(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第6784687号
(P6784687)
(45)発行日　令和2年11月11日(2020.11.11)　(24)登録日　令和2年10月27日(2020.10.27)

(51)Int.Cl.		F I		
C12N 15/62	(2006.01)	C12N	15/62	ZNAZ
C12N 15/12	(2006.01)	C12N	15/12	
C12N 15/13	(2006.01)	C12N	15/13	
C12N 15/63	(2006.01)	C12N	15/63	Z
C07K 19/00	(2006.01)	C07K	19/00	

請求項の数 14　(全 270 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-544874 (P2017-544874)
(86)(22)出願日　平成28年2月23日 (2016.2.23)
(65)公表番号　特表2018-506293 (P2018-506293A)
(43)公表日　平成30年3月8日 (2018.3.8)
(86)国際出願番号　PCT/US2016/019188
(87)国際公開番号　WO2016/138034
(87)国際公開日　平成28年9月1日 (2016.9.1)
審査請求日　平成31年2月21日 (2019.2.21)
(31)優先権主張番号　62/120,256
(32)優先日　平成27年2月24日 (2015.2.24)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)
(31)優先権主張番号　62/257,153
(32)優先日　平成27年11月18日 (2015.11.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)

(73)特許権者　506115514
ザ　リージェンツ　オブ　ザ　ユニバーシティ　オブ　カリフォルニア
アメリカ合衆国，カリフォルニア州　９４６０７－５２００，オークランド，フランクリン　ストリート　１１１１，１２番フロア
(74)代理人　100102978
弁理士　清水　初志
(74)代理人　100102118
弁理士　春名　雅夫
(74)代理人　100160923
弁理士　山口　裕孝
(74)代理人　100119507
弁理士　刑部　俊
最終頁に続く

(54)【発明の名称】結合誘発型転写スイッチ及びその使用方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
Ｎ末端からＣ末端に向かって、共有結合状態で、
ａ）抗体の抗原結合ドメインを含む細胞外ドメイン；
ｂ）Ｌｉｎ－１２　Ｎｏｔｃｈリピート、Ｓ２タンパク質分解切断部位、および、Ｓ３タンパク質分解切断部位を含む膜貫通ドメインを含む、Ｎｏｔｃｈ調節領域；及び
ｃ）該Ｎｏｔｃｈ調節領域に対して異種であり転写活性化因子または転写抑制因子を含む細胞内ドメインであって、該抗原結合ドメインの抗原への結合が、Ｓ２およびＳ３タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより該細胞内ドメインが放出される、該細胞内ドメイン
を含む、キメラＮｏｔｃｈポリペプチド。
【請求項２】
細胞外ドメイン、Ｎｏｔｃｈ調節領域、またはその両方が、機能的Ｎｏｔｃｈリガンド結合部位を含まない、請求項１に記載のキメラＮｏｔｃｈポリペプチド。
【請求項３】
細胞内ドメインが、
（ｉ）転写活性化因子であって、該細胞内ドメインの放出が、該転写活性化因子に、細胞における内在性遺伝子産物または異種遺伝子産物の発現を誘導させる、該転写活性化因子；または
（ｉｉ）転写抑制因子であって、該細胞内ドメインの放出が、該転写抑制因子に、細

胞における内在性遺伝子産物または異種遺伝子産物の発現を抑制させる、該転写抑制因子のいずれかを含む、請求項１または２に記載のキメラＮｏｔｃｈポリペプチド。

【請求項４】

Ｎｏｔｃｈ調節領域が、そのN末端に、１つまたは複数の上皮成長因子（ＥＧＦ）リピート、任意で２～１１個のＥＧＦリピートをさらに含む、請求項１～３のいずれか一項に記載のキメラＮｏｔｃｈポリペプチド。

【請求項５】

合成リンカーを、任意で前記１つまたは複数のＥＧＦリピートと前記Ｌｉｎ－１２　Ｎｏｔｃｈリピートとの間に含む、請求項４に記載のキメラＮｏｔｃｈポリペプチド。

【請求項６】

Ｎｏｔｃｈ調節領域が、Ｓ２タンパク質分解切断部位および/またはＳ１タンパク質分解切断部位を含むヘテロ二量体化ドメインをさらに含む、請求項１～５のいずれか一項に記載のキメラＮｏｔｃｈポリペプチド。

【請求項７】

請求項１～６のいずれか一項に記載のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドを産生するように遺伝子改変されたｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｅｘ　ｖｉｖｏ細胞であって、任意で、造血性幹細胞（ＨＳＣ）もしくは胚性幹（ＥＳ）細胞などの幹細胞、始原細胞、幹細胞もしくは始原細胞に由来する細胞、または、Ｔリンパ球、ナチュラルキラー細胞、もしくは制御性Ｔ細胞などの免疫細胞からなる群より選択される、ｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｅｘ　ｖｉｖｏ細胞。

【請求項８】

請求項１～６のいずれか一項に記載のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸。

【請求項９】

請求項８に記載の核酸を含む組換え発現ベクターであって、任意で、コード配列に作動可能に連結し転写活性化因子または転写抑制因子に応答する転写制御エレメントをさらに含む、組換え発現ベクター。

【請求項１０】

細胞におけるコード配列の発現を誘導または抑制する方法であって、該細胞と抗原を接触させることを含み、

該細胞が、請求項１～６のいずれか一項に記載のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドを産生するように遺伝子改変され、かつ、該コード配列に作動可能に連結し該キメラＮｏｔｃｈポリペプチドの転写活性化因子または転写抑制因子に応答する転写制御エレメントを含み、

該抗体の抗原結合ドメインへの該抗原の結合によって細胞内ドメインが放出され、それによって該コード配列の発現が誘導または抑制される、

前記方法。

【請求項１１】

請求項１～６のいずれか一項に記載のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクターまたはＲＮＡでｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｅｘ　ｖｉｖｏにおいて細胞を遺伝子改変することを含む、請求項７に記載の細胞を作製する方法。

【請求項１２】

ａ）個体から得た細胞を、

ｉ）前記キメラＮｏｔｃｈポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、該キメラＮｏｔｃｈポリペプチドが転写活性化因子を含み、前記抗体の抗原結合ドメインが、該個体の細胞によって発現される抗原上に存在するエピトープに対して特異的である、該ヌクレオチド配列；および

ｉｉ）治療物質をコードする配列に作動可能に連結し該転写活性化因子に応答する転写制御エレメント

を含む発現ベクターで遺伝子改変すること；ならびに

ｂ）該遺伝子改変細胞を該個体に導入することであって、該エピトープへの該抗原結合ドメインの結合が該治療物質の発現を提供し、それにより疾患を処置する、こと
を含み、任意で、該疾患が癌であり該治療物質が癌治療物質である、個体における該疾患を処置する方法
における使用のための、請求項１～６のいずれか一項に記載のキメラＮｏｔｃｈポリペプチド。
【請求項１３】
前記治療物質が、抗体、ケモカイン、ケモカイン受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）、活性化免疫受容体、抑制性免疫受容体、免疫活性化因子、免疫抑制因子、アポトーシス誘導因子、アポトーシス抑制因子、毒素由来タンパク質、および部位特異的ヌクレアーゼからなる群より選択される、請求項１２に記載の使用のためのキメラＮｏｔｃｈポリペプチド。
【請求項１４】
Ｎ末端からＣ末端に向かって、共有結合状態で、
ａ）抗体の抗原結合ドメインを含む細胞外ドメイン；
ｂ）Ｌｉｎ－１２　Ｎｏｔｃｈリピート、Ｓ２タンパク質分解切断部位、および、Ｓ３タンパク質分解切断部位を含む膜貫通ドメインを含む、Ｎｏｔｃｈ調節領域；ならびに
ｃ）該Ｎｏｔｃｈ調節領域に対して異種であり分割転写因子の第一の半分を含む細胞内ドメインであって、該抗原結合ドメインの抗原への結合が、Ｓ２およびＳ３タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより該細胞内ドメインが放出される、該細胞内ドメイン
を含む、キメラＮｏｔｃｈポリペプチド。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
相互参照
本出願は、２０１５年２月２４日に出願された米国仮特許出願第６２／１２０，２５６号；２０１５年１１月１８日に出願された米国仮特許出願第６２／２５７，１５３号；及び２０１５年１２月１８日に出願された米国仮特許出願第６２／２６９，７５８号の利益を主張し、これらの出願は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
連邦政府による資金提供を受けた研究の記載
本発明は、米国国立衛生研究所により授与された助成金番号ＥＹ０１６５４６；Ｐ５０ＧＭ０８１８７９；及びＲ０１　ＧＭ０５５０４０の下で政府支援によりなされた。政府は、本発明において一定の権利を有する。
【０００３】
テキストファイルとして提供される配列表の参照による組込み
配列表を、テキストファイル「ＵＣＳＦ－５１１ＷＯ＿ＳｅｑＬｉｓｔ＿ＳＴ２５．ｔｘｔ」として本明細書と共に提供し、これは、２０１６年1月２６日に作製され、サイズは、６４９ＫＢである。テキストファイルの内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【背景技術】
【０００４】
緒言
Ｎｏｔｃｈ受容体は、細胞間接触シグナル伝達を媒介し、細胞間コミュニケーション、例えば、一方の接触細胞が「受信側」細胞であり他方の接触細胞が「送信側」細胞である、２つの接触する細胞間のコミュニケーションの発達及び他の態様において中心的な役割を果たす膜貫通タンパク質である。受信側細胞において発現されるＮｏｔｃｈ受容体は、送信細胞上で発現される、それらのリガンド（タンパク質のデルタファミリー）を認識する。これらの接触細胞上でのｎｏｔｃｈとデルタの係合は、ｎｏｔｃｈ受容体の２段階の

タンパク質分解をもたらし、これは最終的には、膜から細胞質への受容体の細胞内部分の放出を引き起こす。この放出されたドメインが、転写調節因子として機能することにより受信側細胞の挙動を変える。Ｎｏｔｃｈ受容体は、発達中の様々な細胞の機能に関与し、そのために必要とされ、複数の種にわたって多数の細胞型の機能に重要である。

【発明の概要】

【０００５】

概要

本開示は、結合誘発型（binding-triggered）転写スイッチポリペプチド、結合誘発型転写スイッチポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸、及び該核酸で遺伝子改変された宿主細胞を提供する。本開示は、本開示の結合誘発型転写スイッチポリペプチドをコードする核酸を含むトランスジェニック生物を提供する。１つまたは複数の結合誘発型転写スイッチポリペプチドを使用して細胞の活性を局所的に調節する方法、及び１つまたは複数の結合誘発型転写スイッチポリペプチドを使用する局在性細胞活性化システムを提供する。本開示の結合誘発型転写スイッチポリペプチドは、様々な用途において有用であり、それも提供する。

【０００６】

本開示は、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸、及び該核酸で遺伝子改変された宿主細胞を提供する。本開示は、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードする核酸を含むトランスジェニック生物を提供する。本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、様々な用途において有用であり、それも提供する。

【０００７】

本開示は、キメラポリペプチド（本明細書では「キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド」とも称する）であって、Ｎ末端からＣ末端にむかって、共有結合状態で、ａ）特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメイン；ｂ）５０アミノ酸～１０００アミノ酸の長さを有し、かつ１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；及びｃ）細胞内ドメインを含み、特異的結合対の第一のメンバーはＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドに対して異種であり、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合が、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出される、前記キメラポリペプチドを提供する。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、３００アミノ酸～４００アミノ酸の長さを有する。いくつかの場合では、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、細胞外ドメインとＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの間に介在するリンカーを含む。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、転写抑制因子である。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、部位特異的ヌクレアーゼである。いくつかの場合では、部位特異的ヌクレアーゼは、Ｃａｓ９ポリペプチドである。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、リコンビナーゼである。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、抑制性免疫受容体である。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、活性化免疫受容体である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、抗体をベースとする認識足場を含む。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、抗体を含む。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーが抗体である場合、抗体は、腫瘍特異的抗原、疾患関連抗原、または細胞外マトリックス成分と特異的に結合する。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーが抗体である場合、抗体は、細胞表面抗原、可溶性抗原、または不溶性基体上に固定された抗原と特異的に結合する。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーが抗体である場合、抗体は、一本鎖Ｆｖである。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、ナノボディ、単一ドメイン抗体、ダイアボディ、トリアボディ、またはミニボディである。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、非抗体をベースとする認識足場である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーが、非抗体をベースとする認識足場である場合、非抗体を

ベースとする認識足場は、アビマー、ＤＡＲＰｉｎ、アドネクチン、アビマー、アフィボディ、アンチカリン、またはアフィリンである。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、抗原である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーが抗原である場合、抗原は、内在性抗原である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーが抗原である場合、抗原は、外来性抗原である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、受容体に対するリガンドである。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、受容体である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、細胞接着分子（例えば、細胞接着分子の細胞外領域の全部分または一部分）である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、第一の二量体化ドメインを含み、特異的結合対の第二のメンバーは、第二の二量体化ドメインを含む；例えば、いくつかの場合では、第一の二量体化ドメインの、第二の二量体化ドメインへの結合は、小分子二量体化剤により誘導され、他の場合では、第一の二量体化ドメインの、第二の二量体化ドメインへの結合は、光により誘導される。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図２Ａ～２Ｇに示すアミノ酸配列のいずれか１つに対して少なくとも７５％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図２Ａ～２Ｇに示すアミノ酸配列のいずれか１つに対して少なくとも８５％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図２Ａ～２Ｇに示すアミノ酸配列のいずれか１つに対して少なくとも９０％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図２Ａ～２Ｇに示すアミノ酸配列のいずれか１つに対して少なくとも９５％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図２Ａ～２Ｇに示すアミノ酸配列のいずれか１つに対して少なくとも９８％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図３に示すアミノ酸配列のいずれか１つに対して少なくとも７５％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図３に示すアミノ酸配列のいずれか１つに対して少なくとも８５％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図３に示すアミノ酸配列のいずれか１つに対して少なくとも９０％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図３に示すアミノ酸配列のいずれか１つに対して少なくとも９５％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図３に示すアミノ酸配列のいずれか１つに対して少なくとも９８％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、以下の配列：

PPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWK

YFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECE

WDGLDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQ

QMIFPYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNR

QCVQSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAA

FVLLFFVGCGVLLS (SEQ ID NO:1)

に対して少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、以下の配列：

PCVGSNPCYNQGTCEPTSENPFYRCLCPAKFNGLLCHILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEACE
LPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDGHCD
SQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLDCAE
HVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYG
HEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQ
CFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVG
CGVLLS (SEQ ID NO:2)

に対して少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの場合では、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位は、Ｓ１、Ｓ２、及びＳ３タンパク質分解切断部位から選択される。いくつかの場合では、Ｓ１タンパク質分解切断部位は、アミノ酸配列Ａｒｇ－Ｘ－（Ａｒｇ／Ｌｙｓ）－Ａｒｇを含む、フューリン様プロテアーゼ切断部位であり、ここでＸは任意のアミノ酸である。いくつかの場合では、Ｓ２タンパク質分解切断部位は、Ａｌａ－Ｖａｌジペプチド配列を含むＡＤＡＭ－１７型プロテアーゼ切断部位である。いくつかの場合では、Ｓ３タンパク質分解切断部位は、Ｇｌｙ－Ｖａｌジペプチド配列を含むγ－セクレターゼ切断部位である。

【０００８】

本開示は、本明細書に記載のとおりのキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。本開示は、本明細書に記載のとおりのキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む組み換え発現ベクターを提供する。本開示は、該核酸または該発現ベクターで遺伝子改変された宿主細胞を提供する。いくつかの場合では、宿主細胞は、真核細胞である。いくつかの場合では、宿主細胞は、哺乳類細胞である。いくつかの場合では、宿主細胞は、免疫細胞、ニューロン、上皮細胞、及び内皮細胞、または幹細胞である。いくつかの場合では、免疫細胞は、Ｔ細胞、Ｂ細胞、単球、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、またはマクロファージである。いくつかの場合では、宿主細胞は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードするヌクレオチド配列を含む核酸で遺伝子改変されており、キメラポリペプチドの細胞内ドメインは、転写活性化因子である。いくつかの場合では、ＣＡＲをコードするヌクレオチド配列は、キメラポリペプチドの細胞内ドメインにより活性化される転写制御エレメントに作動可能に連結している。

【０００９】

本開示は、本明細書に記載のとおりの本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現する細胞の活性を調節する方法であって、細胞と特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを含み、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合が、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出され、細胞内ドメインの放出が細胞の活性を調節する、前記方法を提供する。いくつかの場合では、前記接触は、ｉｎ　ｖｉｖｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏ、またはｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、第二の細胞の表面上にあるか、不溶性基体上に固定されているか、細胞外マトリックス中に存在するか、人工マトリックス中に存在するか、または可溶性である。いくつかの場合では、細胞内ドメインの放出は、細胞の増殖を調節する。いくつかの場合では、細胞内ドメインの放出は、細胞におけるアポトーシスを調節する。いくつかの場合では、細胞内ドメインの放出は、アポトーシス以外の機構による細胞死を誘導する。いくつかの場合では、細胞内ドメインの放出は、細胞における遺伝子発現を、転写調節、クロマチン制御、翻訳、トラフィッキングまたは翻訳後プロセシングを通して調節する。いくつかの場合では、細胞内ドメインの放出は、細胞の分化を調節する。いくつかの場合では、細胞内ドメインの放出は、細胞の遊走を調節する。い

くつかの場合では、細胞内ドメインの放出は、細胞からの分子の発現及び分泌を調節する。いくつかの場合では、細胞内ドメインの放出は、細胞の、第二の細胞へのまたは細胞外マトリックスへの接着を調節する。いくつかの場合では、細胞内ドメインの放出は、細胞における遺伝子産物のデノボ発現を誘導する。いくつかの場合では、細胞内ドメインの放出が、細胞における遺伝子産物のデノボ発現を誘導する場合、遺伝子産物は、転写活性化因子、転写抑制因子、キメラ抗原受容体、第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、翻訳調節因子、サイトカイン、ホルモン、ケモカイン、または抗体である。

【００１０】

本開示は、本明細書に記載のとおりの本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現する細胞の活性を調節する方法であって、細胞と特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを含み、ここで特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合が、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出され、細胞内ドメインが、細胞の活性を調節するエフェクターポリペプチドをコードする核酸の転写を誘導する転写因子である、前記方法を提供する。いくつかの場合では、前記接触は、ｉｎ　ｖｉｖｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏ、またはｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、第二の細胞の表面上にあるか、不溶性基体上に固定されているか、細胞外マトリックス中に存在するか、人工マトリックス中に存在するか、または可溶性である。いくつかの場合では、エフェクターポリペプチドは、アポトーシス誘導因子、アポトーシス抑制因子、活性化免疫受容体、抑制性免疫受容体、転写活性化因子、転写抑制因子、サイトカイン、成長因子、ホルモン、受容体、抗体、または部位特異的ヌクレアーゼである。

【００１１】

本開示は、細胞の活性を調節する方法であって、細胞と第一の特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを含み、該細胞が、ｉ）第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む、本明細書に記載のとおりの本開示の第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；及びｉｉ）少なくとも、第二の特異的結合対の第一のメンバーを含む本明細書に記載のとおりの本開示の第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現し、第一及び第二の特異的結合対が互いに異なり、第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインが、第一のエフェクター機能を提供し；第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインが、第一のエフェクター機能と異なる第二のエフェクター機能を提供し、放出された第一及び第二の細胞内ドメインが、細胞の活性を調節する、前記方法を提供する。いくつかの場合では、前記接触は、ｉｎ　ｖｉｖｏで実行される。いくつかの場合では、前記接触は、ｅｘ　ｖｉｖｏで実行される。いくつかの場合では、前記接触は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される。

【００１２】

本開示は、Ｔ細胞を活性化させる方法であって、本明細書に記載のとおりのＴ細胞（ここで、Ｔ細胞は、ｉ）本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；及びｉｉ）ＣＡＲをコードするヌクレオチド配列を含む１つまたは複数の核酸で遺伝子改変されている）と固定化抗原を接触させることを含み、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞外ドメインが、第一の抗原に特異的な抗体を含み、前記接触が、転写活性化因子の放出、及び細胞におけるＣＡＲの産生をもたらし、ＣＡＲが、第二の抗原の結合後にＴ細胞の活性化を提供する、前記方法を提供する。

【００１３】

本開示は、細胞の活性を調節する方法であって、細胞と第一の特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを含み、該細胞が、ｉ）第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む、本開示の第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；及びｉｉ）少なくとも、第二の特異的結合対の第一のメンバーを含む本開示の第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現し、第一及び第二の特異的結合対が互いに異なり、第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体をコードするヌクレオチド配列が、第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの

細胞内ドメインにより活性化または抑制される転写制御エレメントに作動可能に連結している、前記方法を提供する。いくつかの場合では、前記接触は、ｉｎ　ｖｉｖｏで実行される。いくつかの場合では、前記接触は、ｅｘ　ｖｉｖｏで実行される。いくつかの場合では、前記接触は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される。

【００１４】

本開示は、Ｔ細胞を活性化させる方法であって、本明細書に記載のとおりのＴ細胞（ここで、Ｔ細胞は、ｉ）本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；及びｉｉ）ＣＡＲをコードするヌクレオチド配列を含む１つまたは複数の核酸で遺伝子改変されており、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、転写活性化因子である）と固定化抗原を接触させることを含み、キメラポリペプチドの細胞外ドメインが、第一の抗原に特異的な抗体を含み、前記接触が、転写活性化因子の放出、及び細胞におけるＣＡＲの産生をもたらし、ＣＡＲが、第二の抗原の結合後にＴ細胞の活性化を提供する、前記方法を提供する。

【００１５】

本開示は、細胞の活性を調節する方法であって、細胞と表面上に固定されている抗原を接触させることを含み、該細胞が、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現し、特異的結合対の第一のメンバーが抗原と結合し、前記接触が、細胞内ドメインの放出及び細胞の活性の調節をもたらす、前記方法を提供する。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、細胞の分化を調節する転写因子である。

【００１６】

本開示は、細胞の活性を局所的に調節する方法であって、細胞内で、特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含む結合誘発型転写スイッチを発現させること；及び該細胞と特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを含み、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合が、細胞内ドメインを活性化するための結合シグナルを伝達するように結合トランスデューサを誘導し、それにより、活性化した細胞内ドメインが産生され、活性化した細胞内ドメインが、細胞の遺伝子産物の発現、細胞の増殖、細胞のアポトーシス、細胞の非アポトーシス性死、細胞の分化、細胞の脱分化、細胞の遊走、細胞からの分子の分泌及び細胞の細胞接着からなる群より選択される、細胞の活性を調節する、前記方法を提供する。

【００１７】

いくつかの場合では、活性化した細胞内ドメインは、細胞の内在性遺伝子産物の発現を調節する。

【００１８】

いくつかの場合では、細胞の内在性遺伝子産物は、ケモカイン、ケモカイン受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、分化因子、成長因子、成長因子受容体、ホルモン、代謝酵素、増殖誘導因子、受容体、小分子セカンドメッセンジャー合成酵素、Ｔ細胞受容体、転写活性化因子、転写抑制因子、転写活性化因子、転写抑制因子、翻訳調節因子、翻訳活性化因子、翻訳抑制因子、活性化免疫受容体、アポトーシス抑制因子、アポトーシス誘導因子、免疫活性化因子、免疫抑制因子及び抑制性免疫受容体からなる群より選択される。

【００１９】

いくつかの場合では、細胞の内在性遺伝子産物は、分泌された遺伝子産物である。いくつかの場合では、細胞の内在性遺伝子産物は、表面発現遺伝子産物である。いくつかの場合では、活性化された細胞内ドメインは、細胞の２つ以上の内在性遺伝子産物の発現を同時に調節する。いくつかの場合では、活性化した細胞内ドメインは、細胞の異種遺伝子産物の発現を調節する。

【００２０】

いくつかの場合では、細胞の異種遺伝子産物は、ケモカイン、ケモカイン受容体、キメラ抗原受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、分化因子、成長因子、成長因子受容

体、ホルモン、代謝酵素、病原体由来タンパク質、増殖誘導因子、受容体、ＲＮＡ誘導型ヌクレアーゼ、部位特異的ヌクレアーゼ、小分子セカンドメッセンジャー合成酵素、Ｔ細胞受容体、毒素由来タンパク質、転写活性化因子、転写抑制因子、転写活性化因子、転写抑制因子、翻訳調節因子、翻訳活性化因子、翻訳抑制因子、活性化免疫受容体、抗体、アポトーシス抑制因子、アポトーシス誘導因子、操作Ｔ細胞受容体、免疫活性化因子、免疫抑制因子、抑制性免疫受容体、ＲＮＡ誘導型ＤＮＡ結合タンパク質及び第二の結合誘発型転写スイッチからなる群より選択される。

【００２１】

いくつかの例では、細胞の異種遺伝子産物は、８０６、９Ｅ１０、３Ｆ８、８１Ｃ６、８Ｈ９、アバゴボマブ、アバタセプト、アブシキシマブ、アビツズマブ、アブリルマブ、アクトクスマブ、アダリムマブ、アデカツムマブ、アデュカヌマブ、アフェリモマブ、アフツズマブ、アラシズマブ・ペゴル、ＡＬＤ５１８、アレファセプト、アレムツズマブ、アリロクマブ、アルツモマブ・ペンテテート、アマツキシマブ、ＡＭＧ　１０２、アナツモマブ・マフェナトクス、アネツマブ・ラブタンシン、アニフロルマブ、アンルキンズマブ、アポリズマブ、アルシツモマブ、アスクリンバクマブ（Ａｓｃｒｉｎｖａｃｕｍａｂ）、アセリズマブ、アタシセプト、アテゾリズマブ、アチヌマブ、アトリズマブ／トシリズマブ、アトロリムマブ、ＡＶＥ１６４２、バピネオズマブ、バシリキシマブ、バビツキシマブ、ベクツモマブ、ベゲロマブ、ベリムマブ、ベンラリズマブ、ベルチリムマブ、ベシレソマブ、ベバシズマブ、ベズロトクスマブ、ビシロマブ、ビマグルマブ、ビメキズマブ（Ｂｉｍｅｋｉｚｕｍａｂ）、ビバツズマブ・メルタンシン、ブリナツモマブ、ブロソズマブ、ＢＭＳ－９３６５５９、ボコシズマブ、ブレンツキシマブ・ベドチン、ブリアキヌマブ、ブロダルマブ、ブロルシズマブ、ブロンチクツズマブ（Ｂｒｏｎｔｉｃｔｕｚｕｍａｂ）、カナキヌマブ、カンツズマブ・メルタンシン、カンツズマブ・ラブタンシン、カプラシズマブ、カプロマブ・ペンデチド、カルルマブ、カツマクソマブ、ｃＢＲ９６－ドキソルビシン免疫複合体、ＣＣ４９、ＣＤＰ７９１、セデリズマブ、セルトリズマブ・ペゴル、セツキシマブ、ｃＧ２５０、Ｃｈ．１４．１８、シタツズマブ・ボガトクス、シクスツムマブ、クラザキズマブ、クレノリキシマブ、クリバツズマブ・テトラキセタン、コドリツズマブ、コルツキシマブ・ラブタンシン（Ｃｏｌｔｕｘｉｍａｂ　ｒａｖｔａｎｓｉｎｅ）、コナツムマブ、コンシズマブ、ＣＰ　７５１８７１、ＣＲ６２６１、クレネズマブ、ＣＳ－１００８、ダセツズマブ、ダクリズマブ、ダロツズマブ、ダピロリズマブ・ペゴル（Ｄａｐｉｒｏｌｉｚｕｍａｂ　ｐｅｇｏｌ）、ダラツムマブ、デクトレクマブ（Ｄｅｃｔｒｅｋｕｍａｂ）、デムシズマブ、デニンツズマブ・マホドチン（Ｄｅｎｉｎｔｕｚｕｍａｂ　ｍａｆｏｄｏｔｉｎ）、デノスマブ、デルロツキシマブ・ビオチン（Ｄｅｒｌｏｔｕｘｉｍａｂ　ｂｉｏｔｉｎ）、デツモマブ、ジヌツキシマブ、ジリダブマブ、ドルリモマブ・アリトクス、ドロジツマブ、デュリゴツマブ、デュピルマブ、デュルバルマブ、デュシジツマブ、エクロメキシマブ、エクリズマブ、エドバコマブ、エドレコロマブ、エファリズマブ、エフングマブ、エルデルマブ、エルゲムツマブ（Ｅｌｇｅｍｔｕｍａｂ）、エロツズマブ、エルシリモマブ、エマクツズマブ（Ｅｍａｃｔｕｚｕｍａｂ）、エミベツズマブ、エナバツズマブ、エンフォルツマブ・ベドチン、エンリモマブ・ペゴル、エノブリツズマブ（Ｅｎｏｂｌｉｔｕｚｕｍａｂ）、エノキズマブ、エノチクマブ、エンシツキシマブ、エピツモマブ・シツキセタン、エプラツズマブ、エルリズマブ、エルツマクソマブ、エタネルセプト、エタラシズマブ、エトロリズマブ、エビナクマブ、エボロクマブ、エクスビビルマブ、Ｆ１９、ファノレソマブ、ファラリモマブ、ファーレツズマブ、ファシヌマブ、ＦＢＴＡ０５、フェルビズマブ、フェザキヌマブ、フィクラツズマブ、フィジツムマブ、フィリブマブ（Ｆｉｒｉｖｕｍａｂ）、フランボツマブ、フレチクマブ、フォントリズマブ、フォラルマブ、フォラビルマブ、フレソリムマブ、フルラヌマブ、フツキシマブ、ガリキシマブ、ガニツマブ、ガンテネルマブ、ガビリモマブ、ゲムツズマブ・オゾガマイシン、ゲボキズマブ、ギレンツキシマブ、グレムバツムマブ・ベドチン、ゴリムマブ、ゴミリキシマブ、グセルクマブ、ＨＧＳ－ＥＴＲ２、ｈｕ３Ｓ１９３、ｈｕＡ３３、イバリズマブ、イブリツモマブ・チウキセタン、イクルクマブ、イダルシズ

マブ、ＩＧＮ１０１、ＩｇＮ３１１、イゴボマブ、ＩＩＩＡ４、ＩＭ－２Ｃ６、ＩＭＡＢ３６２、イマルマブ（Ｉｍａｌｕｍａｂ）、ＩＭＣ－Ａ１２、イムシロマブ、イムガツズマブ、インクラクマブ、インダツキシマブ・ラブタンシン、インデュサツマブ・ベドチン（Ｉｎｄｕｓａｔｕｍａｂ　ｖｅｄｏｔｉｎ）、インフリキシマブ、イノリモマブ、イノツズマブ・オゾガマイシン、インテツムマブ、イピリムマブ、イラツムマブ、イサツキシマブ、イトリズマブ、イクセキズマブ、Ｊ５９１、ＫＢ００４、ケリキシマブ、ＫＷ－２８７１、ラベツズマブ、ラムブロリズマブ、ラムパリズマブ、レブリキズマブ、レマレソマブ、レンジルマブ（Ｌｅｎｚｉｌｕｍａｂ）、レルデリムマブ、レキサツムマブ、リビビルマブ、リファスツズマブ・ベドチン、リゲリズマブ、リロトマブ・サテトラキセタン（Ｌｉｌｏｔｏｍａｂ　ｓａｔｅｔｒａｘｅｔａｎ）、リンツズマブ、リリルマブ、ロデルシズマブ、ロキベトマブ（Ｌｏｋｉｖｅｔｍａｂ）、ロルボツズマブ・メルタンシン、ルカツムマブ、ルリズマブ・ペゴル、ルミリキシマブ、ルムレツズマブ（Ｌｕｍｒｅｔｕｚｕｍａｂ）、マパツムマブ、マルゲツキシマブ、マスリモマブ、マツズマブ、マブリリムマブ、ＭＥＤＩ４７３６、メポリズマブ、メテリムマブ、ＭＥＴＭＡＢ、ミラツズマブ、ミンレツモマブ、ミルベツキシマブ・ソラブタンシン（Ｍｉｒｖｅｔｕｘｉｍａｂ　ｓｏｒａｖｔａｎｓｉｎｅ）、ミツモマブ、ＭＫ－０６４６、ＭＫ－３４７５、ＭＭ－１２１、モガムリズマブ、ＭＯＲＡｂ－００３、モロリムマブ、モタビズマブ、ＭＯｖ１８、モキセツモマブ・パスドトクス、ＭＰＤＬ３３２８０Ａ、ムロモナブＣＤ３、ナコロマブ・タフェナトクス、ナミルマブ、ナプツモマブ・エスタフェナトクス、ナルナツマブ、ナタリズマブ、ネバクマブ、ネシツムマブ、ネモリズマブ、ネレリモマブ、ネスバクマブ、ニモツズマブ、ニボルマブ、ノフェツモマブ・メルペンタン、オビルトキサキシマブ、オビヌツズマブ、オカラツズマブ、オクレリズマブ、オヅリモマブ、オファツムマブ、オララツマブ、オロキズマブ、オマリズマブ、オナルツズマブ、オンツキシズマブ、オピシヌマブ、オポルツズマブ・モナトクス、オレゴボマブ、オルチクマブ、オテリキシズマブ、オトレルツズマブ、オキセルマブ、オザネズマブ、オゾラリズマブ、パギバキシマブ、パリビズマブ、パニツムマブ、パンコマブ（Ｐａｎｋｏｍａｂ）、パノバクマブ、パルサツズマブ、パスコリズマブ、パソツキシズマブ、パテクリズマブ、パトリツマブ、ペムブロリズマブ、ペムツモマブ、ペラキズマブ、ペルツズマブ、ペキセリズマブ、ピジリズマブ、ピナツズマブ・ベドチン、ピンツモマブ、プラクルマブ、ポラツズマブ・ベドチン、ポネズマブ、プリリキシマブ、プリトキサキシマブ、プリツムマブ、ＰＲＯ　１４０、キリズマブ、Ｒ１５０７、ラコツモマブ、ラドレツマブ、ラフィビルマブ、ラルパンシズマブ（Ｒａｌｐａｎｃｉｚｕｍａｂ）、ラムシルマブ、ラニビズマブ、ラキシバクマブ、レファネズマブ（Ｒｅｆａｎｅｚｕｍａｂ）、レガビルマブ、レスリズマブ、リロツムマブ、リヌクマブ（Ｒｉｎｕｃｕｍａｂ）、リツキシマブ、ロバツムマブ、ロレヅマブ、ロモソズマブ、ロンタリズマブ、ロベリズマブ、ルプリズマブ、サシツズマブ・ゴビテカン、サマリズマブ、サリルマブ、サツモマブ・ペンデチド、ＳＣＨ　９００１０５、セクキヌマブ、セリバンツマブ、セトキサキシマブ、セビルマブ、ＳＧＮ－ＣＤ１９Ａ、ＳＧＮ－ＣＤ３３Ａ、シブロツズマブ、シファリムマブ、シルツキシマブ、シムツズマブ、シプリズマブ、シルクマブ、ソフィツズマブ・ベドチン、ソラネズマブ、ソリトマブ、ソネプシズマブ、ソンツズマブ、スタムルマブ、スレソマブ、スビズマブ、タバルマブ、タカツズマブ・テトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、タネズマブ、タプリツモマブ・パプトクス、タレクスツマブ、テフィバズマブ、テリモマブ・アリトクス、テナツモマブ、テネリキシマブ、テプリズマブ、テプロツムマブ、テシドルマブ、テツロマブ（Ｔｅｔｕｌｏｍａｂ）、ＴＧＮ１４１２、チシリムマブ／トレメリムマブ、チガツズマブ、チルドラキズマブ、ＴＮＸ－６５０、トシリズマブ、トラリズマブ、トサトクスマブ（Ｔｏｓａｔｏｘｕｍａｂ）、トシツモマブ、トベツマブ、トラロキヌマブ、トラスツズマブ、ＴＲＢＳ０７、トレガリズマブ、トレメリムマブ、トレボグルマブ（Ｔｒｅｖｏｇｒｕｍａｂ）、ツコツズマブ・セルモロイキン、ツビルマブ、ウブリツキシマブ、ウロクプルマブ（Ｕｌｏｃｕｐｌｕｍａｂ）、ウレルマブ、ウルトキサズマブ、ウステキヌマブ、バンドルツズマブ・ベドチン、バンチクツマブ、バヌシズマブ、ババリキシマブ、バルリルマブ、バテ

リズマブ、ベドリズマブ、ベルツズマブ、ベパリモマブ、ベセンクマブ、ビジリズマブ、ボロシキシマブ、ボルセツズマブ・マホドチン、ボツムマブ、ザルツムマブ、ザノリムマブ、ザツキシマブ、ジラリムマブ及びゾリモマブ・アリトクスからなる群より選択される、抗体である。

【００２２】

いくつかの場合では、細胞の異種遺伝子産物は、分泌された遺伝子産物である。いくつかの場合では、細胞の異種遺伝子産物は、表面発現遺伝子産物である。いくつかの場合では、活性化した細胞内ドメインは、細胞の２つ以上の異種遺伝子産物の発現を同時に調節する。いくつかの場合では、接触は、ｉｎ　ｖｉｖｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏ、またはｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される。

【００２３】

いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、第二の細胞の表面上にあるか、不溶性基体上に固定されているか、細胞外マトリックス中に存在するか、人工マトリックス中に存在するか、または可溶性である。いくつかの場合では、細胞内転写因子は、細胞の分化を直接調節する。いくつかの場合では、転写因子は、細胞の分化を、第二の転写因子の発現を調節することにより間接的に調節する。

【００２４】

いくつかの場合では、細胞は、免疫細胞であり、細胞の活性は、免疫細胞の分化である。いくつかの場合では、細胞は、免疫細胞であり、細胞内ドメインは、細胞の分化を調節する転写因子であり、細胞の活性は、免疫細胞の分化である。いくつかの場合では、転写因子は、免疫細胞の分化を直接調節する。いくつかの場合では、転写因子は、免疫細胞の分化を、第二の転写因子の発現を調節することにより間接的に調節する。

【００２５】

いくつかの場合では、細胞は、幹細胞であり、細胞の活性は、幹細胞の分化である。いくつかの場合では、細胞は、始原細胞または前駆細胞であり、細胞の活性は、始原細胞または前駆細胞の分化である。

【００２６】

いくつかの場合では、細胞内ドメインの活性化は、細胞の内在性遺伝子の発現を、転写調節、クロマチン制御、翻訳、トラフィッキングまたは翻訳後プロセシングを通して調節する。いくつかの場合では、細胞内ドメインの活性化は、細胞の、第二の細胞へのまたは細胞外マトリックスへの細胞接着を調節する。

【００２７】

いくつかの場合では、結合トランスデューサは、リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含み、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、結合トランスデューサのリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより、前記結合シグナルが伝達されかつ、細胞内ドメインが、細胞内ドメインをタンパク質分解的に放出することによって活性化される。

