、又はシンチレーション計数によって、検出することがある。或いは、前記免疫原性ペプチド又はpMHC複合体を、例えば、西洋ワサビ・ペルオキシダーゼで、アルカリ・ホスファターゼで、又はルシフェラーゼで、酵素的に標識することがある、及びその酵素標識を、適切な基質から生成物への変換を測定することによって、検出する

ことがある。免疫原性ペプチド又はpMHC複合体と、免疫細胞（例えば、T細胞及び／又はNK細胞、等）との間の相互作用、を測定することを、標準的な結合アッセイ又は酵素解析アッセイを用いて、行うこともある。上記アッセイ方法の1つ以上の実施形態では、前記アッセイの自動化に適応する為に、免疫原性ペプチド又はpMHC複合体を固定化することが望ましいことがある。

【０３５６】

任意の相互作用物質を標識することなく、関心とするパラメーターを変調するという薬剤の作用能を測定することも、本発明の範囲内である。例えば、マイクロフィジオメーターを使用して、モニタリングするべきポリペプチドを標識することなく、ポリペプチド間の相互作用を検出することができる（McConnell et al. (1992) Science 257:1906-1912）。本出願で使用する場合、「マイクロフィジオメーター」(例えば、Cytosensor(登録商標))は、光アドレス可能な電位差センサー(light-addressable potentiometric sensor (LAPS))を使用して、細胞がその周囲を酸性化する速度を測定する、分析機器である。この酸性化速度の変化を、化合物とレセプターとの間の相互作用の指標として、使用することがある。

【０３５７】

免疫細胞（例えばT細胞及び／又はNK細胞、等）に対する、免疫原性ペプチド又はpMHC複合体の結合は、その反応物を収容するのに適した任意の容器中で、行うことがある。そのような容器の非-限定的な例としては、マイクロタイター・プレート、試験チューブ、及びマイクロ遠心分離チューブ、が挙げられる。免疫原性ペプチドの、又はpMHC複合体の固定化形態としては、孔性、ミクロ孔性（平均の孔直径が約1ミクロン未満)又はマクロ孔性（平均の孔直径が約10ミクロンを超える）材料のような、固相（例えば、膜、セルロース、ニトロセルロース、若しくはガラス繊維、等；ビーズ、例えば、アガロース、若しくはポリアクリルアミド、若しくはラテックスでできているビーズ等；又は、例えば、ポリスチレンでできている、ディッシュ、プレート、若しくはウェル、の表面、等）に結合した、免疫原性ペプチド又はpMHC複合体、も挙げられる。

【０３５８】

いくつかの実施形態では、本出願に記載される、1つ以上の結合タンパク質又は1つ以上の宿主細胞、に対する、対象から得られるサンプルの応答性を、結合の存在、及び／又はT細胞活性化、及び／又はエフェクター機能、を検出することによって、測定することがある。用語「T細胞活性化」とは、増殖、分化、サイトカイン分泌、細胞傷害性エフェクター分子の放出、細胞傷害活性、及び活性化マーカーの発現、から選択されるTリンパ球を指し、特に細胞傷害性Tリンパ球の1種以上の細胞応答を指す。

【０３５９】

サイトカイン産生及び／又は放出を、当技術分野で既知の方法［例えば、ELISA、酵素結合免疫吸収性スポット(enzyme-linked immune absorbent spot (ELISPOT))、Luminex(登録商標)アッセイ、細胞内サイトカイン染色、及びフロー・サイトメトリー、並びにそれらの組み合わせ（例えば、細胞内サイトカイン染色とフロー・サイトメトリー）］によって、測定することがある。それを、実施する方法に従って、測定することがある。

【０３６０】

本出願で使用される、用語「サイトカイン」とは、生物学的な又は細胞的な、機能又はプロセス（例えば、免疫、炎症、及び造血）、を媒介する、及び／又は、を調節する、分子を指す。本出願で使用される、用語「サイトカイン」としては、「リンホカイン」、「ケモカイン」、「モノカイン」、及び「インターロイキン」、が挙げられる。有用なサイトカインの例は、GM-CSF, IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IFN-α, IFN-β, IFN-γ, MIP-1α, MIP-1β, TGF-β, TNF-α, 及び TNF-β、である。

【０３６１】

抗原-特異的な免疫応答の誘導又は刺激から生じる、T細胞の、増殖及びクローン増殖

を、例えば、トリチウム化チミジン・アッセイ又はMTTアッセイ等の非-放射性アッセイの取り込みを介して、測定することがある。

【０３６２】

CTL活性を測定する為の細胞毒性アッセイを、当技術分野においてルーチンに実施されている、いくつかの技術及び方法のうちの、何れか1つを用いて、実施することがある（例えば、Henkart et al. (2003) Fund. Immunol. 1127-1150）。抗原-特異的なT細胞応答性を測定する為の方法に関する更なる記載を、例えば、米国特許第10,208,086号及び米国特許出願公開第2017/0209573号、において、見出すことができる。

【０３６３】

e. 予測医療

本発明はまた、予測医療の分野に関する。前記予測医療では、診断アッセイ、予後予測アッセイ、及び臨床試験のモニタリングを、予後予測(prognostic)［予測(predictive)］の目的の為に使用し、それによって個体を予防的に治療する。従って、本発明によって包含される1つの態様は、生物学的サンプル（例えば、血液、血清、細胞、又は組織）の中の、HA-1の存在、非存在、量、及び／若しくは活性レベル、又はHA-1に対する応答性、を測定する為の（例えば、検出する為の）診断アッセイを、包含する。それによって、HA-1の発現を特徴とする障害に罹患した個体が、療法に応答する可能性が高いかどうか、元の状態にあるかどうか、又は再発であるかどうか、を決定する。そのようなアッセイを、予後予測目的又は予測目的の為に使用し、それによって、HA-1の発現を特徴とする障害の、発症前に又は再発後に、個体を予防的に治療することがある。

【０３６４】

本出願に記載される診断方法を更に利用して、HA-1の発現に、又はHA-1の発現の欠損に、関連する障害を、有する、又は発症するリスクがある、対象を同定することがある。本出願で使用する場合、用語「異常である」としては、HA-1に関して、正常レベルからの、上方制御又は下方制御、が挙げられる。異常な、発現又は活性、としては、増加した又は減少した、発現又は活性、並びに、発現の正常な発生パターン又は発現の正常な細胞内パターン、に従わない、発現又は活性、が挙げられる。例えば、異常なレベルには、バイオマーカー遺伝子における変異が若しくは調節配列における変異が、又はその染色体遺伝子の増幅が、関心とするバイオマーカーの上方制御又は下方制御を引き起こす場合、が含まれることが意図される。本出願で使用する場合、用語「望ましくない」としては、免疫細胞活性等の生物学的応答性に関与する望ましくない現象、が挙げられる。

【０３６５】

本出願に記載されるアッセイ、例えば、前診断アッセイ（preceding diagnostic assay）又は後アッセイ（following assay）等、を利用して、HA-1の誤調節に関連する障害を、有する、又は発症するリスクがある、対象を同定することがある。従って、本発明は、異常な、又は望ましくない、HA-1の調節に、関連する障害を同定する為の方法（前記方法では、試験サンプルを対象から取得する、及びHA-1の発現を検出する）を提供する、ここで、HA-1の発現の存在は、異常な、又は望ましくない、HA-1の発現に、関連する障害を有する、又は発症するリスクがある、対象にとって診断となる。本出願で使用する場合、「試験サンプル」とは、関心とする対象から得られる生物学的サンプルを指す。例えば、試験サンプルは、生物学的流体（例えば、脳脊髄液又は血清）、細胞サンプル、又は組織、例えば、腫瘍微小環境、腫瘍周囲領域、及び／又は腫瘍内領域の、組織病理学的スライド等、であることがある。

【０３６６】

更に、本出願に記載される予後予測アッセイを用いて、異常な、又は望ましくない、HA-1の発現に、関連するそのような障害を治療する為に、対象に、本出願に記載される薬剤を投与できるかどうかを決定することがある。例えば、そのような方法を使用して、薬剤に関して、単独で又は組み合わせで、対象を効果的に治療され得るかどうかを決定することがある。従って、本発明は、対象が、異常な、又は望ましくない、HA-1の発現に、関連する障害を治療する為に、本出願に記載される1種以上の薬剤で、効果的に治療され

得るかどうかを決定する為の方法、を提供する。

【０３６７】

例えば、本出願に記載される少なくとも1種の抗体試薬を含む、予め包装された診断用キットを利用することによって、本出願に記載される方法を実施することがある。これは、例えば、関心とするバイオマーカーが関与する、疾患(disease)又は疾病(illness)の、症状(symptom)又は家族歴を、示す患者を診断する為の臨床状況において、使用するのに便利であることがある。

【０３６８】

更に、関心とするバイオマーカーが発現する、任意の細胞型又は組織を、本出願に記載される予後予測アッセイにおいて、利用することがある。

【０３６９】

加えて、本出願に記載される予後予測方法を使用して、HA-1の発現を特徴とする障害を治療する為の治療薬剤を、対象に投与され得るかどうかを決定することがある。

【０３７０】

f. 臨床的有効性

臨床的有効性を、当技術分野で既知の任意の方法によって、測定することができる。例えば、療法に対する応答性は、前記療法に対する、HA-1の発現を特徴とする障害（例えば、腫瘍）の任意の応答性に関する。好ましくは、ネオアジュバント化学療法を又はアジュバント化学療法を開始した後等での、がん細胞、腫瘍塊、及び／又は腫瘍体積、の変化に関する。腫瘍応答性を、ネオアジュバント化学療法において、又はアジュバント化学療法において、評価することがある、ここで、CT、PET、マンモグラム、超音波又は触診、によって測定する場合、全身的な介入の後の腫瘍のサイズを、最初のサイズ及び寸法と比較することがある、並びに腫瘍の細胞性を、組織学的に推定することがある、及び治療を開始する前に採取した腫瘍生検の細胞性と、比較することがある。応答性を、生検後の腫瘍を又は外科的切除後の腫瘍を、キャリパー測定することによって、又は病理学的検査をすることによって、評価することもある。応答性を、定量的な様式（例えば、腫瘍体積の又は細胞性の、変化率等）で、又は半定量的なスコアリング・システム（scoring system）を、例えば、残存がん量を(Symmans et al. (2007) J. Clin. Oncol. 25:4414-4422)、若しくは「病理学的完全応答」(“pathological complete response”(pCR))、「臨床的完全寛解」(“clinical complete remission”(cCR))、「臨床的部分寛解」(“clinical partial remission”(cPR))、「臨床的安定疾患」(“clinical stable disease”(cSD))、「臨床的進行性疾患」(“clinical progressive disease”(cPD))、又は他の定性的基準、のような定性的様式であるミラー-ペイン・スコア(Miller-Payne score)（Ogston et al. (2003) Breast (Edinburgh, Scotland) 12:320-327）等）を、使用することによって、記録することがある。腫瘍応答性の評価を、ネオアジュバント療法の又はアジュバント療法の、開始後早期に（例えば、数時間後、数日後、数週間後、又は好ましくは数ヶ月後に）、実施することがある。応答性評価の為の典型的なエンドポイントは、ネオアジュバント化学療法の終了時、又は残存腫瘍細胞及び／若しくは腫瘍床（tumor bed）の外科的切除時、である。追加のガイダンスを、上記セクションIに列挙した用語の定義として、提供する。

【０３７１】

VII. 細胞療法

本発明によって包含される別の態様では、本方法は、養子細胞療法を含む、それによって、提供するMHC-拘束性エピトープをターゲティングする分子を発現する、遺伝子改変をした細胞［例えば、結合タンパク質（例えば、TCR又はCAR）を、又はその抗原-結合フラグメントを、発現する細胞］を、対象に投与する。そのような投与によって、抗原-ターゲット化の様式で、免疫細胞の活性化（例えば、T細胞の活性化）が促進され、その結果、HA-1抗原を発現する、関心とする細胞（例えば、過剰増殖性細胞等）は、破壊のターゲットとなる。

【０３７２】

従って、提供される方法及び使用としては、養子細胞療法の為の、方法及び使用、が挙げられる。いくつかの実施形態では、前記方法は、対象への、組織への、又は細胞への、例えば、前記疾患、症状、又は障害、を有する、のリスクがある、又は、を有することが疑われる、対象への、組織への、又は細胞への、前記細胞を又は前記細胞を含む組成物を、投与することを含む。いくつかの実施形態では、前記細胞を、集団を、及び組成物を、治療するべき特定の、疾患又は症状、を有する対象に（例えば、養子細胞療法を介して、例えば、養子T細胞療法によって、等）投与する。いくつかの実施形態では、前記細胞を又は組成物を、対象（例えば、疾患又は症状、を有する、又は、のリスクがある、対象等）に、投与する。いくつかの実施形態では、前記方法は、それによって、疾患の又は症状(condition)の、1つ以上の症状(symptom)を、治療する、例えば、改善する。

【０３７３】

養子細胞療法の為の細胞を投与する為の方法は、既知である、並びに、養子細胞療法の為の細胞を投与する為の方法を、提供する方法に及び組成物に、関連して使用することがある（例えば、米国特許出願公開第2003/0170238号、米国特許第4,690,915号、Rosenberg (2011) Nat. Rev. Clin. Oncol. 8:577-585, Themeli et al. (2013) Nat. Biotechnol. 31:928-933, Tsukahara et al. (2013) Biochem. Biophys. Res. Commun. 438:84-89, 及びDavila et al. (2013) PLoS ONE 8:e61338)）。

【０３７４】

いくつかの実施形態では、細胞療法（例えば、養子細胞療法、例えば、養子T細胞療法等）を、自家移植（この自家移植では、前記細胞を、前記細胞療法を受けようとする対象から、又は、そのような対象に由来するサンプルから、単離する、及び／又はその他、調製する）によって実施することがある。従って、いくつかの実施形態では、前記細胞は、治療を必要とする、対象（例えば、患者）に由来する、及び前記細胞を、単離して処理した後に、同じ対象に投与する。

【０３７５】

いくつかの実施形態では、前記細胞療法（例えば、養子細胞療法、例えば、養子T細胞療法等）を、同種異系移植（この同種異系移植では、前記細胞を、前記細胞療法を、受けようとする対象以外の、又は究極的に受ける対象以外の、対象［例えば、第1の対象］から、単離する、及び／又はその他、調製する）によって実施することがある、そのような実施形態では、前記細胞を次いで、同じ種の別の対象［例えば、第2の対象］に投与する。いくつかの実施形態では、前記第1及び第2の対象は、遺伝的に同一である（同系）。いくつかの実施形態では、前記第1及び第2の対象は、遺伝的に類似している。いくつかの実施形態では、前記第2の対象は、前記第1の対象と同じHLAクラス又はスーパータイプ（supertype）を発現する。

【０３７６】

いくつかの実施形態では、前記細胞を、細胞集団を、又は組成物を、投与する対象は、ヒトなどの霊長類である。いくつかの実施形態では、前記霊長類は、サル又は類人猿、である。前記対象は、雄性又は雌性であってもよい、並びに任意の適切な年齢（例えば、乳児の、若年の、青年の、成人の、及び高齢の、対象等）であってもよい。いくつかの実施形態では、前記対象は、げっ歯類等の非-霊長類哺乳動物である。いくつかの実施例では、前記患者又は対象は、疾患の為の、養子細胞療法の為の、及び／又はサイトカイン放出症候群(cytokine release syndrome (CRS))等の毒性アウトカムを評価する為の、有効な動物モデルである。

【０３７７】

前記結合分子（例えば、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント［例えば、scTCR］及び前記TCRを含むキメラ・レセプター［例えば、CAR］等）を、並びに同分子を発現する細胞を、任意の好適な方法によって、例えば、注射投与、例えば、静脈内注射投与若しくは皮下注射投与、眼内注射投与、眼球周囲注射投与、網膜下注射投与、硝子体内注射投与、経中隔注射投与、強膜下注射投与、脈絡膜内注射投与、前房内注射投与、結膜下注射投与(subconjectval injection)、結膜下注射投与(subconjuntival injection)、テ

ノン叢下注射投与（sub-Tenon's injection）、球後注射投与(retrobulbar injection)、球周囲注射投与(peribulbar injection)、又は、後強膜近傍送達（posterior juxtascleral delivery）、によって、投与することがある。いくつかの実施形態では、それらを、非経口、肺内、及び鼻腔内、並びに、局所治療の為に所望であれば、病巣内投与、によって、投与する。非経口投与にとしては、筋肉内投与、静脈内投与、動脈内投与、腹腔内投与、又は皮下投与、が挙げられる。投薬及び投与は、その投与が、短期であるか、又は慢性であるか、に部分的に依存することがある。様々な投薬スケジュールとしては、限定されるものではないが、様々な時点にわたる、単回投与又は複数回投与、ボーラス投与、及びパルス投与、が挙げられる。

【０３７８】

疾患の、予防又は治療、を目的として、結合分子の又は細胞の適切な投薬量は、治療するべき疾患の種類、結合分子の種類、前記疾患の重症度及び経過、前記結合分子が予防目的又は治療目的の為に投与されるかどうか、過去の治療、患者の臨床歴及び前記結合分子に対する応答性、並びに担当医の裁量、に依存する。前記組成物、及び分子、並びに細胞を、いくつかの実施形態では、一度に、又は一連の治療にわたって、前記患者に、適切に、投与する。

【０３７９】

いくつかの実施形態では、細胞を、対象の体重1キログラム当たり、0.1×10^6、0.2×10^6、0.3×10^6、0.4×10^6、0.5×10^6、0.6×10^6、0.7×10^6、0.8×10^6、0.9×10^6、1.0×10^6、5.0×10^6、1.0×10^7、5.0×10^7、1.0×10^8、5.0×10^8、若しくはそれを超えて、又は間の任意の範囲、若しくは間の任意の値、の細胞個数、で投与することがある。移植する細胞個数を、所与の期間における生着の所望のレベルに基づいて、調整することがある。一般的に、1×10^5 から約1×10^9 細胞/kg体重、約1×10^6 から約1×10^8 細胞/kg体重、又は約1×10^7 細胞/kg体重、若しくはそれを超えて、の細胞を、必要に応じて、移植することがある。いくつかの実施形態では、平均的なサイズのマウスに対して、少なくとも約0.1×10^6、0.5×10^6、1.0×10^6、2.0×10^6、3.0×10^6、4.0×10^6、又は5.0×10^6 個の総細胞の移植は、効果的である。例えば、いくつかの実施形態では、細胞、又は細胞のサブタイプの個々の集団を、約100万から約1000億細胞の範囲で、及び／又は体重1キログラム当たりの細胞の量で、例えば、100万から約500億細胞（例えば、約500万細胞、約2500万細胞、約5億細胞、約10億細胞、約50億細胞、約200億細胞、約300億細胞、約400億細胞、又は前述の値のいずれか2つによって定義される範囲）、例えば、約1000万から約1000億細胞（例えば、約2000万細胞，約3000万細胞，約4000万細胞，約6000万細胞，約7000万細胞，約8000万細胞，約9000万細胞，約100億細胞，約250億細胞，約500億細胞，約750億細胞，約900億細胞，又は、前記値の任意の2つによって画定される範囲）、及び、いくつかの場合では、約1億細胞から約500億細胞（例えば、約1.2億細胞，約2.5億細胞，約3.5億細胞，約4.5億細胞，約6.5億細胞，約8億細胞，約9億細胞，約30億細胞，約300億細胞，約450億細胞)、若しくはこれらの範囲の間の任意の値、及び／又は体重1キログラム当たり、で、前記対象に、投与することがある。投薬量は、前記疾患若しくは障害、及び／若しくは患者、に特有の属性、並びに／又は他の治療、に応じて、変化することがある。

【０３８０】

移植した細胞の生着を、様々な方法のうちの任意の方法によって、例えば、限定されるものではないが、腫瘍体積、サイトカイン・レベル、投与の時、移植後の1つ以上の時点で対象から得られた、関心とする細胞のフロー・サイトメトリー解析、等によって、評価することができる。例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28日間待機する時間ベースの解析は、腫瘍採取の為の時間を知らせることがある。任意のそのような測定指標は、抗-がん免疫療法に対する応答性に対する、変数の影響を決定する為に、既知のパラメーターに従って調整することがある変数である。更に、その移植した細胞は、サイトカイン、細胞外マトリックス、細胞培養支持体、等の、他の薬剤と、共-移植されても