【００２８】

本開示は、細胞の活性を調節する方法であって、細胞と第一の特異的結合対の第二のメンバー及び第二の特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを含み、該細胞が、

ｉ）第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含む第一の結合誘発型転写スイッチ；及び

ｉｉ）少なくとも、第二の特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含む第二の結合誘発型転写スイッチ

を発現し；第一の結合誘発型転写スイッチの細胞内ドメインが、第一のエフェクター機能を提供し、第二の結合誘発型転写スイッチの細胞内ドメインが、第一のエフェクター機能と異なる第二のエフェクター機能を提供し、この時、第一及び第二の特異的結合対の第一及び第二のメンバーの結合が、第一及び第二の細胞内ドメインを活性化するための結合シグナルを伝達するように結合トランスデューサを誘導する、前記方法を提供する。

【００２９】

いくつかの場合では、第一の結合誘発型転写スイッチの細胞内ドメインのエフェクター機能は、細胞の遺伝子産物の発現を調節する。

【００３０】

いくつかの場合では、細胞の遺伝子産物は、細胞の内在性遺伝子産物である。いくつかの場合では、細胞の遺伝子産物は、細胞の異種遺伝子産物である。いくつかの場合では、細胞の遺伝子産物は、ケモカイン、ケモカイン受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、分化因子、成長因子、成長因子受容体、ホルモン、代謝酵素、増殖誘導因子、受容体、小分子セカンドメッセンジャー合成酵素、Ｔ細胞受容体、転写活性化因子、転写抑制因子、転写活性化因子、転写抑制因子、翻訳調節因子、翻訳活性化因子、翻訳抑制因子、活性化免疫受容体、アポトーシス抑制因子、アポトーシス誘導因子、免疫活性化因子、免疫抑制因子及び抑制性免疫受容体からなる群より選択される細胞の遺伝子産物である。

【００３１】

いくつかの場合では、第二の結合誘発型転写スイッチの細胞内ドメインのエフェクター機能は、細胞の遺伝子産物の発現を調節する。いくつかの場合では、細胞の遺伝子産物は、細胞の内在性遺伝子産物である。いくつかの場合では、細胞の遺伝子産物は、細胞の異種遺伝子産物である。

【００３２】

いくつかの場合では、細胞の遺伝子産物は、ケモカイン、ケモカイン受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、分化因子、成長因子、成長因子受容体、ホルモン、代謝酵素、増殖誘導因子、受容体、小分子セカンドメッセンジャー合成酵素、Ｔ細胞受容体、転写活性化因子、転写抑制因子、転写活性化因子、転写抑制因子、翻訳調節因子、翻訳活性化因子、翻訳抑制因子、活性化免疫受容体、アポトーシス抑制因子、アポトーシス誘導因子、免疫活性化因子、免疫抑制因子及び抑制性免疫受容体からなる群より選択される。

【００３３】

いくつかの場合では、第一及び第二の結合誘発型転写スイッチの結合トランスデューサのうちの少なくとも１つが、リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含み、それぞれの特異的結合対の第一及び第二のメンバーの結合が、結合トランスデューサのリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより、結合シグナルが伝達されかつ、それぞれの細胞内ドメインが、細胞内ドメインをタンパク質分解的に放出することによって活性化される。

【００３４】

いくつかの場合では、第一及び第二の結合誘発型転写スイッチの結合トランスデューサは両方とも、リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む。

【００３５】

いくつかの例では、該方法は、細胞と、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合を競合的に阻害する可溶性阻害分子とを接触させることをさらに含み、それにより、細胞内ドメインを活性化させるための結合シグナルを伝達するように結合トランスデューサを誘導することを防ぎ、細胞と可溶性阻害分子の接触が、可溶性阻害分子を第一の細胞に適用もしくは投与すること、及び／または細胞を、可溶性阻害分子を発現する第二の細胞の存在下に置くことを含む。いくつかの例では、第二の細胞は、可溶性阻害分子を構成的に発現する。いくつかの例では、第二の細胞は、可溶性阻害分子を条件的に発現する。

【００３６】

本開示は、細胞の活性を調節する方法であって、細胞と第一の特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを含み、該細胞が、ｉ）第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含む第一の結合誘発型転写スイッチ；及びｉｉ）少なくとも、第二の特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含む第二の結合誘発型転写スイッチを発現し、第二の結合誘発型転写スイッチをコードするヌクレオチド配列が、第一の結合誘発型転写スイッチの細胞内ドメインにより活性化または抑制される転写制

御エレメントに作動可能に連結している、前記方法を提供する。
【００３７】
いくつかの場合では、接触は、ｉｎ ｖｉｖｏ、ｅｘ ｖｉｖｏ、またはｉｎ ｖｉｔｒｏで実行される。いくつかの場合では、第一の特異的結合対の第二のメンバーは、第二の細胞の表面上にあるか、不溶性基体上に固定されているか、細胞外マトリックス中に存在するか、人工マトリックス中に存在するか、または可溶性である。
【００３８】
いくつかの場合では、第二の結合誘発型転写スイッチの細胞内ドメインの活性化は、細胞の遺伝子産物の発現、細胞の増殖、細胞のアポトーシス、細胞の非アポトーシス性死、細胞の分化、細胞の脱分化、細胞の遊走、細胞からの分子の分泌及び細胞の細胞接着からなる群より選択される、細胞の活性を調節する。
【００３９】
いくつかの場合では、細胞の活性は、細胞の遺伝子産物の発現である。いくつかの場合では、細胞の遺伝子産物は、ケモカイン、ケモカイン受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、分化因子、成長因子、成長因子受容体、ホルモン、代謝酵素、増殖誘導因子、受容体、小分子セカンドメッセンジャー合成酵素、Ｔ細胞受容体、転写活性化因子、転写抑制因子、転写活性化因子、転写抑制因子、翻訳調節因子、翻訳活性化因子、翻訳抑制因子、活性化免疫受容体、アポトーシス抑制因子、アポトーシス誘導因子、免疫活性化因子、免疫抑制因子及び抑制性免疫受容体からなる群より選択される、細胞の遺伝子産物である。
【００４０】
いくつかの場合では、第一及び第二の結合誘発型転写スイッチの結合トランスデューサのうちの少なくとも１つは、リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含み、それぞれの特異的結合対の第一及び第二のメンバーの結合が、結合トランスデューサのリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより、結合シグナルが伝達されかつ、それぞれの細胞内ドメインが、細胞内ドメインをタンパク質分解的に放出することによって活性化される。
【００４１】
本開示は、細胞間接触を追跡する方法であって、第一の複数の細胞の各細胞において、特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含む結合誘発型転写スイッチを発現させること；第二の複数の細胞の各細胞において、特異的結合対の第二のメンバーを発現させること；及び第一の複数の細胞と第二の複数の細胞を接触させることを含み、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合が、結合誘発型転写スイッチの結合シグナルを伝達するように結合トランスデューサを誘導し、それにより細胞内ドメインが活性化され、細胞内ドメインの活性化が、空間的な、時間的な、またはその組み合わせにおける細胞間接触を追跡するのに十分な検出可能レポーターの発現を誘導する、前記方法を提供する。
【００４２】
いくつかの場合では、第一の複数の細胞、第二の複数の細胞または両方は、ニューロンである。いくつかの場合では、結合トランスデューサは、リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含み、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合が、結合トランスデューサのリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより、結合シグナルが伝達されかつ、細胞内ドメインが、細胞内ドメインをタンパク質分解的に放出することによって活性化ささされる。
【００４３】
いくつかの場合では、上及び本明細書に記載のものを含む結合誘発型転写スイッチは、ＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドである。
【００４４】
本開示は、局在性細胞活性化システムであって、第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含む発現された

結合誘発型転写スイッチ；及び第一の結合誘発型転写スイッチの細胞内ドメインにより誘導される転写制御エレメントに作動可能に連結した、第二の特異的結合対の第一のメンバーを含む結合誘発型活性化ポリペプチドをコードする核酸を含む細胞を含み、第一の特異的結合対の第二のメンバーとの接触の際に、結合誘発型活性化ポリペプチドが発現され、第二の特異的結合対の第二のメンバーとの接触の際に、結合誘発型活性化ポリペプチドが細胞を活性化させる、前記システムも提供する。

【００４５】

いくつかの場合では、細胞は、免疫細胞、始原細胞または前駆細胞、幹細胞及びニューロンからなる群より選択される。いくつかの場合では、細胞は、免疫細胞であり、結合誘発型転写スイッチは、抗原誘発型転写スイッチであり、結合誘発型活性化ポリペプチドは、抗原誘発型活性化ポリペプチドであり、第一の特異的結合対の第二のメンバーとの接触の際に、抗原誘発型活性化ポリペプチドが発現され、第二の特異的結合対の第二のメンバーとの接触の際に、抗原誘発型活性化ポリペプチドが免疫細胞を活性化させて、第二の特異的結合対の第一のメンバーを発現する標的細胞を認識する。

【００４６】

いくつかの場合では、抗原誘発型活性化ポリペプチドは、キメラ抗原受容体またはその変異体である。いくつかの場合では、抗原誘発型活性化ポリペプチドは、操作されたＴ細胞受容体またはその変異体である。いくつかの場合では、発現された結合誘発型転写スイッチは、ＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドである。

【００４７】

本開示は、細胞の活性を局所的に調節する方法であって、第一の細胞において、結合トランスデューサと、細胞内ドメインと、可溶性アダプター分子上の第一のエピトープと特異的に結合する第一のアダプター結合ドメインを含む第一の細胞外ドメインとを含む、結合誘発型転写スイッチを発現させること；第一の細胞と、ｉ）可溶性アダプター分子上の第二のエピトープと特異的に結合する第二のアダプター結合ドメインを含む第二の細胞外ドメインを発現する第二の細胞；及びｉｉ）有効濃度の可溶性アダプター分子を接触させることを含み、第一のアダプター結合ドメイン及び第二のアダプター結合ドメインの、アダプター分子への結合が、細胞内ドメインを活性化するための結合シグナルを伝達するように結合トランスデューサを誘導し、それにより、活性化した細胞内ドメインが産生され、活性化した細胞内ドメインが、細胞の遺伝子産物の発現、細胞の増殖、細胞のアポトーシス、細胞の非アポトーシス性死、細胞の分化、細胞の脱分化、細胞の遊走、細胞からの分子の分泌及び細胞の細胞接着からなる群より選択される第一の細胞の活性を調節する、前記方法を提供する。いくつかの例では、接触は、可溶性アダプター分子を細胞にｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｅｘ　ｖｉｖｏで適用することまたは可溶性アダプター分子を細胞にｉｎ　ｖｉｖｏで投与することを含む。いくつかの例では、第一の細胞と有効濃度の可溶性アダプター分子を接触させることは、第一の細胞を、アダプター分子を発現する第三の細胞の存在下に置くことを含み、第三の細胞は、アダプター分子を構成的にまたは条件的に発現する。いくつかの例では、第一の細胞外ドメイン及び可溶性アダプター分子は、特異的結合対の第一及び第二のメンバーである。いくつかの例では、第二の細胞外ドメイン及び可溶性アダプター分子は、特異的結合対の第一及び第二のメンバーである。いくつかの例では、第一の細胞外ドメイン及び第二の細胞外ドメインは、抗体またはナノボディである。いくつかの例では、細胞内ドメインは、転写因子である。いくつかの例では、活性化した細胞内ドメインは、第一の細胞の内在性遺伝子産物または異種遺伝子産物の発現を調節する。いくつかの例では、結合トランスデューサは、リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含み、第一の細胞外ドメイン及び第二の細胞外ドメインの、可溶性アダプター分子への結合が、結合トランスデューサのリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより、結合シグナルが伝達されかつ、細胞内ドメインが、細胞内ドメインをタンパク質分解的に放出することによって活性化される。

【００４８】

本開示は、第一の抗原に応答する第一の結合誘発型転写スイッチをコードする核酸；第

一の結合誘発型転写スイッチに応答し、かつ特異的結合対の第一のメンバーに特異的に結合する細胞外ドメインを含むＣＡＲをコードする核酸に作動可能に連結している、第一のプロモーター；第二の抗原に応答する第二の結合誘発型転写スイッチをコードする核酸；及び第二の結合誘発型転写スイッチに応答し、かつ細胞内ＣＡＲ阻害ドメインをコードする核酸に作動可能に連結している、第二のプロモーターを含み、第二の抗原の存在下で、細胞内ＣＡＲ阻害ドメインが発現されてＣＡＲによる細胞の活性化が阻害され、第一の抗原の存在下かつ第二の抗原の非存在下で、特異的結合対の第二のメンバーによりＣＡＲが発現されて活性化可能である、前記宿主細胞を提供する。

【００４９】

本開示は、第一の抗原に応答する第一の結合誘発型転写スイッチをコードする核酸；第一の結合誘発型転写スイッチに応答し、かつ特異的結合対の第一のメンバーに特異的に結合する細胞外ドメインを含むＣＡＲの第一の部分をコードする核酸に作動可能に連結している、第一のプロモーター；第二の抗原に応答する第二の結合誘発型転写スイッチをコードする核酸；及び第二の結合誘発型転写スイッチに応答し、かつ細胞内シグナル伝達ドメインを含むＣＡＲの第二の部分をコードする核酸に作動可能に連結している、第二のプロモーターを含み、第一の抗原及び第二の抗原の存在下で、ＣＡＲの第一及び第二の部分が発現され、ＣＡＲが特異的結合対の第二のメンバーにより活性化可能である、宿主細胞を提供する。いくつかの例では、細胞は、第三の抗原に応答する第三の結合誘発型転写スイッチをコードする核酸；及び第三の結合誘発型転写スイッチに応答し、かつ細胞内ＣＡＲ阻害ドメインをコードする核酸に作動可能に連結している、第三のプロモーターをさらに含み、第三の抗原の存在下で、細胞内ＣＡＲ阻害ドメインが発現されてＣＡＲによる細胞の活性化が阻害される。

[本発明1001]

Ｎ末端からＣ末端に向かって、共有結合状態で、

ａ）特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメイン；

ｂ）５０アミノ酸～１０００アミノ酸の長さを有し、かつ１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；及び

ｃ）細胞内ドメイン

を含み、

前記特異的結合対の前記第一のメンバーが、前記Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドに対して異種であり、前記特異的結合対の前記第一のメンバーの、前記特異的結合対の第二のメンバーへの結合が、前記Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの前記１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより前記細胞内ドメインが放出される、キメラポリペプチド。

[本発明1002]

前記Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドが、３００アミノ酸～４００アミノ酸の長さを有する、本発明1001のキメラポリペプチド。

[本発明1003]

前記細胞外ドメインと前記Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの間に介在するリンカーを含む、本発明1001または本発明1002のキメラポリペプチド。

[本発明1004]

前記細胞内ドメインが、転写活性化因子である、本発明1001～1003のいずれかのキメラポリペプチド。

[本発明1005]

前記細胞内ドメインが、転写抑制因子である、本発明1001～1003のいずれかのキメラポリペプチド。

[本発明1006]

前記細胞内ドメインが、部位特異的ヌクレアーゼである、本発明1001～1003のいずれかのキメラポリペプチド。

[本発明1007]

前記部位特異的ヌクレアーゼが、Ｃａｓ９ポリペプチドである、本発明1006のキメラポリペプチド

[本発明1008]

前記細胞内ドメインが、リコンビナーゼである、本発明1001～1003のいずれかのキメラポリペプチド。

[本発明1009]

前記細胞内ドメインが、抑制性免疫受容体である、本発明1001～1003のいずれかのキメラポリペプチド。

[本発明1010]

前記細胞内ドメインが、活性化免疫受容体である、本発明1001～1003のいずれかのキメラポリペプチド。

[本発明1011]

前記特異的結合対の前記第一のメンバーが、抗体をベースとする認識足場を含む、本発明1001～1010のいずれかのキメラポリペプチド。

[本発明1012]

前記特異的結合対の前記第一のメンバーが、抗体を含む、本発明1001～1010のいずれかのキメラポリペプチド。

[本発明1013]

前記抗体が、腫瘍特異的抗原、疾患関連抗原、病原体関連抗原、自己免疫疾患関連抗原、または細胞外マトリックス成分と特異的に結合する、本発明1012のキメラポリペプチド。

[本発明1014]

前記抗体が、細胞表面抗原、可溶性抗原、または不溶性基体上に固定された抗原と特異的に結合する、本発明1012のキメラポリペプチド。

[本発明1015]

前記抗体が、一本鎖Ｆｖである、本発明1012のキメラポリペプチド。

[本発明1016]

前記特異的結合対の前記第一のメンバーが、ナノボディ、単一ドメイン抗体、ダイアボディ、トリアボディ、またはミニボディである、本発明1011のキメラポリペプチド。

[本発明1017]

前記特異的結合対の前記第一のメンバーが、非抗体をベースとする認識足場である、本発明1001～1010のいずれかのキメラポリペプチド。

[本発明1018]

前記非抗体をベースとする認識足場が、アビマー、ＤＡＲＰｉｎ、アドネクチン、アビマー、アフィボディ、アンチカリン、またはアフィリンである、本発明1017のキメラポリペプチド。

[本発明1019]

前記特異的結合対の前記第一のメンバーが、抗原である、本発明1001～1010のいずれかのキメラポリペプチド。

[本発明1020]

前記抗原が、内在性抗原である、本発明1019のキメラポリペプチド。

[本発明1021]

前記抗原が、外来性抗原である、本発明1019のキメラポリペプチド。

[本発明1022]

前記特異的結合対の前記第一のメンバーが、受容体に対するリガンドである、本発明1001～1010のいずれかのキメラポリペプチド。

[本発明1023]

前記特異的結合対の前記第一のメンバーが、受容体である、本発明1001～1010のいずれかのキメラポリペプチド。

[本発明1024]

前記特異的結合対の前記第一のメンバーが、細胞接着分子である、本発明1001～1010のいずれかのキメラポリペプチド。
[本発明1025]
前記特異的結合対の前記第一のメンバーが、第一の二量体化ドメインを含み、前記特異的結合対の前記第二のメンバーが、第二の二量体化ドメインを含む、本発明1001～1010のいずれかのキメラポリペプチド。
[本発明1026]
前記第一の二量体化ドメインの、前記第二の二量体化ドメインへの結合が、小分子二量体化剤により誘導される、本発明1025のキメラポリペプチド。
[本発明1027]
前記第一の二量体化ドメインの、前記第二の二量体化ドメインへの結合が、光により誘導される、本発明1025のキメラポリペプチド。
[本発明1028]
前記Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドが、図２Ａ～２Ｇに示すアミノ酸配列のいずれか１つに対して、少なくとも７５％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1001～1027のいずれかのキメラポリペプチド。
[本発明1029]
前記１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位が、Ｓ１、Ｓ２、及びＳ３タンパク質分解切断部位から選択される、本発明1001～1028のいずれかのキメラポリペプチド。
[本発明1030]
前記Ｓ１タンパク質分解切断部位が、アミノ酸配列Ａｒｇ－Ｘ－（Ａｒｇ／Ｌｙｓ）－Ａｒｇを含むフューリン様プロテアーゼ切断部位であり、ここでＸは任意のアミノ酸である、本発明1029のキメラポリペプチド。
[本発明1031]
前記Ｓ２タンパク質分解切断部位が、Ａｌａ－Ｖａｌジペプチド配列を含むＡＤＡＭ－１７型プロテアーゼ切断部位である、本発明1029のキメラポリペプチド。
[本発明1032]
前記Ｓ３タンパク質分解切断部位が、Ｇｌｙ－Ｖａｌジペプチド配列を含むγ－セクレターゼ切断部位である、本発明1029のキメラポリペプチド。
[本発明1033]
本発明1001～1032のいずれかのキメラポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、核酸。
[本発明1034]
本発明1001～1032のいずれかのキメラポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、組換え発現ベクター。
[本発明1035]
本発明1033の核酸または本発明1034の発現ベクターで遺伝子改変された宿主細胞。
[本発明1036]
真核細胞である、本発明1035の宿主細胞。
[本発明1037]
哺乳類細胞である、本発明1036の宿主細胞。
[本発明1038]
免疫細胞、ニューロン、上皮細胞、及び内皮細胞、または幹細胞である、本発明1037の宿主細胞。
[本発明1039]
前記免疫細胞が、Ｔ細胞、Ｂ細胞、単球、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、マクロファージ、制御性Ｔ細胞、ヘルパーＴ細胞、または細胞傷害性Ｔ細胞である、本発明1038の宿主細胞。
[本発明1040]

キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）またはＴ細胞受容体（ＴＣＲ）をコードするヌクレオチド配列を含む核酸で遺伝子改変されており、前記キメラポリペプチドの前記細胞内ドメインが、転写活性化因子である、本発明1035～1039のいずれかの宿主細胞。

[本発明1041]

前記ＣＡＲまたは前記ＴＣＲをコードする前記ヌクレオチド配列が、前記キメラポリペプチドの前記細胞内ドメインにより活性化される転写制御エレメントに作動可能に連結している、本発明1040の宿主細胞。

[本発明1042]

本発明1001～1032のいずれかのキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現する細胞の活性を調節する方法であって、

前記細胞と前記特異的結合対の第二のメンバーを接触させること

を含み、前記特異的結合対の前記第一のメンバーの、前記特異的結合対の前記第二のメンバーへの結合が、前記Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの前記１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより前記細胞内ドメインが放出され、前記細胞内ドメインの放出が、前記細胞の活性を調節する、前記方法。

[本発明1043]

前記接触が、ｉｎ　ｖｉｖｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏ、またはｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される、本発明1042の方法。

[本発明1044]

前記特異的結合対の前記第二のメンバーが、第二の細胞の表面上にあるか、不溶性基体上に固定されているか、細胞外マトリックス中に存在するか、人工マトリックス中に存在するか、または可溶性である、本発明1042の方法。

[本発明1045]

前記細胞内ドメインの放出が、前記細胞の増殖を調節する、本発明1042の方法。

[本発明1046]

前記細胞内ドメインの放出が、前記細胞におけるアポトーシスを調節する、本発明1042の方法。

[本発明1047]

前記細胞内ドメインの放出が、アポトーシス以外の機構による細胞死を誘導する、本発明1042の方法。

[本発明1048]

前記細胞内ドメインの放出が、前記細胞における遺伝子発現を、転写調節、クロマチン制御、翻訳、トラフィッキングまたは翻訳後プロセシングを通して調節する、本発明1042の方法。

[本発明1049]

前記細胞内ドメインの放出が、前記細胞の分化を調節する、本発明1042の方法。

[本発明1050]

前記細胞内ドメインの放出が、前記細胞の遊走を調節する、本発明1042の方法。

[本発明1051]

前記細胞内ドメインの放出が、前記細胞からの分子の発現及び分泌を調節する、本発明1042の方法。

[本発明1052]

前記細胞内ドメインの放出が、前記細胞の、第二の細胞へのまたは細胞外マトリックスへの接着を調節する、本発明1042の方法。

[本発明1053]

前記細胞内ドメインの放出が、前記細胞における遺伝子産物のデノボ発現を誘導するまたは発現を調節する、本発明1042の方法。

[本発明1054]

前記遺伝子産物が、転写活性化因子、転写抑制因子、キメラ抗原受容体、第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、翻訳調節因子、サイトカイン、ホルモン、ケモカイン、

または抗体である、本発明1053の方法。
[本発明1055]
本発明1001～1032のいずれかのキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現する細胞の活性を調節する方法であって、
前記細胞と前記特異的結合対の第二のメンバーを接触させること
を含み、ここで前記特異的結合対の前記第一のメンバーの、前記特異的結合対の前記第二のメンバーへの結合が、前記Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの前記１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより前記細胞内ドメインが放出され、前記細胞内ドメインが、前記細胞の活性を調節するエフェクターポリペプチドをコードする核酸の転写を誘導する転写因子である、前記方法。
[本発明1056]
前記接触が、ｉｎ　ｖｉｖｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏ、またはｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される、本発明1055の方法。
[本発明1057]
前記特異的結合対の前記第二のメンバーが、第二の細胞の表面上にあるか、不溶性基体上に固定されているか、細胞外マトリックス中に存在するか、人工マトリックス中に存在するか、または可溶性である、本発明1055の方法。
[本発明1058]
前記エフェクターポリペプチドが、アポトーシス誘導因子、抑制因子にあるアポトーシス、活性化免疫受容体、抑制性免疫受容体、転写活性化因子、転写抑制因子、サイトカイン、成長因子、ホルモン、受容体、抗体、部位特異的ヌクレアーゼまたはリコンビナーゼである、本発明1055の方法。
[本発明1059]
細胞の活性を調節する方法であって、
前記細胞と第一の特異的結合対の第二のメンバーを接触させること
を含み、前記細胞が、
ｉ）第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む、本発明1001～1032のいずれかの第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；及び
ｉｉ）少なくとも、第二の特異的結合対の第一のメンバーを含む本発明1001～1032のいずれかの第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド
を発現し、
前記第一及び前記第二の特異的結合対が互いに異なり、
前記第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの前記細胞内ドメインが、第一のエフェクター機能を提供し；前記第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの前記細胞内ドメインが、前記第一のエフェクター機能と異なる第二のエフェクター機能を提供し、前記放出された第一及び前記第二の細胞内ドメインが、前記細胞の活性を調節する、前記方法。
[本発明1060]
前記接触が、ｉｎ　ｖｉｖｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏ、またはｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される、本発明1059の方法。
[本発明1061]
Ｔ細胞を活性化させる方法であって、
本発明1040のＴ細胞と固定化抗原を接触させること
を含み、
前記キメラポリペプチドの前記細胞外ドメインが、第一の抗原に特異的な抗体を含み、
前記接触が、前記転写活性化因子の放出、及び前記細胞中の前記ＣＡＲまたは前記ＴＣＲの産生をもたらし、前記ＣＡＲまたはＴＣＲが、第二の抗原の結合後に前記Ｔ細胞の活性化を提供する、前記方法。
[本発明1062]
細胞の活性を調節する方法であって、
前記細胞と第一の特異的結合対の第二のメンバーを接触させること

を含み、前記細胞が、
ｉ）第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む、本発明1001～1032のいずれかの第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；及び
ｉｉ）少なくとも、第二の特異的結合対の第一のメンバーを含む本発明1001～1032のいずれかの第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド
を発現し、
前記第一及び前記第二の特異的結合対が互いに異なり、
前記第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体をコードする前記ヌクレオチド配列が、前記第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの前記細胞内ドメインにより活性化または抑制される転写制御エレメントに作動可能に連結している、前記方法。
[本発明1063]
前記接触が、ｉｎ　ｖｉｖｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏ、またはｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される、本発明1062の方法。
[本発明1064]
Ｔ細胞を活性化させる方法であって、
本発明1040のＴ細胞と固定化抗原を接触させること
を含み、前記キメラポリペプチドの前記細胞外ドメインが、第一の抗原に特異的な抗体を含み、
前記接触が、前記転写活性化因子の放出、及び前記細胞における前記ＣＡＲまたはＴＣＲの産生をもたらし、前記ＣＡＲまたは前記ＴＣＲが、第二の抗原の結合後に前記Ｔ細胞の活性化を提供する、前記方法。
[本発明1065]
細胞の活性を調節する方法であって、
前記細胞と表面上に固定されている抗原を接触させること
を含み、前記細胞が、本発明1001のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現し、前記特異的結合対の前記第一のメンバーが前記抗原と結合し、
前記接触が、前記細胞内ドメインの放出及び前記細胞の活性の調節をもたらす、前記方法。
[本発明1066]
前記細胞内ドメインが、前記細胞の分化を調節する転写因子である、本発明1065の方法。
[本発明1067]
細胞の活性を局所的に調節する方法であって、
前記細胞内で、特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含む結合誘発型転写スイッチを発現させること；及び
前記細胞と前記特異的結合対の第二のメンバーを接触させること
を含み、前記特異的結合対の前記第一のメンバーの、前記特異的結合対の前記第二のメンバーへの結合が、前記細胞内ドメインを活性化するための結合シグナルを伝達するように前記結合トランスデューサを誘導し、それにより、活性化した細胞内ドメインが産生され、前記活性化した細胞内ドメインが、前記細胞の遺伝子産物の発現、前記細胞の増殖、前記細胞のアポトーシス、前記細胞の非アポトーシス性死、前記細胞の分化、前記細胞の脱分化、前記細胞の遊走、前記細胞からの分子の分泌及び前記細胞の細胞接着からなる群より選択される、前記細胞の活性を調節する、前記方法。
[本発明1068]
前記活性化した細胞内ドメインが、前記細胞の内在性遺伝子産物の発現を調節する、本発明1067の方法。
[本発明1069]
前記細胞の前記内在性遺伝子産物が、ケモカイン、ケモカイン受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、分化因子、成長因子、成長因子受容体、ホルモン、代謝酵素、増殖誘導因子、受容体、小分子セカンドメッセンジャー合成酵素、Ｔ細胞受容体、転写活性化

因子、転写抑制因子、転写活性化因子、転写抑制因子、翻訳調節因子、翻訳活性化因子、翻訳抑制因子、活性化免疫受容体、抑制因子にあるアポトーシス、アポトーシス誘導因子、免疫活性化因子、免疫抑制因子及び抑制性免疫受容体からなる群より選択される、本発明1068の方法。

[本発明1070]

前記細胞の前記内在性遺伝子産物が、分泌された遺伝子産物である、本発明1068～1069のいずれかの方法。

[本発明1071]

前記細胞の前記内在性遺伝子産物が、表面発現遺伝子産物である、本発明1068～1069のいずれかの方法。

[本発明1072]

前記活性化した細胞内ドメインが、前記細胞の２つ以上の内在性遺伝子産物の発現を同時に調節する、本発明1068～1071のいずれかの方法。

[本発明1073]

前記活性化した細胞内ドメインが、前記細胞の異種遺伝子産物の発現を調節する、本発明1067の方法。

[本発明1074]

前記細胞の前記異種遺伝子産物が、ケモカイン、ケモカイン受容体、キメラ抗原受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、分化因子、成長因子、成長因子受容体、ホルモン、代謝酵素、病原体由来タンパク質、増殖誘導因子、受容体、ＲＮＡ誘導型ヌクレアーゼ、部位特異的ヌクレアーゼ、小分子セカンドメッセンジャー合成酵素、Ｔ細胞受容体、毒素由来タンパク質、転写活性化因子、転写抑制因子、転写活性化因子、転写抑制因子、翻訳調節因子、翻訳活性化因子、翻訳抑制因子、活性化免疫受容体、抗体、抑制因子にあるアポトーシス、アポトーシス誘導因子、操作Ｔ細胞受容体、免疫活性化因子、免疫抑制因子、抑制性免疫受容体、ＲＮＡ誘導型ＤＮＡ結合タンパク質及び第二の結合誘発型転写スイッチからなる群より選択される、本発明1073の方法。

[本発明1075]

前記細胞の前記異種遺伝子産物が、抗体である、本発明1074の方法。

[本発明1076]

前記抗体が、８０６、９Ｅ１０、３Ｆ８、８１Ｃ６、８Ｈ９、アバゴボマブ、アバタセプト、アブシキシマブ、アビツズマブ、アブリルマブ、アクトクスマブ、アダリムマブ、アデカツムマブ、アデュカヌマブ、アフェリモマブ、アフツズマブ、アラシズマブ・ペゴル、ＡＬＤ５１８、アレファセプト、アレムツズマブ、アリロクマブ、アルツモマブ・ペンテテート、アマツキシマブ、ＡＭＧ　１０２、アナツモマブ・マフェナトクス、アネツマブ・ラブタンシン、アニフロルマブ、アンルキンズマブ、アポリズマブ、アルシツモマブ、アスクリンバクマブ（Ａｓｃｒｉｎｖａｃｕｍａｂ）、アセリズマブ、アタシセプト、アテゾリズマブ、アチヌマブ、アトリズマブ／トシリズマブ、アトロリムマブ、ＡＶＥ１６４２、バピネオズマブ、バシリキシマブ、バビツキシマブ、ベクツモマブ、ベゲロマブ、ベリムマブ、ベンラリズマブ、ベルチリムマブ、ベシレソマブ、ベバシズマブ、ベズロトクスマブ、ビシロマブ、ビマグルマブ、ビメキズマブ（Ｂｉｍｅｋｉｚｕｍａｂ）、ビバツズマブ・メルタンシン、ブリナツモマブ、ブロソズマブ、ＢＭＳ－９３６５５９、ボコシズマブ、ブレンツキシマブ・ベドチン、ブリアキヌマブ、ブロダルマブ、ブロルシズマブ、ブロンチクツズマブ（Ｂｒｏｎｔｉｃｔｕｚｕｍａｂ）、カナキヌマブ、カンツズマブ・メルタンシン、カンツズマブ・ラブタンシン、カプラシズマブ、カプロマブ・ペンデチド、カルルマブ、カツマクソマブ、ｃＢＲ９６－ドキソルビシン免疫複合体、ＣＣ４９、ＣＤＰ７９１、セデリズマブ、セルトリズマブ・ペゴル、セツキシマブ、ｃＧ２５０、Ｃｈ．１４．１８、シタツズマブ・ボガトクス、シクスツムマブ、クラザキズマブ、クレノリキシマブ、クリバツズマブ・テトラキセタン、コドリツズマブ、コルツキシマブ・ラブタンシン（Ｃｏｌｔｕｘｉｍａｂ　ｒａｖｔａｎｓｉｎｅ）、コナツムマブ、コンシズマブ、ＣＰ　７５１８７１、ＣＲ６２６１、クレネズマブ、ＣＳ－１００８、ダセツ

ズマブ、ダクリズマブ、ダロツズマブ、ダピロリズマブ・ペゴル（Ｄａｐｉｒｏｌｉｚｕｍａｂ　ｐｅｇｏｌ）、ダラツムマブ、デクトレクマブ（Ｄｅｃｔｒｅｋｕｍａｂ）、デムシズマブ、デニンツズマブ・マホドチン（Ｄｅｎｉｎｔｕｚｕｍａｂ　ｍａｆｏｄｏｔｉｎ）、デノスマブ、デルロツキシマブ・ビオチン（Ｄｅｒｌｏｔｕｘｉｍａｂ　ｂｉｏｔｉｎ）、デツモマブ、ジヌツキシマブ、ジリダブマブ、ドルリモマブ・アリトクス、ドロジツマブ、デュリゴツマブ、デュピルマブ、デュルバルマブ、デュシジツマブ、エクロメキシマブ、エクリズマブ、エドバコマブ、エドレコロマブ、エファリズマブ、エフングマブ、エルデルマブ、エルゲムツマブ（Ｅｌｇｅｍｔｕｍａｂ）、エロツズマブ、エルシリモマブ、エマクツズマブ（Ｅｍａｃｔｕｚｕｍａｂ）、エミベツズマブ、エナバツズマブ、エンフォルツマブ・ベドチン、エンリモマブ・ペゴル、エノブリツズマブ（Ｅｎｏｂｌｉｔｕｚｕｍａｂ）、エノキズマブ、エノチクマブ、エンシツキシマブ、エピツモマブ・シツキセタン、エプラツズマブ、エルリズマブ、エルツマクソマブ、エタネルセプト、エタラシズマブ、エトロリズマブ、エビナクマブ、エボロクマブ、エクスビビルマブ、Ｆ１９、ファノレソマブ、ファラリモマブ、ファーレツズマブ、ファシヌマブ、ＦＢＴＡ０５、フェルビズマブ、フェザキヌマブ、フィクラツズマブ、フィジツムマブ、フィリブマブ（Ｆｉｒｉｖｕｍａｂ）、フランボツマブ、フレチクマブ、フォントリズマブ、フォラルマブ、フォラビルマブ、フレソリムマブ、フルラヌマブ、フツキシマブ、ガリキシマブ、ガニツマブ、ガンテネルマブ、ガビリモマブ、ゲムツズマブ・オゾガマイシン、ゲボキズマブ、ギレンツキシマブ、グレムバツムマブ・ベドチン、ゴリムマブ、ゴミリキシマブ、グセルクマブ、ＨＧＳ－ＥＴＲ２、ｈｕ３Ｓ１９３、ｈｕＡ３３、イバリズマブ、イブリツモマブ・チウキセタン、イクルクマブ、イダルシズマブ、ＩＧＮ１０１、ＩｇＮ３１１、イゴボマブ、ＩＩＩＡ４、ＩＭ－２Ｃ６、ＩＭＡＢ３６２、イマルマブ（Ｉｍａｌｕｍａｂ）、ＩＭＣ－Ａ１２、イムシロマブ、イムガツズマブ、インクラクマブ、インダツキシマブ・ラブタンシン、インデュサツマブ・ベドチン（Ｉｎｄｕｓａｔｕｍａｂ　ｖｅｄｏｔｉｎ）、インフリキシマブ、イノリモマブ、イノツズマブ・オゾガマイシン、インテツムマブ、イピリムマブ、イラツムマブ、イサツキシマブ、イトリズマブ、イクセキズマブ、Ｊ５９１、ＫＢ００４、ケリキシマブ、ＫＷ－２８７１、ラベツズマブ、ラムブロリズマブ、ラムパリズマブ、レブリキズマブ、レマレソマブ、レンジルマブ（Ｌｅｎｚｉｌｕｍａｂ）、レルデリムマブ、レキサツムマブ、リビビルマブ、リファスツズマブ・ベドチン、リゲリズマブ、リロトマブ・サテトラキセタン（Ｌｉｌｏｔｏｍａｂ　ｓａｔｅｔｒａｘｅｔａｎ）、リンツズマブ、リリルマブ、ロデルシズマブ、ロキベトマブ（Ｌｏｋｉｖｅｔｍａｂ）、ロルボツズマブ・メルタンシン、ルカツムマブ、ルリズマブ・ペゴル、ルミリキシマブ、ルムレツズマブ（Ｌｕｍｒｅｔｕｚｕｍａｂ）、マパツムマブ、マルゲツキシマブ、マスリモマブ、マツズマブ、マブリリムマブ、ＭＥＤＩ４７３６、メポリズマブ、メテリムマブ、ＭＥＴＭＡＢ、ミラツズマブ、ミンレツモマブ、ミルベツキシマブ・ソラブタンシン（Ｍｉｒｖｅｔｕｘｉｍａｂ　ｓｏｒａｖｔａｎｓｉｎｅ）、ミツモマブ、ＭＫ－０６４６、ＭＫ－３４７５、ＭＭ－１２１、モガムリズマブ、ＭＯＲＡｂ－００３、モロリムマブ、モタビズマブ、ＭＯｖ１８、モキセツモマブ・パスドトクス、ＭＰＤＬ３３２８０Ａ、ムロモナブＣＤ３、ナコロマブ・タフェナトクス、ナミルマブ、ナプツモマブ・エスタフェナトクス、ナルナツマブ、ナタリズマブ、ネバクマブ、ネシツムマブ、ネモリズマブ、ネレリモマブ、ネスバクマブ、ニモツズマブ、ニボルマブ、ノフェツモマブ・メルペンタン、オビルトキサキシマブ、オビヌツズマブ、オカラツズマブ、オクレリズマブ、オゾリモマブ、オファツムマブ、オララツマブ、オロキズマブ、オマリズマブ、オナルツズマブ、オンツキシズマブ、オピシヌマブ、オポルツズマブ・モナトクス、オレゴボマブ、オルチクマブ、オテリキシズマブ、オトレルツズマブ、オキセルマブ、オザネズマブ、オゾラリズマブ、パギバキシマブ、パリビズマブ、パニツムマブ、パンコマブ（Ｐａｎｋｏｍａｂ）、パノバクマブ、パルサツズマブ、パスコリズマブ、パソツキシズマブ、パテクリズマブ、パトリツマブ、ペムブロリズマブ、ペムツモマブ、ペラキズマブ、ペルツズマブ、ペキセリズマブ、ピジリズマブ、ピナツズマブ・ベドチン、ピンツモマブ、プラクルマブ、ポラツズマブ・ベドチン、ポネズマブ、プリリキシマブ、プリ

トキサキシマブ、プリツムマブ、ＰＲＯ　１４０、キリズマブ、Ｒ１５０７、ラコツモマブ、ラドレツマブ、ラフィビルマブ、ラルパンシズマブ（Ｒａｌｐａｎｃｉｚｕｍａｂ）、ラムシルマブ、ラニビズマブ、ラキシバクマブ、レファネズマブ（Ｒｅｆａｎｅｚｕｍａｂ）、レガビルマブ、レスリズマブ、リロツムマブ、リヌクマブ（Ｒｉｎｕｃｕｍａｂ）、リツキシマブ、ロバツムマブ、ロレヅマブ、ロモソズマブ、ロンタリズマブ、ロベリズマブ、ルプリズマブ、サシツズマブ・ゴビテカン、サマリズマブ、サリルマブ、サツモマブ・ペンデチド、ＳＣＨ　９００１０５、セクキヌマブ、セリバンツマブ、セトキサキシマブ、セビルマブ、ＳＧＮ－ＣＤ１９Ａ、ＳＧＮ－ＣＤ３３Ａ、シブロツズマブ、シファリムマブ、シルツキシマブ、シムツズマブ、シプリズマブ、シルクマブ、ソフィツズマブ・ベドチン、ソラネズマブ、ソリトマブ、ソネプシズマブ、ソンツズマブ、スタムルマブ、スレソマブ、スビズマブ、タバルマブ、タカツズマブ・テトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、タネズマブ、タプリツモマブ・パプトクス、タレクスツマブ、テフィバズマブ、テリモマブ・アリトクス、テナツモマブ、テネリキシマブ、テプリズマブ、テプロツムマブ、テシドルマブ、テツロマブ（Ｔｅｔｕｌｏｍａｂ）、ＴＧＮ１４１２、チシリムマブ／トレメリムマブ、チガツズマブ、チルドラキズマブ、ＴＮＸ－６５０、トシリズマブ、トラリズマブ、トサトクスマブ（Ｔｏｓａｔｏｘｕｍａｂ）、トシツモマブ、トベツマブ、トラロキヌマブ、トラスツズマブ、ＴＲＢＳ０７、トレガリズマブ、トレメリムマブ、トレボグルマブ（Ｔｒｅｖｏｇｒｕｍａｂ）、ツコツズマブ・セルモロイキン、ツビルマブ、ウブリツキシマブ、ウロクプルマブ（Ｕｌｏｃｕｐｌｕｍａｂ）、ウレルマブ、ウルトキサズマブ、ウステキヌマブ、バンドルツズマブ・ベドチン、バンチクツマブ、バヌシズマブ、バパリキシマブ、バルリルマブ、バテリズマブ、ベドリズマブ、ベルツズマブ、ベパリモマブ、ベセンクマブ、ビジリズマブ、ボロシキシマブ、ボルセツズマブ・マホドチン、ボツムマブ、ザルツムマブ、ザノリムマブ、ザツキシマブ、ジラリムマブ及びゾリモマブ・アリトクスからなる群より選択される、本発明1075の方法。

[本発明1077]

前記細胞の前記異種遺伝子産物が、分泌された遺伝子産物である、本発明1073～1076のいずれかの方法。

[本発明1078]

前記細胞の前記異種遺伝子産物が、表面発現遺伝子産物である、本発明1073～1076のいずれかの方法。

[本発明1079]

前記活性化した細胞内ドメインが、前記細胞の２つ以上の異種遺伝子産物の発現を同時に調節する、本発明1073～1078のいずれかの方法。

[本発明1080]

前記接触が、ｉｎ　ｖｉｖｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏ、またはｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される、本発明1067～1079のいずれかの方法。

[本発明1081]

前記特異的結合対の前記第二のメンバーが、第二の細胞の表面上にあるか、不溶性基体上に固定されているか、細胞外マトリックス中に存在するか、人工マトリックス中に存在するか、または可溶性である、本発明1067～1080のいずれかの方法。

[本発明1082]

前記細胞内ドメインが、前記細胞の分化を調節する転写因子である、本発明1067の方法。

[本発明1083]

前記転写因子が、前記細胞の分化を直接調節する、本発明1082の方法。

[本発明1084]

前記転写因子が、前記細胞の分化を、第二の転写因子の発現を調節することにより間接的に調節する、本発明1082の方法。

[本発明1085]

前記細胞が免疫細胞であり、前記細胞の前記活性が、前記免疫細胞の分化である、本発

明1067の方法。
[本発明1086]
前記細胞が免疫細胞であり、前記細胞内ドメインが、前記細胞の分化を調節する転写因子であり、前記細胞の前記活性が、前記免疫細胞の分化である、本発明1067の方法。
[本発明1087]
前記転写因子が、前記免疫細胞の分化を直接調節する、本発明1086の方法。
[本発明1088]
前記転写因子が、前記免疫細胞の分化を、第二の転写因子の前記発現を調節することにより間接的に調節する、本発明1086の方法。
[本発明1089]
前記細胞が幹細胞であり、前記細胞の前記活性が、前記幹細胞の分化である、本発明1067の方法。
[本発明1090]
前記細胞が始原細胞または前駆細胞であり、前記細胞の前記活性が、前記始原細胞または前駆細胞の分化である、本発明1067の方法。
[本発明1091]
前記細胞内ドメインの活性化が、前記細胞の内在性遺伝子の発現を、転写調節、クロマチン制御、翻訳、トラフィッキングまたは翻訳後プロセシングを通して調節する、本発明1067の方法。
[本発明1092]
前記細胞内ドメインの活性化が、前記細胞の、第二の細胞へのまたは細胞外マトリックスへの細胞接着を調節する、本発明1067の方法。
[本発明1093]
前記結合トランスデューサが、リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含み、前記特異的結合対の前記第一のメンバーの、前記特異的結合対の前記第二のメンバーへの結合が、前記結合トランスデューサの前記リガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより、前記結合シグナルが伝達されかつ、前記細胞内ドメインが、前記細胞内ドメインをタンパク質分解的に放出することによって活性化される、本発明1067の方法。
[本発明1094]
前記細胞と、前記特異的結合対の前記第一のメンバーの前記特異的結合対の前記第二のメンバーへの結合を競合的に阻害する可溶性阻害分子とを接触させることをさらに含み、それにより、前記細胞内ドメインを活性化させるための結合シグナルを伝達するように結合トランスデューサを誘導することを防ぐ、本発明1067～1093のいずれかの方法。
[本発明1095]
前記細胞と前記可溶性阻害分子の接触が、前記可溶性阻害分子を第一の細胞に適用または投与することを含む、本発明1094の方法。
[本発明1096]
前記細胞と前記可溶性阻害分子の接触が、前記細胞を、前記可溶性阻害分子を発現する第二の細胞の存在下に置くことを含む、本発明1094の方法。
[本発明1097]
前記第二の細胞が、前記可溶性阻害分子を構成的に発現する、本発明1096の方法。
[本発明1098]
前記第二の細胞が、前記可溶性阻害分子を条件的に発現する、本発明1096の方法。
[本発明1099]
細胞の活性を調節する方法であって、
前記細胞と第一の特異的結合対の第二のメンバー及び第二の特異的結合対の第二のメンバーを接触させること
を含み、前記細胞が、
ｉ）前記第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トラン

スデューサと、細胞内ドメインとを含む第一の結合誘発型転写スイッチ；及び
ｉｉ）少なくとも、第二の特異的結合対の前記第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含む第二の結合誘発型転写スイッチを発現し；
前記第一の結合誘発型転写スイッチの前記細胞内ドメインが、第一のエフェクター機能を提供し、前記第二の結合誘発型転写スイッチの前記細胞内ドメインが、前記第一のエフェクター機能と異なる第二のエフェクター機能を提供し、この時、前記第一及び第二の特異的結合対の前記第一及び第二のメンバーの結合が、前記第一及び第二の細胞内ドメインを活性化するための結合シグナルを伝達するように前記結合トランスデューサを誘導する、前記方法。

[本発明1100]
前記第一の結合誘発型転写スイッチの前記細胞内ドメインの前記エフェクター機能が、前記細胞の遺伝子産物の発現を調節する、本発明1099の方法。

[本発明1101]
前記細胞の前記遺伝子産物が、前記細胞の内在性遺伝子産物である、本発明1100の方法。

[本発明1102]
前記細胞の前記遺伝子産物が、前記細胞の異種遺伝子産物である、本発明1100の方法。

[本発明1103]
前記細胞の前記遺伝子産物が、ケモカイン、ケモカイン受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、分化因子、成長因子、成長因子受容体、ホルモン、代謝酵素、増殖誘導因子、受容体、小分子セカンドメッセンジャー合成酵素、Ｔ細胞受容体、転写活性化因子、転写抑制因子、転写活性化因子、転写抑制因子、翻訳調節因子、翻訳活性化因子、翻訳抑制因子、活性化免疫受容体、抑制因子にあるアポトーシス、アポトーシス誘導因子、免疫活性化因子、免疫抑制因子及び抑制性免疫受容体からなる群より選択される、本発明1100の方法。

[本発明1104]
前記第二の結合誘発型転写スイッチの前記細胞内ドメインの前記エフェクター機能が、前記細胞の遺伝子産物の発現を調節する、本発明1100の方法。

[本発明1105]
前記細胞の前記遺伝子産物が、前記細胞の内在性遺伝子産物である、本発明1104の方法。

[本発明1106]
前記細胞の前記遺伝子産物が、前記細胞の異種遺伝子産物である、本発明1104の方法。

[本発明1107]
前記細胞の前記遺伝子産物が、ケモカイン、ケモカイン受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、分化因子、成長因子、成長因子受容体、ホルモン、代謝酵素、増殖誘導因子、受容体、小分子セカンドメッセンジャー合成酵素、Ｔ細胞受容体、転写活性化因子、転写抑制因子、転写活性化因子、転写抑制因子、翻訳調節因子、翻訳活性化因子、翻訳抑制因子、活性化免疫受容体、抑制因子にあるアポトーシス、アポトーシス誘導因子、免疫活性化因子、免疫抑制因子及び抑制性免疫受容体からなる群より選択される、本発明1104の方法。

[本発明1108]
前記第一及び第二の結合誘発型転写スイッチの前記結合トランスデューサのうちの少なくとも１つが、リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含み、それぞれの特異的結合対の前記第一及び第二のメンバーの結合が、前記結合トランスデューサの前記リガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより、前記結合シグナルが伝達されかつ、それぞれの細胞内ドメインが、前記細胞内ドメインをタンパク質分解的に放出することによって活性化される、本発明1099の方法。

[本発明1109]

前記第一及び第二の結合誘発型転写スイッチの前記結合トランスデューサが、両方ともリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む、本発明1108の方法。

[本発明1110]

細胞の活性を調節する方法であって、

前記細胞と第一の特異的結合対の第二のメンバーを接触させること

を含み、前記細胞が、

ｉ）前記第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含む第一の結合誘発型転写スイッチ；及び

ｉｉ）少なくとも、第二の特異的結合対の前記第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含む第二の結合誘発型転写スイッチ

を発現し、

前記第二の結合誘発型転写スイッチをコードするヌクレオチド配列が、前記第一の結合誘発型転写スイッチの前記細胞内ドメインにより活性化または抑制される転写制御エレメントに作動可能に連結している、前記方法。

[本発明1111]

前記接触が、ｉｎ　ｖｉｖｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏ、またはｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される、本発明1110の方法。

[本発明1112]

前記第一の特異的結合対の前記第二のメンバーが、第二の細胞の表面上にあるか、不溶性基体上に固定されているか、細胞外マトリックス中に存在するか、人工マトリックス中に存在するか、または可溶性である、本発明1110の方法。

[本発明1113]

前記第二の結合誘発型転写スイッチの前記細胞内ドメインの活性化が、前記細胞の遺伝子産物の発現、前記細胞の増殖、前記細胞のアポトーシス、前記細胞の非アポトーシス性死、前記細胞の分化、前記細胞の脱分化、前記細胞の遊走、前記細胞からの分子の分泌及び前記細胞の細胞接着からなる群より選択される、前記細胞の活性を調節する、本発明1110の方法。

[本発明1114]

前記細胞の前記活性が、前記細胞の遺伝子産物の発現である、本発明1113の方法。

[本発明1115]

前記細胞の前記遺伝子産物が、ケモカイン、ケモカイン受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、分化因子、成長因子、成長因子受容体、ホルモン、代謝酵素、増殖誘導因子、受容体、小分子セカンドメッセンジャー合成酵素、Ｔ細胞受容体、転写活性化因子、転写抑制因子、転写活性化因子、転写抑制因子、翻訳調節因子、翻訳活性化因子、翻訳抑制因子、活性化免疫受容体、抑制因子にあるアポトーシス、アポトーシス誘導因子、免疫活性化因子、免疫抑制因子及び抑制性免疫受容体からなる群より選択される、前記細胞の遺伝子産物である、本発明1114の方法。

[本発明1116]

前記第一及び第二の結合誘発型転写スイッチの前記結合トランスデューサの少なくとも１つが、リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含み、前記それぞれの特異的結合対の前記第一及び第二のメンバーの結合が、前記結合トランスデューサの前記リガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより、前記結合シグナルが伝達されかつ、前記それぞれの細胞内ドメインが、前記細胞内ドメインをタンパク質分解的に放出することによって活性化される、本発明1110の方法。

[本発明1117]

細胞間接触を追跡する方法であって、

第一の複数の細胞の各細胞において、特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含む結合誘発型転写スイッチを発現させること；

第二の複数の細胞の各細胞において、前記特異的結合対の第二のメンバーを発現させる

こと；及び
前記第一の複数の細胞と前記第二の複数の細胞を接触させること
を含み、前記特異的結合対の前記第一のメンバーの、前記特異的結合対の前記第二のメンバーへの結合が、前記結合誘発型転写スイッチの結合シグナルを伝達するように結合トランスデューサを誘導し、それにより前記細胞内ドメインが活性化され、前記細胞内ドメインの活性化が、空間的な、時間的なまたはその組み合わせにおける細胞間接触を追跡するのに十分な検出可能レポーターの発現を誘導する、前記方法。
[本発明1118]
前記第一の複数の細胞、前記第二の複数の細胞または両方が、ニューロンである、本発明1117の方法。
[本発明1119]
前記結合トランスデューサが、リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含み、前記特異的結合対の前記第一のメンバーの、前記特異的結合対の前記第二のメンバーへの結合が、前記結合トランスデューサの前記リガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより、前記結合シグナルが伝達されかつ、前記細胞内ドメインが、前記細胞内ドメインをタンパク質分解的に放出することによって活性化される、本発明1117の方法。
[本発明1120]
前記結合誘発型転写スイッチが、ＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドである、本発明1067～1119のいずれかの方法。
[本発明1121]
局在性細胞活性化システムであって、
第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含む発現された結合誘発型転写スイッチ；及び
前記第一の結合誘発型転写スイッチの前記細胞内ドメインにより誘導される転写制御エレメントに作動可能に連結した、第二の特異的結合対の第一のメンバーを含む結合誘発型活性化ポリペプチドをコードする核酸
を含む細胞を含み、
前記第一の特異的結合対の前記第二のメンバーとの接触の際に、前記結合誘発型活性化ポリペプチドが発現され、前記第二の特異的結合対の前記第二のメンバーとの接触の際に、前記結合誘発型活性化ポリペプチドが前記細胞を活性化させる、前記システム。
[本発明1122]
前記細胞が、免疫細胞、始原細胞または前駆細胞、幹細胞、及びニューロンからなる群より選択される、本発明1121のシステム。
[本発明1123]
前記細胞が免疫細胞であり、前記結合誘発型転写スイッチが抗原誘発型転写スイッチであり、前記結合誘発型活性化ポリペプチドが抗原誘発型活性化ポリペプチドであり、前記第一の特異的結合対の前記第二のメンバーとの接触の際に、前記抗原誘発型活性化ポリペプチドが発現され、前記第二の特異的結合対の前記第二のメンバーとの接触の際に、前記抗原誘発型活性化ポリペプチドが前記免疫細胞を活性化させて、前記第二の特異的結合対の前記第一のメンバーを発現する標的細胞を認識する、本発明1122のシステム。
[本発明1124]
前記抗原誘発型活性化ポリペプチドが、キメラ抗原受容体またはその変異体である、本発明1123のシステム。
[本発明1125]
前記抗原誘発型活性化ポリペプチドが、操作Ｔ細胞受容体またはその変異体である、本発明1123のシステム。
[本発明1126]
前記発現された結合誘発型転写スイッチが、ＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドである、本発明1121～1125のいずれかのシステム。

[本発明1127]
細胞の活性を局所的に調節する方法であって、
第一の細胞において、結合トランスデューサと、細胞内ドメインと、可溶性アダプター分子上の第一のエピトープと特異的に結合する第一のアダプター結合ドメインを含む第一の細胞外ドメインとを含む結合誘発型転写スイッチを発現させること；
前記第一の細胞と：
ｉ）前記可溶性アダプター分子上の第二のエピトープと特異的に結合する第二のアダプター結合ドメインを含む第二の細胞外ドメインを発現する第二の細胞；及び
ｉｉ）有効濃度の前記可溶性アダプター分子
を接触させること
を含み、前記第一のアダプター結合ドメイン及び前記第二のアダプター結合ドメインの、前記アダプター分子への結合が、前記細胞内ドメインを活性化するための結合シグナルを伝達するように前記結合トランスデューサを誘導し、それにより、活性化した細胞内ドメインが産生され、前記活性化した細胞内ドメインが、前記細胞の遺伝子産物の発現、前記細胞の増殖、前記細胞のアポトーシス、前記細胞の非アポトーシス性死、前記細胞の分化、前記細胞の脱分化、前記細胞の遊走、前記細胞からの分子の分泌及び前記細胞の細胞接着からなる群より選択される前記第一の細胞の活性を調節する、前記方法。
[本発明1128]
前記接触が、前記可溶性アダプター分子を前記細胞にｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｅｘ　ｖｉｖｏで適用することを含む、本発明1127の方法。
[本発明1129]
前記接触が、前記可溶性アダプター分子を前記細胞にｉｎ　ｖｉｖｏで投与することを含む、本発明1127の方法。
[本発明1130]
前記第一の細胞と有効濃度の前記可溶性アダプター分子を接触させることが、前記第一の細胞を、前記アダプター分子を発現する第三の細胞の存在下に置くことを含む、本発明1127の方法。
[本発明1131]
前記第三の細胞が、前記アダプター分子を構成的に発現する、本発明1130の方法。
[本発明1132]
前記第三の細胞が、前記アダプター分子を条件的に発現する、本発明1130の方法。
[本発明1133]
前記第一の細胞外ドメイン及び前記可溶性アダプター分子が、特異的対合対の第一及び第二のメンバーである、本発明1127～1132のいずれかの方法。
[本発明1134]
前記第二の細胞外ドメイン及び前記可溶性アダプター分子が、特異的結合対の第一及び第二のメンバーである、本発明1127～1132のいずれかの方法。
[本発明1135]
前記第一の細胞外ドメイン及び第二の細胞外ドメインが、抗体である、本発明1127～1134のいずれかの方法。
[本発明1136]
前記第一の細胞外ドメイン及び第二の細胞外ドメインの一方または両方が、ナノボディである、本発明1135の方法。
[本発明1137]
前記細胞内ドメインが、転写因子である、本発明1127～1136のいずれかの方法。
[本発明1138]
前記活性化した細胞内ドメインが、前記第一の細胞の内在性遺伝子産物の発現を調節する、本発明1127～1137のいずれかの方法。
[本発明1139]
前記活性化した細胞内ドメインが、前記第一の細胞の異種遺伝子産物の発現を調節する

、本発明1127～1137のいずれかの方法。
[本発明1140]
前記結合トランスデューサが、リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含み、前記第一の細胞外ドメイン及び前記第二の細胞外ドメインの、前記可溶性アダプター分子への結合が、前記結合トランスデューサの前記リガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより、前記結合シグナルが伝達されかつ、前記細胞内ドメインが、前記細胞内ドメインをタンパク質分解的に放出することによって活性化される、本発明1127～1139のいずれかの方法。
[本発明1141]
第一の抗原に応答する第一の結合誘発型転写スイッチをコードする核酸；
前記第一の結合誘発型転写スイッチに応答し、かつ特異的結合対の第一のメンバーに特異的に結合する細胞外ドメインを含むＣＡＲをコードする核酸に作動可能に連結している、第一のプロモーター；
第二の抗原に応答する第二の結合誘発型転写スイッチをコードする核酸；及び
前記第二の結合誘発型転写スイッチに応答し、かつ細胞内ＣＡＲ阻害ドメインをコードする核酸に作動可能に連結している、第二のプロモーター
を含み、前記第二の抗原の存在下で、前記細胞内ＣＡＲ阻害ドメインが発現されて前記ＣＡＲによる前記細胞の活性化が阻害され、前記第一の抗原の存在下かつ前記第二の抗原の非存在下で、前記特異的結合対の前記第二のメンバーによりＣＡＲが発現されて活性化可能である、宿主細胞。
[本発明1142]
第一の抗原に応答する第一の結合誘発型転写スイッチをコードする核酸；
前記第一の結合誘発型転写スイッチに応答し、かつ特異的結合対の第一のメンバーに特異的に結合する細胞外ドメインを含むＣＡＲの第一の部分をコードする核酸に作動可能に連結している、第一のプロモーター；
第二の抗原に応答する第二の結合誘発型転写スイッチをコードする核酸；及び
前記第二の結合誘発型転写スイッチに応答し、かつ細胞内シグナル伝達ドメインを含むＣＡＲの第二の部分をコードする核酸に作動可能に連結している、第二のプロモーター
を含み、前記第一の抗原及び第二の抗原の存在下で、前記ＣＡＲの前記第一及び第二の部分が発現され、前記ＣＡＲが前記特異的結合対の前記第二のメンバーにより活性化可能である、宿主細胞。
[本発明1143]
第三の抗原に応答する第三の結合誘発型転写スイッチをコードする核酸；及び
前記第三の結合誘発型転写スイッチに応答し、かつ細胞内ＣＡＲ阻害ドメインをコードする核酸に作動可能に連結している、第三のプロモーター
をさらに含み、前記第三の抗原の存在下で、前記細胞内ＣＡＲ阻害ドメインが発現されて前記ＣＡＲによる前記細胞の活性化が阻害される、本発明1142の細胞。
【図面の簡単な説明】
【００５０】
【図１】Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの概略図である。
【図２Ａ－１】様々な種のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３１）。
【図２Ａ－２】図２Ａ－１の続きを示す図である。
【図２Ｂ－１】様々な種のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３２）。
【図２Ｂ－２】図２Ｂ－１の続きを示す図である。
【図２Ｃ】様々な種のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３３）。
【図２Ｄ－１】様々な種のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３４）。

【図２Ｄ－２】図２Ｄ－１の続きを示す図である。
【図２Ｅ－１】様々な種のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３５）。
【図２Ｅ－２】図２Ｅ－１の続きを示す図である。
【図２Ｆ－１】様々な種のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３６）。
【図２Ｆ－２】図２Ｆ－１の続きを示す図である。
【図２Ｇ－１】様々な種のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７）。
【図２Ｇ－２】図２Ｇ－１の続きを示す図である。
【図３】様々な哺乳類腫のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一部分のアミノ酸配列アライメントを提供する（マウス－ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３８；ヒト－ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３９；ウシ－ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４０）。
【図４Ａ】本開示の例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの概略図を提供する。
【図４Ｂ】本開示の例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの概略図を提供する。
【図４Ｃ】本開示の例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの概略図を提供する。
【図４Ｄ】本開示の例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの概略図を提供する。
【図４Ｅ】本開示の例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの概略図を提供する。
【図４Ｆ】本開示の例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの概略図を提供する。
【図４Ｇ】本開示の例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの概略図を提供する。
【図５】本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを使用する、エフェクター機能の直接制御の概略図を提供する。
【図６】本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを使用する、エフェクター機能の直接制御の例の概略図を提供する。
【図７】本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを使用する、エフェクター機能の間接的な制御の概略図を提供する。
【図８】本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを使用する、エフェクター機能の間接的な制御の例の概略図を提供する。
【図９Ａ】並行した複数のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの使用の概略図を提供する。
【図９Ｂ】並行した複数のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの使用の概略図を提供する。
【図１０】一連の複数のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの使用の概略図を提供する。
【図１１】一連のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド及びキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）の使用の概略図を提供する。
【図１２】多細胞の協同作用を示す、２つ以上の細胞におけるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの使用の概略図を提供する。
【図１３】多細胞環境におけるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの使用の概略図を提供する。
【図１４】２つ以上の細胞を用いた複数の受容体回路の使用の概略図を提供する。
【図１５】特定の細胞外構造に応答する生物製剤の局在化／標的化産生の概略図を提供する。
【図１６Ａ】Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの例を示す（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４１）。
【図１６Ｂ】Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの例を示す（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４２）。
【図１６Ｃ】Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの例を示す（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４３）。
【図１７Ａ】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（

ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４４）。
【図１７Ｂ】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４５）。
【図１７Ｃ】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４６）。
【図１８】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４７）。
【図１９Ａ】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４８）。
【図１９Ｂ】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４９）。
【図２０Ａ】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５０）。
【図２０Ｂ】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５１）。
【図２０Ｃ】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５２）。
【図２０Ｄ】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５３）。
【図２１】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５４）。
【図２２】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５５）。
【図２３】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５６）。
【図２４】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５７）。
【図２５】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５８）。
【図２６】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５９）。
【図２７】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６０）。
【図２８】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６１）。
【図２９】例示的なキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６２）。
【図３０】図３０Ａ及び３０Ｂは、ＴＲＥレポーターラインにて抗ＣＤ１９を有するキメラＮｏｔｃｈに関する代表的な結果を示す。
【図３１】図３１Ａ及び３１Ｂは、ＴＲＥレポーターラインにて抗メソテリンを有するキメラＮｏｔｃｈに関する代表的な結果を示す。
【図３２】図３２Ａ及び３２Ｂは、ＵＡＳレポーターラインにてキメラＮｏｔｃｈ抗ＣＤ１９に関する代表的な結果を示す。
【図３３】図３３Ａ及び３３Ｂは、その細胞内ドメインが、Ｇａｌ４　ＤＮＡ－結合ドメインと転写抑制因子ドメインＫＲＡＢの融合体である抗ＣＤ１９キメラＮｏｔｃｈで形質導入されたＳＶ４０／ＵＡＳレポーター細胞での結果を示す（ｄｅｐｉｃｔ　ｄｅｐｉｃｔｓ）。
【図３４】シグナル伝達リレーのカスケードにおけるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの使用を示す。
【図３５Ａ】キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドが、癌細胞に対するキメラ抗原受容体

（ＣＡＲ）発現及びＴ細胞活性化に及ぼす効果を示す。
【図３５Ｂ】キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドが、癌細胞に対するキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）発現及びＴ細胞活性化に及ぼす効果を示す。
【図３５Ｃ】キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドが、癌細胞に対するキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）発現及びＴ細胞活性化に及ぼす効果を示す。
【図３６】Ｃａｓ９ポリペプチドのアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６３）。
【図３７】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６４）。
【図３８】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６５）。
【図３９】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６５）。
【図４０】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６６）。
【図４１】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６７）。
【図４２】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６９）。
【図４３】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７０）。
【図４４】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７１）。
【図４５】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７２）。
【図４６Ａ】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７３）。
【図４６Ｂ】図４６Ａの続きを示す図である。
【図４７】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７４）。
【図４８】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７５）。
【図４９】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７６）。
【図５０】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７７）。
【図５１】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７８）。
【図５２】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７９）。
【図５３】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８０）。
【図５４】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８１）。
【図５５】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８２）。
【図５６】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８３）。
【図５７】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８４）。

【図５８】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８５）。
【図５９】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８６）。
【図６０】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８７）。
【図６１】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８８）。
【図６２】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８９）。
【図６３】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９０）。
【図６４】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９１）。
【図６５】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９２）。
【図６６】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９３）。
【図６７】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９４）。
【図６８】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９５）。
【図６９】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９６）。
【図７０】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９７）。
【図７１】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９８）。
【図７２】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９９）。
【図７３】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２００）。
【図７４】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０１）。
【図７５】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０２）。
【図７６】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０３）。
【図７７】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０４）。
【図７８】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０５）。
【図７９】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０６）。
【図８０】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０７）。
【図８１】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０８）。
【図８２】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０９）。

【図８３】例示的な転写活性化因子及び抑制因子のアミノ酸配列を提供する（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２１０）。
【図８４】図８４Ａ及び８４Ｂは、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの活性化に及ぼすγ－セクレターゼ阻害因子の効果を示す。
【図８５Ａ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体の例示的なモジュールの構成を示す。
【図８５Ｂ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体の例示的なモジュールの構成を示す。
【図８６Ａ】ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用して、接触依存性転写調節をプログラムすることができることを実証する。
【図８６Ｂ】ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用して、接触依存性転写調節をプログラムすることができることを実証する。
【図８６Ｃ】ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用して、接触依存性転写調節をプログラムすることができることを実証する。
【図８７Ａ－１】図８５Ａ及び８５Ｂに関する追加のデータを提供する。
【図８７Ａ－２】図８７Ａ－１の続きを示す図である。
【図８７Ａ－３】図８７Ａ－２の続きを示す図である。
【図８７Ｂ】図８５Ａ及び８５Ｂに関する追加のデータを提供する。
【図８７Ｃ】図８５Ａ及び８５Ｂに関する追加のデータを提供する。
【図８７Ｄ】図８５Ａ及び８５Ｂに関する追加のデータを提供する。
【図８８Ａ】図８６Ａ～Ｃに関する追加のデータを提供する。
【図８８Ｂ】図８６Ａ～Ｃに関する追加のデータを提供する。
【図８８Ｃ】図８６Ａ～Ｃに関する追加のデータを提供する。
【図８９Ａ】ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体が多様な細胞型において機能することを実証する。
【図８９Ｂ】ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体が多様な細胞型において機能することを実証する。
【図９０】図９０Ａ～９０Ｃは、図８９Ａ及び８９Ｂに関する追加のデータを提供する。
【図９１Ａ】ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、多様な細胞挙動の空間的制御を生じることを実証する。
【図９１Ｂ】ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、多様な細胞挙動の空間的制御を生じることを実証する。
【図９１Ｃ】ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、多様な細胞挙動の空間的制御を生じることを実証する。
【図９１Ｄ】ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、多様な細胞挙動の空間的制御を生じることを実証する。
【図９２Ａ－１】図９１Ａ～Ｄに関する追加のデータを提供する。
【図９２Ａ－２】図９２Ａ－１の続きを示す図である。
【図９２Ｂ】図９１Ａ～Ｄに関する追加のデータを提供する。
【図９２Ｃ】図９１Ａ～Ｄに関する追加のデータを提供する。
【図９３Ａ】ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体が互いに直交し、組み合わせ調節のために使用できることを実証する。
【図９３Ｂ】ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体が互いに直交し、組み合わせ調節のために使用できることを実証する。
【図９３Ｃ】ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体が互いに直交し、組み合わせ調節のために使用できることを実証する。
【図９４Ａ】複数のｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用して、多層自己組織化上皮パターンを生成することができることを実証する。
【図９４Ｂ】複数のｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用して、多層自己組織化上皮パターンを生成することができることを実証する。
【図９４Ｃ】複数のｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用して、多層自己組織化上皮パターンを生成することができることを実証する。
【図９５Ａ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体のモジュール性が哺乳類細胞の感知／応答操作を拡大することを示す。

【図９５Ｂ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体のモジュール性が哺乳類細胞の感知／応答操作を拡大することを示す。
【図９５Ｃ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体のモジュール性が哺乳類細胞の感知／応答操作を拡大することを示す。
【図９６Ａ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用するカスタマイズされた治療用Ｔ細胞応答の操作に対する可能性を実証する。
【図９６Ｂ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用するカスタマイズされた治療用Ｔ細胞応答の操作に対する可能性を実証する。
【図９６Ｃ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用するカスタマイズされた治療用Ｔ細胞応答の操作に対する可能性を実証する。
【図９７Ａ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、ＣＤ４＋及びＣＤ８＋ヒト初代Ｔリンパ球において抗原誘導型転写を推進できることを示す。
【図９７Ｂ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、ＣＤ４＋及びＣＤ８＋ヒト初代Ｔリンパ球において抗原誘導型転写を推進できることを示す。
【図９７Ｃ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、ＣＤ４＋及びＣＤ８＋ヒト初代Ｔリンパ球において抗原誘導型転写を推進できることを示す。
【図９７Ｄ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、ＣＤ４＋及びＣＤ８＋ヒト初代Ｔリンパ球において抗原誘導型転写を推進できることを示す。
【図９７Ｅ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、ＣＤ４＋及びＣＤ８＋ヒト初代Ｔリンパ球において抗原誘導型転写を推進できることを示す。
【図９７Ｆ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、ＣＤ４＋及びＣＤ８＋ヒト初代Ｔリンパ球において抗原誘導型転写を推進できることを示す。
【図９８Ａ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、抗原誘導型カスタムサイトカインプログラムを推進できることを実証する。
【図９８Ｂ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、抗原誘導型カスタムサイトカインプログラムを推進できることを実証する。
【図９８Ｃ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、抗原誘導型カスタムサイトカインプログラムを推進できることを実証する。
【図９８Ｄ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、抗原誘導型カスタムサイトカインプログラムを推進できることを実証する。
【図９８Ｅ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、抗原誘導型カスタムサイトカインプログラムを推進できることを実証する。
【図９８Ｆ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、抗原誘導型カスタムサイトカインプログラムを推進できることを実証する。
【図９９Ａ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、抗腫瘍Ｔｈ１運命へのＴ細胞分化の抗原依存性傾斜を推進できることを実証する。
【図９９Ｂ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、抗腫瘍Ｔｈ１運命へのＴ細胞分化の抗原依存性傾斜を推進できることを実証する。
【図９９Ｃ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、抗腫瘍Ｔｈ１運命へのＴ細胞分化の抗原依存性傾斜を推進できることを実証する。
【図９９Ｄ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、抗腫瘍Ｔｈ１運命へのＴ細胞分化の抗原依存性傾斜を推進できることを実証する。
【図９９Ｅ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、抗腫瘍Ｔｈ１運命へのＴ細胞分化の抗原依存性傾斜を推進できることを実証する。
【図１００Ａ】非未変性治療薬－ｓｙｎＮｏｔｃｈ推進性ＴＲＡＩＬ産生のカスタムＴ細胞送達を実証する。
【図１００Ｂ】非未変性治療薬－ｓｙｎＮｏｔｃｈ推進性ＴＲＡＩＬ産生のカスタムＴ細胞送達を実証する。
【図１００Ｃ】非未変性治療薬－ｓｙｎＮｏｔｃｈ推進性ＴＲＡＩＬ産生のカスタムＴ細胞送達を実証する。

【図１００Ｄ】非未変性治療薬－ｓｙｎＮｏｔｃｈ推進性ＴＲＡＩＬ産生のカスタムＴ細胞送達を実証する。
【図１００Ｅ】非未変性治療薬－ｓｙｎＮｏｔｃｈ推進性ＴＲＡＩＬ産生のカスタムＴ細胞送達を実証する。
【図１０１Ａ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体操作Ｔ細胞を介した固形腫瘍でのサイトカインのｉｎ　ｖｉｖｏ局所発現を実証する。
【図１０１Ｂ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体操作Ｔ細胞を介した固形腫瘍でのサイトカインのｉｎ　ｖｉｖｏ局所発現を実証する。
【図１０１Ｃ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体操作Ｔ細胞を介した固形腫瘍でのサイトカインのｉｎ　ｖｉｖｏ局所発現を実証する。
【図１０２】図１０２Ａ～１０２Ｂは、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、Ｔ細胞がそれらの微小環境をモニターし、選択的に調節することを可能にする、多能調節因子であることを実証する。
【図１０３Ａ】図９７Ａ～９７Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０３Ｂ】図９７Ａ～９７Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０３Ｃ】図９７Ａ～９７Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０３Ｄ】図９７Ａ～９７Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０３Ｅ】図９７Ａ～９７Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０３Ｆ】図９７Ａ～９７Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０４Ａ】図９８Ａ～９８Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０４Ｂ】図９８Ａ～９８Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０４Ｃ】図９８Ａ～９８Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０４Ｄ】図９８Ａ～９８Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０４Ｅ】図９８Ａ～９８Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０４Ｆ】図９８Ａ～９８Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０４Ｇ】図９８Ａ～９８Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０４Ｈ】図９８Ａ～９８Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０４Ｉ】図９８Ａ～９８Ｆに関する補足データを提供する。
【図１０５Ａ】図９９Ａ～９９Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０５Ｂ】図９９Ａ～９９Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０５Ｃ】図９９Ａ～９９Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０５Ｄ】図９９Ａ～９９Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０５Ｅ】図９９Ａ～９９Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０５Ｆ】図９９Ａ～９９Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０５Ｇ】図９９Ａ～９９Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０６Ａ】図１００Ａ～１００Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０６Ｂ】図１００Ａ～１００Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０６Ｃ】図１００Ａ～１００Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０６Ｄ】図１００Ａ～１００Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０６Ｅ】図１００Ａ～１００Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０６Ｆ】図１００Ａ～１００Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０６Ｇ】図１００Ａ～１００Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０６Ｈ】図１００Ａ～１００Ｅに関する補足データを提供する。
【図１０７Ａ】図１０１Ａ～１０１Ｃに関する補足データを提供する。
【図１０７Ｂ】図１０１Ａ～１０１Ｃに関する補足データを提供する。
【図１０７Ｃ】図１０１Ａ～１０１Ｃに関する補足データを提供する。
【図１０７Ｄ－１】図１０１Ａ～１０１Ｃに関する補足データを提供する。
【図１０７Ｄ－２】図１０７Ｄ－１の続きを示す図である。
【図１０７Ｅ】図１０１Ａ～１０１Ｃに関する補足データを提供する。
【図１０８Ａ】Ｔ細胞における組み合わせ抗原感知のためのｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体の実