よい。

【０３８１】

細胞はまた、他の抗-がん薬剤、の前に、と同時に、又は、の後に、投与することもある。

【０３８２】

例えば、細胞ベースの療法及び幹細胞の養子細胞移入、がんワクチン及び細胞ベースの療法、等、2つ以上の細胞タイプを組み合わせて投与することがある。例えば、養子細胞ベースの免疫療法を、本発明によって包含される細胞ベースの療法と、組み合わせることがある。いくつかの実施形態では、その細胞ベースの薬剤は、単独で、又は追加の細胞ベースの薬剤（例えば、養子T細胞療法(adoptive T cell therapy (ACT))のような免疫療法等）と併用して、使用することがある。例えば、CD19を認識するように遺伝子操作したT細胞を使用して、濾胞性B細胞リンパ腫を治療する。ACTの為の免疫細胞は、樹状細胞、$CD8^+$ T細胞及び$CD4^+$T細胞等のT細胞、ナチュラル・キラー(NK)細胞、NK T細胞、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)、腫瘍浸潤リンパ球(tumor infiltrating lymphocytes (TIL))、リンホカイン活性化キラー(lymphokine activated killer (LAK))細胞、メモリーT細胞、調節性T細胞(Treg)、ヘルパーT細胞、サイトカイン-誘導化キラー(cytokine-induced killer (CIK))細胞、及びそれらの任意の組み合わせ、であることがある。限定されるものではないが、例えば、放射線照射された、自己の又は同種異系の腫瘍細胞、腫瘍溶解物又はアポトーシス腫瘍細胞、抗原提示細胞に基づく免疫療法、樹状細胞に基づく免疫療法、養子T細胞移入、養子CAR T細胞療法、自己免疫強化療法(autologous immune enhancement therapy (AIET))、がんワクチン、及び／又は抗原提示細胞、等の、養子細胞に基づく免疫療法のモダリティが良く知られている。そのような細胞ベースの免疫療法を、更に改変して、1種以上の遺伝子産物を発現し、更に免疫応答性（例えば、GM-CSFのようなサイトカインを発現すること等）を調節することがある、及び／又は腫瘍関連抗原(tumor-associated antigen (TAA))抗原（例えば、Mage-1、gp-100、等）を発現することがある。本発明によって包含される薬剤（例えば、がん細胞）の、本発明によって包含される別の薬剤、又は他の組成物、に対する割合は、互いに1:1（例えば、等量の2薬剤、3薬剤、4薬剤、等）であってもよいが、任意の所望の量に調節することができる（例えば、1:1, 1.1:1, 1.2:1, 1.3:1, 1.4:1, 1.5:1, 2:1, 2.5:1, 3:1, 3.5:1, 4:1, 4.5:1, 5:1, 5.5:1, 6:1, 6.5:1, 7:1, 7.5:1, 8:1, 8.5:1, 9:1, 9.5:1, 10:1, 又はより大きい）。

【０３８３】

いくつかの実施形態では、例えば、前記対象がヒトである場合、前記用量は、全部で約1×10^8未満の、結合タンパク質（例えば、TCR又はCAR）-発現細胞、T細胞、又は末梢血単核細胞(peripheral blood mononuclear cells (PBMC))を含む、例えば、約1×10^6から1×10^8の範囲のそのような細胞、例えば、2×10^6、5×10^6、1×10^7、5×10^7、若しくは1×10^8若しくは全部の、そのような細胞等、又は前記の数値の何れか2つの間の範囲である。

【０３８４】

いくつかの実施形態では、本出願に記載される細胞又は関連組成物、例えば、核酸、宿主細胞、医薬製剤、等、を併用治療の一部として、別の治療的介入、例えば、別の抗体又は操作した細胞又はレセプター又は薬剤等、例えば、細胞傷害性薬剤又は治療薬剤等、と、例えば、同時に、又は任意の順序で逐次的に、投与することがある。

【０３８５】

いくつかの実施形態では、前記細胞又は関連組成物を、1種以上の追加の治療薬剤と、又は別の治療的介入と関連して、同時に、又は任意の順序で逐次的に、共-投与することがある。いくつかの状況では、前記細胞又は関連組成物を、その細胞集団が、1種以上の追加的な治療薬剤の効果を増強するように、又はその逆であるように、十分に近い時点で、別の療法と、共-投与する。いくつかの実施形態では、前記細胞又は関連組成物を、1種以上の追加的な治療薬剤の前に、投与する。いくつかの実施形態では、前記細胞又は関

連組成物を、1種以上の追加的な治療薬剤の後に、投与する。

【０３８６】

いくつかの実施形態では、前記細胞の生物学的活性を又は関連組成物の生物学的活性を、前記細胞を又は関連組成物を対象（例えば、ヒト）に投与する、多くの既知の方法の何れかによって、測定する。評価するパラメーターとしては、in vivoでの（例えば、イメージングによって）、又はin vitro/ex vivoでの（例えばELISA又はフロー・サイトメトリーによって）、操作したT細胞の若しくは天然のT細胞の、又は他の免疫細胞の、抗原に対する特異的な結合、が挙げられる。いくつかの実施形態では、ターゲット細胞を破壊するという前記細胞の作用能（細胞傷害性）を、好適なアッセイ又は当該技術分野において既知の任意の方法、を用いて測定することがある（例えば、Kochenderfer et al. (2009) J. Immunother. 32: 689-702 及びHerman et al. (2004) J. Immunol. Meth. 285:25-40）。いくつかの実施形態では、前記細胞の生物学的活性を、ある特定のサイトカイン（例えば、CD107a、IFNγ、IL-2、及びTNFアルファ等）の発現、及び／又は、の分泌、をアッセイすることによって、測定することもある。いくつかの実施形態では、前記生物学的活性を、臨床アウトカム、例えば、ウイルス量(burden)又は負荷(load)の低減等、を評価することによって、測定する。

【０３８７】

いくつかの実施形態では、細胞を、それらの治療的有効性又は予防的有効性が、増加するように、あらゆる数の複数回方法で改変する。例えば、前記集団が発現する結合タンパク質（例えば、操作したTCR、CAR、又はそれらの抗原結合フラグメント）は、ターゲティング部分構造へ、直接的に、又はリンカーを介して間接的に、コンジュゲートすることがある。化合物をターゲティング部分構造へコンジュゲートする実務は、当技術分野において、既知である（例えば、Wadwa et al. (1995) J. Drug Targeting 3:111 及び米国特許第5,087,616号）。

【０３８８】

免疫細胞（例えば、細胞傷害性リンパ球等）を、任意の好適な供給源（例えば、末梢血、脾臓、及びリンパ節等）から取得することがある。前記免疫細胞を、粗調製物として、又は部分的に精製された若しくは実質的に精製された調製物として、使用することがある、そしてこれを、標準的な技術、例えば、限定されるものではないが、抗体を使用する、免疫磁気技術又はフロー・サイトメトリー技術等、によって、取得することがある。

【０３８９】

本発明によって包含される別の態様では、本出願は、HA-1抗原を発現する細胞に対する免疫応答を誘発する為の方法、を提供する、ここで前記方法は、前記免疫応答を誘発するのに十分な有効量で、結合タンパク質（例えば、操作したTCR、CAR、又はそれらの抗原結合フラグメント）を発現する本出願に記載される細胞を、前記対象に投与するステップを含む。いくつかの実施形態では、本出願は、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を、治療する為の、又は予防する為の、方法を提供する、ここで前記方法は、結合タンパク質（例えば、操作したTCR、CAR、又はそれらの抗原結合フラグメント）を発現する本出願に記載される細胞の有効量を、前記対象に投与するステップを含む。1つの実施形態では、前記細胞を、例えば、注射投与等によって、全身的に投与する。或いは、全身的ではなく局所的に、組織の中への直接的な注射投与を介して（例えば、デポ(depot)又は徐放性製剤等として）、投与することがある。

【０３９０】

いくつかの実施形態では、結合タンパク質（例えば、操作したTCR、CAR、又はそれらの抗原-結合フラグメント）を発現する本出願に記載される細胞を、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の予防的治療又は治療的治療の為の、免疫調節組成物中の活性化合物として、使用することがある。いくつかの実施形態では、HA-1-プライミングした抗原提示細胞を、リンパ球（例えば、$CD8^+$ Tリンパ球、$CD4^+$Tリンパ球、及び／又はBリンパ球）を生成する為に、結合タ

ンパク質（例えば、操作したTCR、CAR、又はそれらの抗原-結合フラグメント）を発現する本出願に記載される細胞を、前記対象への養子移入において、更に使用する為に、使用することがある。

【０３９１】

いくつかの実施形態では、結合タンパク質（例えば、操作したTCR、CAR、又はそれらの抗原-結合フラグメント）を発現する本出願に記載される細胞を、単独又はリンパ球との併用の何れかで、免疫応答を誘発する為に、特に、HA-1抗原を発現している細胞に対する免疫応答を誘発する為に、対象に投与することがある。

【０３９２】

上記のように、結合タンパク質（例えば、操作したTCR、CAR、又はそれらの抗原-結合フラグメント）を発現する本出願に記載される細胞の、単回投与又は複数回投与を、単独又はリンパ球との併用の何れかで、ケア提供者（例えば、医師）によって選択される、細胞数及び治療、と共に、実施することがある。同様に、前記細胞を、単独又はリンパ球との併用の何れかで、薬学的に許容可能な担体の中に入れて、投与することがある。好適な担体は、前記細胞を増殖させた増殖培地、又はリン酸緩衝生理食塩水等の任意の好適な緩衝培地、であることがある。細胞を、単独で、又は他の治療薬と併用した補助療法として、投与することがある。

【０３９３】

VIII．キット及びデバイス

本発明はまた、キット及びデバイスを包含する。例えば、前記キット又はデバイスは、結合タンパク質、結合タンパク質をコードする配列を含む核酸又はベクター、核酸若しくはベクターを含む及び／又は本出願に記載される前記結合タンパク質を発現する宿主細胞、安定的なMHC-ペプチド複合体、アジュバント、検出試薬、及びそれらの組み合わせ、を、好適な容器に包装されて、含むことがある、並びにそのような試薬を使用する為の説明書を更に含むことがある。前記キット又はデバイスはまた、他の構成要素（例えば、別の容器に包装された投与ツール等）を含むこともある。前記キット又はデバイスを、本発明によって包含される方法を実行する為の単位として、宣伝する、配布する、又は販売する、ことがある。

【０３９４】

本開示を、限定として解釈されるべきではない以下の実施例によって、更に説明する。

【実施例】

【０３９５】

実施例１：実施例２の為の材料と方法

a．ヒト末梢血単核細胞の採取

HLA-A*02:01-ポジティブの健常ドナー(donor) leukopakは、HemaCare (Los Angeles, CA) 又はStemExpress (Placerville, CA) によって、IRB認可のプロトコルを用いて、採取されたものである。末梢血単核細胞(PBMC)を、リンパ球分離培地(Lymphocyte Separation Medium (Corning, Corning, NY)を使用する密度勾配遠心分離によって、HemaCareから入手した新しいleukopakから単離した。リンパ球層に含まれるPBMCを、遠心分離後に回収し、DPBS(Cytiva, Marlborough, MA)で3回洗浄し、計数した。上記の密度勾配遠心分離によって、又はCustom Leukopak PBMC単離キット (Miltenyi Biotec, Auburn, CA)を、MultiMACS Cell24 Separator Plus装置、バージョン 3 (Miltenyi Biotec)で、製造業者の説明書に従って、使用することによって、PBMCをStemExpress leukopakから単離した。単離したPBMCを、CryoStor CS10(StemCell Technologies, Cambridge, MA)中で凍結し、液体窒素中で保存した。

【０３９６】

b．HA-1 ジェノタイピング

DNAを、GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)を、製造者の説明書に従って使用して、A*02:01-発現の健常ドナ

ー(donor)のPBMCから、抽出した。PCRを、プライマー（5’ AGGACATCTCCCATCTGCTG 3’ 及び 5’ TTGAGCCAGTGTACGCTCAG 3’）を使用して実施し、HA-1 SNP(RS_1801284)を含むゲノム領域を、Phusion High-Fidelity PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific)を使用して、以下のサイクリング条件によって、増幅した：98℃で3分間、変性させた後、98℃で5秒間、68℃で10秒間、72℃で30秒間、を37サイクル行い、最後の伸長を72℃で5分間。PCR産物を、Monarch PCR 及び DNA Cleanup Kit (New England Biolabs, Ipswich, MA)を製造業者の説明書に従って使用し、精製した。DNA濃度を、Qubit 4 Fluorometer (Invitrogen, Carlsbad, CA)を使用して決定し、その精製済み産物のシークエンシングを、GENEWIZ社(Cambridge, MA)で、実施した。

【０３９７】

c. TCR探索スクリーニング（discovery screens）

(i) DC培養

単球単離を、HLA-A*02:01-ポジティブの健常HA-1-ネガティブ(RS_1801284、G/G)ドナー(donor)から単離したPBMCを使用して、EasySep Human CD14 Positive Selection Kit II (StemCell Technologies)を製造業者の説明書に従って使用して、-4日目に、行った。純度及び共-刺激分子の発現を、CD14(M5E2, BioLegend, Dedham, MA)、HLA-A2 (BB7.2, BioLegend)、CD80 (2D10, BioLegend)、CD83 (HB15e, BioLegend)、及びCD86 (IT2.2, BioLegend)、に対して特異的な、蛍光-標識した抗体を用いて、評価した；CD14の発現は〉90%であった。CD14+単球を、組み換えヒトGM-CSF及びIL-4(R&D Systems, Minneapolis, MN)を、それぞれ、800 IU/mL及び1000 IU/mL、の最終濃度で、補充した、AIM-V培地(Thermo Fisher Scientific)中で、再懸濁した。-2日目に、組み換えヒトTNF-α(10 ng/mL)、IL-6 (1000 IU/mL)、及びIL-1β(2 ng/mL)(R&D Systems)、並びにPGE2(1 μg/mL、StemCell Technologies)を、培養単球に、添加した。

【０３９８】

(ii) CD8ナイーブT細胞の単離

-1日目に、自己のCD8ナイーブT細胞を、HLA-A*02:01を発現する健常HA-1-ネガティブ(RS_1801284、G/G)ドナー(donor)由来のPBMCから、EasySep Human Naive CD8+ T Cell Isolation Kit II (StemCell Technologies)を製造業者の説明書に従って使用して、単離した。純度を、CD8α(HIT8a, BioLegend), CD45RO (UCHL1, BioLegend), CD45RA (HI100, BioLegend), CD56 (5.1H11, BioLegend), CD57 (HCD57, BioLegend)、及びCCR7 (G043H7, BioLegend)、に対して特異的な、蛍光-標識した抗体を用いて、評価した；ナイーブCD8α$^+$ T細胞の純度は〉90%であった。細胞を、10%ヒト血清(Sigma Aldrich, St. Louis, MO)、1%ペニシリン-ストレプトマイシン(Thermo Fisher Scientific)、及び50 μM β-メルカプトエタノール(MP Biomedicals, Santa Ana, CA)を含み、10 ng/ml組み換えヒトIL-7(R&D Systems)を補充した、RPMI-1640(ATCC, Manassas, VA)中、37℃、5% CO_2、で、一晩静置した。

【０３９９】

(iii) 共-培養

0日目に、3日目と同じ抗体パネルを用いて、CD8 T細胞の純度を再評価し、HLA-A2、CD80、CD83、及びCD86の上方制御、並びにCD14の下方制御によって、DC成熟を確認した。DCを、1 μM HA-1ペプチド(VLHDDLLEA, GenScript [Piscataway, NJ])によって、3時間、37℃、5% CO_2で、パルスした。パルスしたDCを、組み換えヒトIL-12(10 ng/mL)及びIL-21(60 ng/mL)(R&D Systems)を補充したT細胞培地中で、静置していたCD8ナイーブT細胞と、共-培養した。共-培養物に、3日目から10日目の間に、組み換えヒトIL-7及びIL-15(R&D Systems)を補充した。HA-1-特異的な細胞のデキストラマー染色を、A*02:01 HA-1(VLHDDLLEA)デキストラマー(Immudex, Copenhagen, Denmark)、CD8α及びTCRα/β(IP26, BioLegend)、並びにDAPI

(Thermo Fisher Scientific)を、製造業者の説明書に従って用いて、11日目に、行った。

【０４００】

(iv) 急速増殖プロトコル(Rapid expansion protocol (REP))

HA-1-特異的な細胞を含むウェルを同定した後、T細胞クローンを採取し、12日目に、100 ng/mL抗-CD3(OKT3, Invitrogen)、及び50 IU/mL組み換えヒトIL-2(Sigma Aldrich)の存在下、T細胞培地中、37℃、5% CO_2、で、7日間、照射済みのPBMCフィーダー細胞と、共-培養した。

【０４０１】

(v) 抗原-特異的な細胞選別

19日目に、細胞をREP後に採取し、11日目の様に、A*02:01 HA-1(VLHDDLLEA)デキストラマー、CD8α及びTCRα/βに対して特異的な抗体、DAPI、で染色し、HA-1-ポジティブな細胞($CD8\alpha^+$、$DAPI^-$、$TCR\alpha/\beta^+$、$HA\text{-}1^+$)を、Sony SH800Sセル・ソーター(Sony Biotechnology, San Jose, CA)又はBD FACSAriaセル・ソーター(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)を用いて、選別した。選別した細胞を、10x Genomicsプラットフォーム(Pleasanton, CA)を用いる単一細胞TCRα/βシークエンシングに供した。

【０４０２】

(vi) フロー・サイトメトリー

細胞を、CytoFLEXフロー・サイトメーター(Beckman Coulter, Indianapolis, IN)を用いて取得し、FlowJoソフトウエア(バージョン10、TreeStar、Ashland、OR)を用いて解析した。細胞選別を、Sony SH800Sセル・ソーター(Sony Biotechnology)又はBD FACSAriaセル・ソーター(Becton Dickinson)を用いて、行った。

【０４０３】

d. 10x Genomicsプラットフォームを用いた単一細胞TCRα/βシークエンシング

単一細胞TCR-seq(scTCR-seq)ライブラリを、10x Genomics Single Cell V(D)J Reagent Kit (v1) プロトコル (10x Genomics)に従って、調製した。目標数が1サンプルあたり10,000の細胞を、10x Genomics Chromium装置内の液滴(GEM)中に捕捉した後、逆転写を行った。逆転写後、GEMを破壊し、シラン磁気ビーズを用いて、サンプルから、バーコード化したcDNAを精製した。cDNAを以下のように増幅した：98℃で45秒間；98℃で20秒間、67℃で30秒間、72℃で1分間、を13サイクル；72℃で1分間。0.6X SPRIselectビーズ(Beckman Coulter)を用いてサンプルを精製した後、それぞれのライブラリ2 uLを、TCR配列を富化する為に使用した。TCR配列を富化することは、TCRα及びTCRβ鎖の転写物の両方を増幅する為のPCRを2ラウンド行うこととした。その後、TCR-富化したライブラリをフラグメント化し、末端修復をし、インデックス・プライマー（indexing primer）で増幅した。その完全に組立てたライブラリを、Illumina NextSeq装置(Illumina, San Diego, CA)で、High Output v2.5 kit (150サイクル)を用いて、リード長：26bp(リード1)、8bp(i7インデックス)、及び98bp(リード2)、でシークエンシングを行った。シークエンシングを行った scTCRseq リードを、cellranger 3.1.0パイプラインを用いて処理した。リードを、GRCh38参考ゲノムに対してアライメントをし、cellranger vdjモジュールを用いて、TCRコンセンサス配列に注釈を付けた。

【０４０４】

e. レンチウイルス・パッケージング(Lentiviral packaging)及びレンチウイルス力価の定量化

Lenti-X細胞を、75%のコンフルエンシー（confluency）で播種し、jetPRIMEトランスフェクション試薬(Polyplus, Illkirch, France)を用いて、トランスフェクションした。簡潔に述べると、HA-1構築物をパッケージング・プラスミド(pREV/pTAT/pVSVG/pGAGPOL)と混合し、製造業者のプロトコルに従ってjetPRIME試薬と共にインキュベーションを行い、トランスフェクション後24時間に、Opti-Pro SFM培地を添

加した。ウイルス上清をトランスフェクションの48時間後に採取し、Vivaspin 20遠心濃縮器又はVivaflow 50カセット(Sartorius, Bohemia, NY)の何れかを用いて、濃縮した。レンチウイルス力価を、TCR$^{-/-}$ Jurkat細胞株を用いて、GFP又はTCRα/βの何れかの発現によって、決定した。ウイルス力価を定量する為に、TCR$^{-/-}$Jurkat細胞に、HA-1-特異的なTCR発現ウイルスの段階希釈物を使って形質導入し、形質導入の48から72時間後、GFP又はTCRα/βの発現を、フロー・サイトメトリー解析によって、評価した。サンプルを、CytoFLEXフロー・サイトメーター(Beckman Coulter)を用いて、解析した。力価を、GFP又はTCRα/βを発現する細胞の割合として、次式を用いるTU/mlとして、計算した:

TU/ml =(GFP$^+$又はTCRα/β$^+$の%)×(形質導入に用いた細胞の個数)×(希釈係数)×1000

【0405】

f. HA-1-特異的なTCR機能の評価

(i) T細胞を操作してHA-1-特異的なTCRを発現させる

汎T細胞又はCD4$^+$T細胞を、HLA-A*02:01-ポジティブな健常HA-1-ネガティブ(RS_1801284、G/G)ドナー(donor)PBMCから、EasySep Human T Cell 単離キット又はEasySep Human CD4$^+$ T cell 単離キット (StemCell Technologies)を、製造業者の説明書に従って使用して、単離した。単離したT細胞を、ImmunoCult CD3/CD28/CD2 T細胞活性化剤カクテル(StemCell Technologies)で活性化し、完全T細胞培地（5% ヒト血清[Sigma Aldrich], 1% ペニシリン-ストレプトマイシン[Thermo Fisher Scientific], 1X GlutaMax サプリメント(supplement) [Thermo Fisher Scientific], 5 ng/mL IL-7 [R&D Systems] 及び 50 IU/mL IL-2 [Sigma Aldrich]).を補充したX-VIVO 15 [Lonza, Morristown, NJ]）中で、一晩、培養した。活性化の24時間後、T細胞に、MOI(感染多重度[multiplicity of infection])を5として、HA-1 TCRウイルスの上清を使って形質導入した。形質導入後24時間に、T細胞を洗浄し、G-Rexプレート(Wilson Wolf, New Brighton, MN)又はVECELL 96-ウェル・プレート(Cosmo Bio, Carlsbad, CA)に移し、活性化後7から8日間、増殖させた。T細胞培養物に、新たにIL-2(50 IU/mL)及びIL-7(5 ng/mL)を、2から3日毎に、補充した。示した場合、CD34$^+$形質導入細胞の富化を、Miltenyi CD34 Microbead Kit(Miltenyi Biotec)を、製造業者の説明書に従って使用して、行った。富化した後、T細胞を、完全T細胞培地中で、2から3日間、更に増殖させ、続いて、HA-1-特異的なTCRの、純度及び発現を、フロー・サイトメトリー解析した。