施形態を提供する。
【図１０８Ｂ】Ｔ細胞における組み合わせ抗原感知のためのｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体の実施形態を提供する。
【図１０８Ｃ】Ｔ細胞における組み合わせ抗原感知のためのｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体の実施形態を提供する。
【図１０８Ｄ】Ｔ細胞における組み合わせ抗原感知のためのｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体の実施形態を提供する。
【図１０９Ａ】ｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞活性化のための組み合わせ抗原要件を実証する。
【図１０９Ｂ】ｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞活性化のための組み合わせ抗原要件を実証する。
【図１０９Ｃ】ｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞活性化のための組み合わせ抗原要件を実証する。
【図１０９Ｄ】ｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞活性化のための組み合わせ抗原要件を実証する。
【図１１０Ａ】ヒト初代Ｔ細胞におけるｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－治療用Ｔ細胞活性化及び腫瘍殺傷に対する組み合わせ抗原制御を実証する。
【図１１０Ｂ】ヒト初代Ｔ細胞におけるｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－治療用Ｔ細胞活性化及び腫瘍殺傷に対する組み合わせ抗原制御を実証する。
【図１１０Ｃ】ヒト初代Ｔ細胞におけるｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－治療用Ｔ細胞活性化及び腫瘍殺傷に対する組み合わせ抗原制御を実証する。
【図１１０Ｄ】ヒト初代Ｔ細胞におけるｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－治療用Ｔ細胞活性化及び腫瘍殺傷に対する組み合わせ抗原制御を実証する。
【図１１０Ｅ】ヒト初代Ｔ細胞におけるｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－治療用Ｔ細胞活性化及び腫瘍殺傷に対する組み合わせ抗原制御を実証する。
【図１１０Ｆ】ヒト初代Ｔ細胞におけるｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－治療用Ｔ細胞活性化及び腫瘍殺傷に対する組み合わせ抗原制御を実証する。
【図１１１Ａ】ｉｎ　ｖｉｖｏで腫瘍局所性のＣＡＲ発現を推進するｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を示す。
【図１１１Ｂ】ｉｎ　ｖｉｖｏで腫瘍局所性のＣＡＲ発現を推進するｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を示す。
【図１１１Ｃ】ｉｎ　ｖｉｖｏで腫瘍局所性のＣＡＲ発現を推進するｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を示す。
【図１１２Ａ】ｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現によるｉｎ　ｖｉｖｏでの選択的な組み合わせ抗原腫瘍殺傷を示す。
【図１１２Ｂ】ｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現によるｉｎ　ｖｉｖｏでの選択的な組み合わせ抗原腫瘍殺傷を示す。
【図１１２Ｃ】ｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現によるｉｎ　ｖｉｖｏでの選択的な組み合わせ抗原腫瘍殺傷を示す。
【図１１２Ｄ】ｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現によるｉｎ　ｖｉｖｏでの選択的な組み合わせ抗原腫瘍殺傷を示す。
【図１１３Ａ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、精密免疫療法のためにＣＡＲ　Ｔ細胞応答を制御し局在化させることを示す。
【図１１３Ｂ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、精密免疫療法のためにＣＡＲ　Ｔ細胞応答を制御し局在化させることを示す。
【図１１３Ｃ】ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、精密免疫療法のためにＣＡＲ　Ｔ細胞応答を制御し局在化させることを示す。
【図１１４Ａ】図１０９Ａ～１０９Ｄに関する補足データを提供する。
【図１１４Ｂ】図１０９Ａ～１０９Ｄに関する補足データを提供する。
【図１１４Ｃ】図１０９Ａ～１０９Ｄに関する補足データを提供する。

【図１１４Ｄ】図１０９Ａ～１０９Ｄに関する補足データを提供する。
【図１１５Ａ】図１１０Ａ～１１０Ｆに関する補足データを提供する。
【図１１５Ｂ】図１１０Ａ～１１０Ｆに関する補足データを提供する。
【図１１５Ｃ】図１１０Ａ～１１０Ｆに関する補足データを提供する。
【図１１５Ｄ】図１１０Ａ～１１０Ｆに関する補足データを提供する。
【図１１５Ｅ】図１１０Ａ～１１０Ｆに関する補足データを提供する。
【図１１５Ｆ】図１１０Ａ～１１０Ｆに関する補足データを提供する。
【図１１５Ｇ】図１１０Ａ～１１０Ｆに関する補足データを提供する。
【図１１５Ｈ】図１１０Ａ～１１０Ｆに関する補足データを提供する。
【図１１５Ｉ】図１１０Ａ～１１０Ｆに関する補足データを提供する。
【図１１６Ａ】図１１１Ａ～１１１Ｃに関する補足データを提供する。
【図１１６Ｂ】図１１１Ａ～１１１Ｃに関する補足データを提供する。
【図１１６Ｃ】図１１１Ａ～１１１Ｃに関する補足データを提供する。
【図１１７Ａ】図１１２Ａ～１１２Ｄに関する補足データを提供する。
【図１１７Ｂ】図１１２Ａ～１１２Ｄに関する補足データを提供する。
【図１１７Ｃ】図１１２Ａ～１１２Ｄに関する補足データを提供する。
【図１１７Ｄ】図１１２Ａ～１１２Ｄに関する補足データを提供する。
【図１１７Ｅ】図１１２Ａ～１１２Ｄに関する補足データを提供する。
【図１１８】ｓｙｎＮｏｔｃｈを使用したヒトＴ細胞におけるＦｏｘｐ３発現の誘導を実証する。
【図１１９】ヒトＴ細胞からのＳｙｎＮｏｔｃｈ制御抗体分泌のための概略の抗体構築物設計を提供する。
【図１２０】ＳｙｎＮｏｔｃｈ誘導型抗体分泌を検査するために使用したｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイの概略図を提供する。
【図１２１】細胞表面「サンドイッチＥＬＩＳＡ」フローサイトメトリーアッセイの概略図を提供する。
【図１２２】ＳｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞を、抗原刺激に応答して異種抗体を産生するように誘導することができることを実証する。
【図１２３】分割ＳｙｎＮｏｔｃｈシグナル伝達システムの概略図を提供する。
【図１２４】本開示の分割ＳｙｎＮｏｔｃｈシグナル伝達システムの実施形態に係る、様々な濃度の可溶性アダプター分子での受信側細胞活性化を実証する。
【図１２５】本開示の実施形態に係る３つの細胞分割ＳｙｎＮｏｔｃｈシグナル伝達システムの概略図を提供する。
【図１２６】本開示の実施形態に係る３つの細胞分割ＳｙｎＮｏｔｃｈシグナル伝達システムにおけるＳｙｎＮｏｔｃｈ受信側細胞活性化を実証する。
【図１２７】本開示の実施形態に係る３つの細胞分割ＳｙｎＮｏｔｃｈ抑制性シグナル伝達システムの概略図を提供する。
【図１２８】本開示の実施形態に係る３つの細胞分割ＳｙｎＮｏｔｃｈ抑制性シグナル伝達システムにおけるＳｙｎＮｏｔｃｈ受信側細胞活性化の阻害を実証する。
【図１２９】図１２９Ａ～１２９Ｆは、本明細書に記載の分割ＣＡＲシステムの具体的な実施形態の概略図を提供する（図１２９Ｆは、図１２９Ａ～１２９Ｅに表す概略図の要素を特定する）。
【図１３０】２つの抗原ゲート使用分割ＣＡＲ回路の一実施形態を示す。
【図１３１】２つの抗原ゲート使用分割ＣＡＲ回路のさらなる実施形態を示す。
【図１３２】３つの入力ゲート使用回路の実施形態の概略図を提供する。
【図１３３】３つの抗原ゲート使用ＳｙｎＮｏｔｃｈ、分割ＣＡＲ回路の一構成の図を提供する。
【図１３４】４つの入力ゲート使用回路の実施形態の概略図を提供する。
【図１３５】５つの入力ゲート使用回路の実施形態の概略図を提供する。
【図１３６】本開示の３つの入力ＡＮＤ＋ＮＯＴゲートの一実施形態の概略図を提供する

。
【図１３７】分割転写因子ＡＮＤ機能性及びドミナントネガティブＮＯＴ機能性を有する多入力ゲートの一実施形態の概略図を提供する。
【図１３８】多入力ゲート使用ＣＡＲ　Ｔ細胞活性化回路の一実施形態の概略図を提供する。
【図１３９】ペムブロリズマブを条件的に分泌するように改変されたＳｙｎＮｏｔｃｈ　ＣＤ４　Ｔ細胞の、図１２２で行われた分析と同様の分析の結果を提供する。
【図１４０】ペムブロリズマブを分泌するように改変されたＳｙｎＮｏｔｃｈ　Ｅ６－１　Ｊｕｒｋａｔ細胞の、図１２２で行われた分析と同様の分析の結果を提供する。
【図１４１】代替の構築物を使用してペムブロリズマブを分泌するように改変されたＳｙｎＮｏｔｃｈ　Ｅ６－１　Ｊｕｒｋａｔ細胞の、図１２２で行われた分析と同様の分析の結果を提供する。
【図１４２】トレメリムマブを分泌するように改変されたＳｙｎＮｏｔｃｈ　ＣＤ４　Ｔ細胞の、図１２２で行われた分析と同様の分析の結果を提供する。
【図１４３】トレメリムマブを分泌するように改変されたＳｙｎＮｏｔｃｈ　Ｅ６－１　Ｊｕｒｋａｔ細胞の、図１２２で行われた分析と同様の分析の結果を提供する。
【発明を実施するための形態】
【００５１】
定義
「ポリヌクレオチド」及び「核酸」という用語は、本明細書で互換可能に使用され、リボヌクレオチドまたはデオキシリボヌクレオチドのいずれかの、任意の長さのヌクレオチドの重合形態を指す。ゆえに、この用語には、一本鎖、二本鎖、または複数鎖ＤＮＡもしくはＲＮＡ、ゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ＤＮＡ－ＲＮＡハイブリッド、あるいはプリンもしくはピリミジン塩基を含むポリマー、もしくは他の天然、化学的、生物学的に修飾された、非天然もしくは誘導化されたヌクレオチド塩基を含むポリマーを含むがこれらに限定されない。
【００５２】
「作動可能に連結」とは、並立を指し、そのように記載された構成要素は、それらの意図する様式において機能することを可能にする関係にある。例えば、プロモーターはコード配列に、プロモーターがその転写または発現に影響する場合に、作動可能に連結している。
【００５３】
「ベクター」または「発現ベクター」は、レプリコン、例えば、プラスミド、ファージ、ウイルス、またはコスミドであり、それに別のＤＮＡセグメント、すなわち「インサート」が、付着して、細胞において付着したセグメントの複製をもたらし得る。
【００５４】
「異種」とは、本明細書で用いるとき、それぞれ、未変性（例えば、天然に存在する）核酸またはタンパク質には見いだされないヌクレオチドまたはポリペプチド配列を意味する。
【００５５】
「抗体」及び「免疫グロブリン」という用語は、任意のアイソタイプの抗体または免疫グロブリン、抗原への特異的結合を保持する抗体の断片を含み、それには、Ｆａｂ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、及びＦｄ断片、キメラ抗体、ヒト化抗体、一本鎖抗体（ｓｃＡｂ）、単一ドメイン抗体（ｄＡｂ）、シングルドメイン重鎖抗体、シングルドメイン軽鎖抗体、ナノボディ、二重特異性抗体、多重特異性抗体、ならびに抗体の抗原結合性（本明細書で抗原結合性とも称する）部分及び非抗体タンパク質を含む融合タンパク質が含まれるが、これらに限定されない。抗体は、例えば、放射性同位体、検出可能産物を生成する酵素、蛍光タンパク質等で、検出可能に標識されることができる。抗体は、特異的結合対のメンバー、例えば、ビオチン（ビオチン－アビジン特異的結合対のメンバー）等の他の部分にさらにコンジュゲートすることができる。抗体は、ポリスチレンプレートまたはビーズ等を含む

がこれらに限定されない、固体支持体に結合することもできる。本用語によりさらに包含されるものは、Ｆａｂ’、Ｆｖ、Ｆ（ａｂ’）$_2$、及びまたは抗原への特異的結合性を保持する他の抗体断片、ならびにモノクローナル抗体である。本明細書で用いるとき、モノクローナル抗体は、個別の細胞の群により産生される抗体であり、その全ては、単一の細胞から細胞複製を繰り返すことにより産生される。つまり、細胞のクローンは、単一の抗体種のみを産生する。モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ産生技術を使用して産生することができるが、当業者に公知の他の産生方法も使用することができる（例えば、抗体ファージディスプレイライブラリーに由来する抗体）。抗体は、一価または二価であることができる。抗体は、Ｉｇモノマーであることができ、これは、４つのポリペプチド鎖：ジスルフィド結合により連結した２つの重鎖及び２つの軽鎖からなる「Ｙ形状」分子である。

【００５６】

「ヒト化免疫グロブリン」という用語は、本明細書で用いるとき、異なる起源の免疫グロブリンの部分を含む免疫グロブリンを指し、少なくとも１つの部分が、ヒト起源のアミノ酸配列を含む。例えば、ヒト化抗体は、従来の技術（例えば、合成）により化学的に一つに接合させるかまたは遺伝子工学技術（例えば、キメラ抗体のタンパク質部分をコードするＤＮＡを発現させて、連続するポリペプチド鎖を産生することができる）を使用して連続するポリペプチドとして調製された、マウスなどの不可欠な特異性を有する非ヒト起源の免疫グロブリンに、及びヒト起源の免疫グロブリン配列（例えば、キメラ免疫グロブリン）に由来する部分を含むことができる。ヒト化免疫グロブリンの別の例は、非ヒト起源の抗体に由来する相補性決定領域（ＣＤＲ）ならびにヒト起源の軽鎖及び／または重鎖に由来するフレームワーク領域を含む１つまたは複数の免疫グロブリン鎖を含有する免疫グロブリンである（例えば、フレームワーク変化を伴うまたは伴わないＣＤＲグラフト抗体）。キメラまたはＣＤＲグラフト一本鎖抗体も、ヒト化免疫グロブリンという用語に包含される。例えば、Ｃａｂｉｌｌｙ ｅｔ ａｌ．，米国特許第４，８１６，５６７号；Ｃａｂｉｌｌｙ ｅｔ ａｌ．，欧州特許第０，１２５，０２３ Ｂ１号；Ｂｏｓｓ ｅｔ ａｌ．，米国特許第４，８１６，３９７号；Ｂｏｓｓ ｅｔ ａｌ．，欧州特許第０，１２０，６９４ Ｂ１号；Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ，Ｍ．Ｓ．ｅｔ ａｌ．，ＷＯ８６／０１５３３；Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ，Ｍ．Ｓ．ｅｔ ａｌ．，欧州特許第０，１９４，２７６ Ｂ１号；Ｗｉｎｔｅｒ，米国特許第５，２２５，５３９号；Ｗｉｎｔｅｒ，欧州特許第０，２３９，４００ Ｂ１号；Ｐａｄｌａｎ，Ｅ．Ａ．ｅｔ ａｌ．，欧州特許出願第０，５１９，５９６ Ａ１号を参照されたい。Ｌａｄｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，米国特許第４，９４６，７７８号；Ｈｕｓｔｏｎ，米国特許第５，４７６，７８６号；及びＢｉｒｄ，Ｒ．Ｅ．ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４２：４２３－４２６（１９８８））も、一本鎖抗体に関して、参照されたい。

【００５７】

「ナノボディ」（Ｎｂ）という用語は、本明細書で用いるとき、天然に存在する重鎖抗体に由来する最小抗原結合性断片または単一可変ドメイン（V_{HH}）を指し、当業者に公知である。それらは、ラクダにおいてみられる重鎖のみの抗体に由来する（Ｈａｍｅｒｓ－Ｃａｓｔｅｒｍａｎ ｅｔ ａｌ．，１９９３；Ｄｅｓｍｙｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９６）。「ラクダ」免疫グロブリンのファミリーでは、軽鎖ポリペプチド鎖の欠失が見出されている。「ラクダ」は、旧語ラクダ（フタコブラクダ及びヒトコブラクダ）及び新語ラクダ（例えば、アルパカ、ラマ、グアナコ及びビクーナ）を含む。単一可変ドメイン重鎖抗体は、本明細書において、ナノボディまたはV_{HH}抗体と称する。

【００５８】

「抗体断片」は、インタクト抗体の一部分、例えば、インタクト抗体の抗原結合性または可変領域を含む。抗体断片の例としては、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、及びＦｖ断片；ダイアボディ；線状抗体（Ｚａｐａｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．８（１０）：１０５７－１０６２（１９９５））；ドメイン抗体（ｄＡｂ；Ｈｏｌｔ ｅｔ ａｌ．（２００３）Ｔｒｅｎｄｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２１：４８４）；一

本鎖抗体分子；及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられる。抗体のパパイン消化により、以下の２つの同一の抗原結合性断片が産生される：「Ｆａｂ」断片と称するもの、この各々は単一の抗原結合部位を有する；及び、残りの「Ｆｃ」断片、この名称は容易に結晶化する能力を反映する。ペプシン処理により、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片が得られ、これは、２つの抗原組み合わせ部位を有し、依然として抗原を架橋することができる。

【００５９】

「Ｆｖ」は、完全な抗原認識及び結合部位を含有する最小抗体断片である。この領域は、堅固な非共有結合をなした１つの重鎖及び１つの軽鎖可変ドメインの二量体からなる。この構成において、各可変ドメインの３つのＣＤＲは相互に作用して、V_H－V_L二量体の表面上に抗原結合部位を形成する。集合的に、６つのＣＤＲが抗体に抗原結合特異性を付与する。しかしながら、単一可変ドメイン（または抗原に対して特異的な３つのＣＤＲのみを含むＦｖの半分）でさえ、結合部位全体よりも親和性が低くなるが、抗原を認識し結合する能力を有する。

【００６０】

「Ｆａｂ」断片は、軽鎖の定常ドメイン及び重鎖の第一の定常ドメイン（CH_1）も含有する。Ｆａｂ断片は、Ｆａｂ’断片とは異なり、それは抗体ヒンジ領域からの１つまたは複数のシステインを含む重鎖CH_1ドメインのカルボキシル末端に数個の残基が添加されていることによる。Ｆａｂ’－ＳＨは、定常ドメインのシステイン残基（複数可）が１つの遊離チオール基を担持しているＦａｂ’に対する本明細書での命名である。Ｆ（ａｂ’）$_2$抗体断片は、それらの間にヒンジシステインを有するＦａｂ’断片の対として元々生産された。抗体断片の他の化学的カップリングも公知である。

【００６１】

あらゆる脊椎動物種からの抗体（免疫グロブリン）の「軽鎖」は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパとラムダと称される、２つの明らかに異なる型のうち１方に割り当てられることができる。それらの重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンは異なるクラスに割り当てられることができる。免疫グロブリンの５つの主要なクラスが存在する：ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ及びＩｇＭ、そしてこれらのクラスのいくつかが、さらにサブクラス（アイソタイプ）、例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ及びＩｇＡ２に分けられ得る。サブクラスは、型、例えば、ＩｇＧ２ａ及びＩｇＧ２ｂへとさらに分けられ得る。

【００６２】

「一本鎖Ｆｖ」または「ｓＦｖ」または「ｓｃＦｖ」抗体断片は、抗体のV_H及びV_Lドメインを含み、これらのドメインは、一本のポリペプチド鎖に存在する。いくつかの実施形態では、Ｆｖポリペプチドは、V_H及びV_Lドメインの間にポリペプチドリンカーをさらに含み、これによりｓＦｖは、抗原結合に所望の構造を形成することが可能になる。ｓＦｖの概説については、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ ｉｎ Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｄｉｅｓ，ｖｏｌ．１１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ ａｎｄ Ｍｏｏｒｅｅｄｓ．，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ｐｐ．２６９－３１５（１９９４）を参照されたい。

【００６３】

「ダイアボディ」という用語は、２つの抗原結合部位を有する小さい抗体断片を指し、この断片は、同一のポリペプチド鎖（V_H－V_L）中に、軽鎖可変ドメイン（V_L）に連結された重鎖可変ドメイン（V_H）を含む。同一の鎖上での２つのドメイン間の対合を可能にするには短すぎるリンカーを使用することで、ドメインは、別の鎖の相補性ドメインと対合し、２つの抗原－結合部位を作製せざるを得ない。ダイアボディは、例えば、ＥＰ４０４，０９７；ＷＯ９３／１１１６１；及びＨｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ９０：６４４４－６４４８においてより十分に説明されている。

【００６４】

本明細書で用いるとき、「親和性」という用語は、２つの物質（例えば、抗体と抗原）

の可逆的結合の平衡定数を指し、解離定数（K_D）として表される。親和性は、無関係のアミノ酸配列に対する抗体の親和性よりも、少なくとも１倍大きい、少なくとも２倍大きい、少なくとも３倍大きい、少なくとも４倍大きい、少なくとも５倍大きい、少なくとも６倍大きい、少なくとも７倍大きい、少なくとも８倍大きい、少なくとも９倍大きい、少なくとも１０倍大きい、少なくとも２０倍大きい、少なくとも３０倍大きい、少なくとも４０倍大きい、少なくとも５０倍大きい、少なくとも６０倍大きい、少なくとも７０倍大きい、少なくとも８０倍大きい、少なくとも９０倍大きい、少なくとも１００倍大きい、または少なくとも１、０００倍大きい、またはそれ以上であることができる。標的タンパク質に対する抗体の親和性は、例えば、約１００ナノモル（ｎＭ）～約０．１ｎＭ、約１００ｎＭ～約１ピコモル（ｐＭ）、または約１００ｎＭ～約１フェムトモル（ｆＭ）またはそれ以上であることができる。本明細書で用いるとき、「結合力」という用語は、２つ以上の物質の複合体の、希釈後の解離に対する抵抗性を指す。「免疫反応性」及び「優先的に結合する」という用語は、抗体及び／または抗原結合性断片に関して、本明細書で互換可能に使用される。

【００６５】

「結合」という用語は、例えば、塩橋及び水橋などの相互作用を含む、共有結合性、静電気的、疎水性、ならびにイオン性及び／または水素結合相互作用による、２つの分子間の直接会合を指す。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞外ドメインに存在する特異的結合対の第一のメンバーは、特異的結合対の第二のメンバーに特異的に結合する。「特異的結合」は、少なくとも約10^{-7}Ｍまたはそれ以上、例えば、5×10^{-7}Ｍ、10^{-8}Ｍ、5×10^{-8}Ｍ、及びそれ以上の親和性での結合を指す。「非特異的結合」は、約10^{-7}Ｍ未満の親和性での結合、例えば、10^{-6}Ｍ、10^{-5}Ｍ、10^{-4}Ｍ等の親和性での結合を指す。

【００６６】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、本明細書で互換可能に使用され、任意の長さのアミノ酸の重合形態を指し、これは、遺伝的にコードされた及び非遺伝的にコードされたアミノ酸、化学または生化学的に改変されたまたは誘導体化されたアミノ酸、及び改変されたペプチド主鎖を有するポリペプチドを含むことができる。本用語は、融合タンパク質を含み、それには、異種アミノ酸配列を有する融合タンパク質、Ｎ末端メチオニン残基を有するまたは有さない異種及び同種のリーダー配列を有する融合体；免疫学的にタグ付けされたタンパク質；等が含まれるが、これらに限定されない。

【００６７】

「単離」ポリペプチドは、その天然環境の構成要素から、同定され、分離された及び／または回収されているものである。その天然環境の混入構成要素は、ポリペプチドの診断もしくは治療用途に干渉し得る物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク性または非タンパク性溶質を含み得る。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、（１）ローリー法で判定される抗体の、９０重量％を超える、９５重量％を超える、もしくは９８重量％を超える、例えば９９重量％を超えるまで、（２）スピニングカップシークエネーターの使用によりＮ末端または内部アミノ酸配列の少なくとも１５残基を得るのに十分な程度まで、または（３）クーマシーブルーまたは銀染色を使用して、還元または非還元条件下で、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）により均一になるまで、精製されるだろう。ポリペプチドの天然環境の少なくとも１つの構成要素は存在しないだろうため、単離ポリペプチドは、組み換え細胞内に原位置ポリペプチドを含む。いくつかの例では、単離ポリペプチドは、少なくとも１つの精製工程によって調製されるだろう。

【００６８】

「キメラ抗原受容体」及び「ＣＡＲ」という用語は、本明細書で互換可能に使用され、一般に、だが排他的ではなく、細胞外ドメイン（例えば、リガンド／抗原結合ドメイン）、膜貫通ドメイン及び１つまたは複数の細胞内シグナル伝達ドメインを含む、免疫細胞の

活性化を誘発するまたは阻害することが可能である人工のマルチモジュール分子を指す。ＣＡＲという用語は、ＣＡＲ分子に特異的に限定されるものではなく、ＣＡＲ変異体も含む。ＣＡＲ変異体は、ＣＡＲの細胞外部分（例えば、リガンド結合性部分）及び細胞内部分（例えば、細胞内シグナル伝達部分）が、２つの別々の分子上に存在する、分割ＣＡＲを含む。ＣＡＲ変異体は、オンスイッチＣＡＲも含み、これは、条件的に活性化可能なＣＡＲであり、例えば、分割ＣＡＲを含み、分割ＣＡＲの２つの部分の条件的なヘテロ二量体化は、薬理学的に制御される。ＣＡＲ変異体は、二重特異性ＣＡＲも含み、これは、一次ＣＡＲの活性を増幅または阻害することができる二次ＣＡＲ結合ドメインを含む。ＣＡＲ変異体は、阻害性キメラ抗原受容体（ｉＣＡＲ）も含み、これは、例えば、二重特異性ＣＡＲシステムの構成要素として使用されてよく、この場合、二次ＣＡＲ結合ドメインの結合は、一次ＣＡＲ活性化の阻害をもたらす。ＣＡＲ分子及びその誘導体（すなわち、ＣＡＲ変異体）は、例えば、ＰＣＴ出願番号ＵＳ２０１４／０１６５２７；Ｆｅｄｏｒｏｖ　ｅｔ　ａｌ．Ｓｃｉ　Ｔｒａｎｓｌ　Ｍｅｄ（２０１３）；５（２１５）：２１５ｒａ１７２；Ｇｌｉｅｎｋｅ　ｅｔ　ａｌ．Ｆｒｏｎｔ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌ（２０１５）６：２１；Ｋａｋａｒｌａ　＆　Ｇｏｔｔｓｃｈａｌｋ　５２　Ｃａｎｃｅｒ　Ｊ（２０１４）２０（２）：１５１－５；Ｒｉｄｄｅｌｌ　ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｊ（２０１４）２０（２）：１４１－４；Ｐｅｇｒａｍ　ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｊ（２０１４）２０（２）：１２７－３３；Ｃｈｅａｄｌｅ　ｅｔ　ａｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｒｅｖ（２０１４）２５７（１）：９１－１０６；Ｂａｒｒｅｔｔ　ｅｔ　ａｌ．Ａｎｎｕ　Ｒｅｖ　Ｍｅｄ（２０１４）６５：３３３－４７；Ｓａｄｅｌａｉｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｄｉｓｃｏｖ（２０１３）３（４）：３８８－９８；Ｃａｒｔｅｌｌｉｅｒｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｂｉｏｍｅｄ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ（２０１０）９５６３０４に記載されており、その開示は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【００６９】

本明細書で用いるとき、ＧＦＰナノボディは、本明細書で、Ｆｒｉｄｙ　ｅｔ　ａｌ．（２０１４）Ｎａｔ．Ｍｅｔｈｏｄｓ．１１（１２）：１２５３－１２６０に記載の、それらの「ＬａＧ」（ＧＦＰに対するラマ抗体）学術名に従って称され得；この開示は、関連する補足材料も含んで、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。従って、例えば、ＧＦＰ（またはＧＦＰの突然変異体もしくはＧＦＰに関連する他の刺胞動物蛍光タンパク質（例えば、ＡｍＣＦＰ、ＤｓＲｅｄ等）がアダプター分子として使用される場合の例では、ＬａＧナノボディの様々な組み合わせが使用されてよいが、例えば、ＬａＧナノボディの対のメンバーがＧＦＰの異なるエピトープと結合する場合、ＬａＧナノボディ対のメンバーはそれらのＧＦＰへの結合において互いに干渉しないことが条件である。ＬａＧナノボディには、例えば、ＬａＧ－２、ＬａＧ－３、ＬａＧ－６、ＬａＧ－９、ＬａＧ－１０、ＬａＧ－１２、ＬａＧ－１４、ＬａＧ－１６、ＬａＧ－１７、ＬａＧ－１９、ＬａＧ－２１、ＬａＧ－２４、ＬａＧ－２６、ＬａＧ－２７、ＬａＧ－２９、ＬａＧ－３０、ＬａＧ－３５、ＬａＧ－３７、ＬａＧ－４１、ＬａＧ－４２、ＬａＧ－４３、ＬａＧ－５、ＬａＧ－８、ＬａＧ－１１、ＬａＧ－１８、ＬａＧ１６－G_4Ｓ－２、ＬａＧ１６－３ｘＦＬＡＧ－２、ＬａＧ４１－G_4Ｓ－２等が含まれるがこれらに限定されない。いくつかの例では、ｍＣｈｅｒｒｙに対するラマ抗体（ＬａＭ）も、本明細書に記載のシステム及びデバイスにおいて使用されてよく、この場合、例えば、ＬａＭナノボディは、例えば、ＬａＭ－１、ＬａＭ－２、ＬａＭ－３、ＬａＭ－４、ＬａＭ－６、ＬａＭ－８を含むがこれらに限定されない。

【００７０】

本明細書で用いるとき、「処置」、「処置すること」、「処置する」等の用語は、所望の薬理学及び／または生理学的効果を得ることを指す。効果は、疾患もしくはその症状を完全にもしくは部分的に防止するという点で予防的であり得、ならびに／または疾患及び／もしくは疾患に帰属する有害作用に対する部分的もしくは完全治癒の点で、治療的であり得る。「処置」は、本明細書で用いるとき、哺乳類における、具体的には、ヒトにおける疾患のあらゆる処置を網羅し、（ａ）疾患に罹りやすくあり得るがまだそれを有すると

診断されていない対象において、その疾患が発症することを防止すること；（ｂ）疾患を抑制すること、すなわちその進行を阻止すること；（ｃ）疾患を軽減すること、すなわち疾患を退縮させることを含む。

【００７１】

本明細書で互換可能に使用される、「個体」、「対象」、「宿主」、及び「患者」という用語は、哺乳類を指し、ネズミ類（ラット、マウス）、非ヒト霊長類、ヒト、イヌ類、ネコ類、有蹄類（例えば、ウマ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギ）、ウサギ類等を含むがこれらに限定されない。いくつかの場合では、個体は、ヒトである。いくつかの場合では、個体は、非ヒト霊長類である。いくつかの場合では、個体は、げっ歯類、例えば、ラットまたはマウスである。いくつかの場合では、個体は、ウサギ類、例えば、ウサギである。

【００７２】

本発明をさらに説明する前に、本発明は、記載される特定の実施形態に限定されず、したがって、言うまでもなく、変動し得ることを理解されたい。本明細書で使用される専門用語は、特定の実施形態を説明することを単に目的とし、本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定され得るため、限定を意図しないことも理解されたい。

【００７３】

値の範囲が提供される場合、文脈が別途明確に指示しない限り、下限値の単位の１０分の１までの、その範囲の上限値から下限値の間の各介在値、ならびにその指定範囲の任意の他の指定値または介在値が、本発明に包含されることが理解される。これらのより小さい範囲の上限値及び下限値は、独立して、より小さい範囲に含まれてよく、指定範囲内の任意の具体的に除外された値に従って、これらも本発明に包含される。指定範囲がそれらの上限値及び下限値のうちの１つまたは両方を含む場合、それらの含まれる上限値及び下限値のいずれかまたは両方を除外する範囲も本発明に包含される。

【００７４】

別途定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する当業者が一般に理解する意味と同一の意味を有する。本明細書に記載の方法及び物質と同様もしくは同等の任意の方法及び物質も、本発明の実践または検査において使用することができるが、好ましい方法及び物質は、これから説明される。本明細書で言及される全ての刊行物は、参照により本明細書に組み込まれて、その刊行物が引用されるものと関連する方法及び／または物質を開示及び説明する。

【００７５】

本明細書で及び添付の特許請求の範囲で用いるとき、単数形「ａ」、「ａｎ」、及び「ｔｈｅ」は、文脈が別途明確に指示しない限り、複数指示対象を含むことに留意されたい。したがって、例えば、「キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド」への言及は、複数のかかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを含み、「遺伝子改変された宿主細胞」への言及は、１つまたは複数の遺伝子改変された宿主細胞及び当業者に公知のその等価物を含む等である。請求項は、あらゆる任意の要素を排除するように作成され得ることにさらに留意されたい。したがって、この記述は、請求項要素の列挙に関連する、「単に」、「のみ」等のような排他的用語の使用、または「否定的」限定の使用に対する、先行詞の役割を果たすことが意図される。

【００７６】

明確にするために、別個の実施形態の文脈において説明される本発明のある特定の特徴は、単一の実施形態にて組み合わせで提供されてもよいことが理解される。逆に、簡潔にするために、単一の実施形態の文脈において説明される本発明の様々な特徴は、別個にまたは任意の好適な副組み合わせで提供されてよい。本発明に関連する実施形態の全ての組み合わせは、本発明によって具体的に包含され、それぞれ及び全ての組み合わせが個別にかつ明確に開示されたかのように本明細書に開示される。加えて、様々な実施形態及びそれらの要素の全ての副組み合わせも本発明によって具体的に包含され、それぞれ及び全てのそのような副組み合わせが個別にかつ明確に本明細書に開示されたかのように本明細書に開示される。

【００７７】
本明細書で考察される刊行物は、本出願の出願日前のそれらの開示のためにのみ提供される。本明細書におけるいずれの内容も、本発明が先行発明によりそのような刊行物に先行する資格がないことを認めるものと解釈されるべきではない。さらに、提供される刊行物の日付は、実際の出版日とは異なる可能性があり、別々に確認する必要があり得る。
【００７８】
詳細な説明
本開示は、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸、及び該核酸で遺伝子改変された宿主細胞を提供する。キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、様々な用途において有用であり、それも提供する。
【００７９】
本開示は、結合誘発型転写スイッチ及び結合誘発型転写スイッチを使用する方法を含む。本明細書で用いるとき、「結合誘発型転写スイッチ」は、一般に、特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを有する、合成モジュラーポリペプチドまたはポリペプチドを相互作用させるシステムを指す。特異的結合対の第二のメンバーの、結合誘発型転写スイッチへの結合の際に、結合シグナルが細胞内ドメインに伝達され、それにより細胞内ドメインが活性化され、そのシグナルの不在下では行われないいくつかの機能が細胞内で行われる。
【００８０】
結合誘発型転写スイッチの構成要素及び該スイッチの互いに対する構成要素の配置は、多くの因子に依存して変動し得、それは、例えば、所望の結合性トリガー、細胞内ドメインの活性、結合誘発型転写スイッチの全体的な機能、結合誘発型転写スイッチを含む分子回路のより広範な配置等を含み得るが、これらに限定されない。第一の結合メンバーは、例えば、本明細書に記載の特異的結合対の第一及び／または第二の結合メンバーを含み得るが、これらに限定されない。細胞内ドメインは、例えば、本明細書に記載のとおりの生物学的機能を有する細胞内ドメイン及びまたはドメインを含み得るが、これらに限定されない。
【００８１】
結合誘発型転写スイッチの結合性トランスデューサも、結合シグナルの伝達の所望の方法に応じて変動するだろう。一般に、結合性トランスデューサは、例えば、様々なシグナル伝達経路の受容体により行われるように、細胞外シグナルを細胞内シグナル伝達に伝達するポリペプチド及び／またはポリペプチドのドメインを含んでよい。結合シグナルの伝達は、例えば、結合誘導型タンパク質分解切断、結合誘導型リン酸化、結合誘導型立体構造変化等を含むが、これらに限定されない様々な機構を通して達成され得る。いくつかの例では、結合トランスデューサは、結合の際に、例えば、細胞内ドメインを遊離させるために、結合シグナルが結合誘発型転写スイッチの切断により伝達されるように、リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含有してよい。例えば、いくつかの例では、結合誘発型転写スイッチは、Ｎｏｔｃｈ由来の切断可能結合性トランスデューサを含んでよい、例えば、本明細書に記載のキメラｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドである。
【００８２】
他の例では、結合シグナルは、誘導性タンパク質分解切断の不在下で伝達され得る。任意のシグナル伝達成分またはシグナル伝達経路の成分は、信号伝搬のためにタンパク質分解切断が必要か否かを問わず、結合誘発型転写スイッチにおいて使用されてよい。例えば、いくつかの例では、例えば、Ｊａｋ－Ｓｔａｔ経路の１つまたは複数のシグナル伝達成分を含むがこれに限定されない、リン酸化系結合トランスデューサは、非タンパク質分解結合誘発型転写スイッチにおいて使用されてよい。
【００８３】
簡略化のために、キメラｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを含むがこれに限定されない結合誘発型転写スイッチは、主に単一のポリペプチド鎖として記載される。しかしながら、

本開示から明白になり得るように、キメラｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを含む結合誘発型転写スイッチは、２つ以上の別々のポリペプチド鎖にわたって分離または分割されてよく、この場合、機能的な結合誘発型転写スイッチ、例えば、キメラｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを形成するための２つ以上のポリペプチド鎖の接合は、構成的または条件的に制御され得る。例えば、分割された結合誘発型転写スイッチの２つの部分の構成的接合は、ヘテロ二量体化の際に分割部分が機能的に接合されるように、構成的ヘテロ二量体化ドメインを、分割ポリペプチドの第一と第二の部分の間に挿入することにより達成され得る。

【００８４】

いくつかの例では、分割結合誘発型転写スイッチの接合及び／または分割結合誘発型転写スイッチからのシグナル伝達は、例えば、分割結合誘発型転写スイッチの第一及び第二部の機能的接合を媒介する「アダプター」の使用を通して条件的に制御してよい。シグナル伝達を、分割結合誘発型転写スイッチを通して媒介するために、アダプターを加えるもしくは直接投与してよいか、または例えば、条件的にまたは構成的にかのいずれかで、例えば、かかる発現のために構成された細胞からアダプターの発現を通して、間接的に産生してよい。有用なアダプターには、２つの異なる結合分子によって同時に使用することができる第一及び第二の結合表面を有するタンパク質が含まれる。いくつかの例では、アダプターは、そのタンパク質の２つの異なるエピトープに２つの抗体が結合する、タンパク質を含んでよい。