【0406】

(ii) 操作したHA-1 TCR-形質導入した汎T細胞のフロー・サイトメトリー

操作した汎T細胞を、HA-1(VLHDDLLEA)デキストラマー及びHA-1(VLRDDLLEA)又はMART-1(ELAGIGILTV) (Immudex)デキストラマー、TCRα/β PE-Cy7(IP26, BioLegend)、CD8 PerCP-Cy5.5(HIT8a, BioLegend)及びCD4 APC-Cy7(OKT4, Biolegend)、CD34 APC(QBEND/10, R&D Systems)又はCD34 FITC(BEND/10, Invitrogen)並びにDAPIで、製造業者の説明書に従って、染色した。次いで、細胞を、CytoFLEXフロー・サイトメーター(Beckman Coulter)で解析し、FlowJoソフトウェア(バージョン10、TreeStar)又はCytExpertソフトウェア(Beckman Coulter)を用いて解析した。

【0407】

(iii) 細胞株

Tリンパ芽球細胞株T2(ATCC CRL-1992)、AML細胞株TF-1(ATCC CRL-2003)及びTHP-1(ATCC TIB202)、リンパ腫細胞株SU-DHL1(ATCC CRL 2955)及び急性T細胞白血病細胞株Jurkat(クローンE6-1、ATCC TIB-152)を、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション(American Type Culture Collection (ATCC))から購入した。リンパ腫細胞株SUP-M2(ACC 509)を、ドイツ・サムルン・フォン・ミクルオルガニスメン・ウント・ゼルクルチュレン(Deutsche Sammlung von Mikroorganis

men und Zellkulturen (DSMZ))から購入した。Lenti-X細胞株(632180)を、Takara Bio (Mountain View, CA)から購入した。T2細胞を、IMDM +20%熱-非働化FBS中で、培養した。TF-1細胞を、RPMI1640+10%熱-非働化FBS + 2 ng/mL組み換えヒトGM-CSF中で、培養した。THP-1細胞を、RPMI1640+10%熱-非働化FBS + 0.05mM 2-メルカプトエタノール中で、維持した。SU-DHL1及びSUP-M2細胞を、RPMI1640+10%及び20%熱-非働化FBS中で、それぞれ維持した。Jurkat細胞を、RPMI1640+10%熱-非働化FBS + 1%ペニシリン-ストレプトマイシン中で、培養した。Lenti-X細胞を、10% FBS及び1%ペニシリン-ストレプトマイシンを補充したDMEM培地(Thermo Fisher Scientific)中で、培養した。HEK 293T細胞を、10%熱-非働化ウシ胎仔血清(FBS)、100 IU/mLペニシリン、及び100 μg/mLストレプトマイシンを補充したDMEM培地(Gibco)中で、維持した。

【0408】

(iv) Incucyte（登録商標） Nuclight Redを発現する安定的な細胞株の作製

T2、TF-1、THP-1、SU-DHL1及びSUP-M2細胞に、無血清培地中、3と5の間のMOIで、Incucyte（登録商標）Nuclight Redレンチウイルス試薬(EF-1αプロモーター、ピューロマイシン選択)(Sartorius)を使って形質導入した。形質導入の24時間後、細胞を、それぞれの細胞株の培地で、洗浄し、再懸濁し、37℃、5% CO_2で培養した。形質導入の3日後、形質導入を受けた細胞を選択する為に、ピューロマイシン(Gibco)を、所定の濃度(0.5 ug/mLから1 ug/mLの範囲)で、その培養物に、添加した。培養物を、フロー・サイトメトリー解析によって決定する場合に、Nuclight Red-ポジティブが少なくとも98%になるまで、ピューロマイシン選択のもとで、増殖させた。

【0409】

(v) TCRノックアウトJurkat細胞株の作製

$TCR^{-/-}$Jurkat細胞株を、TCRα鎖をターゲットとするCRISPR RNPをエレクトロポレーションすることによって作製した(ガイド配列： AGAGTCTCTCAGCTGGTACA, S.p. Cas9 Nuclease V3, IDT, Coralville, IA) (Ren J. et. al. Clin Cancer Res. 2017)。エレクトロポレーションの5日後、細胞を、抗-ヒトTCRα/β(クローンIP26、BioLegend)で染色し、TCR-/-集団を、Sony SH800Sセル・ソーターで、選別した。

【0410】

(vi) In vitro細胞傷害性アッセイ

in vitro細胞傷害性アッセイを、ポリ-L-リジンでプレ-コートされた384-ウェル・プレート(Greiner, Monroe, NC)で、又は96-ウェル平底組織培養プレート（ポリ-L-オルニチン(Sigma Aldrich)で、室温、30分間、コーティングし、その後、コーティング液を除去し、プレートを、室温で更に30分間乾燥させた）で、実施した。示した場合、T細胞を、Nuclight Red-発現THP-1、SUP-M2、TF-1、SU-DHL1、又はペプチド-パルスしたT2細胞(10 ng/mlから10 pg/mlの範囲の濃度であるHA-1ペプチド[VLHDDLLEA、Genscript]濃度でパルスした)と、20:1から2.5:1の範囲のE:T比率で、共-培養した。Incucyte S3装置(Sartorius)でデータを取得し、T細胞の細胞傷害性の測定値として、Incucyte S3で、細胞増殖を定量した。

【0411】

(vii) サイトカイン産生アッセイ

T細胞を、Nuclight Red-発現THP-1、SUP-M2、TF-1、SU-DHL1及びペプチド-パルスしたT2細胞(1 ng/mL HA-1ペプチド[VLHDDLLEA, Genscript])と、1:1のE:Tで、共-培養した。上清を、24時間後に採取し、-80℃で凍結した。上清を解凍し、multiAnalyteカートリッジ(ProteinSimple、San Jose、CA)にロードし、Ella装置(ProteinSimple)を用いて、IFN-γ、TNF-α、IL-2及びグランザイムBのレベルを評価した。

【0412】

(viii) 増殖アッセイ

T細胞を、2.5 μM CellTrace™ Violet(Thermo Fisher Scientific)で、製造

業者の説明書に従って、標識した。T細胞を、Nuclight Red-発現THP-1、SUP-M2、TF-1、SU-DHL1及びペプチド-パルスしたT2細胞(1 ng/mL HA-1ペプチド[VLHDDLLEA、Genscript、Piscataway、NJ])と、1:1のE:Tで、共-培養した。96時間後、細胞を回収し、固定可能な生存率色素eFluor 660(FisherScientific)、CD4 PerCP-Cy5.5(OKT4、BioLegend)及びCD8 APC-Cy7(HIT8a、BioLegend)抗体で、染色した。細胞をEasySep™バッファーで洗浄し、BD Cytofix™固定バッファー(BD Biosciences、Franklin Lakes、NJ)で固定した。CountBright Absolute Counting ビーズ(Thermo Fisher Scientific)を、EasySep™バッファーで希釈し、サンプルに加えてから、CytoFLEXフロー・サイトメーターで取得し、T細胞増殖の指標としてCellTrace™Violetの希釈を評価した。FlowJoソフトウエア(バージョン10、TreeStar)を用いて解析し、分裂したCD8及びCD4 T細胞の絶対数を、以下の式を用いて、決定した：

サンプル中のCD8又はCD4 T細胞の数=(ゲート内での、CD8又はCD4 T細胞の事象数／ゲート内での、ビーズの事象数) × ロット-特異的に割り当てたビーズ数

【０４１３】

g. 同種異系応答性のスクリーニング

(i) 96-ウェルをベースとしたMHC-発現アレイの作製

内因性HLA-A/B/Cを、HEK293T細胞において、CRISPRを用いて、ノックアウトした。ガイドRNAを、multicrispr.netツール(Prykhozhij et al., Plos One, 2015)を用いて、HLA-A、HLA-B及びHLA-C遺伝子座にわたって保存された配列に対して、設計した。以下のガイドを選択した：CRISPR-ALL-1: CGGCTACTACAACCAGAGCG、CRISPR-ALL-2: AGATCACACTGACCTGGCAG、CRISPR-ALL-3: AGGTCAGTGTGATCTCCGCA 。gRNAを、LentiCRISPR V2ベクターの中に、BsmBI部位を用いて、クローニングした。HEK 293T細胞を、Mirus TransIT(Mirus Bio、Madison、WI)を用いて、プラスミド・ガイド構築物（plasmid guide construct）で、トランスフェクションした。7日後、MHC-ネガティブ細胞を、汎-MHC抗体(BioLegend)を用いて、選別した。単一細胞クローンを増殖させて、MHCの非存在を、フロー・サイトメトリー及びウェスタン・ブロットによって、確認した。

【０４１４】

HEK239T細胞においてHA-1を発現させる為に、MHC-ヌル(MHC-null)HEK293T細胞に、HA-1(pHAGE-CMV-FHA-HA1H-IRES-Puro)を発現する90-merの構築物で、形質導入した。形質導入したウェルを、ピューロマイシンで、1週間選択した。MHC-発現アレイを作製する為に、HA-1の発現を伴う又は伴わない、MHC-ヌル(MHC-null) HEK 293T細胞を、次いで、96-ウェル・プレート中の個々のウェルにおいて、最もありふれた（common）110個の最もありふれた（common）MHC(pHAGE-EF1a-MHC-UBC-NAT)で、形質導入した。形質導入した細胞を、ノーセオスリシンで、1週間、選択した。HA-1-及びHA-1+バージョンの両方の104個のMHCが、うまく確立され、これらを同種異系応答性スクリーニングに供した。HA-1 90-merを伴う又は伴わない、最もありふれた（common）108個のMHCを発現する細胞を継代し、アレイとして96-ウェル・プレートに保存した。

【０４１５】

(ii) 同種異系応答性スクリーニングの為の共-培養

TSC-100を発現するヒトCD8$^+$ T細胞を、安全性スクリーニングのセクションに記載するように、作製した。

【０４１６】

0日目に、96-ウェル・アレイ中のターゲット細胞を、継代し、播種した。1日目に、TSC-100を発現するヒトCD8 T細胞を、3:1のE:Tで、添加し、ターゲット細胞と共に、一晩インキュベーションを行った。2日目に、上清を採取し、-80℃で保存した。サンプル中のIFN-γ濃度を、Ella機器及びIFN-γ第3世代キット(ProteinSimple)を用いた、ELISAアッセイによって、測定した。

【０４１７】

h. 安全性スクリーニング

(i) T細胞を操作してHA-1-特異的TCRを発現させる

HA-1-ネガティブ・ドナー(donor)由来の、又はA*02:01-ネガティブ・ドナー(donor)由来の、CD8$^+$T細胞を、StraightFrom(登録商標)Leukopak(登録商標)CD8マイクロビーズ・キット(Miltenyi Biotec)を、製造業者の説明書に従って用いて、単離した。単離した細胞を凍結し、液体窒素中で保存した。-1日目に、CD8 T細胞を解凍し、T細胞培地（10%熱-非働化ウシ胎児血清[FBS]、100 IU/mLペニシリン、100 μg/mLストレプトマイシン、組み換えヒトIL-2[50U/mL, PeproTech, Cranbury, NJ]、組み換えヒトIL-15[5 ng/mL, R&D Systems]、及び組み換えヒトIL-7[5 ng/mL, R&D Systems]、を補充したRPMI 1640）中で、一晩静置した。0日目に、CD8 T細胞を、ImmunoCult CD3/CD28/CD2 T細胞活性化剤カクテル(StemCell Technologies)を用いて、活性化した。1日目に、細胞を、洗浄し、IL-2、IL-7、及びIL-15を含むT細胞培地に再懸濁し、レンチウイルス粒子で形質導入して、HA-1-応答性TCRを発現させた。2日目に、細胞を、洗浄し、IL-2、IL-7、及びIL-15を含むT細胞培地に再懸濁し、5日目まで増殖させた。5日目に、細胞を回収し、MACSバッファー(Miltenyi Biotec)に再懸濁し、FcRブロッキング試薬(100 uL/mL, StemCell Technologies)と共に、5分間、室温でインキュベーションを行った。細胞濃度を60e6細胞/mLに調整し、A*201HA-1(VLHDDLLEA)デキストラマーPE(Immudex)を、1:25希釈で、10分間、室温で、添加した。HA-1デキストラマーPE-ポジティブ細胞を、抗-PEマイクロビーズ(Miltenyi Biotec)を用いて、製造業者の説明書に従って、単離した。単離した細胞を、IL-2、IL-7、及びIL-15を含むT細胞培地に再懸濁し、12日目まで増殖させ、その時点で、細胞を凍結した。

【０４１８】

(ii) ゲノム-ワイド・ペプチド・ライブラリによるHEK 293T細胞の形質導入

MHC-ヌル(MHC-null)HEK 293T細胞を操作して、HLA-A*02:01、蛍光レポーター及び細胞-表面レポーター（両方ともT細胞傷害によって活性化される）を発現させた。レポーター細胞を、形質導入して、90アミノ酸からそれぞれなる、〉600,000個の重複タイルのペプチド、を含むライブラリ（ヒト・プロテオームを表す）を発現させた。

【０４１９】

(iii) 共-培養後のレポーター細胞の選別

関連するTCRで操作したCD8$^+$T細胞を、マイトマイシンC-処理をした(50 μg/mL、30分)同種異系PBMCと、0.1 μg/mL抗-CD3(OKT3、eBioscience)及び50 U/mL組み換えIL-2(Peprotech)の存在下で、共-培養することによって、増殖させた。7日間の増殖後、細胞を回収し、ライブラリ-形質導入したレポーター細胞と共-培養し、37℃で、4時間、インキュベーションを行った。インキュベーションを行った後、細胞をトリプシン処理により回収し、アネキシンV磁気マイクロビーズ(Miltenyi Biotec)で、製造業者の説明書に従って、標識した。アネキシン-標識した細胞を、AutoMACS Pro(Miltenyi Biotec)を用いて単離し、レポーター-ポジティブ細胞を、MoFlo Astrios EQセル・ソーター(Beckman Coulter)を用いて、選別した。

【０４２０】

(iv) ゲノムDNAの単離及びシークエンシング・ライブラリの調製

GeneJET ゲノムDNA精製キット (Thermo Fisher Scientific).を用いて、選別した細胞から、ゲノムDNA(gDNA)を抽出した。抗原カセットを、その抽出したgDNAから、PCRにより増幅し、次に、第二のPCR反応で、シークエンシング・アダプターとサンプル-特異的なインデックス配列を、付加した。標準的なIlluminaシークエンシング・プライマーを用いて、Illumina NextSeqで、アンプリコンのシークエンシングを行った。

【０４２１】

(v) 配列のアラインメント及びエピトープの同定

ヌクレオチド配列を、個々のヌクレオチド・タイルにマッピングした。各タイルについてのリードの数の割合を、各スクリーニング複製(n=8)について、及び形質導入したレポーター細胞の各プールについてのインプットについて、計算し、各タイルの富化を、スクリーニング複製におけるタイルの割合を、インプット・ライブラリにおけるタイルの割合で割ることによって、計算した。8つのスクリーニング複製にわたる同一のタイルの富化の修正した幾何平均を使用して、再現可能なスクリーニング・ヒットを同定した。2倍富化の閾値を超える、それぞれのタイルについて特異的なMHC-結合エピトープを、NetMHC4.0を用いて、予測した。それぞれのタイルについての候補エピトープを、前記スクリーニングにおいて富化された、重複して隣り合う及び冗長なタイルにわたって共有される、予測される強-結合エピトープを同定することによって、選択した。

【０４２２】

i. 健常なドナー(donor)、及びがん（例えば、AML又はALL等）に罹患した患者、に由来する血中細胞のin vitro細胞傷害性

(i) ターゲット細胞

組織液から初代腫瘍サンプルを得た。HLA-A*02:01-ポジティブ状態をフロー・サイトメトリーにより確認し、HA-1遺伝子型状態を、上記のように決定した。健常なPBMCを、上記のように処理した、健常ドナー(donor)leukopakから得た。

【０４２３】

初代サンプルを、共-培養の開始の前日に解凍し、5%ヒト血清[Sigma Aldrich]、1%ペニシリン-ストレプトマイシン[Thermo Fisher Scientific]、1X GlutaMaxサプリメント[Thermo Fisher Scientific]、5 ng/mL IL-7[R&D Systems]及び50 IU/mL IL-2[Sigma Aldrich]、を補充した完全T細胞培地(X-VIVO 15[Lonza、Morristown、NJ])中で、一晩静置した。共-培養の0日目に、初代がん細胞及び健常なPBMCを、DPBSで洗浄し、20 nM CellTrace™ FarRed(Thermo Fisher)で、製造業者の説明書に従って、標識した。標識した初代ターゲット細胞を、サイトカインを含まないT細胞培地に再懸濁した。

【０４２４】

(ii) エフェクター細胞

メモリーT細胞を、Discovery Life Sciences (Huntsville, AL)のHLA-A*02:01-ネガティブの健常leukopakから、CliniMACS Prodigy装置(Myltenyi biotec)を用いて、単離した。CD45RAの除去、それに続くCD4及びCD8の同時ポジティブ選択を、標準的な手順に従いながら行い、メモリー汎T細胞を生成した。得られた単離したメモリーT細胞を、更なる処理まで、凍結した。単離したメモリーT細胞を、解凍し、ImmunoCult CD3/CD28/CD2 T細胞活性化剤カクテル(StemCell Technologies)で活性化し、完全T細胞培地(5%ヒト血清[Sigma Aldrich]、1%ペニシリン-ストレプトマイシン[Thermo Fisher Scientific]、1X GlutaMaxサプリメント[Thermo Fisher Scientific]、5 ng/mL IL-7[R&D Systems]及び50 IU/mL IL-2[Sigma Aldrich]、を補充したX-VIVO 15[Lonza、Morristown、NJ])中で、一晩培養した。活性化の24時間後、T細胞に、TSC-100ウイルス上清を使って、MOI(感染多重度)を5として、形質導入した。形質導入の24時間後、T細胞を洗浄し、G-Rexプレート(Wilson Wolf, New Brighton, MN)に移し、活性化後、全部で7日間、増殖させた。T細胞の培養物に、新しいIL-2(50 IU/mL)及びIL-7(5 ng/mL)を、2から3日毎に、補充した。CD34+形質導入細胞を、D7に、Miltenyi CD34マイクロビーズ・キット(Miltenyi Biotec)を、製造業者の説明書に従って用いて、富化した。富化後、T細胞を、新しいIL-2(50 IU/mL)及びIL-7(5 ng/mL)を、2から3日毎に補充した完全T細胞培地中で、7日間、更に増殖させ、続いて、HA-1-特異的TCRの純度及び発現に関するフロー・サイトメトリー解析を行った。TSC-100操作したT細胞及び非-形質導入のコントロールT細胞を、D14で、凍結した。

【０４２５】

(iii) 共-培養の及びフロー-ベースの細胞傷害性測定

エフェクター細胞を、共-培養の開始の前日に解凍し、完全T細胞培地中で一晩静置した。共-培養の0日目に、エフェクター細胞を、DPBSで洗浄し、2.5 μM CellTrace™ Violetで、製造業者の説明書に従って、標識した。標識したエフェクター細胞を、サイトカインを含まないT細胞培地に、再懸濁した。

【０４２６】

標識したT細胞(50,000細胞)及びターゲット細胞(50,000)を、200 uLで、96-ウェル丸底において、24時間、共-培養した。インキュベーションを行った後、細胞を遠心分離し、EasySep-バッファーで洗浄し、固定可能な生存率色素Live/Dead.Near IR (Thermo Fisher)で、製造業者の説明書に従って、染色した。サンプルをCytoflex S装置で実行し、FlowJo v.10ソフトウェアを用いて解析した。エフェクター細胞及び初代ターゲット細胞を、それぞれ、CellTrace™ violet及びCellTrace™ farRedの状態に基づいて、同定した。ターゲット細胞の相対的な生存率を、CellTrace™ FarRed事象でゲーティングし、生／死のネガティブ事象の割合を見ることによって、測定した。データを、非-形質導入のコントロールT細胞の共-培養条件に対する、ターゲット細胞の生存率として、表す。

【０４２７】

j. 材料

細胞株

- Lenti-X: Takara, 632180
- Jurkat: ATCC, TIB-152
- HEK 293T 細胞: ATCC, CRL-3216
- T2: ATCC, CRL-1992
- TF-1: ATCC, CRL-2003
- THP-1: ATCC, TIB202
- SU-DHL1: ATCC CRL, 2955
- SUP-M2: ACC 509, DSMZ

【０４２８】

培地及びサプリメント

- X-VIVO 15, 無血清造血細胞培地、 L-グルタミン、ゲンタマイシン、及びフェノール・レッド、を添加：Lonza、04-418Q
- ヒト雄型AB血清(熱-非働化): Sigma Aldrich, H3667-100ML
- ペニシリン-ストレプトマイシン：Gibco, 15149-122
- GlutaMAX サプリメント: Fisher Scientific, 35050061
- RPMI-1640 培地: ATCC, 30-2001
- ウシ胎児血清 (FBS), 熱-非働化: Gibco, A3840102
- IMDM: ATCC, 30-2005
- RPMI 培地 1640 (1x) [+] 4.5 g/L D-グルコース, [+] 2.383 g/L HEPESバッファー, [+] L-グルタミン, [+] 1.5 g/L 重炭酸ナトリウム, [+] 110 mg/L ピルビン酸ナトリウム: Gibco, A10491-01
- AIMV 培地: [+] L-グルタミン, [+] 50 μg/mL ストレプトマイシン硫酸塩, [+] 10 μg/mL ゲンタマイシン硫酸: Gibco, 12055-083
- PBS中30% BSA: Sigma Aldrich, A9576-50ML
- β-メルカプトエタノール: MP Biomedicals, 02190242
- DMEM 培地 (1X) [+] 4.5 g/L D-グルコース, [+] L-グルタミン, [+] 3.7 g/L 重炭酸ナトリウム: Thermo Fisher Scientific, 11965084
- DMEM (1x) [+] 4.5 g/L D-グルコース, [+] L-グルタミン, [-] ピルビン酸ナトリウム: Gibco, 11965
- OptiPRO SFM 培地: Thermo Fisher Scientific, 12309019

【０４２９】

バッファー

・ EasySepバッファー: StemCell Technologies、20144
・ DPBS(Ca2+/Mg2+不含): Gibco、14190-122
・ DPBS(Ca2+/Mg2+不含): Cytiva、SH30028.03
・ AutoMACSランニング・バッファー: Miltenyi、130-091-221
【０４３０】
サイトカイン
・ 組み換えヒトIL-2: Sigma Aldrich, 11147528001
・ 組み換えヒトIL-2: PeproTech, 200-02
・ 組み換えヒトIL-12: R&D Systems, 219-IL-005
・ 組み換えヒトIL-15: R&D Systems, 247-ILB-005
・ 組み換えヒトGM-CSF: R&D Systems, 215-GM-050
・ 組み換えヒトIL-4: R&D Systems, 204-IL-050
・ 組み換えヒトTNF-α: R&D Systems, 210-TA-050
・ 組み換えヒトIL-1β/IL-1F2: R&D Systems, 201-LB-025
・ 組み換えヒトIL-6: R&D Systems, 206-IL-050
・ PGE2: StemCell Technologies, 72194
【０４３１】
キット
・ EasySep^{TM}ヒトT細胞単離キット: StemCell Technologies: 17951
・ EasySep^{TM}ヒトCD4+ T細胞単離キット: StemCell Technologies: 17952
・ EasySep^{TM}ヒト・ナイーブCD8+ T細胞単離キットII: STEMCELL Technologies, 17968
・ EasySep^{TM} Human CD14ポジティブ選択キットII: STEMCELL Technologies, 17858
・ StraightFrom（登録商標） Leukopak（登録商標） CD8 マイクロビーズ・キット: Miltenyi Biotec, 130-117-019
・ CD34マイクロビーズ・キット: Miltenyi Biotec, 130-046-702
・ 抗-PEマイクロビーズ: Miltenyi Biotec, 130-105-639
・ LSカラム, Miltenyi Biotec, 130-042-40
・ 32サンプル用Ellaシンプル・プレックス・キット（Ella simple plex kit for 32 samples）: ProteinSimple: SPCKC-PS-003027
・ シンプル・プレックス・ヒトIFN-ガンマ(第3世代)カートリッジ（Simple Plex Human IFN-gamma (3rd Gen) Cartridge）: ProteinSimple, SPCKB-PS-002574
【０４３２】
抗体及び染色試薬
・ 抗-ヒト CD8α PerCp-Cy5.5 (クローン: HIT8a): BioLegend: 300924
・ 抗-ヒト CD8α APC-Cy7 (クローン: HIT8a): Biolegend: 300926
・ 抗-ヒト CD4 APC-Cy7 (クローン: OKT4): BioLegend: 317418
・ 抗-ヒト CD4 PerCP-Cy5.5 (クローンOKT4): Biolegend: 317428
・ 抗-ヒト CD56 PE (クローン: 5.1H11): BioLegend: 362508
・ 抗-ヒト CD57 PE (クローン: HCD57): BioLegend: 322312
・ 抗-ヒト TCRα/β PE-Cy7 (クローン: IP26): BioLegend: 306720
・ 抗-ヒト CD34 FITC (クローン: QBEND/10): Invitrogen: MA1-10204
・ 抗-ヒト CD34 APC: (クローン: QBEND/10): RD Systems, FAB7227A
・ 抗-ヒト CD45RO FITC (クローン: UCHL1): BioLegend, 304204
・ 抗-ヒト CD45RA APC (クローン: HI100): BioLegend, 304112
・ 抗-ヒト CCR7 BV605 (クローン: G043H7): BioLegend, 353224
・ 抗-ヒト CD14 Alexa Fluor 488（登録商標） (クローン: M5E2): BioLegend, 301811
・ 抗-ヒト CD83 PE-Cy7 (クローン: HB15e): BioLegend, 305326

・ 抗-ヒト HLA-A2 PE (クローン: BB7.2): BioLegend, 343306
・ 抗-ヒト CD80 APC (クローン: 2D10): BioLegend, 305220
・ 抗-ヒト CD86 Brilliant Violet 605™(クローン IT2.2): BioLegend, 305430
・ 抗-ヒト TCRα/β FITC (クローン: IP26): BioLegend, 221058
・ 抗-ヒト TCRα/β APC (クローンIP26): BioLegend, 306718
・ 抗-ヒト HLA-A,B,C APC 抗体: BioLegend, 311410
・ 抗-ヒト CD32 (Fc ガンマ RII)ブロッカー: STEMCELL Technologies, 18520
・ Cell Trace Violet (CTV): Fisher Scientific: C34571
・ 固定可能な生存率色素eFluor 660（Fixable viability Dye eFluor 660）（APCチャネル) Thermo Fisher Scientific: 65-0864-14
・ LIVE/DEAD™ Fixable Near-IR 死細胞染色キット: Thermo Fisher Scientific, L34976A
・ DAPI: Thermo Scientific: Thermo Scientific, 62248
・ CountBright™Absolute Countingビーズ: Fisher Scientific: C36950
・ Cytofix: BD Biosciences, 554655

【０４３３】

ペプチド

・ MART1(ELAGIGILTV): GenScript
・ HA-1(VLHDDLLEA): GenScript

【０４３４】

デキストラマー

・ HLA-A*02:01 VLHDDLLEAN HA-1 デキストラマー: Immudex, WB2622-PE
・ HLA-A*02:01 VLRDDLLEAN HA-1 デキストラマー, WB5421-APC
・ HLA-A*02:01 ELAGIGILTV MART1 デキストラマー: Immudex, WB2162-APC

【０４３５】

CRISPR-Cas9及びエレクトロポレーション試薬

・ Alt-R（登録商標） S.p. Cas9 ヌクレアーゼ V3 (Lot #0000417827): IDT, 1081059
・ Alt-R（登録商標）CRISPR-Cas9 tracrRNA (Lot #0000415438): IDT, 1072534
・ 4D-Nucleofector™ コア・ユニット: Lonza, AAF-1002B
・ 4D-Nucleofector™ X ユニット: Lonza, AAF-1002X
・ SE Cell Line 4D-Nucleofector™X キット L: Lonza V4XC-1012

【０４３６】

組織培養プレート

・ G-Rex 24-ウェル・プレート: Wilson Wolf, 80192M
・ G-Rex 6-ウェル・プレート: Wilson Wolf, 80240M
・ VECELL 96-ウェル・プレート: Cosmo Bio, VCL-V96WGPB-10-EX
・ TC-処理 6-ウェル・プレート: Corning Costar, 3506
・ TC-処理24-ウェル・プレートs: Corning Costar, 3524
・ 非-処理 6-ウェル・プレート: Corning Costar, 3736
・ 非-処理24-ウェル・プレート: Corning Costar, 3738
・ 96-ウェル平底プレート: Corning Costar, 3595
・ 384-ウェル, ポリ-Lリジン-処理、平底マイクロプレート: Greiner Bio-One™, 781936.
・ VECELL 96-ウェル・プレート: Cosmo Bio, VCL-V96WGPB-10-EX

【０４３７】

Leukopak処理試薬：

・ Multi-24カラム・ブロック（Multi-24 Column Block）: Miltenyi Biotec, 130-095-692
・ シングル-ウエル・ディープ・ウェル・プレート（Single-well Deep Well Plate

): Miltenyi Biotec, 130-114-966
・ Custom Leukopak PBMC単離キット, ヒト: Miltenyi Biotec, 120-051-115
・ リンパ球分離培地（Lymphocyte Separation Medium）: Corning, 25-072-CV
・ CryoStor CS10: StemCell Technologies, 07930
【０４３８】
ジェノタイピング試薬
・ GeneJet ゲノムDNA精製キット: Thermo Fisher Scientific, K0722
・ フュージョン・ハイ-フィデリティPCR マスター・ミックス（HFバッファー付き）（Phusion High-Fidelity PCR Master Mix with HF Buffer）: Thermo Fisher Scientific, F531L
・ Monarch PCR & DNA クリーンアップ・キット (5 μg): New England Biolabs, T1030L
・ ヌクレアーゼ不含水: Ambion, AM9937
【０４３９】
10xゲノム試薬
・ Chromium Single Cell 5' ライブラリ& ゲル・ビーズ・キット v1: 10x Genomics, PN1000006
・ Chromium Single Cell V(D)J 富化キット, ヒトT細胞: 10x Genomics, PN1000005
・ Chromium Chip A Single Cellキット: 10x Genomics, PN1000152
・ Single Indexキット T セット A: 10x Genomics, PN1000213
・ SPRIselect 試薬キット: Beckman Coulter, B23318
・ High Sensitivity D5000 ScreenTape: Agilent Technologies, 5067-5592
・ High Sensitivity D5000 試薬: Agilent Technologies, 5067-5593
・ Qubit^{TM} dsDNA HSアッセイ・キット: Invitrogen, Q32854
【０４４０】
パッケージング及びレンチウイルス産生試薬
・ jetPRIME トランスフェクション試薬: Polyplus-トランスフェクション, 114-75
・ Vivaspin 20: Sartorius, VS2041
・ Vivaflow 50 カセット: Sartorius, VF05P4
【０４４１】
CliniMACS Prodigy試薬
・ CliniMACS CD4 MicroBeads: Miltenyi bioteck, 170-076-702
・ CliniMACS CD8 MicroBeads: Miltenyi bioteck, 170-076-703
・ CliniMACS CD45RA Microbeads: Miltenyi bioteck, 170-098-025
・ CliniMACS Prodigy TS 520: Miltenyi bioteck, 170-076-600
・ CliniMACS PBS/EDTA バッファー (2 x 3L): Miltenyi bioteck, 130-021-201
【０４４２】
その他の試薬
・ ImmunoCult^{TM} ヒト CD3/CD28/CD2 T細胞活性化剤: StemCell Technologies, 10970
・ ポリ-L-オルニチン溶液 0.01%: Millipore-Sigma, P4957-50ML
・ PBS中のViaStain AO/PI 染色溶液: Nexcelom Bioscience, CS2-0106-5mL
・ ピューロマイシン: Gibco, A11138-03
・ ノーセオスリシン: GoldBio, N-500-1
【０４４３】
実施例２：TSC-100の探索：造血幹細胞移植療法後の白血病を治療する為の天然のHA-1-特異的TCR
健常ドナー(donor)から、抗原-特異的TCRを迅速にクローニングすることができる、ハイ-スループットなTCR探索プラットフォームを開発した。次いで、このプラットフォ

ームを使用して、6人の固有なHA-1-(VLRDDLLEA、遺伝子型RS_1801284 G/G)ドナー(donor)から1億7830万個のナイーブCD8+ T細胞をスクリーニングし、329個のHA-1-特異的なTCRを同定した(図１)。TCR探索プラットフォームで使用したペプチド濃度は、1 μg/mLである。それぞれのTCRを、発現について、及びHA-1ペプチド(VLHDDLLEA)(10ng/mLから10pg/mL)でパルスしたT2細胞を傷害する作用能について、試験した（過去に公開された、これらの検討のベンチマークとして、臨床段階にあるHA-1-特異的TCRを使用した）(Dossa et al. (2018) Blood 131:108-120)。並行して、TCR定常領域の改変を検討し、外因性TCRアルファ鎖及びベータ鎖の発現を及び適切な対合を促進させた、並びに、レンチウイルス・ベクターを、CD8共-レセプターとCD34濃縮タグを共-送達するように設計し、操作したT細胞の精製が可能になるようにした(図３A-３D)。上位11個の候補を、TScanの最適化されたバックボーンの中にクローニングし、HLA-A*02:01+ HA-1+細胞株のパネルを用いて、細胞傷害性、サイトカイン産生、及びT細胞増殖について、評価した(図４A-４F)。20:1から2.5:1のE:T比を使用した。最後に、上位2つのTCRを、独自のゲノム-ワイドT-Scanプラットフォームを用いて、同種異系-応答性(図５、TSC-100及び本出願に記載されるクローンHA1-10-34を含む)及びオフ-ターゲット交差反応性(図６A及び６B)について、評価した。

【０４４４】

本出願に記載されるTCR探索及び評価プラットフォームによって、全部で1億7830万個のナイーブT細胞から329個のHA-1-特異的なTCRが同定され(図１)、TSC-100が最も活性があるTCRとして同定された。TSC-100の定常領域における定義された変異は、その表面発現を増強したが、内因性TCRの発現を減少させた (図３C)、並びにCD8を共導入すると、操作したCD4細胞の係合及び機能を効率的にすることができるようになった(図３A)。全体として、TSC-100は、HA-1を、中程度から高いレベルで発現する細胞株を負荷した場合、臨床段階にあるベンチマークTCRに匹敵する活性を示し(図４B)、HA-1及びMHC-Iの両方を、低レベルで発現する細胞株とインキュベーションを行った場合、より優れた活性を示した(図４Cから４D)(Dossa et al. (2018) Blood 131:108-120)。CCLEから入手した細胞株のHA-1及びHLA A201のRNA発現を下の表５に示す。

【０４４５】

【表２】

表５．細胞株の発現についてのレファレンス

細胞株	HA1 遺伝子型	HA1 発現*	HLA A 発現*
SUP-M2	+/+	84	448
THP-1	+/-	120	275
TF-1	+/-	32	55
SU-DHL1	-/-	69	288

* 100 万当たりの転写物(transcripts per million (TPM))として、CCLE 由来での発現

【０４４６】

加えて、TSC-100では、試験した108種の様々なHLAタイプに対する同種異系-応答性は検出されなかった（図５）、及びヒト・タンパク質由来のペプチドを発現するゲノム-ワイド・ライブラリを負荷した場合、オフ-ターゲット効果は最小限であった(図６Ａ)。

【０４４７】

TSC-100は、臨床段階の治療用TCRに対して、匹敵する活性又はそれより優れた活性、を示し、同種異系-応答性又はオフ-ターゲット効果は、最小限である。

【０４４８】

完全なデータセット（これは、上記のTSC-100からのデータを、同じ試験からの及び同じ方法を使用した、Tscanの最適化された骨格の中にクローニングした、他の10の上位候補のデータと併せて、含む）を図７Ａから７Ｑに示す。これは、上位11の候補の機能性を確認する。

【０４４９】

更に、TSC-100は、様々な健常ドナー(donor)及びがん細胞型由来の、HA-1-発現細胞を傷害させることが実証されている。ヒトは、どの染色体も2コピーを受け継ぐ（母親から1つ、父親から1つ）ので、どのヒトも2コピーのARHGAP45遺伝子を有する。従って、HA-1-ポジティブの患者は、HA-1(+/+)についてホモ接合性（両方ともHA-1-ポジティブ・ペプチド(VLHDDLLEA)をコードする遺伝子を有する）であることがある、又はHA-1(+/-)についてヘテロ接合性（一方の遺伝子は、HA-1-ポジティブ・ペプチドをコードする、及び他方の遺伝子は、HA-1-ネガティブ・ペプチド(VLRDDLLEA)をコードする）であることがある。TSC-100が、ホモ接合性HA-1-ポジティブ(+/+)又はヘテロ接合性HA-1-ポジティブ(+/-)の何れかである、健常な血液細胞及びがん細胞（例えば、白血病細胞）を、効果的に減少させるすることができることを確認にする為に、様々な健常ドナー(donor)及びがん（例えば、AML及びALL）を有する患者に由来する血液細胞に対するTSC-100の活性を決定した。図８に示すように、TSC-100は、ホモ接合性及びヘテロ接合性の、健常な血液細胞及びがん細胞の両方を、排除する。

【０４５０】
参照による取り込み
本明細書で言及される、全ての刊行物、特許、及び特許出願は、各々の個々の刊行物、特許、又は特許出願が、具体的且つ個々に示され、参照により取り込まれるかのように、その全体が本出願に参照により取り込まれる。相反する場合には、本出願（任意の定義を含む）が優先される。
【０４５１】
公開データベース中のエントリーに対応するアクセッション番号を参照する、任意のポリヌクレオチド配列及びポリペプチド配列（例えば、ワールド・ワイド・ウェブ（World Wide Web）にあるtigr.orgのJ.C.ベンター研究所［The Institute for Genomic Research (TIGR)］、及び／又はワールド・ワイド・ウェブ（World Wide Web）にあるncbi.nlm.nih.govのアメリカ国立生物工学情報センター［the National Center for Biotechnology Information (NCBI)］によって、維持されている配列等）もまた、その全体が本出願に参照により取り込まれる。
【０４５２】
均等物及び範囲
本発明によって包含される1つ以上の実施形態の詳細は、上記の明細書に記載されている。以上、代表的な、例示的な材料及び方法について説明したが、本出願に記載されるそれらと、類似な又は均等な、任意の材料を及び方法を、本発明によって包含される実施形態の、実施に又は試験に、使用することがある。本発明に関連する、他の特徴、目的及び効果は、本明細書から明らかである。別段定義しない限り、本出願で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解される意味と、同じ意味を有する。相反する場合には、上記で提供した本明細書が優先される。
【０４５３】
当業者は、本出願に記載される本発明によって包含される、特定の実施形態に対する、多くの均等物を、ルーチンにしかすぎない実験を使用して、認識するか、又は確認することができる。本発明によって包含される範囲は、本出願で提供される明細書に限定されることを、意図しない、及びそのような均等物は、添付の特許請求の範囲によって包含されることが意図される。
【０４５４】
用語「含む(comprising)」はオープンであることが意図され、追加の要素又はステップの包含を、許容するが、必要としないことにも留意されたい。用語「含む(comprising)」を本出願で使用する場合、用語「からなる(consisting of)」も包含される、及び開示される。
【０４５５】
範囲が与えられている場合、端点が含まれる。更に、別段に示されていない限り、又はその他、状況及び当業者の理解から明白な場合、範囲として表される値は、本発明によって包含される種々の実施形態において記載された範囲内の、状況が明らかに別段を定めない場合、前記範囲の下限の単位の10分の1までの、任意の特定の値又は部分範囲を想定し得ることを理解されたい。
【０４５６】
更に、先行技術の範囲内になる、本発明によって包含される任意の特定の実施形態は、何れの1つ以上の特許請求の範囲からも明示的に除外され得ることが理解されるべきである。そのような実施形態は、当業者に既知であるとみなされるので、それらは、除外が本出願において明確に記載されていないとしても、除外され得る。本発明によって包含される組成物の任意の特定の実施形態（例えば、任意の抗生物質、治療的な又は活性のある成分；任意の製造方法；任意の使用方法；等)は、先行技術の有無に関係なく、任意の理由で、任意の1つ以上の特許請求の範囲から除外されることがある。
【０４５７】
使用された語は限定というよりも説明に関する語である、及びそのより広い態様におい

て、本発明によって包含される、真の範囲及び趣旨から逸脱することなく、添付の特許請求の範囲の範囲内で変更を行うことができることを理解されたい。

【０４５８】

本発明は、いくつかの記載された実施形態に関して、ある程度の長さで、及びある程度の具体性をもって、記載されているが、任意のそのような具体性若しくは実施形態又は任意の特定の実施形態に限定されるべきではなく、先行技術を考慮してそのような特許請求の範囲の最も広範な解釈を提供するように、及び、それ故に、本発明によって包含される意図された範囲を効果的に包含するように、添付の特許請求の範囲を参照して解釈されるべきである。

【誤訳訂正２】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項１】

以下を含む結合タンパク質：

a)表１に列挙されるT細胞レセプター(TCR)アルファ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖CDR配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRアルファ鎖CDR配列；及び／又は、

b)表１に列挙されるTCRベータ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖CDR配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRベータ鎖CDR配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的に、ここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する。

【請求項２】

以下を含む結合タンパク質：

a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖可変(V_α)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR V_αドメイン配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCR V_αドメイン配列；及び／又は、

b)表１に列挙されるTCR ベータ鎖可変(V_β)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR V_βドメイン配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCR V_βドメイン配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的に、ここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する。

【請求項３】

以下を含む結合タンパク質：

a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRアルファ鎖配列；及び／又は、

b)表１に列挙されるTCRベータ鎖配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖配列に対して、少なくとも約80%の同一性を有するTCRベータ鎖配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的に、ここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する。

【請求項４】

以下を含む結合タンパク質：

a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖CDR配列；及び／又は、

b)表１に列挙されるTCRベータ鎖CDR配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖CDR配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的に、ここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M