【００８５】

例えば、いくつかの例では、抗原は、使用される結合分子が、抗原の２つの異なるエピトープに結合する２つの異なる抗体であってよい場合に、アダプターとして使用してよい。そのような構成では、分割結合誘発型転写スイッチの第一及び第二部への、抗体、またはその部分の付着は、抗原の単一分子への両抗体の同時結合により媒介されて、抗原の存在下でのその部分の機能的接合をもたらす。アダプターとして機能することができる抗原には、病原体の抗原、癌関連抗原、疾患関連抗原、抗体等が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの場合では、アダプター抗原は、可溶性（例えば、細胞の表面に結合しない）である。いくつかの場合では、アダプター抗原は、細胞の表面に結合している。

【００８６】

例えば、いくつかの例では、ＧＦＰは、使用される結合分子が、ＧＦＰの２つの異なる表面に結合する２つの異なる抗体であってよい場合に、アダプターとして使用されてよい。かかる構成では、分割結合誘発型転写スイッチの第一及び第二部への、抗体、またはその部分の付着は、ＧＦＰの単一分子への両抗体の同時結合により媒介されて、ＧＦＰの存在下でその部分の機能的接合をもたらす。

【００８７】

いくつかの例では、分割結合誘発型転写スイッチは、例えば、分割結合誘発型転写スイッチの第一及び第二部の結合が抗原アダプターにより媒介され、その部分の機能的接合をもたらす場合、その分割結合誘発型転写スイッチは、分割結合誘発型転写スイッチの第一及び第二部の近くにある抗原の存在の検出を可能にする。例えば、ある特定の実施形態では、結合誘発型転写スイッチの第一部は第一の細胞の表面上で発現し、結合誘発型転写スイッチの第二部は第二の細胞上で発現され、かかる第一及び第二部は、可溶性抗原が第一及び第二の細胞の近くに存在するとき、第一及び第二部が抗原により機能的に接合されて、活性化された結合誘発型転写スイッチによりレポーターの活性化をもたらすように、構成される。

【００８８】

分割結合誘発型転写スイッチの両部分は、抗原の検出において機能するために細胞に必ずしもアンカーされる必要はない。例えば、いくつかの例では、結合誘発型転写スイッチの第一部は、可溶性に発現され、結合誘発型転写スイッチの第二部は、細胞上で発現され、かかる第一及び第二部は、可溶性抗原が第一及び第二部の近くに存在するとき、これらの部分が抗原により機能的に接合されて、結合誘発型転写スイッチのプライミングをもたらし、プライムされた結合誘発型転写スイッチが、応答する、例えば、結合誘発型転写ス

イッチを活性化する第二の抗原の存在などを含む第二の事象を報告することを可能にするように構成される。かかる第二の抗原は、細胞の表面上に存在してよいか、または細胞に付着しなくてよい。（すなわち、可溶性であってよい）。

【００８９】

分割結合誘発型転写スイッチの部分の接合の条件的制御は、分割結合誘発型転写スイッチからのシグナル伝達のさらなる制御を提供する。例えば、分割結合誘発型転写スイッチからのアダプターシグナル伝達を提供するまたは発現することにより接合を媒介することで、スイッチからのシグナル伝達を許容する状況が作られる。反対に、分割結合誘発型転写スイッチの部分の接合を防ぐ競合阻害因子を提供することにより接合を阻害することで、スイッチからのシグナル伝達は妨げられ得る。いくつかの例では、このような作用は、用量依存性である、すなわち、提供されるアダプター及び／または競合阻害因子の量に基づいて、さらに制御することができる。

【００９０】

従って、本明細書に提供する分割結合誘発型転写スイッチの説明及び単一のポリペプチド結合誘発型転写スイッチの説明により、かかるスイッチ及びかかるスイッチを含有する分子回路からのシグナル伝達に対してさらなる構成的及び／または条件的制御を提供するために活用されてよいことを、当業者は容易に理解するだろう。

【００９１】

キメラＮＯＴＣＨ受容体ポリペプチド

本開示は、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを提供する。本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、ａ）特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメイン；ｂ）Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここでＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、５０アミノ酸～１０００アミノ酸の長さを有し、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；及びｃ）細胞内ドメインを含む。特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合が、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出される。細胞内ドメインの放出は、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを産生する細胞の活性を調節する。細胞外ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーを含み；特異的結合対の第一のメンバーは、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドに対して異種であるアミノ酸配列を含む。細胞内ドメインは、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドに対して異種であるアミノ酸配列を含む。

【００９２】

Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの概略図を図１に提示する。図１に示すＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドには、ａ）：ｉ）上皮成長因子（ＥＧＦ）リピート；ｉｉ）リガンド結合部位；ｉｉｉ）３つのＬｉｎ－１２　Ｎｏｔｃｈリピート（ＬＮＲ）、設計されたＬＮＲ－Ａ、ＬＮＲ－Ｂ、及びＬＮＲ－Ｃ；ｉｖ）２つのヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎ及びＨＤ－Ｃ）を含む細胞外部分；ｂ）膜貫通（ＴＭ）部分；ならびにｃ）：ｉ）ＲＡＭドメイン；ｉｉ）アンキリンリピート；ｉｉｉ）転写活性化ドメイン；及びｉｖ）ＰＥＳＴ領域を含む細胞内部分が含まれる。Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ１、Ｓ２、及びＳ３と称される３つのタンパク質分解部位を含む。Ｓ１は、フューリン切断部位であり、ＨＤ－ＮとＨＣ－Ｃの間に位置する；Ｓ２は、ＡＤＡＭ１７切断部位であり、ＨＤ－Ｃ内に位置する；そしてＳ３は、ガンマセクレターゼ切断部位であり、ＴＭ部分内にある。Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、細胞間コミュニケーション、例えば、接触細胞間のコミュニケーションを媒介し、ここで一方の接触細胞は、「受信側」細胞であり、他方の接触細胞は、「送信側」細胞である。受信細胞上に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの、送信細胞上に存在するデルタポリペプチド（「リガンド」）による係合は、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのリガンド誘導型切断をもたらし、細胞質内への膜からの受容体の細胞内部分の放出をもたらす。放出された部分は、転写調節因子として機能することにより、受信側細胞の挙動を変化させる。

【００９３】

細胞外ドメイン

上記のように、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、細胞外ドメインを含む。細胞外ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーを含む。特異的結合対の第一のメンバーは、特異的結合対の第二のメンバーに結合し、この場合、特異的結合対の第二のメンバーは、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドと異なるポリペプチドの上にある。特異的結合対の第二のメンバーは、特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインを含むキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドとは離れている（例えば、共有結合していない）。特異的結合対の第二のメンバーは、細胞の表面上に存在することができる。特異的結合対の第二のメンバーは、不溶性支持体上に固定されることができる。特異的結合対の第二のメンバーは、可溶性であることができる。特異的結合対の第二のメンバーは、細胞外環境（例えば、細胞外マトリックス）中に存在することができる。特異的結合対の第二のメンバーは、人工マトリックス中に存在することができる。特異的結合対の第二のメンバーは、無細胞環境中に存在することができる。

【００９４】

細胞外ドメインは、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドに対して異種である特異的結合対の第一のメンバーを含む。言い換えると、細胞外ドメインに存在する特異的結合対の第一のメンバーは、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に天然には存在しない。

【００９５】

特異的結合対の好適な第一のメンバーには、抗体をベースとする認識足場；抗体（すなわち、抗原結合性抗体断片を含む抗体をベースとする認識足場）；非抗体をベースとする認識足場；抗原（例えば、内在性抗原；外来性抗原；等）；受容体に対するリガンド；受容体；非抗体をベースとする認識足場の標的；Ｆｃ受容体（例えば、ＦｃγＲＩＩＩａ；ＦｃγＲＩＩＩｂ；等）；細胞外マトリックス成分；等が含まれるが、これらに限定されない。

【００９６】

特異的結合対は、例えば以下を含む：

抗原－抗体特異的結合対、ここで、第一のメンバーは、抗原である第二のメンバーに特異的に結合する抗体（または抗体をベースとする認識足場）であるか、あるいはここで、第一のメンバーは抗原であり、第二のメンバーは、抗原に特異的に結合する抗体（または抗体をベースとする認識足場）である；

リガンド－受容体特異的結合対、ここで、第一のメンバーはリガンドであり、第二のメンバーはリガンドが結合する受容体であるか、あるいはここで、第一のメンバーは受容体であり、第二のメンバーは、受容体に結合するリガンドである；

非抗体をベースとする認識足場－標的特異的結合対、ここで、第一のメンバーは、非抗体をベースとする認識足場であり、第二のメンバーは、非抗体をベースとする認識足場に結合する標的であるか、あるいはここで、第一のメンバーは、標的であり、第二のメンバーは標的に結合する非抗体をベースとする認識足場である；

接着分子－細胞外マトリックス結合対；

Ｆｃ受容体－Ｆｃ結合対、ここで、第一のメンバーは、Ｆｃ受容体である第二のメンバーに結合する免疫グロブリンＦｃであるか、あるいはここで、第一のメンバーは、免疫グロブリンＦｃを含む第二のメンバーに結合するＦｃ受容体である；及び、

受容体－共受容体結合対、ここで、第一のメンバーは、共受容体である第二のメンバーに特異的に結合する受容体であるか、あるいはここで、第一のメンバーは、受容体である第二のメンバーに特異的に結合する共受容体である。

【００９７】

好適な細胞外ドメインの非限定的な例には、例えば、カドヘリン（ＣＤＨ１－２０）、インテグリン（アルファ及びベータイソ型）、エフリン、ＮＣＡＭ、コネクシン、ＣＤ４４、シンデカン、ＣＤ４７、ＤＧアルファ／ベータ、ＳＶ２、プロトカドヘリン、Ｆａｓ、デクチン－１、ＣＤ７、ＣＤ４０、ニューレグリン、ＫＩＲ、ＢＴＬＡ、Ｔｉｍ－２、Ｌａｇ－３、ＣＤ１９、ＣＴＬＡ４、ＣＤ２８、ＴＩＧＩＴ、及びＩＣＯＳが挙げられる

。

【００９８】

いくつかの場合では、細胞外ドメインは、トール様受容体（ＴＬＲ）を含む。いくつかの場合では、細胞外ドメインは、病原性真菌類及び癌細胞の表面上に存在するＮ－グリカンを認識するデクチンを含む。例えば、Ｘｉｅ（２０１２）Ｇｌｙｃｏｃｏｎｊ．２９：２７３；及びＢｒｏｗｎ　ｅｔ　ａｌ．（２００７）Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｃｉ．１６：１０４２を参照されたい。いくつかの場合では、細胞外ドメインは、細菌の表面分子を認識するポリペプチドを含む。

【００９９】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドの細胞外ドメインは、以下のアミノ酸配列：

GVLSSPCPPNWIIYEKSCYLFSMSLNSWDGSKRQCWQLGSNLLKIDSSNELGFIVKQVSS

QPDNSFWIGLSRPQTEVPWLWEDGSTFSSNLFQIRTTATQENPSPNCVWIHVSVIYDQLC

SVPSYSICEKKFSM (SEQ ID NO:3)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１００】

当業者は、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現するように遺伝子改変されている細胞の所望の局在化または機能に基づいて細胞外ドメインを選択することができる。例えば、細胞外ドメインは、細胞表面上のエストロゲン受容体の数が増加しているエストロゲン依存性乳癌細胞に対して細胞を標的とすることができ、この場合、特異的結合対の第一のメンバーは、エストロゲン受容体（特異的結合対の第二のメンバー）に結合する。リガンド／受容体相互作用の他の非限定的な例には、ＣＣＲＩ（例えば、関節リウマチにおける炎症を起こした関節組織もしくは脳、及び／または多発性硬化症を標的とする）、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８（例えば、リンパ節組織を標的とする）、ＣＣＲ６、ＣＣＲ９、ＣＣＲＩＯ（例えば、腸組織を標的とするため）、ＣＣＲ４、ＣＣＲＩＯ（例えば、皮膚を標的とするため）、ＣＸＣＲ４（例えば、遊出を全体的に亢進させるため）、ＨＣＥＬＬ（例えば、炎症及び炎症性障害、骨髄の標的化のため）、アルファ４ベータ７（例えば、腸粘膜標的化のため）、ＶＬＡ－４／ＶＣＡＭ－Ｉ（例えば、内皮を標的とする）が挙げられる。概して、（例えば、癌転移）を標的とすることに関与する任意の受容体は、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞外ドメインとして使用することができる。

【０１０１】

抗体をベースとする認識足場

いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、抗体である。抗体は、任意の抗原結合性の抗体をベースとするポリペプチドであることができ、広く様々なそれが当該分野で公知である。いくつかの例では、抗原結合ドメインは、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）である。他の抗体をベースとする認識ドメイン（ｃＡｂ　ＶＨＨ（ラクダ科抗体可変ドメイン）及びヒト化版、ＩｇＮＡＲ　ＶＨ（サメ抗体可変ドメイン）及びヒト化版、ｓｄＡｂ　ＶＨ（単一ドメイン抗体可変ドメイン）及び「ラクダ化」抗体可変ドメインが使用に好適である。いくつかの例では、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）をベースとする認識ドメイン、例えば、一本鎖ＴＣＲ（ｓｃＴｖ、ＶαＶβを含有する一本鎖２ドメインＴＣＲ）も使用に好適である。

【０１０２】

本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドにおける特異的結合対のメンバーが抗体をベースとする認識足場である場合、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、特異的結合対の第二のメンバーの存在下で活性化されることができ、この場合、特異的結合対の第二のメンバーは、抗体をベースとする認識足場に結合する抗原である。

【０１０３】
本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドに好適に含まれる抗体は、様々な抗原結合特異性を有することができる。
【０１０４】
いくつかの場合では、抗原結合ドメインは、癌細胞により発現される（により合成される）抗原、すなわち、癌細胞関連抗原に存在するエピトープに対して特異的である。癌細胞関連抗原は、例えば、乳癌細胞、Ｂ細胞リンパ腫、膵臓癌、ホジキンリンパ腫細胞、卵巣癌細胞、前立腺癌、中皮腫、肺癌細胞（例えば、小細胞肺癌細胞）、非ホジキンＢ細胞リンパ腫（Ｂ－ＮＨＬ）細胞、卵巣癌細胞、前立腺癌、中皮腫細胞、肺癌細胞（例えば、小細胞肺癌細胞）、メラノーマ細胞、慢性リンパ性白血病細胞、急性リンパ性白血病細胞、神経芽細胞腫細胞、神経膠腫、神経膠芽細胞腫、髄芽腫、結腸直腸癌細胞等と関連する抗原であることができる。癌細胞関連抗原は、非癌性細胞によって発現されてもよい。
【０１０５】
いくつかの場合では、抗原結合ドメインは、組織特異的抗原に存在するエピトープに対して特異的である。いくつかの場合では、抗原結合ドメインは、疾患関連抗原に存在するエピトープに対して特異的である。
【０１０６】
主題のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの抗原結合ドメインが結合することができる抗原の非限定的な例としては、例えば、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ３８、ＣＤ３０、Ｈｅｒ２／ｎｅｕ、ＥＲＢＢ２、ＣＡ１２５、ＭＵＣ－１、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）、ＣＤ４４表面接着分子、メソテリン、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）、上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、血管内皮成長因子受容体－２（ＶＥＧＦＲ２）、高分子量メラノーマ関連抗原（ＨＭＷ－ＭＡＡ）、ＭＡＧＥ－Ａ１、ＩＬ－１３Ｒ－ａ２、ＧＤ２等が挙げられる。
【０１０７】
主題のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの抗原結合ドメインが結合することができる抗原の非限定的な例としては、例えば、カドヘリン（ＣＤＨ１－２０）、インテグリン（アルファ及びベータイソ型）、エフリン、ＮＣＡＭ、コネクシン、ＣＤ４４、シンデカン、ＣＤ４７、ＤＧアルファ／ベータ、ＳＶ２、プロトカドヘリン、Ｆａｓ、デクチン－１、ＣＤ７、ＣＤ４０、ニューレグリン、ＫＩＲ、ＢＴＬＡ、Ｔｉｍ－２、Ｌａｇ－３、ＣＤ１９、ＣＴＬＡ４、ＣＤ２８、ＴＩＧＩＴ、及びＩＣＯＳが挙げられる。
【０１０８】
いくつかの場合では、抗体は、サイトカインに対して特異的である。いくつかの場合では、抗体は、サイトカイン受容体に対して特異的である。いくつかの場合では、抗体は、成長因子に対して特異的である。いくつかの場合では、抗体は、成長因子受容体に対して特異的である。いくつかの場合では、抗体は、細胞表面受容体に対して特異的である。
【０１０９】
いくつかの場合では、抗体は、細胞表面標的に対して特異的であり、この場合、細胞表面標的の非限定的な例としては、ＣＤ１９、ＣＤ３０、Ｈｅｒ２、ＣＤ２２、ＥＮＰＰ３、ＥＧＦＲ、ＣＤ２０、ＣＤ５２、ＣＤ　１１ａ、及びアルファ－インテグリンが挙げられる。
【０１１０】
いくつかの場合では、抗体をベースとする足場により結合される抗原（特異的結合対の第二のメンバー）は、可溶性である。いくつかの場合では、抗原は、膜結合型であり、例えば、いくつかの場合では、抗原は、細胞の表面上に存在する。いくつかの場合では、抗原は、不溶性支持体上に固定されており、この場合、不溶性支持体には、様々な材料（例えば、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリビニルピロリドン、ポリカーボネート、ニトロセルロース等）のいずれかを含むことができ；不溶性支持体は、様々な形態、例えば、プレート、組織培養皿、カラム等をとることができる。いくつかの場合では、抗原は、細胞外マトリックス（ＥＣＭ）中に存在する（例えば、抗原は、ＥＣＭ成分である）。いくつ

かの場合では、抗原は、人工マトリックス中に存在する。いくつかの場合では、抗原は、無細胞環境中に存在する。

【０１１１】

非抗体をベースとする認識足場

いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、非抗体をベースとする認識足場である。本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドにおける特異的結合対のメンバーが、非抗体をベースとする認識足場である場合、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、特異的結合対の第二のメンバーの存在下で活性化することができ、この場合、特異的結合対の第二のメンバーは、非抗体をベースとする認識足場に結合する標的である。

【０１１２】

非抗体をベースとする認識足場には、例えば、アフィボディ；操作されたＫｕｎｉｔｚドメイン；モノボディ（アドネクチン）；アンチカリン；設計されたアンキリンリピートドメイン（ＤＡＲＰｉｎ）；システィンリッチポリペプチド（例えば、システィンリッチノッチンペプチド）の結合部位；アビマー；アフィリン；等が含まれる。例えば、Ｇｅｂａｕｅｒ ａｎｄ Ｓｋｅｒｒａ（２００９）Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．１３：２４５を参照されたい。

【０１１３】

非抗体をベースとする足場（本明細書では「抗体模倣分子」とも称される）は、人工的に多様化された結合部位を有する結合分子のライブラリーからの標的結合性変異体の選択または単離により同定され得る。多様化されたライブラリーは、完全にランダムなアプローチ（例えば、エラープローンポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）、エクソンシャッフリングまたは指向進化）を使用して生成され得るか、または当該分野において認識されているデザインストラテジーによって助成され得る。例えば、結合部位がその同族の標的分子と相互作用するときに通常関与するアミノ酸の位置が、その結合部位をコードする核酸内で対応する位置に縮重コドン、トリヌクレオチド、ランダムペプチドまたはループ全体を挿入することによってランダム化され得る（例えば、米国公開第２００４０１３２０２８号を参照されたい）。アミノ酸位置の場所は、標的分子を有するタンパク質実体における結合部位の結晶構造の調査により同定することができる。ランダム化のための候補位置には、ループ、平面、ヘリックス及び結合部位の結合空洞が含まれる。ある特定の実施形態では、多様化に対する候補である可能性がある結合部位内のアミノ酸は、免疫グロブリンの折り畳みとの相同性によって同定され得る。例えば、フィブロネクチン結合分子のライブラリーを生成するために、フィブロネクチンのＣＤＲ様ループ内の残基がランダム化され得る（例えば、Ｋｏｉｄｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２８４：１１４１－１１５１（１９９８）を参照されたい）。ランダム化されてよい結合部位の他の部分には、平面が含まれる。ランダム化の後、多様化されたライブラリーは、所望の結合特性を有する結合分子を得るために、選択またはスクリーニング手順に供されてよい。例えば、選択は、当該分野において認識されている方法、例えば、ファージディスプレイ、酵母ディスプレイ、またはリボソームディスプレイによって達成することができる。

【０１１４】

例えば、いくつかの場合では、非抗体をベースとする足場は、フィブロネクチン結合分子に由来する結合部位を含む。フィブロネクチン結合分子（例えば、フィブロネクチンＩ、ＩＩまたはＩＩＩ型ドメインを含む分子）は、免疫グロブリンとは対照的に鎖内ジスルフィド結合に依存しないＣＤＲ様ループを示す。ＦｎＩＩＩループは、有用な治療用ツールを開発するために、ランダム変異、ならびに標的結合、選択及びさらなる変異を反復する指向進化スキームに供されてよい領域を含む。フィブロネクチンをベースとする「指定可能な（ａｄｄｒｅｓｓａｂｌｅ）」治療用結合分子（「ＦＡＴＢＩＭ」）を、標的抗原またはエピトープに特異的に結合するように開発できる。フィブロネクチン結合ポリペプチドを作製するための方法は、例えば、ＷＯ０１／６４９４２、ならびに米国特許第６，６７３，９０１号、同第６，７０３，１９９号、同第７，０７８，４９０号及び同第７，１１９，１７１号に記載されている。

【０１１５】
別の例として、いくつかの場合では、非抗体をベースとする足場は、アフィボディに由来する結合部位を含む。アフィボディは、ブドウ球菌プロテインＡ（ＳＰＡ）の免疫グロブリン結合ドメインに由来する（例えば、Ｎｏｒｄ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，１５：７７２－７７７（１９９７）を参照されたい）。アフィボディは、特定の標的と結合する固有の結合部位を有する抗体模倣物である。アフィボディは、小さくあることができ（例えば、５８アミノ酸を有する３つのアルファヘリックスからなり、約６ｋＤａのモル質量を有する）、不活性な形式を有し（Ｆｃ機能無し）、標的化部分としてヒトにおける試験に成功している。アフィボディ結合部位は、ＳＰＡのドメイン（例えば、ドメインＢ）に由来するＳＰＡ関連タンパク質（例えば、プロテインＺ）を突然変異誘発し、標的抗原またはエピトープに対する結合親和性を有する変異体ＳＰＡ関連ポリペプチドについて選択することによって、合成され得る。アフィボディ結合部位を作製するための他の方法は、米国特許第６，７４０，７３４号及び同第６，６０２，９７７号ならびにＷＯ００／６３２４３に記載されている。
【０１１６】
別の例として、いくつかの場合では、非抗体をベースとする足場は、アンチカリンに由来する結合部位を含む。アンチカリンは、ヒトリポカリンに由来する抗体機能模倣物である。リポカリンは、ステロイド、ビリン、レチノイド及び脂質などの疎水性小分子に結合して輸送する天然に存在する結合タンパク質のファミリーである。アンチカリンの主要な構造は、野生型リポカリンに類似している。このタンパク質構造の中央のエレメントは、その開放端にて４つのループを支持する、８本の逆平行鎖のベーターバレル構造である。これらのループは、リポカリンの天然の結合部位を形成し、大規模なアミノ酸置換によってｉｎ　ｖｉｔｒｏにおいて再形成されることができ、ゆえに、新規結合特異性がもたらされる。アンチカリンは、それらのリガンドに対して高親和性及び特異性ならびに迅速な結合動力学を有するため、それらの機能特性は、抗体の機能特性と似ている。アンチカリンは、例えば、米国特許第７，７２３，４７６号に記載されている。
【０１１７】
別の例として、いくつかの場合では、非抗体をベースとする足場は、システインリッチポリペプチドからの結合部位を含む。システインリッチドメインは、いくつかの場合では、アルファーヘリックス、ベーターシート、またはベーターバレル構造を形成しない。いくつかの場合では、ジスルフィド結合は、３次元構造へのそのドメインの折り畳みを促進する。いくつかの場合では、システインリッチドメインは、少なくとも２つのジスルフィド結合、例えば、少なくとも３つのジスルフィド結合を有する。例示的なシステインリッチポリペプチドは、Ａドメインタンパク質である。Ａドメイン（時には、「補体型リピート」と呼ばれる）は、約３０～５０または３０～６５アミノ酸を含有する。いくつかの場合では、ドメインは、約３５～４５アミノ酸を、いくつかの場合では、約４０アミノ酸を含む。その３０～５０アミノ酸の中に、約６つのシステイン残基が存在する。その６つのシステインのうち、ジスルフィド結合は、典型的には、以下のシステイン：Ｃ１とＣ３、Ｃ２とＣ５、Ｃ４とＣ６の間に見られる。Ａドメインは、リガンド結合部分を構成する。そのドメインのシステイン残基は、ジスルフィド連結されて、コンパクトで安定した機能的に独立した部分を形成する。これらのリピートのクラスターは、リガンド結合ドメインを構成し、差次的なクラスター形成は、リガンド結合に関して特異性を付与することができる。Ａドメインを含有する例示的なタンパク質には、例えば、補体成分（例えば、Ｃ６、Ｃ７、Ｃ８、Ｃ９及びＩ因子）、セリンプロテアーゼ（例えば、エンテロペプチダーゼ、マトリプターゼ及びコリン）、膜貫通タンパク質（例えば、ＳＴ７、ＬＲＰ３、ＬＲＰ５及びＬＲＰ６）及びエンドサイトーシス受容体（例えば、ソルチリン関連受容体、ＬＤＬ受容体、ＶＬＤＬＲ、ＬＲＰ１、ＬＲＰ２及びＡｐｏＥＲ２）が挙げられる。所望の結合特異性のＡドメインタンパク質を作製するための方法は、例えば、ＷＯ０２／０８８１７１及びＷＯ０４／０４４０１１に開示されている。
【０１１８】

別の例として、いくつかの場合では、非抗体をベースとする足場は、リピートタンパク質由来の結合部位を含む。リピートタンパク質は、積み重なって連続的なドメインを形成する連続コピーの小さい（例えば、約２０～約４０アミノ酸残基の）構造単位またはリピートを含有するタンパク質である。リピートタンパク質は、そのタンパク質におけるリピートの数を調整することによって、特定の標的結合部位に適するように改変することができる。例示的なリピートタンパク質としては、設計されたアンキリンリピートタンパク質（すなわち、ＤＡＲＰｉｎ）（例えば、Ｂｉｎｚ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，２２：５７５－５８２（２００４）を参照されたい）またはロイシンリッチリピートタンパク質（すなわち、ＬＲＲＰ）（例えば、Ｐａｎｃｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，４３０：１７４－１８０（２００４）を参照されたい）が挙げられる。別の例として、いくつかの場合では、非抗体をベースとする足場は、ＤＡＲＰｉｎを含む。

【０１１９】

本明細書で用いるとき、「ＤＡＲＰｉｎ」という用語は、高度に特異的及び高親和性の標的タンパク質結合性を典型的に呈する、遺伝子操作された抗体模倣タンパク質を指す。ＤＡＲＰｉｎは、最初は、天然のアンキリンタンパク質から得られた。いくつかの場合では、ＤＡＲＰｉｎは、アンキリンタンパク質の３、４または５つのリピートモチーフを含む。いくつかの場合では、アンキリンリピートの単位は、３０～３４アミノ酸残基からなり、タンパク質間相互作用を媒介するように機能する。いくつかの場合では、各アンキリンリピートは、ヘリックス－ターン－ヘリックスの立体構造を呈し、そのようなタンデム反復の一続きは、ほぼ直鎖状のアレイに詰め込まれて、比較的可撓性のループによって接続されたヘリックス－ターン－ヘリックスバンドルを形成する。いくつかの場合では、アンキリンリピートタンパク質の球状構造は、リピート内及びリピート間の疎水性相互作用及び水素結合相互作用によって安定化される。アンキリンリピートの反復性の性質及び細長い性質は、タンパク質の安定性、フォールディング及びアンフォールディングならびに結合特異性における、アンキリンリピートタンパク質の固有の特徴に対する分子基盤を提供する。ＤＡＲＰｉｎドメインの分子質量は、４または５リピートＤＡＲＰｉｎに対して、それぞれ約１４または１８ｋＤａからであることができる。ＤＡＲＰｉｎは、例えば、米国特許第７，４１７，１３０号に記載されている。いくつかの場合では、アンキリンリピート単位の三次構造は、ベーターヘアピン、その後の２つの逆平行のアルファヘリックスから構成され、リピート単位をその次のリピート単位と接続するループで終わる特徴を共有する。アンキリンリピート単位で作られたドメインは、そのリピート単位を、伸長し湾曲した構造に積み重ねることによって形成することができる。ウミヤツメ及び他の無顎魚類の適応免疫系の一部に由来するＬＲＲＰ結合部位は、それらが、リンパ球成熟中に一連のロイシンリッチリピート遺伝子の組換えによって形成されるという点において、抗体に似ている。ＤＡＲＰｉｎまたはＬＲＲＰ結合部位を作製するための方法は、ＷＯ０２／２０５６５及びＷＯ０６／０８３２７５に記載されている。

【０１２０】

別の例として、いくつかの場合では、非抗体をベースとする足場は、Ｓｒｃ相同性ドメイン（例えば、ＳＨ２またはＳＨ３ドメイン）、ＰＤＺドメイン、ベーターラクタマーゼ、高親和性プロテアーゼ阻害因子、または小ジスルフィド結合性タンパク質足場、例えば、サソリ毒に由来する結合部位を含む。これらの分子に由来する結合部位を作製するための方法は、当該分野において開示されており、例えば、Ｐａｎｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２７７：２１６６６－２１６７４（２００２）、Ｓｃｈｎｅｉｄｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，１７：１７０－１７５（１９９９）；Ｌｅｇｅｎｄｒｅ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉ．，１１：１５０６－１５１８（２００２）；Ｓｔｏｏｐ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，２１：１０６３－１０６８（２００３）；及びＶｉｔａ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ，９２：６４０４－６４０８（１９９５）を参照されたい。さらに他の結合部位は、ＥＧＦ様ドメイン、クリングルードメイン、ＰＡＮドメイン、Ｇｌａドメイン、ＳＲＣＲドメイン、Ｋｕｎｉｔｚ／ウシ膵臓トリプシン阻害因子ドメイン、カザール型セリンプロテアーゼ阻

害因子ドメイン、トレフォイル（Ｐ型）ドメイン、フォンヴィレブランド因子Ｃ型ドメイン、アナフィラトキシン様ドメイン、ＣＵＢドメイン、チログロブリンＩ型反復、ＬＤＬ－受容体クラスＡドメイン、スシドメイン、リンクドメイン、トロンボスポンジンＩ型ドメイン、免疫グロブリン様ドメイン、Ｃ型レクチンドメイン、ＭＡＭドメイン、フォンヴィレブランド因子Ａ型ドメイン、ソマトメジンＢドメイン、ＷＡＰ型４ジスルフィドコアドメイン、Ｆ５／８Ｃ型ドメイン、ヘモペキシンドメイン、ラミニン型ＥＧＦ様ドメイン、Ｃ２ドメイン、その単量体または三量体形態におけるテトラネクチンに由来する結合ドメイン、及び当業者に公知の他のそのようなドメイン、ならびにそれらの誘導体及び／または変異体からなる群より選択される結合ドメインに由来し得る。例示的な非抗体をベースとする足場、及びそれを作製する方法は、Ｓｔｅｍｍｅｒ ｅｔ ａｌ．，“Ｐｒｏｔｅｉｎ ｓｃａｆｆｏｌｄｓ ａｎｄ ｕｓｅｓ ｔｈｅｒｅｏｆ”，米国特許公開第２００６０２３４２９９号（２００６年１０月１９日）及びＨｅｙ，ｅｔ ａｌ．，Ａｒｔｉｆｉｃｉａｌ，Ｎｏｎ－Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｂｉｎｄｉｎｇ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｆｏｒ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ ａｎｄ Ｉｎｄｕｓｔｒｉａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ＴＲＥＮＤＳ ｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，ｖｏｌ ２３，Ｎｏ １０，Ｔａｂｌｅ ２ ａｎｄ ｐｐ ５１４－５２２（２００５年１０月）においても見出さすことができる。

【０１２１】

別の例として、いくつかの場合では、非抗体をベースとする足場は、Ｋｕｎｉｔｚドメインを含む。「Ｋｕｎｉｔｚドメイン」という用語は、本明細書で用いるとき、ある特定のプロテアーゼ、例えば、セリンプロテアーゼを阻害する保存されたタンパク質ドメインを指す。Ｋｕｎｉｔｚドメインは、比較的小さく、典型的には約５０～６０アミノ酸長であり、約６ｋＤａの分子量を有する。Ｋｕｎｉｔｚドメインは、典型的には、塩基電荷を担持し、折り畳まれたペプチドのコンパクトで安定した性質に寄与するジスルフィド結合を形成する２つ、４つ、６つもしくは８つのまたはそれ以上の配置を特徴とする。例えば、多くのＫｕｎｉｔｚドメインが、３つのジスルフィド結合を形成する６つの保存されたシステイン残基を有する。Ｋｕｎｉｔｚドメインのジスルフィドリッチα／βフォールドは、２つ、３つ（典型的）、もしくは４つまたはそれ以上のジスルフィド結合を含むことができる。

【０１２２】

Ｋｕｎｉｔｚドメインは、安定化された、例えば、３つのジスルフィド結合、及び堅いコンファメーションにおいて主要な決定基であるＰ１残基を特徴づける反応性部位領域を含有する、セイヨウナシ形の構造を有する。これらの阻害因子は、活性部位間隙内へのＰ１残基の挿入を通して、その生理的に関連する高分子基体に対する標的タンパク質（例えば、セリンプロテアーゼ）の接近を競合的に妨げる。プロテイナーゼ阻害性ループにおけるＰ１残基は、主要な特異性決定基を提供し、特定のＫｕｎｉｔｚタンパク質が標的化されたプロテイナーゼに対して有する阻害活性の多くに指示する。一般に、反応性部位（Ｐ）のＮ末端側は、Ｐ’のＣ末端側よりもエネルギー的に重要である。ほとんどの場合、リジンまたはアルギニンが、Ｐ１位を占めることにより、タンパク質基質中のそれらの残基に隣接して切断するプロテイナーゼを阻害する。他の残基、特に、阻害因子ループ領域におけるものは、結合の強度に寄与する。一般に、標的タンパク質における約１０～１２アミノ酸残基及びプロテイナーゼにおける２０～２５残基は、安定したプロテイナーゼ阻害因子実体の形成において直接接触しており、約６００～９００Ａの埋没領域を提供する。Ｐ部位における残基及び周辺の残基を改変することによって、Ｋｕｎｉｔｚドメインは、選択したタンパク質を標的とするように設計されることができる。Ｋｕｎｉｔｚドメインは、例えば、米国特許第６，０５７，２８７号に記載されている。

【０１２３】

別の例として、いくつかの場合では、非抗体をベースとする足場は、アフィリンである。アフィリンは、タンパク質及び低分子化合物に対する特定の親和性について設計された小さい抗体模倣タンパク質である。新しいアフィリンは、その各々が、異なるヒト由来足

場タンパク質に基づく２つのライブラリーから非常に迅速に選択されることができる。アフィリンは、免疫グロブリンタンパク質に対していかなる構造的相同性も示さない。一般に使用されるアフィリン足場は２つ存在し、そのうちの一方は、ガンマ結晶のヒトの眼の水晶体構造タンパク質であり、他方は、「ユビキチン」スーパーファミリータンパク質である。両方のヒト足場は、非常に小さく、高温安定性を示し、ｐＨ変化及び変性剤に対してほとんど抵抗性である。この高い安定性は、主に、これらのタンパク質の広範なベータシート構造に起因する。ガンマ結晶由来タンパク質の例は、ＷＯ２００１０４１４４に記載されており、「ユビキチン様」タンパク質の例は、ＷＯ２００４１０６３６８に記載されている。

【０１２４】

別の例として、いくつかの場合では、非抗体をベースとする足場は、アビマーである。アビマーは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでのエキソンシャフリング及びファージディスプレイによって、ヒト細胞外受容体ドメインの大きなファミリーから進化して、結合特性及び阻害特性を有するマルチドメインタンパク質を生成する。複数の独立した結合ドメインの連結は、結合力を創出すると示されており、従来の単一エピトープ結合タンパク質と比べて、親和性及び特異性の改善をもたらす。ある特定の実施形態では、アビマーは、３０～３５アミノ酸の２つ以上のペプチド配列からなり、その各々はスペーサー領域ペプチドによって連結される。それらの個別の配列は、様々な膜受容体のＡドメインに由来し、ジスルフィド結合及びカルシウムによって安定化された堅い構造を有する。各Ａドメインは、標的タンパク質のある特定のエピトープに結合することができる。同じタンパク質の異なるエピトープに結合するドメインの組み合わせは、結合力として知られる作用である、このタンパク質に対する、親和性を増加させる（ゆえにこの名称）。ナノモル濃度以下の親和性を有するアビマーが、種々の標的に対して得られている。あるいは、それらのドメインは、異なる標的タンパク質上のエピトープに対して方向づけることができる。アビマーに関するさらなる情報は、米国特許出願公開第２００６／０２８６６０３号、同第２００６／０２３４２９９号、同第２００６／０２２３１１４号、同第２００６／０１７７８３１号、同第２００６／０００８８４４号、同第２００５／０２２１３８４号、同第２００５／０１６４３０１号、同第２００５／００８９９３２号、同第２００５／００５３９７３号、同第２００５／００４８５１２号、同第２００４／０１７５７５６号に見出すことができる。

【０１２５】

非抗体をベースとする足場の好適な標的は、抗体をベースとする足場と結合することができる上述の抗原のいずれかを含む。

【０１２６】

いくつかの場合では、非抗体をベースとする足場により結合される標的（特異的結合対の第二のメンバー）は、可溶性である。いくつかの場合では、標的は、膜結合型であり、例えば、いくつかの場合では、標的は、細胞の表面上に存在する。いくつかの場合では、標的は、不溶性支持体上に固定されており、この場合、不溶性支持体には、様々な材料（例えば、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリビニルピロリドン、ポリカーボネート、ニトロセルロース等）のいずれかを含むことができ；不溶性支持体は、様々な形態、例えば、プレート、組織培養皿、カラム等をとることができる。いくつかの場合では、標的は、細胞外マトリックス（ＥＣＭ）中に存在する（例えば、抗原は、ＥＣＭ成分である）。いくつかの場合では、標的は、人工マトリックス中に存在する。いくつかの場合では、標的は、無細胞環境中に存在する。

【０１２７】

細胞接着分子

いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、細胞接着分子（ＣＡＭ）である、すなわち、細胞外マトリックス（ＥＣＭ）の成分と結合するまたは細胞表面分子と結合するポリペプチドである。例えば、いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、ＣＡＭの細胞外領域である。いくつかの場合では、ＣＡＭは、カルシウム非依存性