以下のK_dを有する。
【請求項５】
以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖可変(V_α)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR V_αドメイン配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCRベータ鎖可変(V_β)ドメイン配列からなる群より選択されるTCR V_βドメイン配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的に、ここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する。
【請求項６】
以下を含む結合タンパク質：
a)表１に列挙されるTCRアルファ鎖配列からなる群より選択されるTCRアルファ鎖配列；及び／又は、
b)表１に列挙されるTCRベータ鎖配列からなる群より選択されるTCRベータ鎖配列、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合することができる、任意選択的に、ここで、その結合親和性は、約5×10^{-4} M以下のK_dを有する。
【請求項７】
請求項１から６の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、
1)前記TCRアルファ鎖CDR、TCR V_αドメイン、及び／若しくはTCRアルファ鎖は、表１に列挙されるTRAV、TRAJ、及びTRAC遺伝子の群より選択される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、若しくはそれらフラグメント、によってコードされる、並びに／又は、
2)前記TCRベータ鎖CDR、TCR V_βドメイン、及び／若しくはTCRベータ鎖は、表１に列挙されるTRBV、TRBJ、及びTRBC遺伝子の群より選択される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、によってコードされる、並びに／又は、
3)前記結合タンパク質のそれぞれのCDRは、表１に列挙される同種の参考CDR配列と比較して、最大5個の、アミノ酸置換、挿入、欠失、又はそれらの組み合わせ、を有する。
【請求項８】
請求項１から７の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記HA-1免疫原性ペプチドは、アミノ酸配列VLHDDLLEAを含む。
【請求項９】
請求項１から８の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、キメラ、ヒト化、又はヒトである。
【請求項１０】
請求項１から９の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、TCR、TCRの抗原-結合フラグメント、単鎖TCR(scTCR)、キメラ抗原レセプター(CAR)、又はTCR及びエフェクター・ドメインを含む融合タンパク質、である、任意選択的に、ここで、前記結合ドメインは、膜貫通ドメイン及び細胞内にあるエフェクター・ドメイン、を含む。
【請求項１１】
請求項１から１０の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記TCRアルファ鎖、及び前記TCRベータ鎖は、共有結合している、任意選択的に、ここで、前記TCRアルファ鎖、及び前記TCRベータ鎖は、リンカー・ペプチドを介して共有結合している。
【請求項１２】
請求項１から１１の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記TCRアルファ鎖、及び／又は前記TCRベータ鎖は、部分構造に共有結合的に連結している、任意選択的に、ここで、その共有結合的に連結した部分構造は、親和性タグ又は標識、を含む。

【請求項１３】
請求項１２に記載の結合タンパク質、ここで、前記親和性タグは、CD34濃縮タグ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)、カルモジュリン結合タンパク質(CBP)、タンパク質Cタグ、Mycタグ、Haloタグ、HAタグ、Flagタグ、Hisタグ、ビオチン・タグ、及びV5タグ、からなる群より選択される、並びに／又は、ここで、前記標識は、蛍光タンパク質である。
【請求項１４】
請求項１から１３の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記共有結合的に連結した部分構造は、炎症性薬剤、サイトカイン、毒素、細胞傷害性分子、放射性同位体、又は抗体若しくはその抗原-結合フラグメント、からなる群より選択される。
【請求項１５】
請求項１から１４の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、細胞表面上にある前記pMHC複合体に結合する。
【請求項１６】
請求項１から１５の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記MHCは、MHC多量体である、任意選択的に、ここで、前記MHC多量体は、四量体である。
【請求項１７】
請求項１から１６の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記MHCは、MHCクラスI分子である。
【請求項１８】
請求項１から１７の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記MHCは、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖を含む。
【請求項１９】
請求項１から１８の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記HLA対立遺伝子は、HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*0203、HLA-A*0205、HLA-A*0206、及びHLA-A*207対立遺伝子、からなる群より選択される。
【請求項２０】
請求項１から１９の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質の、前記HA-1ペプチド-MHC(pMHC)複合体への結合は、免疫応答を誘発する、任意選択的に、ここで、前記免疫応答は、T細胞応答である。
【請求項２１】
請求項１から２０の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記T細胞応答は、T細胞増殖、サイトカイン放出、及び／又は細胞傷害性傷害、からなる群より選択される。
【請求項２２】
請求項１から２１の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、前記HA-1免疫原性ペプチド-MHC(pMHC)複合体に、約$1x10^{-4}$ M以下、約$5x10^{-5}$ M以下、約$1x10^{-5}$M以下、約$5x10^{-6}$ M以下、約$1x10^{-6}$ M以下、約$5x10^{-7}$M以下、約$1x10^{-7}$ M以下、約$5x10^{-8}$ M以下、約$1x10^{-8}$M以下、約$5x10^{-9}$ M以下、約$1x10^{-9}$ M以下、約$5x10^{-10}$M以下、約$1x10^{-10}$ M以下、約$5x10^{-11}$ M以下、約$1x10^{-11}$M以下、約$5x10^{-12}$ M以下、又は約$1x10^{-12}$ M以下、のK_dで、特異的に及び／又は選択的に、結合することができる。
【請求項２３】
請求項１から２２の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、前記ペプチド-MHC(pMHC)に対して、既知のT-細胞レセプターよりも、より高い結合親和性を有する。
【請求項２４】
請求項１から２３の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、前記ペプチド-MHC(pMHC)に対して、既知のT-細胞レセプターよりも、少なくとも1.05倍高い結合親和性を有する。

【請求項２５】
請求項１から２４の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、既知のT-細胞レセプターよりも、より高い、T細胞増殖、サイトカイン放出、及び／又は細胞傷害性傷害、を誘導する。
【請求項２６】
請求項１から２５の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、既知のT-細胞レセプターよりも、少なくとも1.05倍増加した、T細胞増殖、サイトカイン放出、及び／又は細胞傷害性傷害、を誘導する。
【請求項２７】
請求項２５又は２６に記載の結合タンパク質、ここで、前記ターゲット細胞は、THP-1又はTF1細胞株、である。
【請求項２８】
請求項２５又は２６に記載の結合タンパク質、ここで、前記ターゲット細胞は、がん細胞である、任意選択的に、ここで、前記がん細胞は、造血系がん細胞、白血病細胞、リンパ腫細胞、骨髄異形成障害細胞、骨髄増殖性新生物細胞、又は骨髄腫細胞、である。
【請求項２９】
請求項２２から２８の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、HA-1^{R}ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合しない、ここで、前記HA-1^{R}ペプチドは、アミノ酸配列VLRDDLLEAを含む。
【請求項３０】
請求項２２から２９の何れか一項に記載の結合タンパク質、ここで、前記結合タンパク質は、CCDC114ペプチド-MHC(pMHC)複合体に結合しない、任意選択的に、ここで、前記CCDC114ペプチドは、SMIDDLLGVである。
【請求項３１】
表１に列挙された、TCRアルファ鎖の配列、及びTCRベータ鎖の配列、からなる群より選択される、TCRアルファ鎖、及び／又はTCRベータ鎖。
【請求項３２】
表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸の相補体と、又は表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸に対して、少なくとも約80%の相同性を有する配列と、ストリンジェントな条件(stringent condition)下で、ハイブリダイズする単離された核酸分子、
任意選択的に、ここで、前記単離された核酸分子は、
1）表１に列挙されるTRAV、TRAJ、及びTRAC 遺伝子の群より選択される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、並びに／又は、
2）表１に列挙されるTRBV、TRBJ、及びTRBC遺伝子の群より選択される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、
を含む。
【請求項３３】
請求項３２に記載の単離された核酸、ここで、前記核酸は、宿主細胞における発現の為に、コドンが最適化されている。
【請求項３４】
請求項３２又は３３に記載の単離された核酸を含むベクター。
【請求項３５】
請求項３４に記載のベクター、ここで、前記ベクターは、クローニング・ベクター、発現ベクター、又はウイルス・ベクター、である。
【請求項３６】

請求項３４又は３５に記載のベクター、ここで、前記ベクターは、ＣＤ８αを及び／又はＣＤ８βをコードする核酸配列、を更に含む。

【請求項３７】

請求項３４から３６の何れか一項に記載のベクター、ここで、ＣＤ８αを又はＣＤ８βをコードする核酸配列は、タグをコードする核酸に作動可能に連結されている。

【請求項３８】

請求項３４から３７の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記タグをコードする核酸は、前記ＣＤ８αを又はＣＤ８βをコードする核酸配列の5'上流にあり、その結果、前記タグは、ＣＤ８αの又はＣＤ８βの、Ｎ末端で融合している。

【請求項３９】

請求項３４から３８の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記タグは、ＣＤ34濃縮タグである。

【請求項４０】

請求項３４から３９の何れか一項に記載のベクター、ここで、請求項２３又は２４に記載の単離された核酸、並びに、前記ＣＤ８αを及び／又はＣＤ８βをコードする核酸配列は、配列内リボソーム進入部位(internal ribosome entry site)と、又は自己切断ペプチドをコードする核酸配列と、相互連結している。

【請求項４１】

請求項３４から４０の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記自己切断ペプチドは、Ｐ２Ａ、Ｅ２Ａ、Ｆ２Ａ、又はＴ２Ａ、である。

【請求項４２】

請求項３２又は３３に記載の単離された核酸を含む、請求項３４から４１の何れか一項に記載のベクターを含む、及び／又は請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質を発現する、宿主細胞、任意選択的に、ここで、前記細胞は、遺伝子操作されている。

【請求項４３】

請求項４２に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、ＴＣＲ遺伝子の、ＨＬＡ遺伝子の、又はその両方の、染色体遺伝子の、ノックアウトを含む。

【請求項４４】

請求項４２又は４３に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、αlマクログロブリン遺伝子、α2マクログロブリン遺伝子、α3マクログロブリン遺伝子、β1ミクログロブリン遺伝子、β2ミクログロブリン遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるＨＬＡ遺伝子、のノックアウトを含む。

【請求項４５】

請求項４２から４４の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、ＴＣＲα可変領域遺伝子、ＴＣＲβ可変領域遺伝子、ＴＣＲ定常領域遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるＴＣＲ遺伝子、のノックアウトを含む。

【請求項４６】

請求項４２から４５の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、ＣＤ８αを及び／又はＣＤ８βを、発現する。

【請求項４７】

請求項４６に記載の宿主細胞、ここで、前記ＣＤ８αは及び／又はＣＤ８βは、ＣＤ34濃縮タグに融合している。

【請求項４８】

請求項４７に記載の宿主細胞、ここで、宿主細胞は、ＣＤ34濃縮タグを用いて富化されている。

【請求項４９】

請求項４２から４８の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、造血始原細胞（progenitor cell）、末梢血単核細胞(peripheral blood mononuclear cell (ＰＢＭＣ))、臍帯血細胞、又は免疫細胞、である。

【請求項５０】
請求項４２から４９の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記免疫細胞は、細胞傷害性リンパ球、細胞傷害性リンパ球前駆細胞（precursor cell）、細胞傷害性リンパ球始原細胞（progenitor cell）、細胞傷害性リンパ球幹細胞、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、CD4/CD8ダブル・ネガティブT細胞、ガンマ・デルタ(γδ)T細胞、ナチュラル・キラー(NK)細胞、NK-T細胞、樹状細胞、又はそれらの組合せ、である。
【請求項５１】
請求項４２から５０の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記T細胞は、ナイーブT細胞、セントラル・メモリーT細胞(central memory T cell)、エフェクター・メモリーT細胞(effector memory T cell)、又はそれらの組み合わせ、である。
【請求項５２】
請求項４２から５１の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記T細胞は、初代T細胞、又はT細胞株の細胞、である。
【請求項５３】
請求項４２から５２の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記T細胞は、内因性のTCRを発現しない、又は内因性のTCRの細胞表面発現がより低い。
【請求項５４】
請求項４２から５３の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、MHC分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞と接触した場合に、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。
【請求項５５】
請求項５４に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、in vitro、ex vivo、又はin vivo、でターゲット細胞と接触する。
【請求項５６】
請求項５４又は５５に記載の宿主細胞、ここで、前記サイトカインは、TNF-α、IL-2、及び／又はIFN-γ、である。
【請求項５７】
請求項５４から５６の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記細胞傷害性分子は、パーフォリン類及び／又はグランザイム類である、任意選択的に、ここで、前記細胞傷害性分子は、グランザイムBである。
【請求項５８】
請求項５４から５７の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。
【請求項５９】
請求項５８に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、少なくとも1.05倍高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。
【請求項６０】
請求項５４から５９の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、MHC分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞を傷害することができる。
【請求項６１】
請求項６１に記載の宿主細胞、ここで、前記傷害を、傷害アッセイによって測定する。
【請求項６２】
請求項６０又は６１に記載の宿主細胞、ここで、前記傷害アッセイにおける、前記宿主細胞と前記ターゲット細胞との比率は、20:1から0.625:1である。
【請求項６３】
請求項６０から６２の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、ターゲット細胞は、1μg/mLから50 pg/mLのHA-1ペプチドでパルスしたT2細胞である。

【請求項６４】
請求項６０から６２の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より多数のターゲット細胞を傷害することができる。
【請求項６５】
請求項６４に記載の宿主細胞、ここで、前記宿主細胞は、少なくとも1.05倍多数のターゲット細胞を傷害することができる。
【請求項６６】
請求項６０、６１、６４及び６５の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記ターゲット細胞は、THP-1又はTF1細胞株である。
【請求項６７】
請求項５４から６６の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記HA-1免疫原性ペプチドは、アミノ酸配列VLHDDLLEAを含む。
【請求項６８】
請求項５４から６７の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記MHC分子は、MHCクラスI分子である。
【請求項６９】
請求項５４から６８の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで前記MHC分子は、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖を含む。
【請求項７０】
請求項５４から６９の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記HLA対立遺伝子は、HLA-A*02:01、HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、及びHLA-A*02:07対立遺伝子、からなる群より選択される。
【請求項７１】
請求項５４から７０の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、前記ターゲット細胞は、SupM2、THP-1、及びTF1細胞株からなる群より選択される細胞株である、HA-1を発現する造血系がん細胞である、又はSU-DHL1ではない。
【請求項７２】
請求項７１に記載の宿主細胞、ここで、前記がん細胞は、白血病、リンパ腫、骨髄異形成障害、骨髄増殖性新生物、又は骨髄腫、からなる群より選択される血液悪性腫瘍(hematological malignancy)の細胞である。
【請求項７３】
請求項５４から７２の何れか一項に記載の宿主細胞、ここで、
a)前記宿主細胞は、MHC分子の中にCCDC114ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞と接触させた場合に、T細胞増殖、サイトカイン放出、若しくは細胞傷害性傷害を誘導しない、並びに／又は、
b)前記宿主細胞は、HA-1抗原を発現しない、請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質によって認識されない、血清型HLA-A*02の細胞ではない、及び／若しくはHLA-A*02対立遺伝子を発現しない、任意選択的に、ここで、前記HLA-A*02対立遺伝子は、HLA-A*02:01及び／若しくはHLA-A*02:06である。
【請求項７４】
請求項４２から７３の何れか一項に記載の宿主細胞の集団。
【請求項７５】
以下を含む組成物：
a)請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質、
b)請求項３２又は３３に記載の単離された核酸、
c)請求項３４から４１の何れか一項に記載のベクター、
d)請求項４２から７３の何れか一項に記載の宿主細胞、及び／又は、
e)請求項７４に記載の宿主細胞の集団、
並びに担体。

【請求項７６】
以下を含むデバイス又はキット：
a)請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質、
b)請求項３２又は３３に記載の単離された核酸、
c)請求項３４から４１の何れか一項に記載のベクター、
d)請求項４２から７３の何れか一項に記載の宿主細胞、及び／又は、
e)請求項７４に記載の宿主細胞の集団、
ここで、前記デバイス又はキットは、任意選択的に、a)、d)及び／又はe)がpMHC複合体に結合すること、を検出する為の試薬、を含む。
【請求項７７】
請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質を産生する方法、ここで、前記方法は、以下のステップを含む：
(i)請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質をコードする配列を含む核酸によって形質転換された、形質転換済み宿主細胞を、前記結合タンパク質が発現することが可能になるのに適した条件下で、培養するステップ；及び、
(ii)発現した結合タンパク質を回収するステップ。
【請求項７８】
請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質を発現する宿主細胞を産生する方法、ここで、前記方法は、以下のステップを含む：
(i)請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質をコードする配列を含む核酸を、前記宿主細胞に導入するステップ；
(ii)その形質転換済み宿主細胞を、前記結合タンパク質が発現することが可能になるのに適した条件下で、培養するステップ。
【請求項７９】
HA-1抗原の、及び／又はHA-1を発現する細胞の、存在を又は不存在を、検出する方法、任意選択的に、ここで、前記細胞は、過剰増殖性細胞である、前記方法は、請求項１から３０の何れか一項に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、又は請求項４２から７３の何れか一項に記載の少なくとも1種の宿主細胞、を使用することによって、サンプル中の前記HA-1抗原の、存在を又は不存在を、検出するステップを含む、ここで、前記HA-1抗原を検出することは、HA-1抗原、及び／又はHA-1を発現する細胞、が存在することの指標である。
【請求項８０】
請求項７９に記載の方法、ここで、前記少なくとも1種の結合タンパク質、又は前記少なくとも1種の宿主細胞は、MHC分子の中の前記HA-1ペプチドと複合体を形成する、及び前記複合体を、蛍光活性化細胞選別(fluorescence activated cell sorting)(FACS)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、放射免疫アッセイ(RIA)、免疫化学的、ウェスタン・ブロット、又は細胞内フロー・アッセイ、の形態で検出する。
【請求項８１】
請求項７９又は８０に記載の方法、ここで、前記方法は、対象から前記サンプルを得るステップを更に含む。
【請求項８２】
請求項７９から８１の何れか一項に記載の方法、ここで、前記方法は、骨髄生検によって、HA-1を発現する細胞を確認するステップを更に含む。
【請求項８３】
以下を含む、対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、のレベルを検出する方法：
a)前記対象から得られたサンプルを、請求項１から３０の何れか一項に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、請求項４２から７３の何れか一項に記載の少なくとも1種の宿主細胞、又は請求項７４に記載の宿主細胞の集団、と接触させるステップ；及び、
b)応答性のレベルを検出するステップ、ここで、コントロールのレベルと比較して

、より高いレベルの応答性は、前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、のレベルを示す。

【請求項８４】

請求項８３に記載の方法、ここで、前記コントロールのレベルは、参考数字である。

【請求項８５】

請求項８３に記載の方法、ここで、前記コントロールのレベルは、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を有さない対象のレベルである。

【請求項８６】

対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の進行をモニタリングする為の方法、ここで、前記方法は、以下を含む：

a)請求項７９から８５の何れか一項に記載の、HA-1抗原のレベルを、又はHA-1を発現する関心とする細胞のレベルを、対象のサンプルにおいて、第1の時点で、検出するステップ；

b)後続の時点で、ステップa)を反復するステップ；並びに、

c)前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の進行をモニタリングする為に、ステップa)及びステップb)において検出した、HA-1抗原のレベルを、又はHA-1を発現する関心とする細胞のレベルを、比較するステップ、ここで、ステップa)と比較した、ステップb)において検出した、HA-1抗原の、又はHA-1を発現する関心とする細胞の、存在しない、又は減少したレベルは、前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、の進行が、阻害されていることを示す。

【請求項８７】

請求項８６に記載の方法、ここで、前記第1の時点と前記後続の時点との間で、前記対象は、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を治療する為の治療を受けたことがある。

【請求項８８】

以下を含む、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する療法の有効性を評価する方法：

a)前記対象から得られたサンプルと、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する療法の少なくとも1部を対象に提供する前に、前記対象から取得した第1のサンプルにおける、請求項１から３０の何れか一項に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、請求項４２から７３の何れか一項に記載の少なくとも1種の宿主細胞、又は請求項７４に記載の宿主細胞の集団、との間の、応答性の、存在又はレベル、を決定するステップ、並びに、

b) 前記対象から得られたサンプルと、HA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する療法の少なくとも1部を提供した後に、前記対象から取得した第2のサンプルにおける、請求項１から３０の何れか一項に記載の少なくとも1種の結合タンパク質、請求項４２から７３の何れか一項に記載の少なくとも1種の宿主細胞、又は請求項７４に記載の宿主細胞の集団、との間の、応答性の、存在又はレベル、を決定するステップ、

ここで、前記第2のサンプルにおける応答性が、第1のサンプルと比較して、存在しないことは、又はレベルが減少していることは、前記療法が、前記対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を治療することに対して有効である、ことを示す。

【請求項８９】

請求項８３から８９の何れか一項に記載の方法、ここで、前記応答性のレベルは、a)結合の存在、並びに／又はb)T細胞活性化、及び／若しくはエフェクター機能、によって示される。

【請求項９０】
請求項８９に記載の方法、ここで、前記T細胞活性化は、又はエフェクター機能は、T細胞増殖、傷害、又はサイトカイン放出、である。
【請求項９１】
請求項８３から９０の何れか一項に記載の方法、ここで、前記T細胞結合を、活性化を、及び／又はエフェクター機能を、蛍光活性化細胞選別(fluorescence activated cell sorting)(FACS)、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、放射性免疫アッセイ(RIA)、免疫化学的、ウェスタン・ブロット、又は細胞内フロー・アッセイ、を使用して検出する。
【請求項９２】
対象におけるHA-1抗原の発現を特徴とする、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、を予防する、及び／又は治療する、方法、ここで、前記方法は、請求項１から３０の何れか一項に記載の少なくとも1種の結合タンパク質を発現する細胞を含む組成物の治療有効量を、前記対象に投与するステップを含む。
【請求項９３】
請求項９２に記載の方法、ここで、前記細胞は、同種異系細胞、同系細胞、又は自己細胞、である。
【請求項９４】
請求項９２又は９３に記載の方法、ここで、前記細胞は、遺伝子改変をされている。
【請求項９５】
請求項９２から９４の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞は、TCR遺伝子の、HLA遺伝子の、又はTCR遺伝子及びHLA遺伝子の両方の、染色体遺伝子の、ノックアウトを含む。
【請求項９６】
請求項９２から９５の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞は、αlマクログロブリン遺伝子、α2マクログロブリン遺伝子、α3マクログロブリン遺伝子、β1ミクログロブリン遺伝子、β2ミクログロブリン遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるHLA遺伝子、のノックアウトを含む。
【請求項９７】
請求項９２から９６の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞は、TCRα可変領域遺伝子、TCRβ可変領域遺伝子、TCR定常領域遺伝子、及びそれらの組み合わせ、より選択されるTCR遺伝子、のノックアウトを含む。
【請求項９８】
請求項９２から９７の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞は、CD8αを及び／又はCD8βを、発現する、任意選択的に、ここで、前記CD8αは及び／又はCD8βは、CD34濃縮タグに融合している。
【請求項９９】
請求項９８に記載の方法、ここで、細胞は、CD34濃縮タグを用いて富化されている。
【請求項１００】
請求項９２から９９の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞は、造血始原細胞（progenitor cell）、末梢血単核細胞(peripheral blood mononuclear cell (PBMC))、臍帯血細胞、又は免疫細胞、である。
【請求項１０１】
細胞項９２から１００の何れか一項に記載の方法、ここで、前記免疫細胞は、細胞傷害性リンパ球、細胞傷害性リンパ球前駆細胞（precursor cell）、細胞傷害性リンパ球始原細胞（progenitor cell）、細胞傷害性リンパ球幹細胞、$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、CD4/CD8ダブル・ネガティブT細胞、ガンマ・デルタ(γδ)T細胞、ナチュラル・キラー(NK)細胞、NK-T細胞、樹状細胞、又はそれらの組合せ、である。
【請求項１０２】
請求項９２から１０１の何れか一項に記載の方法、ここで、前記T細胞は、ナイーブT

細胞、セントラル・メモリーT細胞(central memory T cell)、エフェクター・メモリーT細胞(effector memory T cell)、又はそれらの組み合わせ、である。

【請求項１０３】

請求項９２から１０２の何れか一項に記載の方法、ここで、前記T細胞は、初代T細胞、又はT細胞株の細胞、である。

【請求項１０４】

請求項９２から１０３の何れか一項に記載の方法、ここで、前記T細胞は、内因性のTCRを発現しない、又は内因性のTCRの細胞表面発現がより低い。

【請求項１０５】

請求項９２から１０４の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞は、MHC分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞と接触した場合に、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。

【請求項１０６】

請求項９２から１０５の何れか一項に記載の方法、ここで、前記サイトカインは、TNF-α、IL-2、及び／又はIFN-γ、である。

【請求項１０７】

請求項９２から１０６の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞傷害性分子は、パーフォリン類及び／又はグランザイム類である、任意選択的に、ここで、前記細胞傷害性分子は、グランザイムBである。

【請求項１０８】

請求項９２から１０７の何れか一項に記載の方法、ここで、前記細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。

【請求項１０９】

請求項１０８に記載の方法、ここで、前記細胞は、少なくとも1.05倍高いレベルの、サイトカイン又は細胞傷害性分子を産生することができる。

【請求項１１０】

請求項９２から１０９の何れか一項に記載の方法、ここで、前記宿主細胞は、MHC分子の中にHA-1ペプチド・エピトープを含むペプチド-MHC(pMHC)複合体、を含むターゲット細胞を傷害することができる。

【請求項１１１】

請求項９２から１１０の何れか一項に記載の方法、ここで、前記宿主細胞は、HA-1をヘテロ接合性に発現するターゲット細胞と接触した場合に、より多数のターゲット細胞を傷害することができる。

【請求項１１２】

請求項１１１に記載の方法、ここで、前記宿主細胞は、少なくとも1.05倍多数のターゲット細胞を傷害することができる。

【請求項１１３】

請求項９２から１１２の何れか一項に記載の方法、ここで、前記HA-1免疫原性ペプチドは、アミノ酸配列VLHDDLLEAを含む。

【請求項１１４】

請求項９２から１１３の何れか一項に記載の方法、ここで、前記MHC分子は、MHCクラスI分子である。

【請求項１１５】

請求項９２から１１４の何れか一項に記載の方法、ここで、前記MHC分子は、HLA血清型HLA-A*02であるMHCアルファ鎖を含む。

【請求項１１６】

請求項９２から１１５の何れか一項に記載の方法、ここで、前記HLA対立遺伝子は、HLA-A*02:01、HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、及びHLA-A*02:07対立遺伝子、からなる群より選択される。

【請求項１１７】
請求項９２から１１６の何れか一項に記載の方法、ここで、前記ターゲット細胞は、前記対象において前記HA-1抗原を発現する、非-悪性細胞又は過剰増殖性細胞、である。
【請求項１１８】
請求項９２から１１７の何れか一項に記載の方法、ここで、前記組成物は、薬学的に許容可能な担体を更に含む。
【請求項１１９】
請求項９２から１１８の何れか一項に記載の方法、ここで、前記組成物は、前記対象において前記HA-1抗原を発現する、前記非-悪性細胞又は前記過剰増殖性細胞、に対する、免疫応答を誘導する。
【請求項１２０】
請求項９２から１１９の何れか一項に記載の方法、ここで、前記組成物は、前記対象において前記HA-1抗原を発現する、前記非-悪性細胞又は前記過剰増殖性細胞、に対する、抗原-特異的なT細胞免疫応答を誘導する。
【請求項１２１】
請求項９２から１２０の何れか一項に記載の方法、ここで、前記抗原-特異的なT細胞免疫応答は、$CD4^+$ヘルパーTリンパ球(Th)応答及びCD8+細胞傷害性Tリンパ球(CTL)応答のうちの少なくとも1種を含む。
【請求項１２２】
請求項８３から１２１の何れか一項に記載の方法、ここで、前記過剰増殖性障害は、血液悪性腫瘍(hematological malignancy)を含む。
【請求項１２３】
請求項８３から１２２の何れか一項に記載の方法、ここで、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、白血病、リンパ腫、骨髄異形成障害、骨髄増殖性新生物、又は骨髄腫、を含む。
【請求項１２４】
請求項８３から１２３の何れか一項に記載の方法、ここで、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、白血病を含む。
【請求項１２５】
請求項８３から１２４の何れか一項に記載の方法、ここで、前記白血病は、急性骨髄性白血病(acute myeloid leukemia (AML))、急性リンパ球性白血病(acute lymphocytic leukemia (ALL))、混合表現型急性白血病(mixed phenotype acute leukemia (MPAL))、慢性骨髄性白血病(chronic myeloid leukemia (CML))、B細胞前リンパ球性白血病(prolymphocytic leukemia)、ヘアリー細胞白血病(hairy cell leukemia)、又は慢性リンパ球性白血病(chronic lymphocytic leukemia (CLL))、より選択される。
【請求項１２６】
請求項８３から１２５の何れか一項に記載の方法、ここで、前記血液障害は、リンパ腫を含む。
【請求項１２７】
請求項８３から１２５の何れか一項に記載の方法、ここで、前記リンパ腫は、ホジキン・リンパ腫(Hodgkin's lymphoma (HL))、非-ホジキン・リンパ腫(non-Hodgkin's lymphoma (NHL))、中枢神経系リンパ腫、小リンパ球性リンパ腫(small lymphocytic lymphoma (SLL))、CD37+樹状細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、粘膜関連（MALT）リンパ組織の節外辺縁帯B-細胞リンパ腫、節性辺縁帯B-細胞リンパ腫、濾胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B-細胞リンパ腫、縦隔（胸腺）大細胞型B-細胞リンパ腫、前駆B-リンパ芽球性リンパ腫、免疫芽球性大細胞リンパ腫、血管内大細胞型B-細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、又はバーキット・リンパ腫、より選択される。
【請求項１２８】

請求項８３から１２３の何れか一項に記載の方法、ここで、前記血液悪性腫瘍(hematological malignancy)は、骨髄異形成障害(myelodysplastic disorder (MDS))を含む、任意選択的に、ここで、前記MDSは、単一血球系統の異形成を伴う不応性血球減少症(不応性貧血、不応性好中球減少症、及び不応性血小板減少症)、環状鉄芽球を伴う不応性貧血(refractory anemia with ring sideroblasts (RARS))、環状鉄芽球を伴う不応性貧血-血小板増加症(refractory anemia with ring sideroblasts - thrombocytosis (RARS-t))、多血球系統の異形成を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia (RCMD))、多血球系統の異形成と環状鉄芽球を伴う不応性血球減少症(refractory cytopenia with multinieage dysplasia and ring sideroblasts (RCMD-RS))、芽球増加を伴う不応性貧血(refractory anemia with excess blasts (RAEB))、分類不能型骨髄異形成症候群、小児不応性血球減少症、5番染色体長腕の単独欠失を伴う骨髄異形成症候群(MDS with isolated del(5q))、より選択される。

【請求項１２９】

請求項８３から１２３の何れか一項に記載の方法、ここで、前記非-悪性障害は、免疫不全障害である、任意選択的に、ここで、前記免疫不全障害は、重度複合免疫不全症(SCID)、ウィスコット-アルドリッチ症候群(Wiskott-Aldrich syndrome)、オーメン症候群（Omenn syndrome）、X-連鎖リンパ増殖症候群、慢性肉芽腫病、白血球接着不全症、ディジョージ症候群(DiGeorge syndrome)、及び造血幹細胞移植(hematopoietic stem cell transplantation (HCT))の適応症、からなる群より選択される。

【請求項１３０】

請求項８３から１２１の何れか一項に記載の方法、ここで、前記非-悪性障害は、非-悪性血液障害である、任意選択的に、ここで、前記非-悪性血液障害は、鎌状赤血球貧血,サラセミア、再生不良性貧血、血球貪食性リンパ組織症(hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH))、重度の再生不良性貧血、骨髄不全症候群、ファンコニ貧血(Fanconi anemia)、ダイアモンド-ブラックファン貧血(Diamond-Blackfan anemia)、及びシュワックマン・ダイアモンド症候群(Schwachman Diamond syndrome)、からなる群より選択される。

【請求項１３１】

請求項８３から１２１の何れか一項に記載の方法、ここで、前記非-悪性障害は、自己免疫障害である、任意選択的に、ここで、前記自己免疫障害は、全身性硬化症又は多発性硬化症である。

【請求項１３２】

請求項９２から１３１の何れか一項に記載の方法、ここで、前記対象は、造血細胞移植(HCT)を受けている、又は以前に受けたことがある、任意選択的に、ここで、前記HCTは、HA-1抗原を発現しない、請求項１から３０の何れか一項に記載の結合タンパク質によって認識されない、血清型HLA-A*02の細胞ではない、及び／又はHLA-A*02:01対立遺伝子を発現しない、細胞を含む。

【請求項１３３】

請求項１３２に記載の方法、ここで、前記HCTは、HLA構成要素をコードする遺伝子の染色体ノックアウト、TCR構成要素をコードする遺伝子の染色体ノックアウト、又はその両方、を含むドナー(donor)造血細胞を含む。

【請求項１３４】

請求項９２から１３３の何れか一項に記載の方法、ここで、前記対象は、以前にリンパ球除去化学療法を受けたことがある。

【請求項１３５】

請求項１３４に記載の方法、ここで、前記リンパ球除去化学療法は、シクロフォスファミド、フルダラビン、抗-胸腺細胞グロブリン、又はそれらの組み合わせ、を含む。

【請求項１３６】

請求項９２から１３５の何れか一項に記載の方法、ここで、前記方法は、非-悪性障害

、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する少なくとも1種の追加的な治療を、前記対象に、処方するステップを更に含む。

【請求項１３７】

請求項９２から１３６の何れか一項に記載の方法、ここで、非-悪性障害、過剰増殖性障害、又は過剰増殖性障害の再発、に対する前記少なくとも1種の追加的な治療は、前記組成物と、同時に、又は連続して、処方される。

【請求項１３８】

請求項８１から１３７の何れか一項に記載の方法、ここで、前記対象は、HA-1の発現を特徴とする障害の動物モデル、及び／又は哺乳動物である、任意選択的に、ここで、前記哺乳動物は、ヒト、霊長類、又は齧歯類、である。

【請求項１３９】

CD8αを及び／又はCD8βをコードする核酸配列に、作動可能に連結されたプロモーター、を含む発現ベクター。

【請求項１４０】

請求項１３９に記載のベクター、ここで、CD8αを又はCD8βをコードする核酸配列は、タグをコードする核酸に作動可能に連結し、その結果、前記タグは、CD8αに又はCD8βに、融合している。

【請求項１４１】

請求項１３９又は１４０に記載のベクター、ここで、前記タグをコードする核酸は、前記CD8αを又はCD8βをコードする核酸配列の5'上流にあり、その結果、前記タグは、CD8αの又はCD8βの、N末端で融合している。

【請求項１４２】

請求項１３９から１４１の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記タグは、CD34濃縮タグである。

【請求項１４３】

請求項１３９から１４２の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記ベクターは、TCRαを及び／又はTCRβをコードする核酸配列、を更に含む。

【請求項１４４】

請求項１３９から１４３の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記TCRαは及び／又はTCRβは、変異を有する膜貫通ドメインを、及び／又は変異を有する定常ドメインを、含む。

【請求項１４５】

請求項１３９から１４４の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記変異を有する膜貫通ドメイン、及び／又は変異を有する定常ドメインは、内因性の、TCRαの及び／又はTCRβの発現を減少させながらも、TCRαの及び／又はTCRβの細胞表面発現を増強する。

【請求項１４６】

請求項１３９から１４５の何れか一項に記載のベクター、ここで、CD8αを及び／又はCD8βをコードする核酸配列は、並びに、TCRαを及び／又はTCRβをコードする核酸配列は、配列内リボソーム進入部位(internal ribosome entry site)と、又は自己切断ペプチドをコードする核酸配列と、相互連結している。

【請求項１４７】

請求項１３９から１４６の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記自己切断ペプチドは、P2A、E2A、F2A、又はT2A、である。

【請求項１４８】

請求項１３９から１４７の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記ベクターは、表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸配列、又は表１に列挙されるポリペプチド配列からなる群より選択されるポリペプチドをコードする核酸に対して、少なくとも約80%の相同性を有する配列、を更に含む、任意選択的に、ここで、前記単離された核酸分子は、1)表１に列挙されるTRAV、TRAJ、

及びTRAC遺伝子の群より選択される、TRAV、TRAJ、及び／若しくはTRAC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、並びに／又は2)表１に列挙されるTRBV、TRBJ、及びTRBC遺伝子の群より選択される、TRBV、TRBJ、及び／若しくはTRBC遺伝子、若しくはそれらのフラグメント、を含む。