接着分子であり；例えば、いくつかの場合では、ＣＡＭは、免疫グロブリンスーパーファミリーＣＡＭである。いくつかの場合では、ＣＡＭは、カルシウム依存性接着分子であり；例えば、ＣＡＭは、インテグリン、カドヘリン、またはセレクチンである。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、インテグリンである。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、カドヘリン、例えば、Ｅ－カドヘリン、Ｐ－カドヘリン、Ｎ－カドヘリン、Ｒ－カドヘリン、Ｍ－カドヘリン等である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、セレクチン、例えば、Ｅ－セレクチン、Ｌ－セレクチン、またはＰ－セレクチンである。ＣＡＭの結合性断片は、特異的結合対の第一のメンバーとして使用することができる。

【０１２８】

特異的結合対の第一のメンバーがＣＡＭである場合、特異的結合対の第二のメンバーは、ＣＡＭと結合するＥＣＭの成分または細胞表面分子である。例えば、特異的結合対の第一のメンバーがインテグリンである場合、特異的結合対の第二のメンバーは、コラーゲン、フィブリノゲン、フィブロネクチン、またはビトロネクチンの成分である。別の例として、特異的結合対の第一のメンバーがカドヘリンである場合、特異的結合対の第二のメンバーは、カドヘリンにより結合される細胞表面抗原である。別の例として、特異的結合対の第一のメンバーがセレクチンである場合、特異的結合対の第二のメンバーは、フコシル化炭水化物である。

【０１２９】

リガンド

いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、受容体に対するリガンドである。リガンドは、ポリペプチド、核酸、糖タンパク質、小分子、炭水化物、脂質、糖脂質、リポタンパク質、リポ多糖類等を含む。いくつかの場合では、リガンドは、可溶性である。

【０１３０】

リガンドには、サイトカイン（例えば、ＩＬ－１３等）；成長因子（例えば、ヘレグリン；血管内皮成長因子（ＶＥＧＦ）；等）；ペプチドホルモン；インテグリン結合ペプチド（例えば、配列Ａｒｇ－Ｇｌｙ－Ａｓｐを含むペプチド）；Ｎ－グリカン；等が含まれるが、これらに限定されない。

【０１３１】

本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中の特異的結合対のメンバーがリガンドである場合、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、特異的結合対の第二のメンバーの存在下で活性化することができ、この場合、特異的結合対の第二のメンバーは、リガンドに対する受容体である。例えば、リガンドがＶＥＧＦである場合、特異的結合対の第二のメンバーは、ＶＥＧＦ受容体であることができ、それには可溶性ＶＥＧＦ受容体が含まれる。あるいは、特異的結合対の第一のメンバーは、ＶＥＧＦ受容体であることができ；特異的結合対の第一のメンバーは、ＶＥＧＦであることができる。別の例として、リガンドがヘレグリンである場合、特異的結合対の第二のメンバーは、Ｈｅｒ２であることができる。

【０１３２】

特異的結合対の第一のメンバーがリガンドである場合、特異的結合対の第二のメンバーは、リガンドと結合する分子である、例えば、特異的結合対の第二のメンバーは、リガンドと特異的に結合する抗体、リガンドに対する受容体等である。

【０１３３】

特異的結合対の第一のメンバーがリガンドである場合、いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバー（リガンドと結合する分子）は、可溶性である。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、膜結合型であり、例えば、いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、細胞の表面上に存在する。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、不溶性支持体上に固定されており、この場合、不溶性支持体には、様々な材料（例えば、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリビニルピロリドン、ポ

リカーボネート、ニトロセルロース等）のいずれかを含むことができ；不溶性支持体は、様々な形態、例えば、プレート、組織培養皿、カラム等をとることができる。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、無細胞環境中に存在する。

【０１３４】

抗原

いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、抗体が特異的に結合する抗原である。抗原は、任意の抗原、例えば、天然に存在する（内在性）抗原；合成（例えば、天然に存在する抗原とはもはや同一ではないように改変された；その天然の状態から改変された；等）抗原；等であることができる。

【０１３５】

本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中の特異的結合対のメンバーが抗原である場合、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、特異的結合対の第二のメンバーの存在下で活性化されることができ、この場合、特異的結合対の第二のメンバーは、抗原に結合する抗体（抗体をベースとする認識足場）である。

【０１３６】

いくつかの場合では、抗原は、疾患関連抗原、例えば、癌関連抗原、自己免疫疾患関連抗原、病原体関連抗原、炎症関連抗原等である。

【０１３７】

例えば、特異的結合対の第二のメンバーが癌関連抗原に対して特異的な抗体である場合、抗原は癌関連抗原であることができ、この場合、癌関連抗原には、例えば、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ３８、ＣＤ３０、Ｈｅｒ２／ｎｅｕ、ＥＲＢＢ２、ＣＡ１２５、ＭＵＣ－１、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）、ＣＤ４４表面接着分子、メソテリン、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）、上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、血管内皮成長因子受容体－２（ＶＥＧＦＲ２）、高分子量メラノーマ関連抗原（ＨＭＷ－ＭＡＡ）、ＭＡＧＥ－Ａ１、ＩＬ－１３Ｒ－ａ２、ＧＤ２等が含まれる。癌関連抗原には、例えば、４－１ＢＢ、５Ｔ４、腺癌抗原、アルファーフェトプロテイン、ＢＡＦＦ、Ｂ－リンパ腫細胞、Ｃ２４２抗原、ＣＡ－１２５、炭酸脱水酵素９（ＣＡ－ＩＸ）、Ｃ－ＭＥＴ、ＣＣＲ４、ＣＤ１５２、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２００、ＣＤ２２、ＣＤ２２１、ＣＤ２３（ＩｇＥ受容体）、ＣＤ２８、ＣＤ３０（ＴＮＦＲＳＦ８）、ＣＤ３３、ＣＤ４、ＣＤ４０、ＣＤ４４　ｖ６、ＣＤ５１、ＣＤ５２、ＣＤ５６、ＣＤ７４、ＣＤ８０、ＣＥＡ、ＣＮＴＯ８８８、ＣＴＬＡ－４、ＤＲＳ、ＥＧＦＲ、ＥｐＣＡＭ、ＣＤ３、ＦＡＰ、フィブロネクチンエクストラドメイン－Ｂ、葉酸受容体１、ＧＤ２、ＧＤ３ガングリオシド、糖タンパク質７５、ＧＰＮＭＢ、ＨＥＲ２／ｎｅｕ、ＨＧＦ、ヒト散乱因子受容体キナーゼ、ＩＧＦ－１受容体、ＩＧＦ－Ｉ、ＩｇＧ１、Ｌ１－ＣＡＭ、ＩＬ－１３、ＩＬ－６、インスリン様成長因子Ｉ受容体、インテグリンα５β１、インテグリンαｖβ３、ＭＯＲＡｂ－００９、ＭＳ４Ａ１、ＭＵＣ１、ムチンＣａｎＡｇ、Ｎ－グリコリルノイラミン酸、ＮＰＣ－１Ｃ、ＰＤＧＦ－Ｒα、ＰＤＬ１９２、ホスファチジルセリン、前立腺癌腫細胞、ＲＡＮＫＬ、ＲＯＮ、ＲＯＲ１、ＳＣＨ　９００１０５、ＳＤＣ１、ＳＬＡＭＦ７、ＴＡＧ－７２、テネイシンＣ、ＴＧＦベータ２、ＴＧＦ－β、ＴＲＡＩＬ－Ｒ１、ＴＲＡＩＬ－Ｒ２、腫瘍抗原ＣＴＡＡ１６．８８、ＶＥＧＦ－Ａ、ＶＥＧＦＲ－１、ＶＥＧＦＲ２、及びビメンチンも含まれる。

【０１３８】

抗原は、炎症性疾患に関連し得る。炎症性疾患に関連する抗原の非限定的な例には、例えば、ＡＯＣ３（ＶＡＰ－１）、ＣＡＭ－３００１、ＣＣＬ１１（エオタキシン－１）、ＣＤ１２５、ＣＤ１４７（ベイシジン）、ＣＤ１５４（ＣＤ４０Ｌ）、ＣＤ２、ＣＤ２０、ＣＤ２３（ＩｇＥ受容体）、ＣＤ２５（ＩＬ－２受容体のα鎖）、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ５、ＩＦＮ－α、ＩＦＮ－γ、ＩｇＥ、ＩｇＥ　Ｆｃ領域、ＩＬ－１、ＩＬ－１２、ＩＬ－２３、ＩＬ－１３、ＩＬ－１７、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－２２、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－６受容体、インテグリンα４、インテグリンα４β７、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ）、ミオスタチン、ＯＸ－４０、スクレロスチン（ｓｃｌｅｒｏｓｃ

ｉｎ）、ＳＯＳＴ、ＴＧＦベータ１、ＴＮＦ－α、及びＶＥＧＦ－Ａが挙げられる。

【０１３９】

特異的結合対の第一のメンバーが抗原である場合、特異的結合対の第二のメンバーは、抗体をベースとする足場（例えば、抗体）または非抗体をベースとする足場であることができる。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、細胞の表面上に存在する。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、不溶性支持体上に固定されている。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、可溶性である。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、細胞外環境（例えば、細胞外マトリックス）中に存在する。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、人工マトリックス中に存在する。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、無細胞環境中に存在する。

【０１４０】

非抗体をベースとする認識足場の標的

いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、非抗体をベースとする足場の標的である。標的には、例えば、ポリペプチド、核酸、糖タンパク質、小分子、炭水化物、脂質、糖脂質、リポタンパク質、リポ多糖類等が含まれる。

【０１４１】

特異的結合対の第一のメンバーが、非抗体をベースとする足場の標的である場合、特異的結合対の第二のメンバーは、非抗体をベースとする足場である。

【０１４２】

受容体

いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、受容体である。いくつかの場合では、受容体は、成長因子受容体である。いくつかの場合では、受容体は、サイトカイン受容体である。いくつかの場合では、受容体は、細胞上の共受容体に結合する細胞表面受容体である。いくつかの場合では、受容体は、神経伝達物質受容体である。いくつかの場合では、受容体は、細胞外マトリックス成分に結合する。いくつかの場合では、受容体は、免疫グロブリンＦｃ受容体である。

【０１４３】

好適な受容体には、成長因子受容体（例えば、ＶＥＧＦ受容体）；キラー細胞レクチン様受容体サブファミリーＫ、メンバー１（ＮＫＧ２Ｄ）ポリペプチド（ＭＩＣＡ、ＭＩＣＢ、及びＵＬＢ６に対する受容体）；サイトカイン受容体（例えば、ＩＬ－１３受容体；ＩＬ－２受容体；等）；上皮成長因子（ＥＧＦ）受容体；Ｈｅｒ２；ＣＤ２７；天然細胞毒性受容体（ＮＣＲ）（例えば、ＮＫＰ３０（ＮＣＲ３／ＣＤ３３７）ポリペプチド（ＨＬＡ－Ｂ関連転写物３（ＢＡＴ３）及びＢ７－Ｈ６に対する受容体）；等）；Ｔ細胞抗原受容体；ジヒドロ葉酸受容体；キメラサイトカイン受容体；Ｆｃ受容体；細胞外マトリックス受容体（例えば、インテグリン）；細胞接着受容体（例えば、カドヘリン）；ポジティブな共受容体（例えば、ＣＤ２８）及びネガティブな（免疫抑制）共受容体（例えば、ＰＤ１）の両方を含む免疫調節受容体；サイトカイン受容体；及び免疫調節分子（例えば、ＴＧＦβ）に対する受容体等が含まれる。いくつかの場合では、受容体は、野生型受容体と比べて短くなっている。

【０１４４】

特異的結合対の第一のメンバーが受容体である場合、特異的結合対の第二のメンバーは受容体の標的であり、この場合、標的は、受容体に対するリガンド、または共受容体であることができる。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、細胞の表面上に存在する。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、不溶性支持体上に固定されている。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、可溶性である。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、細胞外環境（例えば、細胞外マトリックス）中に存在する。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、人工マトリックス中に存在する。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、無細胞環境中に存在する。

【０１４５】
Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチド
上記のように、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、５０アミノ酸～１０００アミノ酸の長さを有し、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを含む。
【０１４６】
いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、５０アミノ酸（ａａ）～１０００ａａ、例えば、５０ａａ～７５ａａ、７５ａａ～１００ａａ、１００ａａ～１５０ａａ、１５０ａａ～２００ａａ、２００ａａ～２５０ａａ、２５０ａ～３００ａａ、３００ａａ～３５０ａａ、３５０ａａ～４００ａａ、４００ａａ～４５０ａａ、４５０ａａ～５００ａａ、５００ａａ～５５０ａａ、５５０ａａ～６００ａａ、６００ａａ～６５０ａａ、６５０ａａ～７００ａａ、７００ａａ～７５０ａａ、７５０ａａ～８００ａａ、８００ａａ～８５０ａａ、８５０ａａ～９００ａａ、９００ａａ～９５０ａａ、または９５０ａａ～１０００ａａの長さを有する。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、３００ａａ～４００ａａの長さを有する。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、３００ａａ～３５０ａａの長さを有する。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、３００ａａ～３２５ａａの長さを有する。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、３５０ａａ～４００ａａの長さを有する。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、７５０ａａ～８５０ａａの長さを有する。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、５０ａａ～７５ａａの長さを有する。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、３１０ａａ～３２０ａａ、例えば、３１０ａａ、３１１ａａ、３１２ａａ、３１３ａａ、３１４ａａ、３１５ａａ、３１６ａａ、３１７ａａ、３１８ａａ、３１９ａａ、または３２０ａａの長さを有する。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、３１５ａａの長さを有する。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、３６０ａａ～３７０ａａ、例えば、３６０ａａ、３６１ａａ、３６２ａａ、３６３ａａ、３６４ａａ、３６５ａａ、３６６ａａ、３６７ａａ、３６８ａａ、３６９ａａ、または３７０ａａの長さを有する。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、３６７ａａの長さを有する。
【０１４７】
ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド
いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：
IPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKL (SEQ ID NO:4)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；ここで、ＴＭドメインは下線を引いており；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ２タンパク質分解切断部位及びＳ３タンパク質分解切断部位を含み；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、５０アミノ酸（ａａ）～６５ａａ、例えば、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、または６５ａａの長さを有する。いくつかの場合では、本開示のキメラ

Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：
IPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKL (SEQ ID NO:4)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；ここで、ＴＭドメインは下線を引いており；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ２タンパク質分解切断部位及びＳ３タンパク質分解切断部位を含み；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、５６アミノ酸の長さを有する。

【０１４８】

ＬＮＲセグメント、ＨＤ－Ｎセグメント、ＨＤ－Ｃセグメント、及びＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）ＬＮＲ－Ａセグメント；ｉｉ）ＬＮＲ－Ｂセグメント；ｉｉｉ）ＬＮＲ－Ｃセグメント；ｉｖ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖｉ）ＴＭドメインを含む。ＬＮＲ－Ａセグメント、ＬＮＲ－Ｂセグメント、及びＬＮＲ－Ｃセグメントは、まとめて、「ＬＮＲセグメント」と称することができる。かかるＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを図４Ａに概略的に示す。

【０１４９】

ＬＮＲセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１４４２～１５６２、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；９０アミノ酸～１５０アミノ酸、例えば、９０アミノ酸（ａａ）～１００ａａ、１００ａａ～１１０ａａ、１１０ａａ～１２０ａａ、１２０ａａ～１３０ａａ、１３０ａａ～１４０ａａ、または１４０ａａ～１５０ａａの長さを有することができる。いくつかの場合では、ＬＮＲセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１４４２～１５６２、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；１１５ａａ～１２５ａａ、例えば、１１５、１１６、１１７、１１８、１１９、１２０、１２１、１２２、１２３、１２４、または１２５ａａの長さを有する。

【０１５０】

ＬＮＲセグメントは、以下のアミノ酸配列：
PPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWK YFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECE WDGLDC (SEQ ID NO:5)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ；１１８～１２２アミノ酸（例えば、１１８、１１９、１２０、１２１、または１２２アミノ酸）の長さを有することができる。

【０１５１】

ＨＤ－Ｎセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１５６３～１６６４、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少な

くとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；９０アミノ酸（ａａ）～１１０ａａ、例えば、９０ａａ～９５ａａ、９５ａａ～１００ａａ、１００ａａ～１０５ａａ、または１０５ａａ～１１０ａａの長さを有することができる。いくつかの場合では、ＨＤ－Ｎセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１５６３～１６６４、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；９５ａａ～１０５ａａ、例えば、９５、９６、９８、９８、９９、１００、１０１、１０２、１０３、１０４、または１０５ａａの長さを有する。

【０１５２】

ＨＤ－Ｃセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１６６５～１７３３、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；６０アミノ酸（ａａ）～８０ａａ、例えば、６０ａａ～６５ａａ、６５ａａ～７０ａａ、７０ａａ～７５ａａ、または７５ａａ～８０ａａの長さを有することができる。いくつかの場合では、ＨＤ－Ｃセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１６６５～１７３３、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；６５アミノ酸～７５アミノ酸、例えば、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、または７５アミノ酸の長さを有する。

【０１５３】

ＨＤセグメント（ＨＤ－Ｎ及びＨＤ－Ｃ）は、以下のアミノ酸配列：

AAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYGHEEELR

KHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGG**RQRR**ELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQCFQSAT

DVAAFLGALASLGSLNIPYKIE**AV**KSEPVEPPLP (SEQ ID NO:6)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ；１５０、１５１、１５２、１５３、または１５４アミノ酸の長さを有することができる。

【０１５４】

膜貫通セグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１７３６～１７５６、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；１５アミノ酸（ａａ）～２５アミノ酸、例えば、１５、１６、１７、１８、２９、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸の長さを有することができる。

【０１５５】

膜貫通セグメントは、以下のアミノ酸配列：

HLMYVAAAAFVLLFFVGCG**VLLS** (SEQ ID NO:7)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ；２１、２２、２３、２４、または２

５アミノ酸の長さを有することができる。

【０１５６】

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、約３１０アミノ酸（ａａ）～約３２０ａａ（例えば、３１０ａａ、３１１ａａ、３１２ａａ、３１３ａａ、３１４ａａ、３１５ａａ、３１６ａａ、３１７ａａ、３１８ａａ、３１９ａａ、または３２０ａａ）の長さを有し、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１４４２～１７５６、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す。

【０１５７】

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：

PPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWK

YFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECE

WDGLDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQ

QMIFPYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNR

QCVQSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAA

FVLLFFVGCGVLLS (SEQ ID NO:1)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；３００アミノ酸～３１０アミノ酸（例えば、３００、３０１、３０２、３０３、３０４、３０５、３０６、３０７、３０８、３０９、または３１０アミノ酸）の長さを有する。

【０１５８】

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：

PCVGSNPCYNQGTCEPTSENPFYRCLCPAKFNGLLCHILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEACE

LPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDGHCD

SQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLDCAE

HVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYG

HEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQ

CFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVG

CGVLLS (SEQ ID NO:2)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；３５０アミノ酸～３７０アミノ酸（例えば、３５０、３５１、３５２、３５３、３５４、３５５、３５６、３５７、３５８、３５９、３６０、３６１、３６２、３６３、３６４、３６５、３６６、３６７、３６８、３６９、または３７０アミノ酸）の長さを有する。

【０１５９】

単一のＥＧＦリピート、ＬＮＲセグメント、ＨＤ－Ｎセグメント、ＨＤ－Ｃセグメント、及びＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）単一のＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｉｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖ）ＴＭドメインを含む。かかるＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを図４Ｂに概略的に示す。

【０１６０】
ＥＧＦリピートは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１３９０～１４３０、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；３５アミノ酸（ａａ）～４５ａａ（例えば、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、または４５ａａ）の長さを有することができる。
【０１６１】
ＥＧＦリピートは、以下の配列：
PCVGSNPCYNQGTCEPTSENPFYRCLCPAKFNGLLCH (SEQ ID NO:8)
に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ；３５アミノ酸～４０アミノ酸（例えば、３５、３６、３７、３８、３９、または４０アミノ酸の長さを有することができる。
【０１６２】
ＬＮＲセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１４４２～１５６２、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；９０アミノ酸～１５０アミノ酸、例えば、９０アミノ酸（ａａ）～１００ａａ、１００ａａ～１１０ａａ、１１０ａａ～１２０ａａ、１２０ａａ～１３０ａａ、１３０ａａ～１４０ａａ、または１４０ａａ～１５０ａａの長さを有することができる。いくつかの場合では、ＬＮＲセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１４４２～１５６２、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；１１５ａａ～１２５ａａ、例えば、１１５、１１６、１１７、１１８、１１９、１２０、１２１、１２２、１２３、１２４、または１２５ａａの長さを有する。
【０１６３】
ＬＮＲセグメントは、以下のアミノ酸配列：
PPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWK
YFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECE
WDGLDC (SEQ ID NO:5)
に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ；１１８～１２２アミノ酸（例えば、１１８、１１９、１２０、１２１、または１２２アミノ酸）の長さを有することができる。
【０１６４】
ＨＤ－Ｎセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１５６３～１６６４、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；９０アミノ酸（ａａ）～１１０ａａ、例えば、９０ａａ～９５ａａ、９５ａａ～１００ａａ、１００ａａ～１０５ａａ、または１０５ａａ～１１０ａａの長さを有することができる。

いくつかの場合では、ＨＤ－Ｎセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１５６３～１６６４、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；９５ａａ～１０５ａａ、例えば、９５、９６、９８、９８、９９、１００、１０１、１０２、１０３、１０４、または１０５ａａの長さを有する。

【０１６５】

ＨＤ－Ｃセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１６６５～１７３３、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；６０アミノ酸（ａａ）～８０ａａ、例えば、６０ａａ～６５ａａ、６５ａａ～７０ａａ、７０ａａ～７５ａａ、または７５ａａ～８０ａａの長さを有することができる。いくつかの場合では、ＨＤ－Ｃセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１６６５～１７３３、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；６５アミノ酸～７５アミノ酸、例えば、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、または７５アミノ酸の長さを有する。

【０１６６】

ＨＤセグメント（ＨＤ－Ｎ及びＨＤ－Ｃ）は、以下のアミノ酸配列：

AAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYGHEEELR

KHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGG**RQRR**ELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQCFQSAT

DVAAFLGALASLGSLNIPYKIE**AV**KSEPVEPPLP (SEQ ID NO:6)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ；１５０、１５１、１５２、１５３、または１５４アミノ酸の長さを有することができる。

【０１６７】

膜貫通セグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１７３６～１７５６、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；１５アミノ酸（ａａ）～２５アミノ酸、例えば、１５、１６、１７、１８、２９、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸の長さを有することができる。

【０１６８】

膜貫通セグメントは、以下のアミノ酸配列：

HLMYVAAAAFVLLFFVGCG**VLLS** (SEQ ID NO:7)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ；２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸の長さを有することができる。

【０１６９】

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、約３６０アミノ酸（ａａ）～約３７５ａａ（例えば、３６０ａａ、３６１ａａ、３６２ａａ、３６３ａａ、３６４ａａ

、３６５ａａ、３６６ａａ、３６７ａａ、３６８ａａ、３６９ａａ、３７０ａａ、３７１ａａ、３７２ａａ、３７３ａａ、３７４ａａ、または３７５ａａ）の長さを有し、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１３９０～１７５６、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す。

【０１７０】

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、合成リンカーを含む。例えば、いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）合成リンカー；ｉｉ）ＥＧＦリピート；ｉｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｖ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖｉ）ＴＭドメインを含む。かかるＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを図４Ｃに概略的に示す。

【０１７１】

合成リンカーは、約１０アミノ酸（ａａ）～約２００ａａ、例えば、１０ａａ～２５ａａ、２５ａａ～５０ａａ、５０ａａ～７５ａａ、７５ａａ～１００ａａ、１００ａａ～１２５ａａ、１２５ａａ～１５０ａａ、１５０ａａ～１７５ａａ、または１７５ａａ～２００ａａの長さを有することができる。合成リンカーは、１０ａａ～３０ａａ、例えば、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、または３０ａａの長さを有することができる。合成リンカーは、３０ａａ～５０ａａ、例えば、３０ａａ～３５ａａ、３５ａａ～４０ａａ、４０ａａ～４５ａａ、または４５ａａ～５０ａａの長さを有することができる。

【０１７２】

いくつかの例では、本明細書に記載のとおりの、合成リンカーは、細胞外タンパク質構造ドメインまたはその一部分を含んでよい。合成リンカーとして使用するのに好適な細胞外タンパク質構造ドメインには、例えば、Ｉｇ様細胞外構造ドメイン、Ｆｃ細胞外構造ドメイン、フィブロネクチン細胞外構造ドメイン等が含まれるがこれらに限定されない。いくつかの例では、合成リンカーは、複数の細胞外タンパク質構造ドメインを含んでよく、この場合、複数は、複数の同一ドメインまたは複数の異なるドメインを含んでよい。

【０１７３】

２～１１個のＥＧＦリピート、ＬＮＲセグメント、ＨＤ－Ｎセグメント、ＨＤ－Ｃセグメント、及びＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）２～１１個のＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｉｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖ）ＴＭドメインを含む。かかるＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを図４Ｄに概略的に示す。

【０１７４】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）２つのＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｉｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖ）ＴＭドメインを含む。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）３つのＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｉｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖ）ＴＭドメインを含む。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）４つのＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｉｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖ）ＴＭドメインを含む。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）５つのＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグ

メント；ｉｉｉ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｉｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖ）ＴＭドメインを含む。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）６つのＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｉｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖ）ＴＭドメインを含む。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）７つのＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｉｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖ）ＴＭドメインを含む。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）８つのＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｉｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖ）ＴＭドメインを含む。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）９つのＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｉｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖ）ＴＭドメインを含む。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）１０個のＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｉｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖ）ＴＭドメインを含む。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド中に存在するＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）１１個のＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｉｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖ）ＴＭドメインを含む。

【０１７５】

ＥＧＦリピートは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１３９０～１４３０、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；３５アミノ酸（ａａ）～４５ａａ（例えば、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、または４５ａａ）の長さを有することができる。

【０１７６】

ＥＧＦリピートは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸８６９～９０５
(DINECVLSPCRHGASCQNTHGGYRCHCQAGYSGRNCE; SEQ ID NO:9)
、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；３５アミノ酸～約４０アミノ酸（ａａ）（例えば、３５、３６、３７、３８、３９、または４０ａａ）の長さを有することができる。

【０１７７】

ＥＧＦリピートは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸９０７～９４３
(DIDDCRPNPCHNGGSCTDGINTAFCDCLPGFRGTFCE; SEQ ID NO:10)
、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；３５アミノ酸～約４０アミノ酸（ａａ）（例えば、３５、３６、３７、３８、３９、または４０ａａ）の長さを有することができる。

【０１７８】

ＥＧＦリピートは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸９４５～９８１
(DINECASDPCRNGANCTDCVDSYTCTCPAGFSGIHCE; (SEQ ID NO:11)

、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；３５アミノ酸～約４０アミノ酸（ａａ）（例えば、３５、３６、３７、３８、３９、または４０ａａ）の長さを有することができる。

【０１７９】

ＥＧＦリピートは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸９８８～１０１９
(TESSCFNGGTCVDGINSFTCLCPPGFTGSYCQ; SEQ ID NO:12)
、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；３０アミノ酸（ａａ）～３５ａａ（例えば、３０、３１、３２、３３、３４、または３５ａａ）の長さを有することができる。

【０１８０】

ＥＧＦリピートは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１０２１～１０５７
(DVNECDSQPCLHGGTCQDGCGSYRCTCPQGYTGPNCQ; SEQ ID NO:13)
、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；３５アミノ酸～約４０アミノ酸（ａａ）（例えば、３５、３６、３７、３８、３９、または４０ａａ）の長さを有することができる。

【０１８１】

ＥＧＦリピートは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１０６４～１０９０
(DSSPCKNGGKCWQTHTQYRCECPSGWT; SEQ ID NO:14)
、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；２５アミノ酸（ａａ）～３０ａａ、例えば、２５、２６、２７、２８、２９、または３０ａａの長さを有することができる。

【０１８２】

ＥＧＦリピートは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１１４６～１１８０
(LVDECSPSPCQNGATCTDYLGGYSCKCVAGYHGVNC; SEQ ID NO:15)
、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；３５アミノ酸～約４０アミノ酸（ａａ）（例えば、３５、３６、３７、３８、３９、または４０ａａ）の長さを有することができる。

【０１８３】

ＥＧＦリピートは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１１８４～１２１９
(IDECLSHPCQNGGTCLDLPNTYKCSCPRGTQGVHCE; SEQ ID NO:16)
、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；３５アミノ酸～約４０アミノ酸（ａａ）（例えば、３５、３６、３７、３８、３９、また

は４０ａａ）の長さを有することができる。

【０１８４】

ＥＧＦリピートは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１２３８～１２６５(CFNNGTCVDQVGGYSCTCPPGFVGERCE; SEQ ID NO:17)、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；２５アミノ酸（ａａ）～３０ａａ、例えば、２５、２６、２７、２８、２９、または３０ａａの長さを有することができる。

【０１８５】

ＥＧＦリピートは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１２６７～１３０５(DVNECLSNPCDARGTQNCVQRVNDFHCECRAGHTGRRCE; (SEQ ID NO: 18)、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；３５アミノ酸～約４０アミノ酸（ａａ）（例えば、３５、３６、３７、３８、３９、または４０ａａ）の長さを有することができる。

【０１８６】

ＥＧＦリピートは、以下の配列：

PCVGSNPCYNQGTCEPTSENPFYRCLCPAKFNGLLCH (SEQ ID NO:8)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ；３５アミノ酸～４０アミノ酸（例えば、３５、３６、３７、３８、３９、または４０アミノ酸の長さを有することができる。

【０１８７】

ＬＮＲセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１４４２～１５６２、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；９０アミノ酸～１５０アミノ酸、例えば、９０アミノ酸（ａａ）～１００ａａ、１００ａａ～１１０ａａ、１１０ａａ～１２０ａａ、１２０ａａ～１３０ａａ、１３０ａａ～１４０ａａ、または１４０ａａ～１５０ａａの長さを有することができる。いくつかの場合では、ＬＮＲセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１４４２～１５６２、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；１１５ａａ～１２５ａａ、例えば、１１５、１１６、１１７、１１８、１１９、１２０、１２１、１２２、１２３、１２４、または１２５ａａの長さを有する。

【０１８８】

ＬＮＲセグメントは、以下のアミノ酸配列：

PPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWK

YFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECE

WDGLDC (SEQ ID NO:5)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸

配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ；１１８～１２２アミノ酸（例えば、１１８、１１９、１２０、１２１、または１２２アミノ酸）の長さを有することができる。

【０１８９】

ＨＤ－Ｎセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１５６３～１６６４、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；９０アミノ酸（ａａ）～１１０ａａ、例えば、９０ａａ～９５ａａ、９５ａａ～１００ａａ、１００ａａ～１０５ａａ、または１０５ａａ～１１０ａａの長さを有することができる。いくつかの場合では、ＨＤ－Ｎセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１５６３～１６６４、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；９５ａａ～１０５ａａ、例えば、９５、９６、９８、９８、９９、１００、１０１、１０２、１０３、１０４、または１０５ａａの長さを有する。

【０１９０】

ＨＤ－Ｃセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１６６５～１７３３、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；６０アミノ酸（ａａ）～８０ａａ、例えば、６０ａａ～６５ａａ、６５ａａ～７０ａａ、７０ａａ～７５ａａ、または７５ａａ～８０ａａの長さを有することができる。いくつかの場合では、ＨＤ－Ｃセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１６６５～１７３３、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；６５アミノ酸～７５アミノ酸、例えば、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、または７５アミノ酸の長さを有する。

【０１９１】

ＨＤセグメント（ＨＤ－Ｎ及びＨＤ－Ｃ）は、以下のアミノ酸配列：
AAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYGHEEELR

KHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGG**RQRR**ELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQCFQSAT

DVAAFLGALASLGSLNIPYKIE**AV**KSEPVEPPLP (SEQ ID NO:6)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ；１５０、１５１、１５２、１５３、または１５４アミノ酸の長さを有することができる。

【０１９２】

膜貫通セグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１７３６～１７５６、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；１５アミノ酸（ａａ）～２５アミノ酸、例えば、１５、１６、１７、１８、２９、２０、２１、

２２、２３、２４、または２５アミノ酸の長さを有することができる。

【０１９３】

膜貫通セグメントは、以下のアミノ酸配列：

HLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLS (SEQ ID NO:7)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ；２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸の長さを有することができる。

【０１９４】

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、約４９０アミノ酸（ａａ）～約９００ａａの長さを有し、図２Ａに示すアミノ酸配列の、ｉ）アミノ酸１２６７～１７５６；ｉｉ）１２３８～１７５６；ｉｉｉ）１１８４～１７５６；ｉｖ）１１４６～１７５６；ｖ）１０６４～１７５６；ｖｉ）１０２１～１７５６；ｖｉｉ）９８８～１７５６；ｖｉｉｉ）９４５～１７５６；ｉｘ）９０７～１７５６；もしくはｘ）８６９～１７５６、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、もしくは１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す。

【０１９５】

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、合成リンカーを含む。例えば、いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）２～１１個のＥＧＦリピート；ｉｉ）合成リンカー；ｉｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｖ）ＨＤ－Ｎセグメント、ｖ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｖｉ）ＴＭドメインを含む。かかるＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを図４Ｅに概略的に示す。

【０１９６】

合成リンカーは、約１０アミノ酸（ａａ）～約２００ａａ、例えば、１０ａａ～２５ａａ、２５ａａ～５０ａａ、５０ａａ～７５ａａ、７５ａａ～１００ａａ、１００ａａ～１２５ａａ、１２５ａａ～１５０ａａ、１５０ａａ～１７５ａａ、または１７５ａａ～２００ａａの長さを有することができる。合成リンカーは、１０ａａ～３０ａａ、例えば、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、または３０ａａの長さを有することができる。合成リンカーは、３０ａａ～５０ａａ、例えば、３０ａａ～３５ａａ、３５ａａ～４０ａａ、４０ａａ～４５ａａ、または４５ａａ～５０ａａの長さを有することができる。

【０１９７】

ＨＤ－Ｃセグメント及びＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）ＨＤ－Ｃセグメント；及びｉｉ）ＴＭドメインを含み、ここでＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、ＬＮＲセグメントを含まない。いくつかの場合では、ＬＮＲセグメントは、異種ポリペプチドと置換される。かかるＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを図４Ｆに概略的に示す。

【０１９８】

ＨＤ－Ｃセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１６６５～１７３３、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；６０アミノ酸（ａａ）～８０ａａ、例えば、６０ａａ～６５ａａ、６５ａａ～７０ａａ、７０ａａ～７５ａａ、または７５ａａ～８０ａａの長さを有することができる。いくつかの場合では、ＨＤ－Ｃセグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１６６５～１７３３、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくと

も７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；６５アミノ酸～７５アミノ酸、例えば、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、または７５アミノ酸の長さを有する。

【０１９９】

膜貫通セグメントは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１７３６～１７５６、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；１５アミノ酸（ａａ）～２５アミノ酸、例えば、１５、１６、１７、１８、２９、２０、２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸の長さを有することができる。

【０２００】

膜貫通セグメントは、以下のアミノ酸配列：

HLMYVAAAAFVLLFFVGCG**VLLS** (SEQ ID NO:7)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸を含むことができ；２１、２２、２３、２４、または２５アミノ酸の長さを有することができる。

【０２０１】

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１６６５～１７５６、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；８５アミノ酸（ａａ）～９５ａａ（例えば、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、または９５ａａ）の長さを有する。

【０２０２】

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図２Ａに示すアミノ酸配列のアミノ酸１６６５～１７５６、または別のＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの対応するセグメントに対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、ここで、対応するセグメントの例を図２Ｂ～２Ｇに示す；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのＮ末端にてインフレームで融合した異種ポリペプチドを含む。

【０２０３】

リガンド誘導性タンパク質分解切断部位

上記のように、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、５０アミノ酸～１０００アミノ酸の長さを有し、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを含む。上に考察するように、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、ａ）特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメイン；ｂ）５０アミノ酸～１０００アミノ酸の長さを有し、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；及びｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合が、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出される。特異的結合対の第二のメンバー（「リガンド」）は、接触する（例えば、「送信」）細胞上に存在することができる。

【０２０４】

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つのみのリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、２つのリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、３つのリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む。簡略化のために、リガンド誘導性切断部位は、「Ｓ１」、「Ｓ２」、及び「Ｓ３」リガンド誘導性タンパク質分解切断部位と本明細書で称されるだろう。

【０２０５】

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ１リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む。Ｓ１リガンド誘導性タンパク質分解切断部位は、ＨＤ－Ｎセグメントとの間に位置することができる。いくつかの場合では、Ｓ１リガンド誘導性タンパク質分解切断部位は、フューリン様プロテアーゼ切断部位である。フューリン様プロテアーゼ切断部位は、カノニカル配列Ａｒｇ－Ｘ－（Ａｒｇ／Ｌｙｓ）－Ａｒｇを有することができ、ここでＸは任意のアミノ酸であり；プロテアーゼは、カノニカル配列に対してＣ末端直近で切断する。例えば、いくつかの場合では、Ｓ１リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含むアミノ酸配列は、アミノ酸配列

GRRRRELDPM (SEQ ID NO:19)

を有することができ、この場合、切断は「ＲＥ」配列間で生じる。別の例として、Ｓ１リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含むアミノ酸配列は、アミノ酸配列

RQRRELDPM (SEQ ID NO:20)

を有することができ、この場合、切断は「ＲＥ」配列間で生じる。

【０２０６】

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ２リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む。Ｓ２リガンド誘導性タンパク質分解切断部位は、ＨＤ－Ｃセグメント内に位置することができる。いくつかの場合では、Ｓ２リガンド誘導性タンパク質分解切断部位は、ＡＤＡＭ－１７型プロテアーゼ切断部位である。ＡＤＡＭ－１７型プロテアーゼ切断部位は、Ａｌａ－Ｖａｌジペプチド配列を含むことができ、ここで、酵素はＡｌａ及びＶａｌの間を切断する。例えば、いくつかの場合では、Ｓ２リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含むアミノ酸配列は、アミノ酸配列

KIEAVKSE (SEQ ID NO:21)

を有することができ、この場合、切断は「ＡＶ」配列間で生じる。別の例として、Ｓ２リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含むアミノ酸配列は、アミノ酸配列

KIEAVQSE (SEQ ID NO:22)