【請求項１４９】

請求項１３９から１４８の何れか一項に記載のベクター、ここで、前記ベクターは、表３に記載の核酸配列を有する。

【誤訳訂正３】

【訂正対象書類名】図面

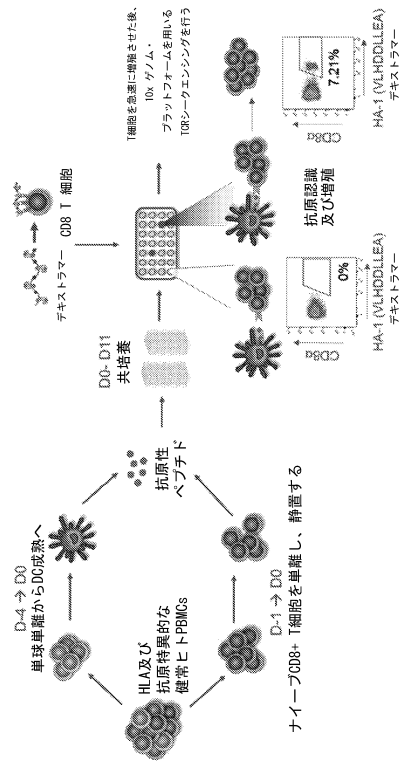
【訂正対象項目名】全図

【訂正方法】変更

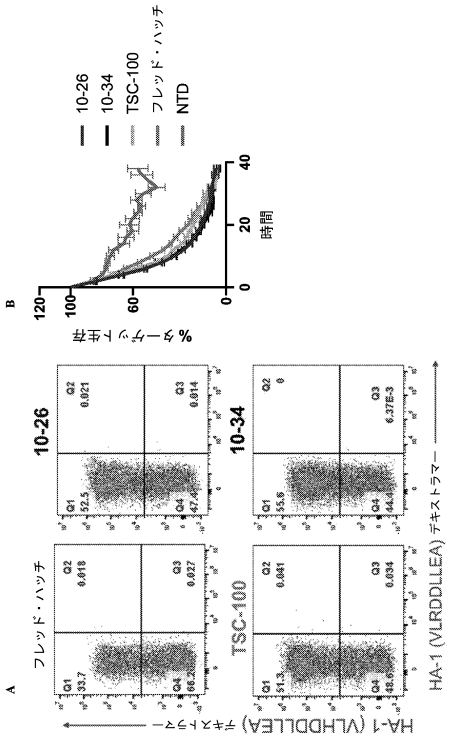
【訂正の内容】

【図面】

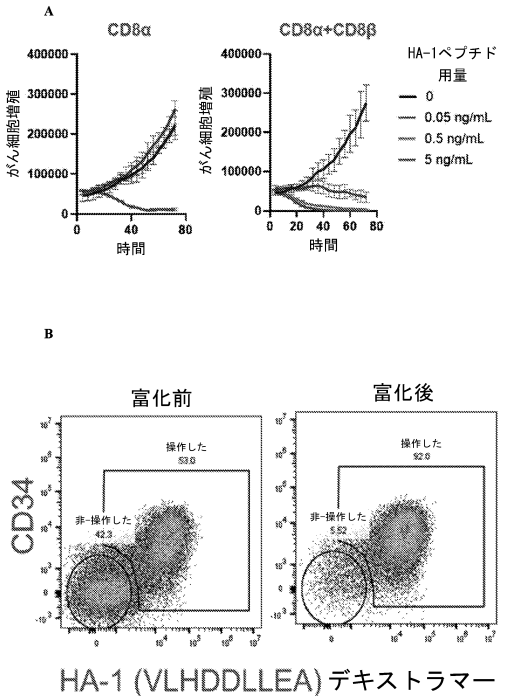
【図１】



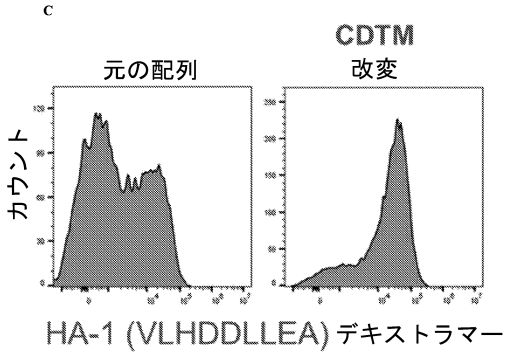
【図２】



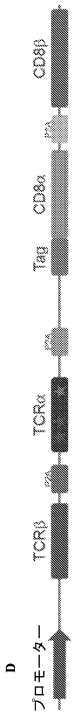
【図３－１】



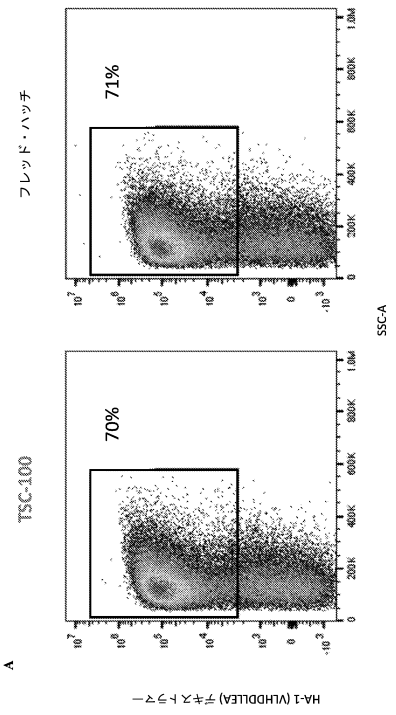
【図３－２】



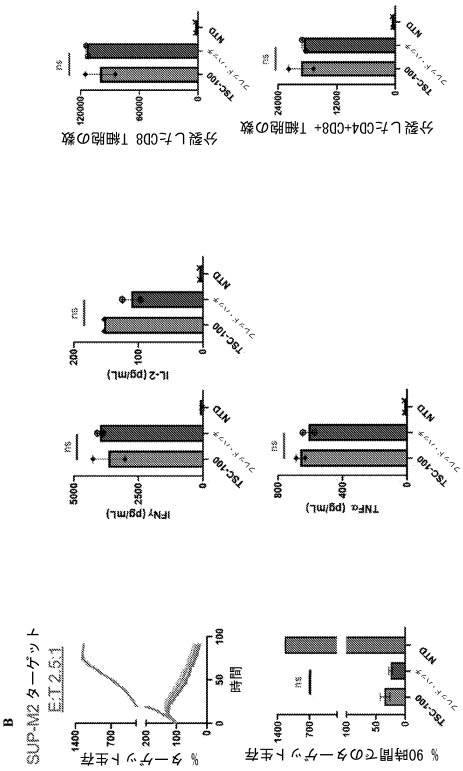
【図３－３】



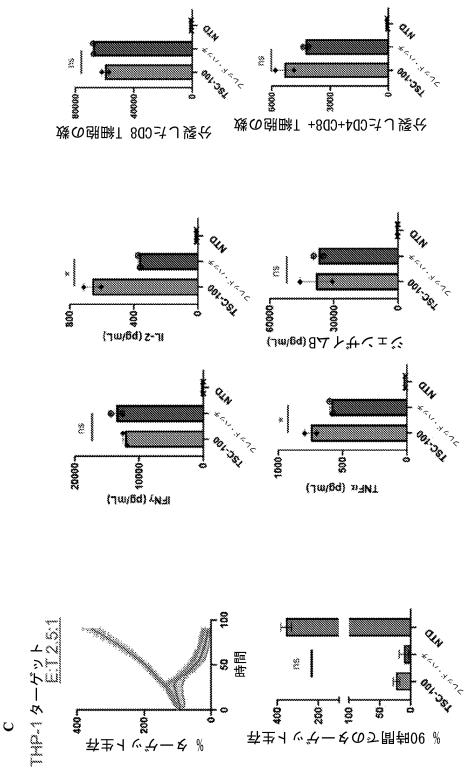
【図４Ａ】



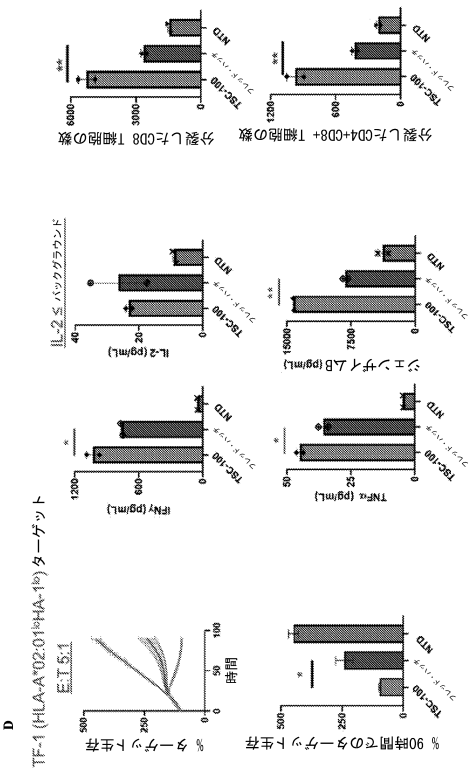
【図４Ｂ】



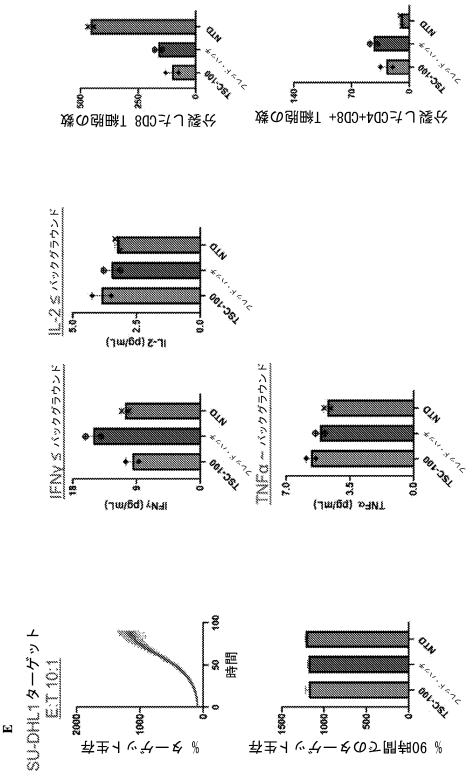
【図４Ｃ】



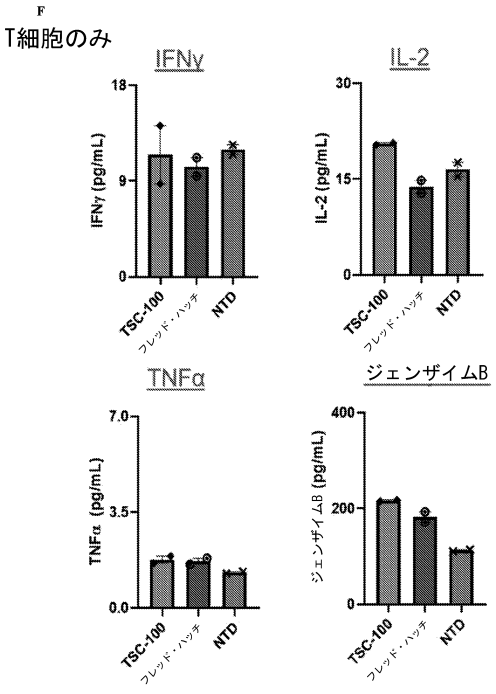
【図４Ｄ】



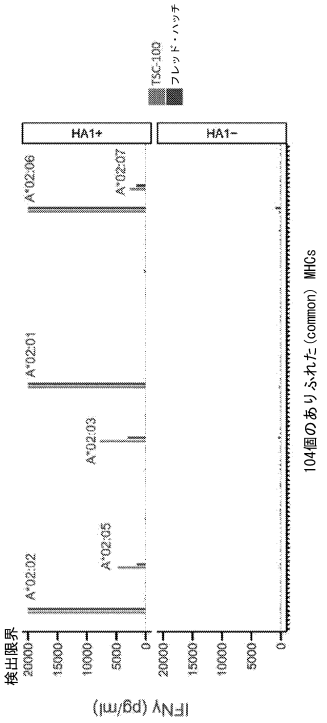
【図４Ｅ】



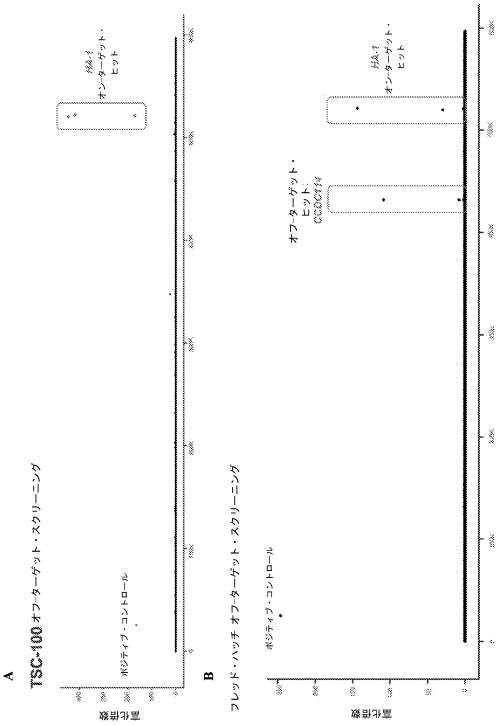
【図４Ｆ】


F
T細胞のみ
IFNγ
IL-2
TNFα
ジェンザイムB
IFNγ (pg/mL)
IL-2 (pg/mL)
TNFα (pg/mL)
ジェンザイムB (pg/mL)
TSC-100
フレッド・ハッチ
NTD

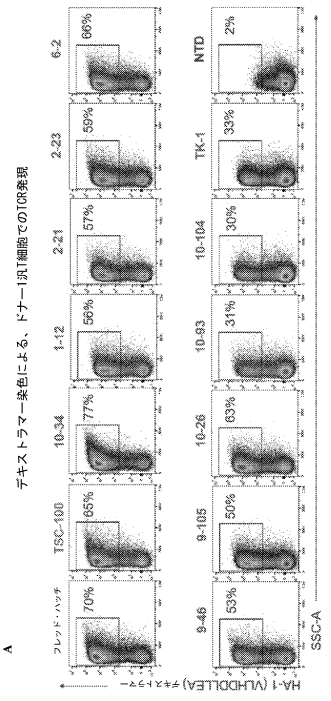
【図５】


TSC-100
フレッド・ハッチ
HA1+
HA1−
A*02:06
A*02:07
A*02:01
A*02:03
A*02:05
A*02:02
104個のありふれた(common) MHCs
検出限界
IFNγ (pg/ml)

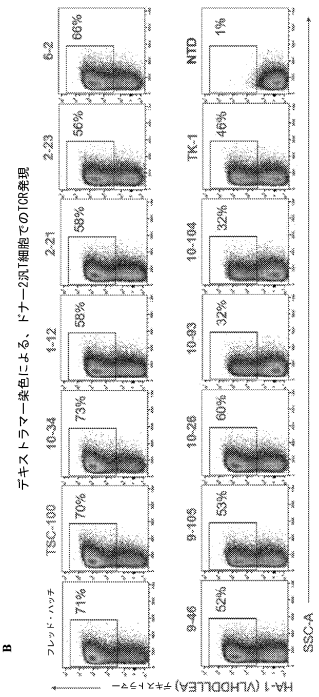
【図６】


A
TSC-100 オフターゲット・スクリーニング
ポジティブ・コントロール
HA-1 オンターゲット・ヒット
B
フレッド・ハッチ オフターゲット・スクリーニング
ポジティブ・コントロール
HA-1 オンターゲット・ヒット
オフターゲット・ヒット CCDC71
蛍光強度

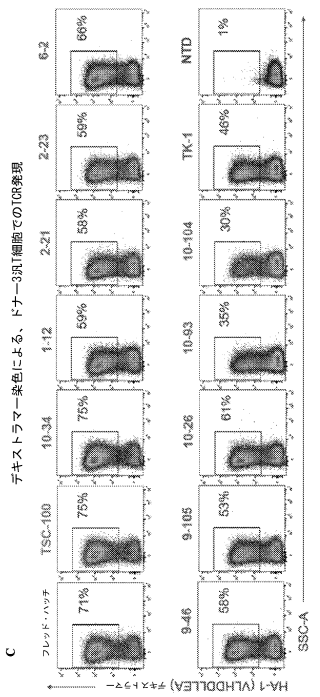
【図７Ａ】


A
デキストラマー染色による、ドナーT細胞でのTCR発現
フレッド・ハッチ
TSC-100
6-2
2-23
2-21
1-12
10-34
9-105
9-46
NTD
TK-1
10-104
10-93
10-26
9-105
9-46
66%
59%
57%
56%
77%
65%
10%
2%
33%
30%
31%
63%
50%
53%
HA-1 (VLHDDLLEA) テトラマー
SSC-A

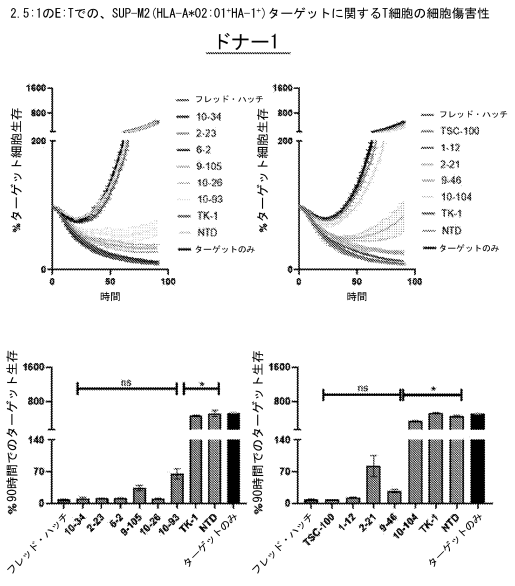
【図７Ｂ】



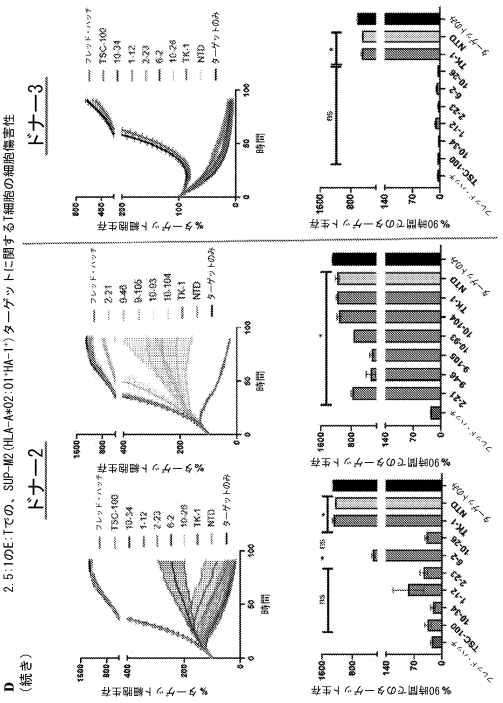
【図７Ｃ】



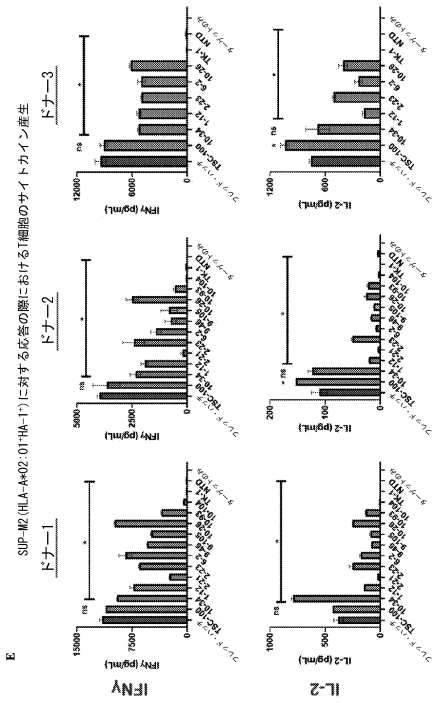
【図７Ｄ－１】



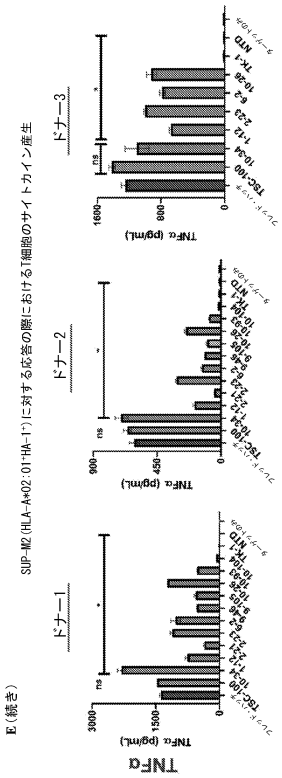
【図７Ｄ－２】



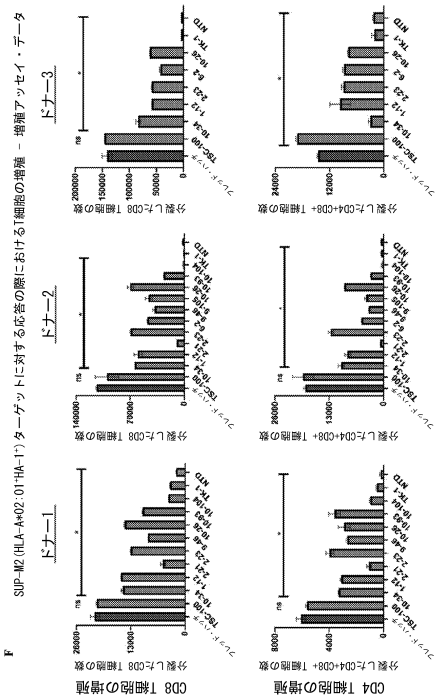
【図７Ｅ－１】



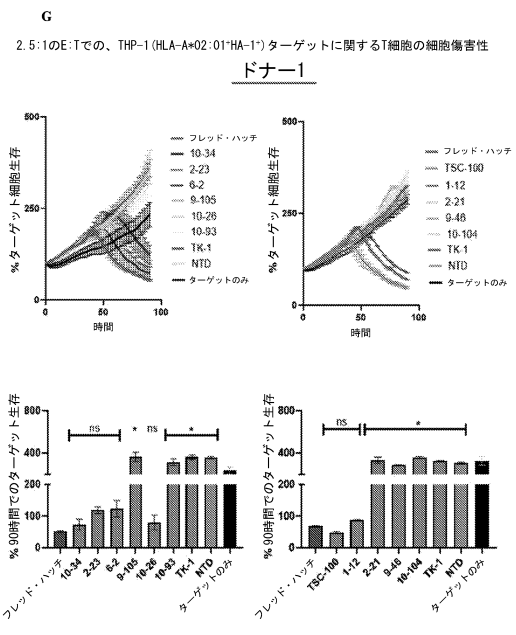
【図７Ｅ－２】



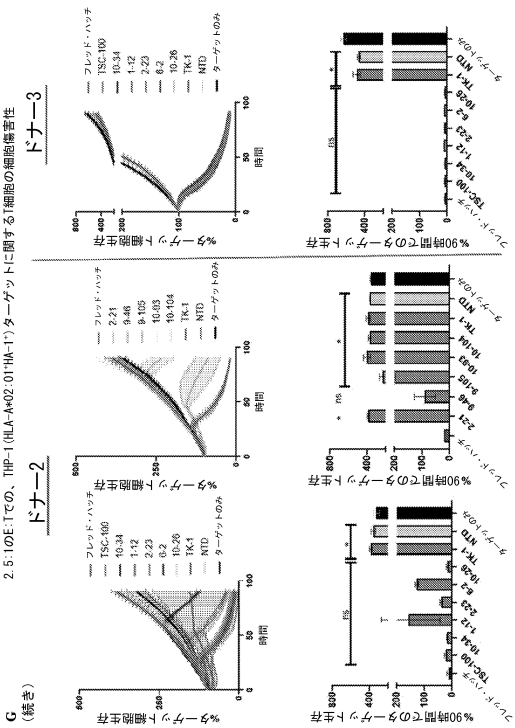
【図７Ｆ】



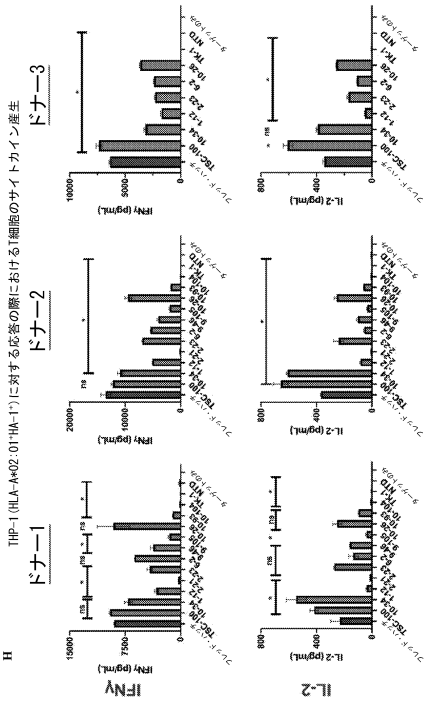
【図７Ｇ－１】



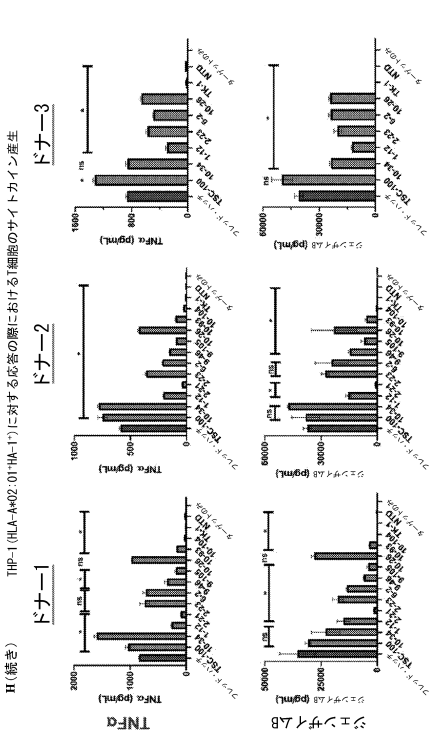
【図７Ｇ－２】



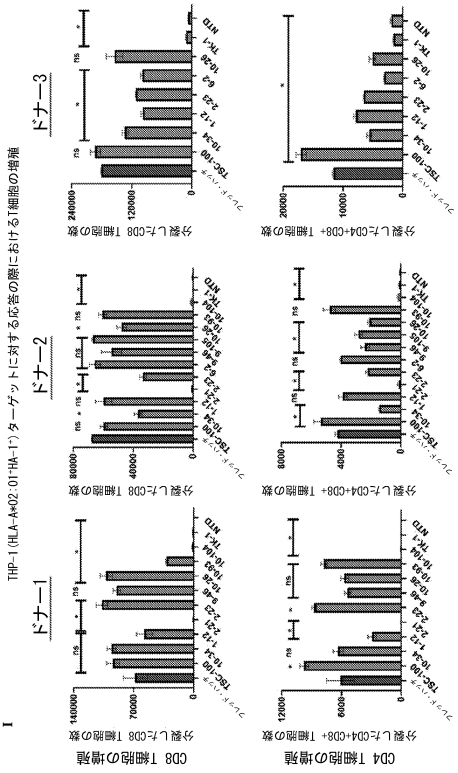
【図７Ｈ－１】



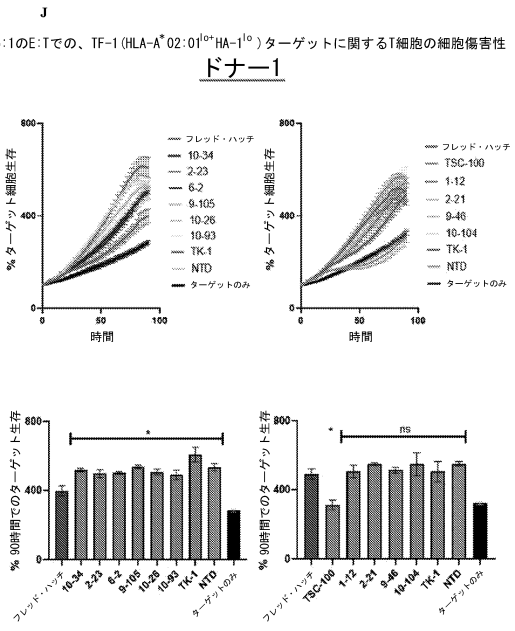
【図７Ｈ－２】



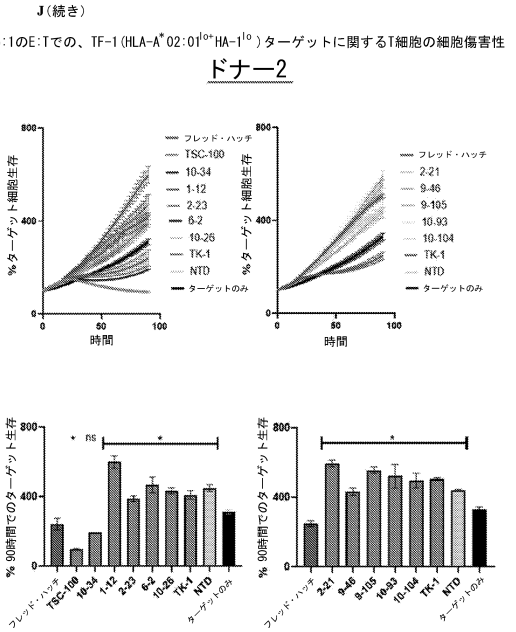
【図７Ｉ】



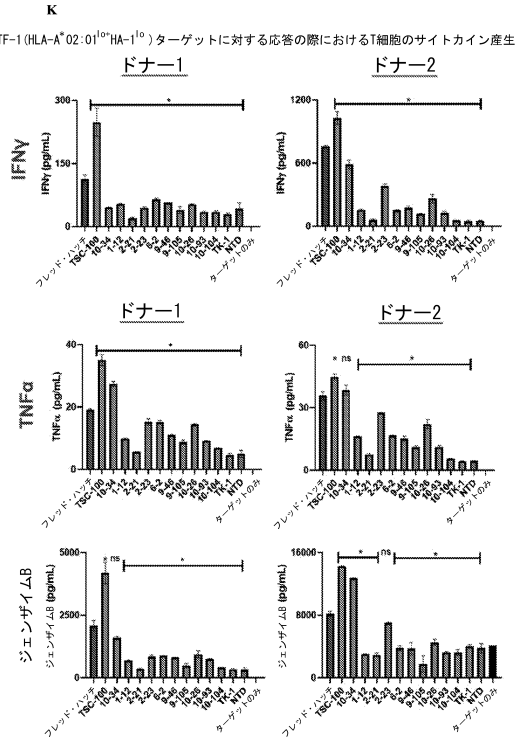
【図７Ｊ－１】



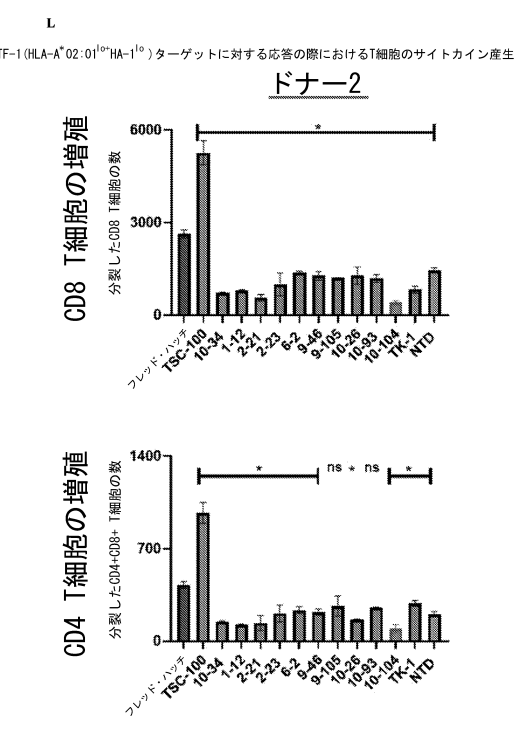
【図７Ｊ－２】



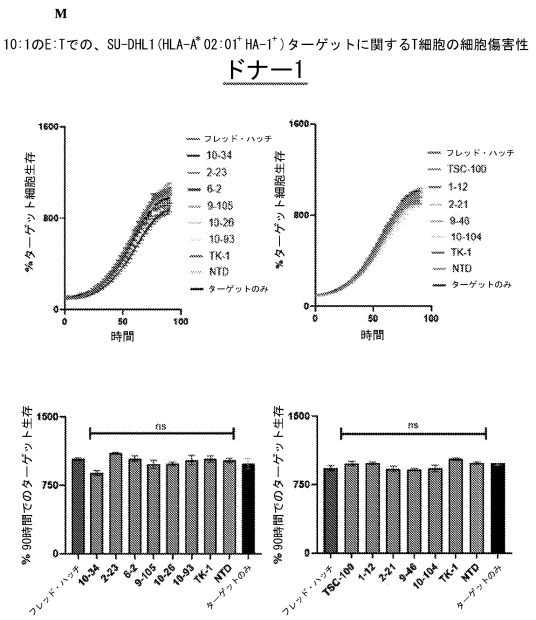
【図７Ｋ】



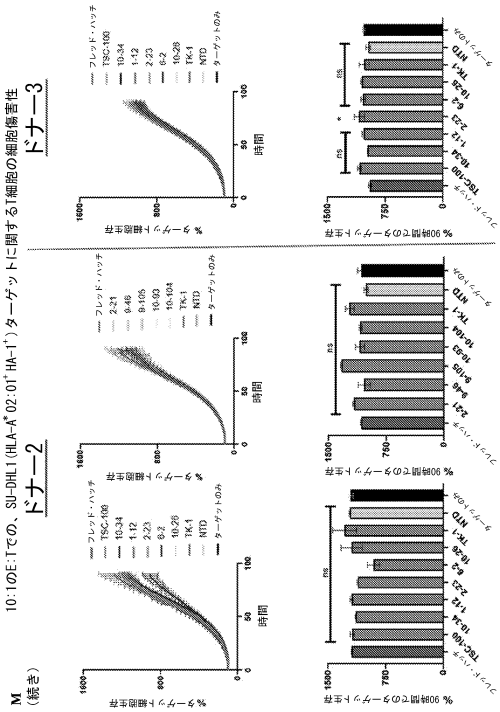
【図７Ｌ】



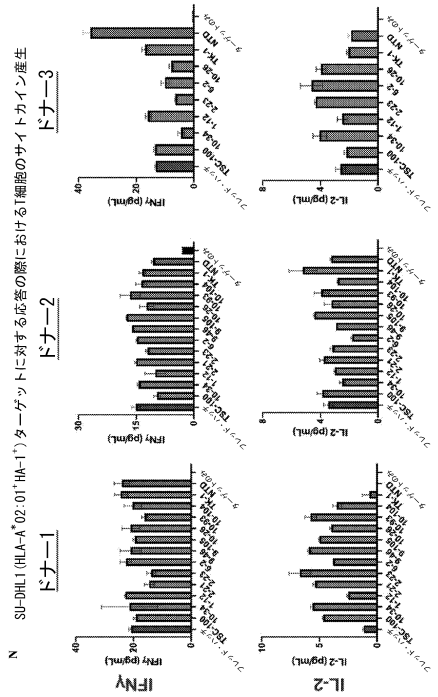
【図７Ｍ－１】



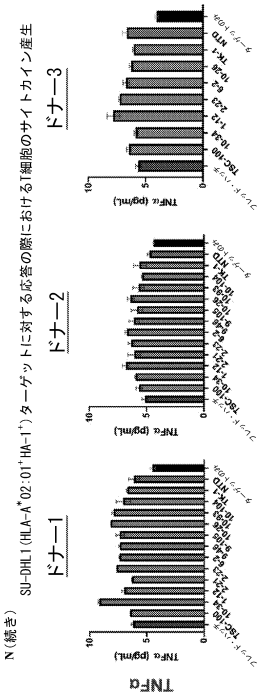
【図７Ｍ－２】



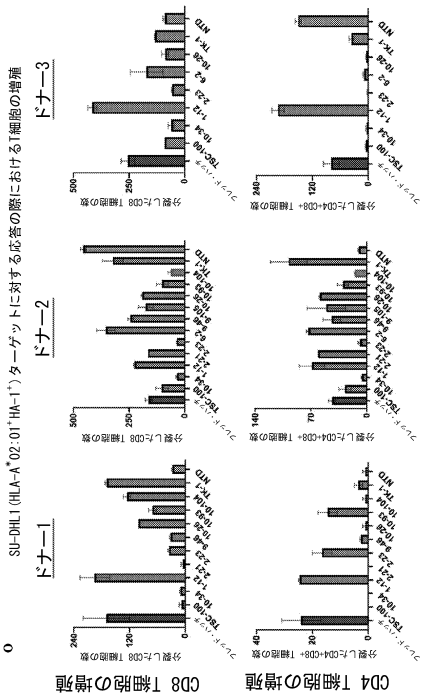
【図７Ｎ－１】



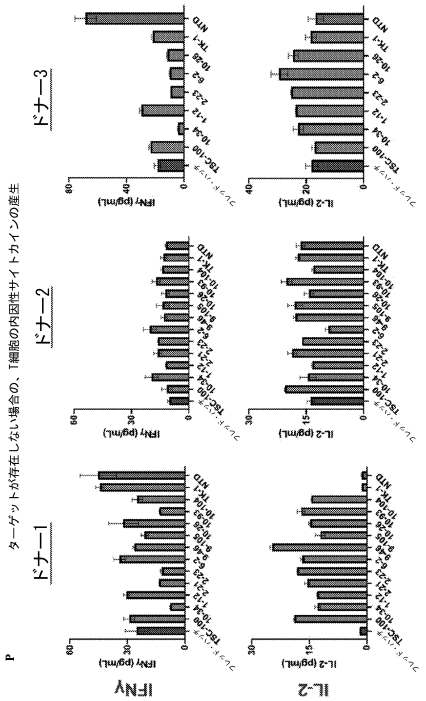
【図７Ｎ－２】



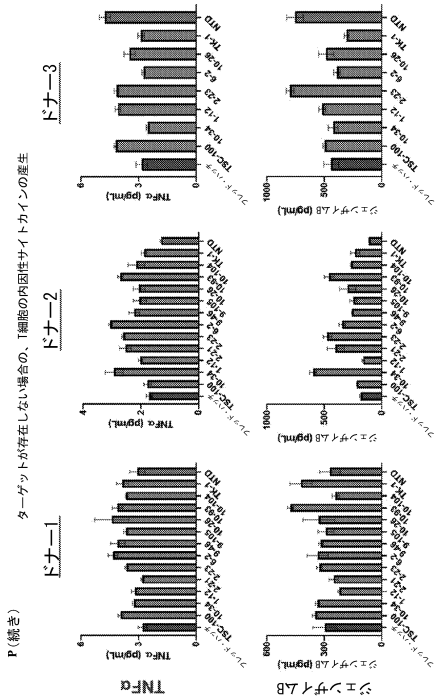
【図７０】



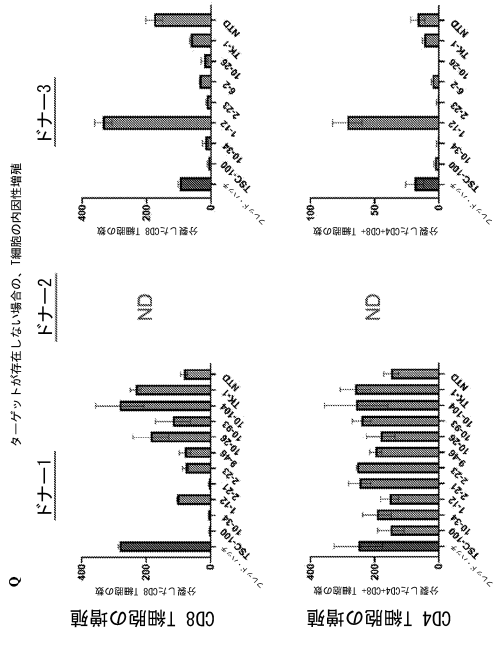
【図７Ｐ－１】



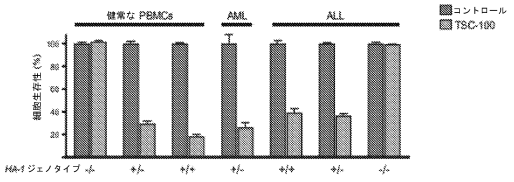
【図７Ｐ－２】



【図７Ｑ】



【図８】


健常な PBMCs
AML
ALL
コントロール
TSC-100
細胞生存性 (%)
100
80
60
40
20
0
HA-1 ジェノタイプ -/-
+/-
+/+
+/-
+/+
+/-
-/-

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/58382

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - A61P 35/00, C07K 14/705, C07K 14/71, C07K 14/725 (2022.01)
CPC - A61P 35/00, A61P 35/02, C07K 14/70503, C07K 14/7051

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RÉLEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- A	US 2020/0231649 A1 (FRED HUTCHINSON CANCER RESEARCH CENTER) 23 July 2020 (23.07.2020) abstract; para [0063]-[0067]; [0083]-[0090]; [0100]-[0101]; [0135]; [0151]-[0152]; SEQ ID NOs: 38 and 92	1-4, 7/(1-4), 32-35 --- 5-6, 7/(5-6), 31
A	US 2012/0027739 A1 (JAKOBSEN et al.) 02 February 2012 (02.02.2012) abstract; para [0091]-[0092]; SEQ ID NO: 13	5-6, 7/(5-6), 31
A	CHAN et al., Divergent T-cell receptor recognition modes of a HLA-I restricted extended tumour-associated peptide. Nature communications. March 2018, Vol 9, article 1026, pg: 1-3. full document	1-7, 31-35

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
28 March 2022	APR 28 2022
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Karl Rodriquez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/58382

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☐ forming part of the international application as filed:

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

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

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

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

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

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

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

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/58382

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 8-30, 36-138, 142-149
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I+: Claims 1-7, 31-35, drawn to a T cell receptor (TCR) binding protein that is capable of binding to HA-1 immunogenic peptide-MHC complex or a nucleic acid encoding it. The TCR binding protein will be searched to the extent that the TCR alpha chain CDRs, V.alpha chain, and full TCR alpha chain have at least 80% sequence identity to the first named polypeptide sequence in instant application pg 51 Table 1, HA1-TSC-100 wild type sequence alpha sequence, SEQ ID NO: 1. It is believed that claims 1-7, 31-35 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they have at least 80% sequence identity and are encompassed by SEQ ID NO: 1. Additional TCR binding proteins comprising TCR alpha or beta chain CDRs, V.alpha or V.beta chain, and full TCR alpha or beta chain will be searched upon payment of additional fees. Applicant must specify the claims that encompass any additional elected TCR alpha or beta chain CDRs, V.alpha or V.beta chain, and full TCR alpha or beta chain. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be: Table 1 HA1-1-12 CDTM sequence Alpha chain SEQ ID NO: 5 (claims 1-7, 31-35) --continued on extra sheet--

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-7, 31-35, limited to at least 80% identity to SEQ ID NO: 1 (HA1-TSC-100 alpha)

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/58382

--continued from Box III Unity of invention is lacking--

Group II: Claims 139-141, drawn to an expression vector comprising a promoter operably linked to a nucleic acid sequence encoding CD8.alpha and/or CD8.beta.

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

Technical Features:

Group I+ has the special technical feature of a binding protein capable of binding to HA-1 immunogenic peptide-MHC complex, not required by Group II.

Group I+ inventions share the special technical feature of a TCR alpha chain CDR sequences, V.alpha domain and full length TCR alpha chain polypeptide sequences or nucleic acid sequences encoding them, not required by Group II.

Group I+ inventions share the special technical feature of a TCR beta chain CDR sequences, V.beta domain and full length TCR beta chain polypeptide sequences or nucleic acid sequences encoding them, not required by Group II.

Group II has the special technical feature of an expression vector comprising a promoter operably linked to a nucleic acid sequence encoding CD8.alpha and/or CD8.beta, not required by Group I+.

No technical features are shared between the polypeptide sequences of Group I+ and, accordingly, this group lacks unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ inventions and Group II were considered to share the technical features of:

1. Group I+ inventions share the technical feature of a binding protein comprising a TCR alpha chain CDR sequences, V.alpha domain and full length TCR alpha chain polypeptide sequences or nucleic acid sequences encoding them and/or a TCR beta chain CDR sequences, V.beta domain and full length TCR beta chain polypeptide sequences or nucleic acid sequences encoding them, wherein the binding protein is capable of binding to HA-1 immunogenic peptide-MHC complex.

2. Group I+ and II share the technical feature of a nucleic acid encoding a cell surface protein.

However, said shared technical features do not represent a contribution over the prior art and are disclosed by US 10,538,574 B2 to Fred Hutchinson Cancer Research Center (hereinafter "Hutch") [published 21 January 2020].

As to shared technical feature #1, Hutch discloses a binding protein comprising a TCR alpha chain CDR sequences, V.alpha domain and full length TCR alpha chain polypeptide sequences (claim 1; "An engineered immune cell, comprising a heterologous polynucleotide encoding a binding protein that includes: (a) a TCR alpha-chain variable (V.alpha) domain comprising a CDR3 amino acid sequence of SEQ ID NO: 88, a CDR2 amino acid sequence of SEQ ID NO: 136, and a CDR1 amino acid sequence of SEQ ID NO: 135, and; (b) a TCR beta-chain variable (V.beta) domain comprising a CDR3 amino acid sequence of SEQ ID NO: 14, a CDR2 amino acid sequence of SEQ ID NO: 134, and a CDR1 amino acid sequence of SEQ ID NO: 133, wherein the encoded binding protein is capable of specifically binding to a peptide containing an HA-1H antigen and does not bind to a peptide that does not contain an HA-1H antigen").

As to common technical feature #2, Hutch discloses a nucleic acid encoding a cell surface protein (claim 1; "An engineered immune cell, comprising a heterologous polynucleotide encoding a binding protein").

As the shared technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered shared special technical features that would otherwise unify the groups. The inventions lack unity with one another.

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

Item 4 (cont.): Claims 8-30, 36-138, 142-149 are dependent claims and are not drafted according to the second and third sentences of PCT Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C12N 5/10 (2006.01)		C12N	5/10		4C086
C12N 1/00 (2006.01)		C12N	1/00	B	4C087
C12Q 1/04 (2006.01)		C12Q	1/04		4H045
A61P 35/00 (2006.01)		A61P	35/00		
A61P 35/02 (2006.01)		A61P	35/02		
A61K 47/68 (2017.01)		A61K	47/68		
A61K 39/395(2006.01)		A61K	39/395	C	
A61K 38/02 (2006.01)		A61K	39/395	L	
A61K 31/7088(2006.01)		A61K	38/02		
A61K 48/00 (2006.01)		A61K	31/7088		
A61K 35/12 (2015.01)		A61K	48/00		
A61K 35/17 (2015.01)		A61K	35/12		
A61K 35/51 (2015.01)		A61K	35/17		
A61K 38/19 (2006.01)		A61K	35/51		
G01N 33/53 (2006.01)		A61K	38/19		
G01N 33/536(2006.01)		G01N	33/53	D	
		G01N	33/536	B	
		G01N	33/53	Y	

(32)優先日　令和3年4月15日(2021.4.15)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/129,804
(32)優先日　令和2年12月23日(2020.12.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(72)発明者　ギャビン マクビース
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２４６０ ニュートン マディソン アヴェニュー ２０
(72)発明者　ソナル ジャンガルウェ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０１８８０ ウェイクフィールド ソフィアズ ウェイ ９
(72)発明者　モリー エム ジュレウィッツ
アメリカ合衆国 ニューハンプシャー州 ０３０６０ ナシュア ニューキャッスル ドライブ １５ アパートメント １２
(72)発明者　アンドリュー エス バシンスキ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０１５０１ オウバーン バーンズ ストリート ８５
(72)発明者　チーカイ シュー
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０１７７６ サッドベリー ワイルドウッド レーン １７
(72)発明者　アントワン ジェイ ブード
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２４６７ チェスナット ヒル ゲリー ロード １７８
(72)発明者　トマシュ クラ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２１４８ マルデン ボウマン ストリート ６１
(72)発明者　トマシュ クラ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２４４６ ブルックライン セウォール アヴェニュー １１５ ナンバー３

Fターム（参考） 4B063 QA18 QA19 QQ08 QR57 QS32 QS35 QX02 QX07
4B065 AA93X AA94X AB01 AC14 BA02 CA24 CA44
4C076 AA95 CC27 CC41 EE41 EE59 FF34
4C084 AA07 AA13 BA41 BA42 DA01 NA14 ZB26 ZB27
4C085 AA21 AA25 AA26 AA27 EE01
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA05 NA13 NA14 ZB26 ZB27
4C087 AA01 AA02 BB37 BB59 BB65 CA12 CA20 NA14 ZB26 ZB27
4H045 AA10 AA30 BA09 DA50 EA20 EA50 FA74