を有することができ、この場合、切断は「ＡＶ」配列間で生じる。

【０２０７】

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ３リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む。Ｓ３リガンド誘導性タンパク質分解切断部位は、ＴＭドメイン内に位置することができる。いくつかの場合では、Ｓ３リガンド誘導性タンパク質分解切断部位は、ガンマ－セクレターゼ（γ－セクレターゼ）切断部位である。γ－セクレターゼ切断部位は、Ｇｌｙ－Ｖａｌジペプチド配列を含むことができ、ここで、酵素は、Ｇｌｙ及びＶａｌの間を切断する。例えば、いくつかの場合では、Ｓ３リガンド誘導性タンパク質分解切断部位は、アミノ酸配列

VGCGVLLS (SEQ ID NO:23)

を有し、この場合、切断は「ＧＶ」配列間で生じる。いくつかの場合では、Ｓ３リガンド誘導性タンパク質分解切断部位は、アミノ酸配列

GCGVLLS (SEQ ID NO:24)

を含む。

【０２０８】

いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ１リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を欠く。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ２リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を欠く。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポ

リペプチドは、Ｓ３リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を欠く。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ１リガンド誘導性タンパク質分解切断部位及びＳ２リガンド誘導性タンパク質分解切断部位の両方を欠く。いくつかの場合では、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ３リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含み；Ｓ１リガンド誘導性タンパク質分解切断部位及びＳ２リガンド誘導性タンパク質分解切断部位の両方を欠く。例を図４Ｇに概略的に示す。

【０２０９】

細胞内ドメイン

上記のように、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、細胞内ドメインを含み、これは、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合の後に放出され、ここで、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、上述のタンパク質分解切断部位の切断を誘導する。

【０２１０】

細胞内ドメインは、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドに対して異種であるアミノ酸配列を含む。言い換えると、細胞内ドメインは、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチド内に天然には存在しないアミノ酸配列を含む。

【０２１１】

細胞内ドメインは、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドから放出されるとき、エフェクター機能を提供し、ここで、エフェクター機能には、例えば、細胞による１つまたは複数のサイトカインの産生の増加；細胞による１つまたは複数のサイトカインの産生の減少；細胞によるホルモンの産生の増加または低減；細胞による抗体の産生；細胞小器官活性における変化；細胞内でのポリペプチドのトラフィッキングにおける変化；標的遺伝子の転写における変化；タンパク質の活性における変化；細胞挙動、例えば、細胞死における変化；細胞の増殖；細胞分化への作用；細胞生存への作用；細胞のシグナル伝達応答の調節；等が含まれる。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドから放出されるとき、標的遺伝子の転写における変化を提供する。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドから放出されるとき、標的遺伝子の転写における増加を提供する。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドから放出されるとき、標的遺伝子における低減を提供する。

【０２１２】

細胞内ドメインは、広範なポリペプチドのいずれかであることができ、ここで、例としては、転写活性化因子；転写抑制因子；転写共活性化因子；転写共抑制因子；ＤＮＡ結合ポリペプチド；ＲＮＡ結合性ポリペプチド；翻訳調節ポリペプチド；ホルモン；サイトカイン；毒素；抗体；クロマチン調節因子；自殺タンパク質；細胞小器官特異的ポリペプチド（例えば、核孔調節因子、ミトコンドリア調節因子、小胞体調節因子等）；アポトーシス促進性ポリペプチド；抗アポトーシスポリペプチド；他の機構を通して細胞死を促進する他のポリペプチド；増殖促進性ポリペプチド；抗増殖性ポリペプチド；免疫共刺激ポリペプチド；部位特異的ヌクレアーゼ；リコンビナーゼ；抑制性免疫受容体；活性化免疫受容体；Ｃａｓ９及びＲＮＡ標的化ヌクレアーゼの変異体；ならびにＤＮＡ認識ポリペプチド；ポリペプチドのドミナントネガティブ変異体；シグナル伝達ポリペプチド；受容体チロシンキナーゼ；非受容体チロシンキナーゼ；分化を促進するポリペプチド；等が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２１３】

いくつかの場合では、細胞内ドメインは、シグナル伝達ポリペプチドを含む。好適なシグナル伝達ポリペプチドは、例えば、ＳＴＡＴ３／５、Ａｋｔ、Ｍｙｃ等を含む。いくつかの場合では、シグナル伝達ポリペプチドは、ＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲ－、ＮＦκＢ－、ＭＡＰＫ－、ＳＴＡＴ－、ＦＡＫ－、ＭＹＣ、またはＴＧＦ－β媒介性シグナル伝達経路の一部である。いくつかの場合では、シグナル伝達ポリペプチドは、Ｒａｓ／Ｒａｆ／Ｍｅｋ／Ｅｒｋ１／２、ＪＡＫ／ＳＴＡＴ３、またはＰＩ３Ｋ／Ａｋｔシグナル伝達経路の一部

である。

【０２１４】

いくつかの場合では、細胞内ドメインは、ポリペプチドのドミナントネガティブ変異体、例えば、シグナル伝達ポリペプチドのドミナントネガティブ変異体を含む。ドミナントネガティブ変異体の例としては、例えば、ドミナントネガティブＴＧＦ－β受容体；ドミナントネガティブ変異体として機能するＳＴＡＴ３のＤＮＡ結合ドメインに影響する１つまたは複数の突然変異を含むＳＴＡＴ３のドミナントネガティブ変異体；等が挙げられる。

【０２１５】

いくつかの場合では、細胞内ドメインは、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドから放出されるときに、細胞の活性を遮断するまたは変える、抗体をベースとする足場または非抗体をベースとする足場である。

【０２１６】

いくつかの場合では、細胞内ドメインは、免疫受容体、例えば、活性化免疫受容体または抑制性免疫受容体を含む。好適な活性化免疫受容体は、免疫受容体チロシン系活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）を含むことができる。ＩＴＡＭモチーフは、YX_1X_2L/Iであり、ここで、X_1及びX_2は独立して任意のアミノ酸である。好適な細胞内シグナル伝達ドメインは、ＩＴＡＭモチーフを含有するポリペプチドに由来するＩＴＡＭモチーフ含有部分であることができる。例えば、好適な細胞内シグナル伝達ドメインは、任意のＩＴＡＭモチーフ含有タンパク質に由来するＩＴＡＭモチーフ含有ドメインであることができる。ゆえに、好適な細胞内シグナル伝達ドメインは、それが由来するタンパク質全体の配列全体を含有する必要はない。好適なＩＴＡＭモチーフ含有ポリペプチドの例としては、ＤＡＰ１２；ＦＣＥＲ１Ｇ（Ｆｃイプシロン受容体Ｉガンマ鎖）；ＣＤ３Ｄ（ＣＤ３デルタ）；ＣＤ３Ｅ（ＣＤ３イプシロン）；ＣＤ３Ｇ（ＣＤ３ガンマ）；ＣＤ３Ｚ（ＣＤ３ゼータ）；及びＣＤ７９Ａ（抗原受容体複合体関連タンパク質アルファ鎖）が挙げられるが、これらに限定されない。１つの非限定的な例として、好適なＩＴＡＭモチーフ含有ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：

ESP**YQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQ (SEQ ID NO:25)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。別の例として、好適なＩＴＡＭモチーフ含有ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：

DGV**YTGL**STRNQET**YETL**KHE (SEQ ID NO:26)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。ポリペプチドは、完全長ＣＤ３ゼータアミノ酸配列のＩＴＡＭモチーフ含有部分を含むことができる。別の例として、好適なＩＴＡＭモチーフ含有ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：

RVKFSRSADAPAYQQGQNQL**YNEL**NLGRREE**YDVL**DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG

L**YNEL**QKDKMAEA**YSEI**GMKGERRRGKGHDGL**YQGL**STATKDT**YDAL**HMQALPPR

(SEQ ID NO:27); NQL**YNEL**NLGRREE**YDVL**DKR (SEQ ID NO:28);

EGL**YNEL**QKDKMAEA**YSEI**GMK (SEQ ID NO: 29);または DGL**YQGL**STATKDT**YDAL**HMQ

(SEQ ID NO:30)

のいずれかに対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太

字かつ下線を引いている。

【０２１７】

本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドにおける使用に好適な細胞内シグナル伝達ドメインには、免疫受容体チロシン系活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）含有細胞内シグナル伝達ポリペプチドが含まれる。ＩＴＡＭモチーフは、ＹＸ$_1$Ｘ$_2$Ｌ／Ｉであり、ここで、Ｘ$_1$及びＸ$_2$は独立して任意のアミノ酸である。いくつかの場合では、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドの細胞内シグナル伝達ドメインは、１、２、３、４、または５つのＩＴＡＭモチーフを含む。いくつかの場合では、ＩＴＡＭモチーフは、細胞内シグナル伝達ドメインにおいて２回反復され、この場合、ＩＴＡＭモチーフの第一及び第二の例は、６～８個のアミノ酸で互いに分離されている、例えば、（ＹＸ$_1$Ｘ$_2$Ｌ／Ｉ）（Ｘ$_3$）$_n$（ＹＸ$_1$Ｘ$_2$Ｌ／Ｉ）、ここで、ｎは６～８の整数であり、６～８Ｘ$_3$のそれぞれは任意のアミノ酸であることができる。いくつかの場合では、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドの細胞内シグナル伝達ドメインは、３つのＩＴＡＭモチーフを含む。

【０２１８】

好適な細胞内シグナル伝達ドメインは、ＩＴＡＭモチーフを含有するポリペプチドに由来するＩＴＡＭモチーフ含有部分であることができる。例えば、好適な細胞内シグナル伝達ドメインは、任意のＩＴＡＭモチーフ含有タンパク質からのＩＴＡＭモチーフ含有ドメインであることができる。ゆえに、好適な細胞内シグナル伝達ドメインは、それが由来するタンパク質全体の配列全体を含有する必要はない。好適なＩＴＡＭモチーフ含有ポリペプチドの例としては、ＤＡＰ１２；ＦＣＥＲ１Ｇ（Ｆｃイプシロン受容体１ガンマ鎖）；ＣＤ３Ｄ（ＣＤ３デルタ）；ＣＤ３Ｅ（ＣＤ３イプシロン）；ＣＤ３Ｇ（ＣＤ３ガンマ）；ＣＤ３Ｚ（ＣＤ３ゼータ）；及びＣＤ７９Ａ（抗原受容体複合体関連タンパク質アルファ鎖）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２１９】

いくつかの場合では、細胞内シグナル伝達ドメインは、ＤＡＰ１２（ＴＹＲＯＢＰ；ＴＹＲＯタンパク質チロシンキナーゼ結合タンパク質；ＫＡＲＡＰ；ＰＬＯＳＬ；ＤＮＡＸ－活性化タンパク質１２；ＫＡＲ関連タンパク質；ＴＹＲＯタンパク質チロシンキナーゼ結合タンパク質；キラー活性化受容体関連タンパク質；キラー活性化受容体関連タンパク質；等としても知られる）に由来する。例えば、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、以下のアミノ酸配列（４つのイソ型）：

MGGLEPCSRLLLLPLLLAVSGLRPVQAQAQSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLIAL

AVYFLGRLVPRGRGAAEAATRKQRITETESP**YQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQRPYYK (SEQ

ID NO:31);

MGGLEPCSRLLLLPLLLAVSGLRPVQAQAQSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLIAL

AVYFLGRLVPRGRGAAEATRKQRITETESP**YQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQRPYYK (SEQ

ID NO:32);

MGGLEPCSRLLLLPLLLAVSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLIALAVYFLGRLVPRG

RGAAEAATRKQRITETESP**YQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQRPYYK (SEQ ID NO:33); または

MGGLEPCSRLLLLPLLLAVSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLIALAVYFLGRLVPRG

RGAAEATRKQRITETESP**YQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQRPYYK (SEQ ID NO:34)

のいずれかに対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。

【０２２０】

同様に、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、完全長ＤＡＰ１２アミノ酸配列のＩＴＡＭモチーフ含有部分を含むことができる。ゆえに、好適な細胞内シグナル

伝達ドメインポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：
ESP**YQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQ (SEQ ID NO:25)
に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。

【０２２１】

いくつかの場合では、細胞内シグナル伝達ドメインは、ＦＣＥＲ１Ｇ（ＦＣＲＧ；Ｆｃイプシロン受容体Ｉガンマ鎖；Ｆｃ受容体ガンマ鎖；ｆｃ－イプシロンＲＩ－ガンマ；ｆｃＲガンマ；ｆｃｅＲＩガンマ；高親和性免疫グロブリンイプシロン受容体サブユニットガンマ；免疫グロブリンＥ受容体、高親和性、ガンマ鎖；等としても知られる）に由来する。例えば、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：
MIPAVVLLLLLLVEQAAALGEPQLCYILDAILFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKAAITSYEKS

DGV**YTGL**STRNQET**YETL**KHEKPPQ (SEQ ID NO:35)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。

【０２２２】

同様に、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、完全長ＦＣＥＲ１Ｇアミノ酸配列のＩＴＡＭモチーフ含有部分を含むことができる。ゆえに、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：
DGV**YTGL**STRNQET**YETL**KHE (SEQ ID NO:26)
に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。

【０２２３】

いくつかの場合では、細胞内シグナル伝達ドメインは、Ｔ細胞表面糖タンパク質ＣＤ３デルタ鎖（ＣＤ３Ｄ；ＣＤ３－デルタ；Ｔ３Ｄ；ＣＤ３抗原、デルタサブユニット；ＣＤ３デルタ；ＣＤ３ｄ抗原、デルタポリペプチド（ＴｉＴ３複合体）；ＯＫＴ３、デルタ鎖；Ｔ細胞受容体Ｔ３デルタ鎖；Ｔ細胞表面糖タンパク質ＣＤ３デルタ鎖；等としても知られる）に由来する。例えば、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、以下のアミノ酸配列（２つのイソ型）：
MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPIEELEDRVFVNCNTSITWVEGTVGTLLSDITRLDLG

KRILDPRGIYRCNGTDIYKDKESTVQVHYRMCQSCVELDPATVAGIIVTDVIATLLLALG

VFCFAGHETGRLSGAADTQALLRNDQV**YQPL**RDRDDAQ**YSHL**GGNWARNK (SEQ ID

NO:36) または

MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPIEELEDRVFVNCNTSITWVEGTVGTLLSDITRLDLG

KRILDPRGIYRCNGTDIYKDKESTVQVHYRTADTQALLRNDQV**YQPL**RDRDDAQ**YSHL**

GGNWARNK (SEQ ID NO:37)

のいずれかの約１００アミノ酸～約１１０アミノ酸（ａａ）、約１１０ａａ～約１１５ａａ、約１１５ａａ～約１２０ａａ、約１２０ａａ～約１３０ａａ、約１３０ａａ～約１４０ａａ、約１４０ａａ～約１５０ａａ、または約１５０ａａ～約１７０ａａの連続したストレッチ（ｃｏｎｔｉｇｕｏｕｓ　ｓｔｒｅｔｃｈ）に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むこ

とができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。

【０２２４】

同様に、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、完全長ＣＤ３デルタアミノ酸配列のＩＴＡＭモチーフ含有部分を含むことができる。ゆえに、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：

DQV**YQPL**RDRDDAQ**YSHL**GGN (SEQ ID NO:38)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。

【０２２５】

いくつかの場合では、細胞内シグナル伝達ドメインは、Ｔ細胞表面糖タンパク質ＣＤ３イプシロン鎖（ＣＤ３ｅ、Ｔ細胞表面抗原Ｔ３／Ｌｅｕ－４イプシロン鎖、Ｔ細胞表面糖タンパク質ＣＤ３イプシロン鎖、ＡＩ５０４７８３、ＣＤ３、ＣＤ３イプシロン、Ｔ３ｅ等としても知られる）に由来する。例えば、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：

MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILW

QHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARV

CENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQ

NKERPPPVPNPD**YEPI**RKGQRDL**YSGL**NQRRI (SEQ ID NO:39)

の約１００アミノ酸～約１１０アミノ酸（ａａ）、約１１０ａａ～約１１５ａａ、約１１５ａａ～約１２０ａａ、約１２０ａａ～約１３０ａａ、約１３０ａａ～約１４０ａａ、約１４０ａａ～約１５０ａａ、または約１５０ａａ～約２０５ａａの連続したストレッチに対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。

【０２２６】

同様に、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、完全長ＣＤ３イプシロンアミノ酸配列のＩＴＡＭモチーフ含有部分を含むことができる。ゆえに、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：

NPD**YEPI**RKGQRDL**YSGL**NQR (SEQ ID NO:40)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。

【０２２７】

いくつかの場合では、細胞内シグナル伝達ドメインは、Ｔ細胞表面糖タンパク質ＣＤ３ガンマ鎖（ＣＤ３Ｇ、Ｔ細胞受容体Ｔ３ガンマ鎖、ＣＤ３－ガンマ、Ｔ３Ｇ、ガンマポリペプチド（ＴｉＴ３複合体）等としても知られる）に由来する。例えば、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：

MEQGKGLAVLILAIILLQGTLAQSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAEAKNITWFKDG

KMIGFLTEDKKKWNLGSNAKDPRGMYQCKGSQNKSKPLQVYYRMCQNCIELNAATIS

GFLFAEIVSIFVLAVGVYFIAGQDGVRQSRASDKQTLLPNDQL**YQPL**KDREDDQ**YSHL**Q

GNQLRRN (SEQ ID NO:41)

の約１００アミノ酸～約１１０アミノ酸（ａａ）、約１１０ａａ～約１１５ａａ、約１１５ａａ～約１２０ａａ、約１２０ａａ～約１３０ａａ、約１３０ａａ～約１４０ａａ、約１４０ａａ～約１５０ａａ、または約１５０ａａ～約１８０ａａの連続したストレッチに

対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。

【０２２８】

同様に、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、完全長ＣＤ３ガンマアミノ酸配列のＩＴＡＭモチーフ含有部分を含むことができる。ゆえに、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：

DQL**YQPL**KDREDDQ**YSHL**QGN (SEQ ID NO:42)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。

【０２２９】

いくつかの場合では、細胞内シグナル伝達ドメインは、Ｔ細胞表面糖タンパク質ＣＤ３ゼータ鎖（ＣＤ３Ｚ、Ｔ細胞受容体Ｔ３ゼータ鎖、ＣＤ２４７、ＣＤ３ゼータ、ＣＤ３Ｈ、ＣＤ３Ｑ、Ｔ３Ｚ、ＴＣＲＺ等としても知られる）に由来する。例えば、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、以下のアミノ酸配列（２つのイソ型）：

MKWKALFTAAILQAQLPITEAQSFGLLDPKLCYLLDGILFIYGVILTALFLRVKFSRSADA

PAYQQGQNQL**YNEL**NLGRREE**YDVL**DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGL**YNEL**QKDK

MAEA**YSEI**GMKGERRRGKGHDGL**YQGL**STATKDT**YDAL**HMQALPPR (SEQ ID NO:43) または

MKWKALFTAAILQAQLPITEAQSFGLLDPKLCYLLDGILFIYGVILTALFLRVKFSRSADA

PAYQQGQNQL**YNEL**NLGRREE**YDVL**DKRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGL**YNEL**QKD

KMAEA**YSEI**GMKGERRRGKGHDGL**YQGL**STATKDT**YDAL**HMQALPPR(SEQ ID NO:44)

のいずれかの、約１００アミノ酸～約１１０アミノ酸（ａａ）、約１１０ａａ～約１１５ａａ、約１１５ａａ～約１２０ａａ、約１２０ａａ～約１３０ａａ、約１３０ａａ～約１４０ａａ、約１４０ａａ～約１５０ａａ、または約１５０ａａ～約１６０ａａの連続したストレッチに対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。

【０２３０】

同様に、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、完全長ＣＤ３ゼータアミノ酸配列のＩＴＡＭモチーフ含有部分を含むことができる。ゆえに、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：

RVKFSRSADAPAYQQGQNQL**YNEL**NLGRREE**YDVL**DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG

L**YNEL**QKDKMAEA**YSEI**GMKGERRRGKGHDGL**YQGL**STATKDT**YDAL**HMQALPPR

(SEQ ID NO:27);

NQL**YNEL**NLGRREE**YDVL**DKR (SEQ ID NO:28); EGL**YNEL**QKDKMAEA**YSEI**GMK

(SEQ ID NO:29); またはDGL**YQGL**STATKDT**YDAL**HMQ (SEQ ID NO:30)

のいずれかに対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。

【０２３１】

いくつかの場合では、細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ７９Ａ（Ｂ細胞抗原受容体

複合体関連タンパク質アルファ鎖；ＣＤ７９ａ抗原（免疫グロブリン関連アルファ）；ＭＢ－１膜糖タンパク質；ｉｇ－アルファ；膜結合型免疫グロブリン関連タンパク質；表面ＩｇＭ関連タンパク質；等としても知られる）に由来する。例えば、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、以下のアミノ酸配列（２つのイソ型）：
MPGGPGVLQALPATIFLLFLLSAVYLGPGCQALWMHKVPASLMVSLGEDAHFQ
CPHNSSNNANVTWWRVLHGNYTWPPEFLGPGEDPNGTLIIQNVNKSHGGIYVCRVQEG
NESYQQSCGTYLRVRQPPPRPFLDMGEGTKNRIITAEGIILLFCAVVPGTLLLFRKRWQN
EKLGLDAGDEYEDENL**YEGL**NLDDCSM**YEDI**SRGLQGTYQDVGSLNIGDVQLEKP
(SEQ ID NO:45); または
MPGGPGVLQALPATIFLLFLLSAVYLGPGCQALWMHKVPASLMVSLGEDAHFQ
CPHNSSNNANVTWWRVLHGNYTWPPEFLGPGEDPNEPPPRPFLDMGEGTKNRIITAEGII
LLFCAVVPGTLLLFRKRWQNEKLGLDAGDEYEDENLYEGLNLDDCSMYEDISRGLQGT
YQDVGSLNIGDVQLEKP (SEQ ID NO:46)

のいずれかの約１００アミノ酸～約１１０アミノ酸（ａａ）、約１１０ａａ～約１１５ａａ、約１１５ａａ～約１２０ａａ、約１２０ａａ～約１３０ａａ、約１３０ａａ～約１５０ａａ、約１５０ａａ～約２００ａａ、または約２００ａａ～約２２０ａａの連続したストレッチに対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。

【０２３２】

同様に、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、完全長ＣＤ７９Ａアミノ酸配列のＩＴＡＭモチーフ含有部分を含むことができる。ゆえに、好適な細胞内シグナル伝達ドメインポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：
ENL**YEGL**NLDDCSM**YEDI**SRG (SEQ ID NO:47)
に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ、ここで、ＩＴＡＭモチーフは太字かつ下線を引いている。

【０２３３】

ＤＡＰ１０／ＣＤ２８

本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドにおける使用に好適な細胞内シグナル伝達ドメインには、ＤＡＰ１０／ＣＤ２８型シグナル伝達鎖が含まれる。

【０２３４】

ＤＡＰ１０シグナル伝達鎖の一例は、アミノ酸配列であり：
RPRRSPAQDGKV**YINM**PGRG (SEQ ID NO:48)
である。いくつかの実施形態では、好適な細胞内シグナル伝達ドメインは、アミノ酸配列
RPRRSPAQDGKV**YINM**PGRG (SEQ ID NO:48)
の全体長さに対して、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２３５】

ＣＤ２８シグナル伝達鎖の一例は、アミノ酸配列であり、
FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSD**YMNM**TPRRPGPTRKHYQPYA
PPRDFAAYRS (SEQ ID NO:49)
である。いくつかの実施形態では、好適な細胞内シグナル伝達ドメインは、アミノ酸配列

FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSD**YMNM**TPRRPGPTRKHYQPYA

PPRDFAAYRS (SEQ ID NO:49)

の全体長さに対して、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２３６】

ＺＡＰ７０

本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドにおける使用に好適な細胞内シグナル伝達ドメインには、ＺＡＰ７０ポリペプチド、例えば、以下のアミノ酸配列：

MPDPAAHLPFFYGSISRAEAEEHLKLAGMADGLFLLRQCLRSLGGYVLSLVHDVRFHHF

PIERQLNGTYAIAGGKAHCGPAELCEFYSRDPDGLPCNLRKPCNRPSGLEPQPGVFDCLR

DAMVRDYVRQTWKLEGEALEQAIISQAPQVEKLIATTAHERMPWYHSSLTREEAERKL

YSGAQTDGKFLLRPRKEQGTYALSLIYGKTVYHYLISQDKAGKYCIPEGTKFDTLWQLV

EYLKLKADGLIYCLKEACPNSSASNASGAAAPTLPAHPSTLTHPQRRIDTLNSDGYTPEP

ARITSPDKPRPMPMDTSVYESPYSDPEELKDKKLFLKRDNLLIADIELGCGNFGSVRQGV

YRMRKKQIDVAIKVLKQGTEKADTEEMMREAQIMHQLDNPYIVRLIGVCQAEALMLV

MEMAGGGPLHKFLVGKREEIPVSNVAELLHQVSMGMKYLEEKNFVHRDLAARNVLLV

NRHYAKISDFGLSKALGADDSYYTARSAGKWPLKWYAPECINFRKFSSRSDVWSYGVT

MWEALSYGQKPYKKMKGPEVMAFIEQGKRMECPPECPPELYALMSDCWIYKWEDRPD

FLTVEQRMRACYYSLASKVEGPPGSTQKAEAACA (SEQ ID NO:50)

の約３００アミノ酸～約４００アミノ酸、約４００アミノ酸～約５００アミノ酸、または約５００アミノ酸～６１９アミノ酸の連続したストレッチに対して少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドが含まれる。

【０２３７】

受容体に由来する共刺激ドメインは、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドの細胞内ドメインとしての使用に好適である。共刺激ドメインは、膜貫通タンパク質の細胞内部分であることができる（すなわち、共刺激ドメインは、膜貫通タンパク質に由来することができる）。好適な共刺激ポリペプチドの非限定的な例としては、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＣＤ２８、ＩＣＯＳ、ＯＸ－４０、ＢＴＬＡ、ＣＤ２７、ＣＤ３０、ＧＩＴＲ、及びＨＶＥＭが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２３８】

いくつかの場合では、共刺激ドメインは、膜貫通タンパク質ＣＤ２８（Ｔｐ４４としても知られる）の細胞内部分に由来する。例えば、好適な共刺激ドメインは、以下のアミノ酸配列：

FWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS (SEQ ID NO:51)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。

【０２３９】

いくつかの場合では、共刺激ドメインは、膜貫通タンパク質４－１ＢＢ（ＴＮＦＲＳＦ９；ＣＤ１３７；４－１ＢＢ；ＣＤｗ１３７；ＩＬＡ；等としても知られる）の細胞内部分に由来する。例えば、好適な共刺激ドメインは、以下のアミノ酸配列：

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO:52)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも

約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。

【０２４０】

いくつかの場合では、共刺激ドメインは、膜貫通タンパク質ＯＸ－４０（ＴＮＦＲＳＦ４、ＲＰ５－９０２Ｐ８．３、ＡＣＴ３５、ＣＤ１３４、ＯＸ４０、ＴＸＧＰ１Ｌとしても知られる）の細胞内部分に由来する。例えば、好適な共刺激ドメインは、以下のアミノ酸配列：

RRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (SEQ ID NO:53)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。

【０２４１】

いくつかの場合では、共刺激ドメインは、膜貫通タンパク質ＢＴＬＡ（ＢＴＬＡ１及びＣＤ２７２としても知られる）の細胞内部分に由来する。例えば、好適な共刺激ドメインは、以下のアミノ酸配列：

CCLRRHQGKQNELSDTAGREINLVDAHLKSEQTEASTRQNSQVLLSETGIYDNDPDLCF

RMQEGSEVYSNPCLEENKPGIVYASLNHSVIGPNSRLARNVKEAPTEYASICVRS (SEQ

ID NO:54)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。

【０２４２】

いくつかの場合では、共刺激ドメインは、膜貫通タンパク質ＣＤ２７（Ｓ１５２、Ｔ１４、ＴＮＦＲＳＦ７、及びＴｐ５５としても知られる）の細胞内部分に由来する。例えば、好適な共刺激ドメインは、以下のアミノ酸配列：

HQRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (SEQ ID NO:55)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。

【０２４３】

いくつかの場合では、共刺激ドメインは、膜貫通タンパク質ＣＤ３０（ＴＮＦＲＳＦ８、Ｄ１Ｓ１６６Ｅ、及びＫｉ－１としても知られる）の細胞内部分に由来する。例えば、好適な共刺激ドメインは、以下のアミノ酸配列：

RRACRKRIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPL

METCHSVGAAYLESLPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNKIEKIYIMKADTVIVG

TVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPL

PTAASGK (SEQ ID NO:56)

の約１００アミノ酸～約１１０アミノ酸（ａａ）、約１１０ａａ～約１１５ａａ、約１１５ａａ～約１２０ａａ、約１２０ａａ～約１３０ａａ、約１３０ａａ～約１４０ａａ、約１４０ａａ～約１５０ａａ、約１５０ａａ～約１６０ａａ、または約１６０ａａ～約１８５ａａの連続したストレッチに対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。

【０２４４】

いくつかの場合では、共刺激ドメインは、膜貫通タンパク質ＧＩＴＲ（ＴＮＦＲＳＦ１８、ＲＰ５－９０２Ｐ８．２、ＡＩＴＲ、ＣＤ３５７、及びＧＩＴＲ－Ｄとしても知られる）の細胞内部分に由来する。例えば、好適な共刺激ドメインは、以下のアミノ酸配列：

HIWQLRSQCMWPRETQLLLEVPPSTEDARSCQFPEEERGERSAEEKGRLGDLWV (SEQ ID NO:57)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。

【０２４５】

いくつかの場合では、共刺激ドメインは、膜貫通タンパク質ＨＶＥＭ（ＴＮＦＲＳＦ１４、ＲＰ３－３９５Ｍ２０．６、ＡＴＡＲ、ＣＤ２７０、ＨＶＥＡ、ＨＶＥＭ、ＬＩＧＨＴＲ、及びＴＲ２としても知られる）の細胞内部分に由来する。例えば、好適な共刺激ドメインは、以下のアミノ酸配列：

CVKRRKPRGDVVKVIVSVQRKRQEAEGEATVIEALQAPPDVTTVAVEETIPSFTGRSPN

H (SEQ ID NO:58)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。

【０２４６】

好適な抑制性免疫受容体は、免疫受容体チロシン系阻害モチーフ（ＩＴＩＭ）、免疫受容体チロシン系スイッチモチーフ（ＩＴＳＭ）、ＮｐｘＹモチーフ、またはＹＸＸΦモチーフを含むことができる。好適なインヒビター免疫受容体には、ＰＤ１；ＣＴＬＡ４；ＢＴＬＡ；ＣＤ１６０；ＫＲＬＧ－１；２Ｂ４；Ｌａｇ－３；及びＴｉｍ－３が含まれる。例えば、Ｏｄｏｒｉｚｚｉ　ａｎｄ　Ｗｈｅｒｒｙ（２０１２）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８８：２９５７；及びＢａｉｔｓｃｈ　ｅｔ　ａｌ．（２０１２）ＰＬｏＳＯｎｅ７：ｅ３０８５２を参照されたい。

【０２４７】

いくつかの場合では、好適な抑制性免疫受容体は、以下のＰＤ１アミノ酸配列：

MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPPTFSPALLVVTEGDATFTCSFSNT

SESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAFPEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDFHMSVVRARRND

SGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLV (SEQ ID NO: 59)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２４８】

いくつかの場合では、好適な抑制性免疫受容体は、以下のＣＴＬＡ４アミノ酸配列：

MACLGFQRHKAQLNLATRTWPCTLLFFLLFIPVFCKAMHVAQPAVVLASSRGIA

SFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCAATYMMGNELTFLDDSICTGTSSGNQV

NLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPPPYYLGIGNGTQIYVIDPEPCPDSDFLLWILAAVSS

GLFFYSFLLTAVSLSKMLKKRSPLTTGVYVKMPPTEPECEKQFQPYFIPIN (SEQ ID NO:60)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２４９】

いくつかの場合では、好適な抑制性免疫受容体は、以下のＣＤ１６０アミノ酸配列：

MLLEPGRGCCALAILLAIVDIQSGGCINITSSASQEGTRLNLICTVWHKKEEAEGFVVFLC

KDRSGDCSPETSLKQLRLKRDPGIDGVGEISSQLMFTISQVTPLHSGTYQCCARSQKSGIR

LQGHFFSILFTETGNYTVTGLKQRQHLEFSHNEGTLSSGFLQEKVWVMLVTSLVALQAL

(SEQ ID NO:61)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸

配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２５０】

いくつかの場合では、好適な抑制性免疫受容体は、以下のＴ細胞免疫グロブリン及びムチンドメイン－３（Ｔｉｍ－３）アミノ酸配列：

MFSHLPFDCVLLLLLLLLTRSSEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWG

KGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNGDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRI

QIPGIMNDEKFNLKLVIKPAKVTPAPTLQRDFTAAFPRMLTTRGHGPAETQTLGSLPDIN

LTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRIGIYIGAGICAGLALALIFGALIFKWYSHSKEKI

QNLSLISLANLPPSGLANAVAEGIRSEENIYTIEENVYEVEEPNEYYCYVSSRQQPSQPLG

CRFAMP (SEQ ID NO:62)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２５１】

いくつかの場合では、好適な抑制性免疫受容体は、以下のリンパ球活性化遺伝子３（Ｌａｇ－３）アミノ酸配列：

MWEAQFLGLLFLQPLWVAPVKPLQPGAEVPVVWAQEGAPAQLPCSPTIPLQDLSLLRR

AGVTWQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGPHPAAPSSWGPRPRRYTVLSVGPGGLRSGRLPL

QPRVQLDERGRQRGDFSLWLRPARRADAGEYRAAVHLRDRALSCRLRLRLGQASMTA

SPPGSLRASDWVILNCSFSRPDRPASVHWFRNRGQGRVPVRESPHHHLAESFLFLPQVSP

MDSGPWGCILTYRDGFNVSIMYNLTVLGLEPPTPLTVYAGAGSRVGLPCRLPAGVGTRS

FLTAKWTPPGGGPDLLVTGDNGDFTLRLEDVSQAQAGTYTCHIHLQEQQLNATVTLAII

TVTPKSFGSPGSLGKLLCEVTPVSGQERFVWSSLDTPSQRSFSGPWLEAQEAQLLSQPW

QCQLYQGERLLGAAVYFTELSSPGAQRSGRAPGALPAGHLLLFLILGVLSLLLLVTGAFG

FHLWRRQWRPRRFSALEQGIHPPQAQSKIEELEQEPEPEPEPEPEPEPEPEPEQL (SEQ ID NO:63)

のアミノ酸２３～５２５に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２５２】

いくつかの場合では、細胞内ドメインは、Ｓｉｇｌｅｃである。例えば、Ｖａｒｋｉ ａｎｄ Ａｎｇａｔａ（２００６）Ｇｌｙｃｏｂｉｏｌ．１６：１Ｒを参照されたい。いくつかの場合では、Ｓｉｇｌｅｃは、Ｓｉｇｌｅｃ－１５である。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、ＫＩＲ２ＤＬ４である。Ｍｉａｈ ｅｔ ａｌ．（２００８）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８０：２９２２。

【０２５３】

いくつかの場合では、細胞内ドメインは、リコンビナーゼである。好適なリコンビナーゼには、Ｃｒｅリコンビナーゼ；Ｆｌｐリコンビナーゼ；Ｄｒｅリコンビナーゼ；等が含まれる。好適なリコンビナーゼは、ＦＬＰｅリコンビナーゼである（例えば、Ａｋｂｕｄａｋ ａｎｄ Ｓｒｉｖａｓｔａｖａ（２０１１）Ｍｏｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．４９：８２を参照されたい）。好適なリコンビナーゼは、Ｆｌｐｏリコンビナーゼである。

【０２５４】

本明細書に記載のようなリコンビナーゼは、インタクトなリコンビナーゼまたは分割リコンビナーゼであってよい。分割リコンビナーゼの部分は、同一のまたは異なる発現構築物から発現されてよい。いくつかの例では、分割リコンビナーゼの２つの部分は、異なる結合誘発型転写スイッチに作動可能に連結してよい。他の例では、分割リコンビナーゼの第一部は、結合誘発型転写スイッチに作動可能に連結し得、分割リコンビナーゼの第二部

は、発現構築物から別々に発現され得る。

【０２５５】

分割リコンビナーゼを、例えば、論理ゲート使用ＳｙｎＮｏｔｃｈ回路において使用する場合、分割リコンビナーゼの部分は、分割転写因子に関して本質的に以下に記載するような様々な方法で他の成分を有する１つまたは複数の発現カセット中に配置されてよく、これから発現されてよい。

【０２５６】

従って、１つまたは複数の結合誘発型転写スイッチの活性化は、分割リコンビナーゼの部分の発現を誘導し、これが分割リコンビナーゼ部分のヘテロ二量体化及び／または複合体形成をもたらし、機能的なリコンビナーゼの形成をもたらし得る。あるいは、１つまたは複数の結合誘発型転写スイッチの活性化は、１つまたは複数の結合誘発型転写スイッチからのリコンビナーゼ部分の放出をもたらし、これが分割リコンビナーゼ部分のヘテロ二量体化及び／または複合体形成をもたらし、機能的なリコンビナーゼの形成をもたらし得る。加えて、分割リコンビナーゼ部分の誘導及び放出は組み合わされてよく、例えば、この場合、１つまたは複数の結合誘発型転写スイッチの活性化は、分割リコンビナーゼの部分の発現及び１つまたは複数の結合誘発型転写スイッチからの分割リコンビナーゼ部分の放出を誘導し、これが分割リコンビナーゼ部分のヘテロ二量体化及び／または複合体形成をもたらし、機能的なリコンビナーゼの形成をもたらし得る。

【０２５７】

好適な分割リコンビナーゼには、例えば、例えば、Ｂｅｃｋｅｒｖｏｒｄｅｒｓａｎｄｆｏｒｔｈ Ｒ ｅｔ ａｌ．，Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ Ｒｅｐｏｒｔｓ．２０１４；２（２）：１５３－６２Ｗｅｎ Ｍ ｅｔ ａｌ．，ＰＬｏＳ Ｏｎｅ．２０１４；９（１０）：ｅ１１０２９０Ｏ’Ｂｒｉｅｎ ＳＰ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ Ｊ．２０１４；９（３）：３５５－６１Ｗａｎｇ Ｐ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ Ｒｅｐ．２０１２；２：４９７Ｈｉｒｒｌｉｎｇｅｒ Ｊ ｅｔ ａｌ．，ＰＬｏＳ Ｏｎｅ．２００９；４（１２）：ｅ８３５４Ｈｉｒｒｌｉｎｇｅｒ Ｊ ｅｔ ａｌ．，ＰＬｏ ＳＯｎｅ．２００９；４（１）：ｅ４２８６；これらの開示は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、に記載されるような分割Ｃｒｅリコンビナーゼが含まれるが、これらに限定されない。

【０２５８】

好適なＣｒｅリコンビナーゼは、以下のアミノ酸配列：

VSNLLTVHQNLPALPVDATSDEVRKNLMDMFRDRQAFSEHTWKMLLSVCRSWAAWC

KLNNRKWFPAEPEDVRDYLLYLQARGLAVKTIQQHLGQLNMLHRRSGLPRPSDSNAVS

LVMRRIRKENVDAGERAKQALAFERTDFDQVRSLMENSDRCQDIRNLAFLGIAYNTLLR

IAEIARIRVKDISRTDGGRMLIHIGRTKTLVSTAGVEKALSLGVTKLVERWISVSGVADDP

NNYLFCRVRKNGVAAPSATSQLSTRALEGIFEATHRLIYGAKDDSGQRYLAWSGHSAR

VGAARDMARAGVSIPEIMQAGGWTNVNIVMNYIRNLDSETGAMVRLLEDGD (SEQ ID NO:64)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ；３３５アミノ酸（ａａ）～３５０ａａの長さを有することができる。

【０２５９】

好適なＦＬＰｅリコンビナーゼは、以下のアミノ酸配列：

MSQFDILCKTPPKVLVRQFVERFERPSGEKIASCAAELTYLCWMITHNGTAIKRATFMSY
NTIISNSLSFDIVNKSLQFKYKTQKATILEASLKKLIPAWEFTIIPYNGQKHQSDITDIVSSL
QLQFESSEEADKGNSHSKKMLKALLSEGESIWEITEKILNSFEYTSRFTKTKTLYQFLFLA
TFINCGRFSDIKNVDPKSFKLVQNKYLGVIIQCLVTETKTSVSRHIYFFSARGRIDPLVYL
DEFLRNSEPVLKRVNRTGNSSSNKQEYQLLKDNLVRSYNKALKKNAPYPIFAIKNGPKS
HIGRHLMTSFLSMKGLTELTNVVGNWSDKRASAVARTTYTHQITAIPDHYFALVSRYY
AYDPISKEMIALKDETNPIEEWQHIEQLKGSAEGSIRYPAWNGIISQEVLDYLSSYINRRIG
PVEQKLISEEDL (SEQ ID NO:65)

に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができ；４３０アミノ酸～４４５アミノ酸の長さを有することができる。

【０２６０】

好適な部位特異的ヌクレアーゼには、ヌクレアーゼ活性を有するＲＮＡ誘導型ＤＮＡ結合タンパク質、例えば、Ｃａｓ９ポリペプチド；転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥＮ）；ジンクフィンガーヌクレアーゼ；等が含まれるが、これらに限定されない。

【０２６１】

Ｃａｓ９ポリペプチドは、当該分野で公知である；例えば、Ｆｏｎｆａｒａ ｅｔ ａｌ．（２０１４）Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．４２：２５７７；及びＳａｎｄｅｒ ａｎｄ Ｊｏｕｎｇ（２０１４）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．３２：３４７を参照されたい。Ｃａｓ９ポリペプチドは、図３６に示すアミノ酸配列に対して、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。

【０２６２】

いくつかの場合では、細胞内ドメインは、ヌクレアーゼ活性を欠くが、ＤＮＡ標的結合活性を保持するＣａｓ９変異体である。かかるＣａｓ９変異体は、「不活性化Ｃａｓ９」または「ｄＣａｓ９」と本明細書で称する。例えば、Ｑｉ ｅｔ ａｌ．（２０１３）Ｃｅｌｌ １５２：１１７３を参照されたい。ｄＣａｓ９ポリペプチドは、図３６に示すアミノ酸配列または別のＣａｓ９ポリペプチド中の対応するアミノ酸のＤ１０Ａ及び／もしくはＨ８４０Ａアミノ酸置換を含むことができる。

【０２６３】

いくつかの場合では、細胞内ドメインは、キメラｄＣａｓ９、例えば、ｄＣａｓ９及び融合パートナーを含む融合タンパク質であり、ここで、好適な融合パートナーには、例えば、酵素活性を提供する非Ｃａｓ９酵素が含まれ、ここで、酵素活性は、メチルトランスフェラーゼ活性、脱メチル化酵素活性、アセチルトランスフェラーゼ活性、脱アセチル化酵素活性、キナーゼ活性、フォスファターゼ活性、ユビキチンリガーゼ活性、脱ユビキチン化活性、アデニル化活性、脱アデニル化活性、ＳＵＭＯ化活性、脱ＳＵＭＯ化活性、リボシル化活性、脱リボシル化活性、ミリストイル化活性または脱ミリストイル化活性である。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、キメラｄＣａｓ９、例えば、ｄＣａｓ９及び融合パートナーを含む融合タンパク質であり、ここで、好適な融合パートナーには、例えば、酵素活性を提供する非Ｃａｓ９酵素が含まれ、ここで、酵素活性は、ヌクレアーゼ活性、メチルトランスフェラーゼ活性、脱メチル化酵素活性、ＤＮＡ修復活性、ＤＮＡ損傷活性、脱アミノ活性、ジスムターゼ活性、アルキル化活性、脱プリン活性、酸化活性、ピリミジン二量体形成活性、インテグラーゼ活性、トランスポゼース活性、リコンビナーゼ活性、ポリメラーゼ活性、リガーゼ活性、ヘリカーゼ活性、フォトリアーゼ活性またはグリコシラーゼ活性である。

【０２６４】
いくつかの場合では、細胞内ドメインは、キメラｄＣａｓ９、例えば、ｄＣａｓ９及び融合パートナーを含む融合タンパク質であり、ここで、好適な融合パートナーには、例えば、転写活性化因子または転写抑制因子ドメイン（例えば、Ｋｒｕｐｐｅｌ関連ボックス（ＫＲＡＢまたはＳＫＤ）；Ｍａｄ　ｍＳＩＮ３相互作用ドメイン（ＳＩＤ）；ＥＲＦ抑制因子ドメイン（ＥＲＤ）等）；ジンクフィンガー系人工転写因子（例えば、Ｓｅｒａ（２００９）Ａｄｖ．Ｄｒｕｇ　Ｄｅｌｉｖ．６１：５１３を参照されたい）；ＴＡＬＥ系人工転写因子（例えば、Ｌｉｕ　ｅｔ　ａｌ．（２０１３）Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　１４：７８１を参照されたい）；等が含まれる。

【０２６５】
いくつかの場合では、細胞内ドメインは、アポトーシス誘導因子である。好適なアポトーシス誘導因子は、ｔＢＩＤを含む。「ｔＢＩＤ」という用語は、（例えば、活性カスパーゼによる）細胞質ＢＩＤの酵素切断から生じるＢＨ３共役デスアゴニスト（ＢＩＤ）タンパク質のＣ末端切断断片を指す。アポトーシスの初期段階では、ｔＢＩＤは、ミトコンドリアに転位置し、そこからのＣｙｔ　ｃの放出を媒介する。ｔＢＩＤタンパク質の非限定的な例としては、ヒトｔＢＩＤ（ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＣＡＧ３０２７５にて提供されるアミノ酸配列のアミノ酸６１～１９５）が挙げられる。

【０２６６】
ヒトｔＢＩＤは、以下のアミノ酸配列：ｇｎｒｓｓｈｓｒｌｇｒｉｅａｄｓｅｓｑｅｄｉｉｒｎｉａｒｈｌａｑｖｇｄｓｍｄｒｓｉｐｐｇｌｖｎｇｌａｅｄｒｎｒｄｌａｔａｌｅｑｌｌｑａｙｐｒｄｍｅｋｅｋｔｍｌｖｌａｌｌｌａｋｋｖａｓｈｔｐｓｌｌｒｄｖｆｈｔｔｖｎｆｉｎｑｎｌｒｔｙｖｒｓｌａｒｎｇｍｄ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６６）を有する。

【０２６７】
いくつかの実施形態では、細胞内ドメインは、上に提示されるヒトｔＢＩＤアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；約１２０アミノ酸（ａａ）～１５０ａａ、例えば、１２０ａａ～１２５ａａ、１２５ａａ～１３０ａａ、１３０ａａ～１３５ａａ、１３５ａａ～１４０ａａ、１４０ａａ～１４５ａａ、または１４５ａａ～１５０ａａの長さを有する。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、上に提示するヒトｔＢＩＤアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；１３５ａａの長さを有する。

【０２６８】
いくつかの場合では、細胞内ドメインは、転写因子である。好適な転写因子の例は、米国特許出願番号第２０１４／０３０８７４６号の表１に提示されている。好適な転写因子の非限定的な例を、図３７～６６に示す。好適な転写活性化因子及び転写抑制因子の非限定的な例を、図３７～８３に示す。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、転写調節因子である。好適な転写調節因子の非限定的な例として挙げられるのは、例えば、転写調節因子の例として、例えば、

ABT1, ACYP2, AEBP1, AEBP2, AES,
AFF1, AFF3, AHR, ANK1, ANK2, ANKFY1, ANKIB1, ANKRD1, ANKRD10, ANKRD2,
ANKRD32, ANKRD46, ANKRD49, ANKRD56, ANKRD57, ANKS4B, AR, ARHGAP17,
ARID1A, ARID1B, ARID3A, ARID4A, ARID5B, ARNT, ARNT2, ARNTL, ARNTL2, ARX,
ASB10, ASB11, ASB12, ASB15, ASB2, ASB5, ASB8, ASB9, ASH1L, ASH2L, ASXL1,
ASZ1, ATF1, ATF3, ATF4, ATF4, ATF5, ATF6, ATF7, ATF7IP, ATM, ATOH1, ATXN3,
1300003B13RIK, B3GAT3, B930041F14RIK, BACH1, BACH2, BARX1, BARX2, BATF,
BATF2, BATF3, BAZ2A, BBX, BC003267, BCL11A, BCL11B, BCL3, BCL6, BCL6B,
BCLAF1, BCOR, BHLHA15, BHLHE40, BHLHE41, BLZF1, BMYC, BNC1, BNC2, BPNT1,
BRCA1, BRWD1, BTBD11, BTF3, 6030408C04RIK, CAMK4, CARHSP1, CARM1, CBX4,
CBX7, CCNC, CCNH, CCNT1, CCNT2, CDC5L, CDK2, CDK4, CDK9, CDKN2C, CDX1,
CDX1, CDX2, CEBPA, CEBPB, CEBPD, CEBPG, CEBPG, CEBPZ, CHD4, CHD7, CHGB,
CIC, CIITA, CITED1, CITED2, CITED4, CLOCK, CLPB, CML3, CNOT7, COPS2, CREB1,

CREB3, CREB3L1, CREB3L1, CREB3L2, CREB3L3, CREB5, CREBBP, CREBL2, CREM, CSDA, CSDA, CSDC2, CSDE1, CTBP2, CTCF, CTCFL, CTNNB1, CTNNBL1, CXXC1, D11BWG0517E, 2300002D11RIK, DACH1, DAXX, DBP, DDIT3, DDX20, DDX54, DDX58, DEAF1, DEK, DIDO1, DLX2, DMRT1, DMRT2, DMRTB1, DNMT1, DNMT3A, DR1, DRG1, DUSP26, DYSFIP1, E2F1, E2F2, E2F3, E2F5, E2F6, EBF1, EBF2, EBF3, EBF3, EED, EGR1, EGR2, EGR3, EHF, EHMT2, EID2, ELAVL2, ELF1, ELF1, ELF2, ELF3, ELF4, ELF5, ELK3, ELK4, ELL2, EMX2, EMX2, EN2, ENPP2, EOMES, EP300, EPAS1, ERF, ERG, ESR1, ESRRA, ESRRB, ESRRG, ETS1, ETS2, ETV1, ETV3, ETV4, ETV5, ETV6, EVI1, EWSR1, EZH1, EZH2, FAH, FBXL10, FBXL11, FBXW7, FEM1A, FEM1B, FEM1C, FHL2, FLI1, FMNL2, FOS, FOSB, FOSL1, FOSL2, FOXA1, FOXA2, FOXA3, FOXC1, FOXD1, FOXD2, FOXD3, FOXF1, FOXF1A, FOXF2, FOXG1, FOXI1, FOXJ2, FOXJ3, FOXK1, FOXK2, FOXL1, FOXL2, FOXM1, FOXN1, FOXN2, FOXN3, FOXO1, FOXO3, FOXP1, FOXP2, FOXP3, FOXP4, FOXQ1, FUS, FUSIP1, 2810021G02RIK, GABPA, GABPB1, GARNL1, GAS7, GATA1, GATA2, GATA3, GATA4, GATA5, GATA5, GATA6, GBX2, GCDH, GCM1, GFI1, GFI1B, GLI2, GLI3, GLIS1, GLIS2, GLIS3, GLS2, GMEB1, GMEB2, GRHL1, GRHL2, GRHL3, GRLF1, GTF2A1, GTF2B, GTF2E2, GTF2F1, GTF2F2, GTF2H2, GTF2H4, GTF2I, GTF2IRD1, GTF2IRD1, GZF1, HAND2, HBP1, HCLS1, HDAC10, HDAC11, HDAC2, HDAC5, HDAC9, HELZ, HES1, HES4, HES5, HES6, HEXIM1, HEY2, HEYL, HHEX, HHEX, HIC1, HIC2, HIF1A, HIF1AN, HIPK2, HIVEP1, HIVEP2, HIVEP2, HIVEP3, HLF, HLTF, HLX, HMBOX1, HMG20A, HMGA2, HMGB2, HMGB3, HNF1B, HNF4A, HNF4G, HOMEZ, HOXA10, HOXA11, HOXA13, HOXA2, HOXA3, HOXA4, HOXA5, HOXA6, HOXA7, HOXA9, HOXB1, HOXB2, HOXB3, HOXB4, HOXB6, HOXB7, HOXB8, HOXB9, HOXC10, HOXC10, HOXC11, HOXC5, HOXC6, HOXC8, HOXC9, HOXD8, HOXD9, HR, HSBP1, HSF2BP, HTATIP2, HTATSF1, HUWE1, 5830417I10RIK, ID1, ID2, ID3, ID3, IFNAR2, IKBKB, IKBKG, IKZF1, IKZF2, IKZF3, IKZF4, IL31RA, ILF3, ING1, ING2, ING3, ING4, INSM1, INTS12, IQWD1, IRF1, IRF1, IRF2, IRF3, IRF4, IRF5, IRF6, IRF7, IRF8, IRF8, IRX1, IRX2, IRX3, IRX4, IRX5, ISL1, ISL2, ISX, ISX, IVNS1ABP, 2810021J22RIK, JARID1A, JARID1B, JARID1C, JARID1D, JDP2, JUN, JUNB, JUND, KLF1, KLF10, KLF11, KLF12, KLF13, KLF15, KLF16, KLF2, KLF3, KLF3, KLF4, KLF5, KLF6, KLF7, KLF8, KLF9, KRR1, 6330416L07RIK, L3MBTL2, LASS2, LASS4, LASS6, LBA1, LBH, LBX1, LCOR, LDB1, LDB2, LEF1,

LHX1, LHX2, LHX5, LIMD1, LIN28, LMO1, LMO4, LMX1A, LSM11, LSM4, LYL1, 9030612M13RIK, 1810007M14RIK, 3632451O06RIK, MAF, MAFA, MAFB, MAFF, MAFG, MAFK, MAGED1, MAP3K12, MAPK1, MAPK3, MAPK8, MAPK8IP1, MAX, MAZ, MBD2, MCM2, MCM4, MCM5, MCM6, MCM7, MECOM, MECP2, MED12, MED8, MEF2A, MEF2B, MEF2C, MEF2D, MEIS1, MEIS1, MEIS2, MEOX2, MESP2, MID1, MITF, MKI67IP, MKL1, MLL1, MLL3, MLLT10, MLLT3, MLX, MLXIP, MLXIPL, MNT, MNX1, MPL, MSC, MSRB2, MSX2, MTA3, MTF1, MTF2, MTPN, MXD1, MXD4, MXI1, MYB, MYBBP1A, MYBL2, MYC, MYCBP, MYCL1, MYCN, MYEF2, MYF6, MYNN, MYOCD, MYOD1, MYOG, MYST3, MYST4, MYT1L, MZF1, NAB1, NAB2, NANOG, NARG1, NCOA1, NCOA2, NCOA3, NCOR1, NCOR2, NDN, NEUROD1, NEUROD4, NEUROD6, NEUROG1, NEUROG2, NFAT5, NFATC1, NFATC2, NFATC2IP, NFATC3, NFATC3, NFATC4, NFE2, NFE2L1, NFE2L2, NFIA, NFIA, NFIB, NFIC, NFIL3, NFIX, NFKB1, NFKB2, NFKBIB, NFKBIE, NFKBIZ, NFX1, NFXL1, NFYA, NFYB, NHLH1, NKX2-2, NKX2-3, NKX2-5, NKX2-6, NKX6-2, NMI, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, NPAS1, NPAS2, NPAS3, NR0B1, NR0B2, NR1D1, NR1D2, NR1H3, NR1H4, NR1I2, NR1I3, NR2C1, NR2C2, NR2E3, NR2F1, NR2F2, NR2F6, NR3C1, NR3C2, NR4A1, NR4A2, NR4A2, NR4A3, NR5A1, NR5A2, NRARP, NRIP1, NRIP2, NSBP1, NSD1, NUDT12, NULL, NUPR1, 1700065O13RIK, OLIG1, OLIG2, OLIG2, ONECUT1, ONECUT2, ONECUT3, ORC2L, OSGIN1, OSR1, OSR2, OSTF1, OVOL1, OVOL2, PAPOLA, PAPOLG, PAPPA2, PATZ1, PAWR, PAX2, PAX5, PAX6, PAX7, PAX8, PAX9, PBX1, PBX2, PBX3, PBX4, PCBD1, PCGF6, PDCD11, PDLIM4, PDX1, PEG3, PER1, PFDN1, PGR, PHF1, PHF10, PHF12, PHF13, PHF14, PHF20, PHF21A, PHF5A, PHF7, PHOX2A, PHOX2B, PIAS2, PIR, PITX1, PITX2, PKNOX1, PKNOX2, PLA2G6, PLAGL1, PLAGL2, PLRG1, PML, POGK, POLR2B, POLR2E, POLR2H, POLR3E, POLR3H, POLRMT, POU1F1, POU2AF1, POU2F1, POU2F2, POU3F2, POU3F3, POU3F3, POU5F1, POU6F1, PPARA, PPARD, PPARG, PPARGC1A, PPARGC1B, PPP1R12C, PPP1R13B, PPP1R16B, PPP1R1B, PPP2R1A, PPP3CB, PQBP1, PRDM1, PRDM14, PRDM15, PRDM16, PRDM2, PRDM4, PRDM5, PRDM6, PRDM8, PREB, PRKAR1A, PRKCBP1, PROX1, PRRX1, PRRX2, PSMC5, PSMD10, PSMD9, PTF1A, PTGES2, PURB, PWP1, RAB11A, RAB11B, RAB15, RAB18, RAB1B, RAB25, RAB8A, RAB8B, RAI14, RARA, RARB, RARG, RASSF7, RB1, RBBP7, RBL1, RBM14, RBM39, RBM9, RBPJ, RBPJL, RCOR2, REL, RELA, RELB, RERE,

REST, REXO4, RFC1, RFX1, RFX2, RFX3, RFX5, RFX7, RFX8, RHOX5, RHOX6, RHOX9, RIPK4, RNF12, RNF14, RNF141, RNF38, RNF4, RORA, RORA, RORB, RORC, RPS6KA4, RREB1, RSRC1, RUNX1, RUNX1T1, RUNX2, RUNX2, RUNX3, RUVBL1, RUVBL2, RXRA, RXRG, RYBP, SAFB2, SALL1, SALL1, SALL2, SALL4, SAP30, SAP30BP, SATB1, SATB2, SATB2, SCAND1, SCAP, SCRT2, SEC14L2, SERTAD1, SF1, SFPI1, SFRS5, SH3D19, SH3PXD2B, SHANK3, SHOX2, SHPRH, SIN3A, SIN3B, SIRT2, SIRT3, SIRT5, SIX1, SIX1, SIX2, SIX3, SIX4, SIX5, SKI, SMAD1, SMAD2, SMAD3, SMAD7, SMARCA1, SMARCA2, SMARCA5, SMARCB1, SMYD1, SNAI1, SNAI2, SNAPC2, SNAPC4, SNIP1, SOLH, SOX1, SOX10, SOX11, SOX12, SOX13, SOX15, SOX17, SOX18, SOX2, SOX21, SOX4, SOX5, SOX6, SOX7, SOX8, SOX9, SP1, SP110, SP140L, SP2, SP3, SP4, SP6, SP8, SPDEF, SPEN, SPI1, SPIB, SQSTM1, SREBF1, SREBF2, SREBF2, SRF, SSBP2, SSBP3, SSBP4, SSRP1, ST18, STAG1, STAT1, STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B, STAT5B, STAT6, SUB1, SUZ12, TADA2L, TAF13, TAF5, TAF5L, TAF7, TAF9, TAL1, TAL1, TARDBP, TBPL1, TBR1, TBX1, TBX10, TBX15, TBX18, TBX2, TBX2, TBX20, TBX21, TBX3, TBX4, TBX5, TBX6, TCEA1, TCEA3, TCEAL1, TCEB3, TCERG1, TCF12, TCF15, TCF19, TCF20, TCF21, TCF21, TCF3, TCF4, TCF7, TCF7L2, TCFAP2A, TCFAP2B, TCFAP2C, TCFCP2L1, TCFE2A, TCFE3, TCFEB, TCFEC, TCFL5, TEAD1, TEAD2, TEAD3, TEAD4, TEF, TFAP2A, TFAP2C, TFCP2L1, TFDP2, TFEB, TFEC, TGFB1I1, TGIF1, TGIF2, TGIF2LX, THRA, THRAP3, THRB, THRSP, TIAL1, TLE1, TLE6, TMEM131, TMPO, TNFAIP3, TOB1, TOX4, TP63, TRERF1, TRIB3, TRIM24, TRIM28, TRIM30, TRIP13, TRIP4, TRIP6, TRP53, TRP53BP1, TRP63, TRPS1, TRPS1, TSC22D1, TSC22D2, TSC22D3, TSC22D4, TSHZ1, TSHZ1, TSHZ3, TTRAP, TUB, TULP4, TWIST1, TWIST2, TYSND1, UBE2W, UBN1, UBP1, UBTF, UGP2, UHRF1, UHRF2, UNCX, USF1, USF2, UTF1, VDR, VEZF1, VGLL2, VSX1, WASL, WHSC1, WHSC2, WT1, WWP1, WWTR1, XBP1, YAF2, YY1, ZBED1, ZBED4, ZBTB1, ZBTB10, ZBTB16, ZBTB16, ZBTB17, ZBTB2, ZBTB20, ZBTB22, ZBTB25, ZBTB32, ZBTB38, ZBTB4, ZBTB43, ZBTB45, ZBTB47, ZBTB7A, ZBTB7B, ZBTB7C, ZCCHC8, ZDHHC13, ZDHHC16, ZDHHC21, ZDHHC5, ZDHHC6, ZEB2, ANK2ZEB2, ZFHX2, ZFHX3, ZFHX4, ZFP105, ZFP110, ZFP143, ZFP148, ZFP161, ZFP192, ZFP207, ZFP219, ZFP238, ZFP263, ZFP275, ZFP277, ZFP281, ZFP287, ZFP292, ZFP35, ZFP354C, ZFP36, ZFP36L1, ZFP386, ZFP407, ZFP42, ZFP423, ZFP426, ZFP445,

ZFP451, ATF5ZFP451, ZFP467, ZFP52, ZFP57, ZFP592, ZFP593, ZFP597, ZFP612, ZFP637, ZFP64, ZFP647, ZFP748, ZFP810, ZFP9, ZFP91, ZFPM1, ZFPM2, ZFX, ZHX2, ZHX3, ZIC1, ZIC2, ZIC3, ZIC4, ZIC5, ZKSCAN1, ZKSCAN3, ZMYND11, ZNF143, ZNF160, ZNF175, ZNF184, ZNF192, ZNF213, ZNF217, ZNF219, ZNF22, ZNF238, ZNF24, ZNF267, ZNF273, ZNF276, ZNF280D, ZNF281, ZNF292, ZNF311, ZNF331, ZNF335, ZNF337, ZNF33B, ZNF366, ZNF394, ZNF398, ZNF41, ZNF410, ZNF415, ZNF423, ZNF436, ZNF444, ZNF445, ZNF451, ZNF460, ZNF496, ZNF498, ZNF516, ZNF521, ZNF532, ZNF536, ZNF546, ZNF552, ZNF563, ZNF576, ZNF580, ZNF596, ZNF621, ZNF628, ZNF648, ZNF649, ZNF652, ZNF655, ZNF664, ZNF668, ZNF687, ZNF692, ZNF696, ZNF697, ZNF710, ZNF80, ZNF91, ZNF92, ZNRD1, ZSCAN10, ZSCAN16, ZSCAN20, ZSCAN21, ZXDC, 及びZZZ3

が挙げられる。

【０２６９】

いくつかの場合では、細胞内ドメインは、転写因子である。好適な転写因子には、例えば、ＡＳＣＬ１、ＢＲＮ２、ＣＤＸ２、ＣＤＸ４、ＣＴＮＮＢ１、ＥＯＭＥＳ、ＪＵＮ、ＦＯＳ、ＨＮＦ４ａ、ＨＯＸＡ（例えば、ＨＯＸＡ１、ＨＯＸＡ２、ＨＯＸＡ３、ＨＯＸＡ４、ＨＯＸＡ５、ＨＯＸＡ１０、ＨＯＸＡ１１、ＨＯＸＡ１３）、ＨＯＸＢ（例えば、ＨＯＸＢ９）、ＨＯＸＣ（例えば、ＨＯＸＣ４、ＨＯＸＣ５、ＨＯＸＣ６、ＨＯＸＣ８、ＨＯＸＣ９、ＨＯＸＣ１０、ＨＯＸＣ１１、ＨＯＸＣ１２、ＨＯＸＣ１３）、ＨＯＸＤ（例えば、ＨＯＸＤ１、ＨＯＸＤ３、ＨＯＸＤ４、ＨＯＸＤ８、ＨＯＸＤ９、ＨＯＸＤ１０、ＨＯＸＤ１１、ＨＯＸＤ１２、ＨＯＸＤ１３）、ＳＮＡＩ１－３、ＭＹＯＤ１、ＭＹＯＧ、ＮＥＵＲＯＤ１－６（例えば、ＮＥＵＲＯＤ１、ＮＥＵＲＯＤ２、ＮＥＵＲＯＤ４、ＮＥＵＲＯＤ６）、ＰＤＸ１、ＰＵ．１、ＳＯＸ２、Ｎａｎｏｇ、Ｋｌｆ４、ＢＣＬ－６、ＳＯＸ９、ＳＴＡＴ１－６、ＴＢＥＴ、ＴＣＦ、ＴＥＡＤ１－４（例えば、ＴＥＡＤ１、ＴＥＡＤ２、ＴＥＡＤ３、ＴＥＡＤ４）、ＴＡＦ６Ｌ、ＣＬＯＣＫ、ＣＲＥＢ、ＧＡＴＡ３、ＩＲＦ７、ＭｙｃＣ、ＮＦｋＢ、ＲＯＲｙｔ、ＲＵＮＸ１、ＳＲＦ、ＴＢＸ２１、ＮＦＡＴ、ＭＥＦ２Ｄ、及びＦｏｘＰ３が含まれる。

【０２７０】

いくつかの場合では、細胞内ドメインは、１つまたは複数の免疫細胞において調節機能を有する転写因子（すなわち、免疫細胞調節転写因子）である。好適な免疫細胞調節転写因子には、例えば、

2210012G02Rik, Akap8l, Appl2,
Arid4b, Arid5b, Ash1l, Atf7, Atm, C430014K11Rik, Chd9, Dmtf1, Fos, Foxo1, Foxp1,
Hmbox1, Kdm5b, Klf2, Mga, Mll1, Mll3, Myst4, Pcgf6, Rev3l, Scml4, Scp2, Smarca2, Ssbp2,
Suhw4, Tcf7, Tfdp2, Tox, Zbtb20, Zbtb44, Zeb1, Zfml, Zfp1, Zfp319, Zfp329, Zfp35, Zfp386,
Zfp445, Zfp518, Zfp652, Zfp827, Zhx2, Eomes, Arntl, Bbx, Hbp1, Jun, Mef2d, Mterfd1, Nfat5,
Nfe2l2, Nr1d2, Phf21a, Taf4b, Trf, Zbtb25, Zfp326, Zfp451, Zfp58, Zfp672, Egr2, Ikzf2, Taf1d,
Chrac1, Dnajb6, Aplp2, Batf, Bhlhe40, Fosb, Hist1h1c, Hopx, Ifih1, Ikzf3, Lass4, Lin54, Mxd1,
Mxi1, Prdm1, Prf1, Rora, Rpa2, Sap30, Stat2, Stat3, Taf9b, Tbx21, Trps1, Xbp1, Zeb2, Atf3,
Cenpc1, Lass6, Rb1, Zbtb41, Crem, Fosl2, Gtf2b, Irf7, Maff, Nr4a1, Nr4a2, Nr4a3, Obfc2a,
Rbl2, Rel, Rybp, Sra1, Tgif1, Tnfaip3, Uhrf2, Zbtb1, Ccdc124, Csda, E2f3, Epas1, H1f0, H2afz,
Hif1a, Ikzf5, Irf4, Nsbp1, Pim1, Rfc2, Swap70, Tfb1m, 2610036L11Rik, 5133400G04Rik,
Apitd1, Blm, Brca1, Brip1, C1d, C79407, Cenpa, Cfl1, Clspn, Ddx1, Dscc1, E2f7, E2f8, Ercc6l,
Ezh2, Fen1, Foxm1, Gen1, Gsg2, H2afx, Hdac1, Hdgf, Hells, Hist1h1e, Hist3h2a, Hjurp,
Hmgb2, Hmgb3, Irf1, Irf8, Kif22, Kif4, Lig1, Lmo2, Lnp, Mbd4, Mcm2, Mcm3, Mcm4, Mcm5,
Mcm6, Mcm7, Mybl2, Neil3, Nusap1, Orc6l, Pola1, Pola2, Pole, Pole2, Polh, Polr2f, Polr2j,
Ppp1r8, Prim2, Psmc3ip, Rad51, Rad51c, Rad54l, Rfc3, Rfc4, Rnps1, Rpa1, Smarcc1, Spic,
Ssrp1, Taf9, Tfdp1, Tmpo, Topbp1, Trdmt1, Uhrf1, Wdhd1, Whsc1, Zbp1, Zbtb32, Zfp367,
Car1, Polg2, Atr, Lef1, Myc, Nucb2, Satb1, Taf1a, Ift57, Apex1, Chd7, Chtf8, Ctnnb1, Etv3,
Irf9, Myb, Mybbp1a, Pms2, Preb, Sp110, Stat1, Trp53, Zfp414, App, Cdk9, Ddb1, Hsf2, Lbr,
Pa2g4, Rbms1, Rfc1, Rfc5, Tada2l, Tex261, Xrcc6
等が含まれる。

【０２７１】

いくつかの場合では、転写因子は、人工転写因子（ＡＴＦ）であってよく、それには、例えば、ジンクフィンガー系人工転写因子（例えば、Ｓｅｒａ Ｔ．Ａｄｖ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ Ｒｅｖ．２００９ ６１（７－８）：５１３－２６；Ｃｏｌｌｉｎｓ ｅｔ ａｌ．Ｃｕｒｒ Ｏｐｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２００３ １４（４）：３７１－８；Ｏｎｏｒｉ ｅｔ ａｌ．ＢＭＣ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ．２０１３ １４：３、これらの開示はその全体が参照により本明細書に組み込まれる、に記載のものを含む）が含まれるが、これらに限定されない。

【０２７２】

例えば、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図３７に示すアポトーシス拮抗転写因子（ＡＡＴＦ）アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２７３】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図３８に示す基礎転写の活性化因子（ＡＢＴ１）アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２７４】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図３９に示す脂肪細胞エンハンサー結合性タンパク質２アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２７５】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図４０に示す活性化転写因子１（ＡＴＦ１）アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。
【０２７６】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図４１に示す転写調節因子タンパク質ＢＡＣＨ１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。
【０２７７】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図４２に示すクラスＥ塩基性ヘリックスーループーヘリックスタンパク質４１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。
【０２７８】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図４３に示すブロモドメイン含有タンパク質アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。
【０２７９】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図４４に示すＣＣＡＡＴ／エンハンサー結合タンパク質ゼータアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。
【０２８０】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図４５に示すクロモドメインーヘリカーゼーＤＮＡ結合タンパク質１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。
【０２８１】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図４６に示す死誘導因子オブリテレーター１イソ型ｃアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。
【０２８２】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図４７に示すタンパク質Ｄｒ１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。
【０２８３】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図４８に示す初期増殖応答タンパク質１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。
【０２８４】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図４９に示すＥＴＳ－関連転写因子Ｅｌｆ－２アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なく

とも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２８５】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図５０に示すエストロゲン受容体アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２８６】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図５１に示すジンクフィンガー及びＢＴＢドメイン含有タンパク質７Ａアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２８７】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図５２に示すｆｏｕｒ　ａｎｄ　ａ　ｈａｌｆ　ＬＩＭドメインタンパク質１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２８８】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図５３に示すフォークヘッドボックスタンパク質Ｐ３アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２８９】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図５４に示すＧＡ－結合タンパク質アルファ鎖アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む

【０２９０】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図５５に示す肝白血病因子アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２９１】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図５６に示すＨＯＰアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２９２】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図５７に示すＤＮＡ結合タンパク質阻害因子ＩＤ－１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２９３】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図５８に示すＤＮＡ結合タンパク質阻害因子ＩＤ－２（ドミナントネガティブヘリックス－ループ－ヘリックス）アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２９４】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図５９に示すインターフェロン調節因子１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。
【０２９５】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図６０に示すＫｒｕｅｐｐｅｌ様因子１２アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。
【０２９６】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図６１に示すＬＩＭドメイン－結合タンパク質１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。
【０２９７】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図６２に示すＬＩＭ／ホメオボックスタンパク質Ｌｈｘ１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。
【０２９８】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図６３に示すジンクフィンガー転写因子Ｅ２Ｓ－ＶＰ６４アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、以下のアミノ酸配列：
VDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSGGS

GGSGGSLEIEAAFLERENTALETRVAELRQRVQRLRNRVSQYRTRYGPLGGGK (SEQ ID NO:67)
に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；１０５～１１５アミノ酸（例えば、１０５、１０６、１０７、１０８、１０９、１１０、１１１、１１２、１１３、１１４、または１１５アミノ酸）の長さを有する。
【０２９９】
別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図６４に示すＧＡＬ４　ＤＮＡ結合ドメインアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、以下のアミノ酸配列：
LEIRAAFLRQRNTALRTEVAELEQEVQRLENEVSQYETRYGPLGGGKGGSGGSGGSMK

LLSSIEQACDICRLKKLKCSKEKPKCAKCLKNNWECRYSPKTKRSPLTRAHLTEVESRLE

RLEQLFLLIFPREDLDMILKMDSLQDIKALLTGLFVQDNVNKDAVTDRLASVETDMPLT

LRQHRISATSSSEESSNKGQRQLTVSAA (SEQ ID NO:68)
に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；２００アミノ酸～２１０アミノ酸（例えば、２００、２０１、２０２、２０３、２０４、２０５、２０６、２０７、２０８、２０９、または２１０アミノ酸）の長さを有する。
【０３００】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図６５に示すシグナル伝達兼転写活性化因子３（ＳＴＡＴ３）アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３０１】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図６６に示すＭｙｃアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３０２】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図６７に示すＡＳＣＬ１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３０３】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図６８に示すＣＤＸ２アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３０４】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図６９に示すＣＲＥＢ１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３０５】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図７０に示すＣＴＮＮＢ１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３０６】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図７１に示すＥＯＭＥＳアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３０７】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図７２に示すＦｏｓアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３０８】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図７３に示すＧＡＴＡ３アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３０９】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図７４に示すＨＯＸＡ１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３１０】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図７５に示すインターフェロン調節因子７（ＩＲＦ７）アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３１１】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図７６に示すＪｕｎアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３１２】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図７７に示す筋細胞エンハンサー因子２Ｄ（ＭＥＦ２Ｄ）アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３１３】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図７８に示す神経分化因子１（ＮＥＵＲＯＤ１）アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３１４】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図７９に示すＮＦＡＴアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３１５】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図８０に示すＮＦκＢアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３１６】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図８１に示すＳＮＡＩ１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３１７】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図８２に示すＳＴＡＴ１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３１８】

別の例として、いくつかの場合では、細胞内ドメインは、図８３に示すＴＥＡＤ１アミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０３１９】

いくつかの実施形態では、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、以下のテトラサイクリン制御転写活性化因子（ｔＴＡ）アミノ酸配列：

MSRLDKSKVINSALELLNEVGIEGLTTRKLAQKLGVEQPTLYWHVKNKRALLDALAIE
MLDRHHTHFCPLEGESWQDFLRNNAKSFRCALLSHRDGAKVHLGTRPTEKQYETLENQ
LAFLCQQGFSLENALYALSAVGHFTLGCVLEDQEHQVAKEERETPTTDSMPPLLRQAIE
LFDHQGAEPAFLFGLELIICGLEKQLKCESGGPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDMLP
ADALDDFDLDMLPG (SEQ ID NO:69)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；約２４５アミノ酸～２５２アミノ酸（例えば、２４８、２４９、２５０、２５１、または２５２アミノ酸）の長さを有する。

【０３２０】

いくつかの実施形態では、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。いくつかの場合では、転写活性化因子は、ＧＡＬ４－ＶＰ１６である。いくつかの場合では、転写活性化因子は、ＧＡＬ４－ＶＰ６４である。いくつかの場合では、転写活性化因子は、Ｔｂｘ２１である。いくつかの場合では、転写活性化因子は、操作されたタンパク質、例えば、ＶＰ６４（転写活性化）またはＫＲＡＢ（転写抑制）などのエフェクタードメインに融合したジンクフィンガーまたはＴＡＬＥ系ＤＮＡ結合ドメインである。様々な他の転写性トランス活性化因子が、当該分野で公知であり、使用に好適である。

【０３２１】

いくつかの場合では、細胞内ドメインは、以下のＧＡＬ４－ＶＰ６４配列：
MKLLSSIEQACDICRLKKLKCSKEKPKCAKCLKNNWECRYSPKTKRSPLTRAHLTEVES
RLERLEQLFLLIFPREDLDMILKMDSLQDIKALLTGLFVQDNVNKDAVTDRLASVETDM
PLTLRQHRISATSSSEESSNKGQRQLTVSAAAGGSGGSGGSDALDDFDLDMLGSDALDD
FDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGS (SEQ ID NO:70)
に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；２０８～２１４アミノ酸（例えば、２０８、２０９、２１０、２１１、２１２、２１３、または２１４アミノ酸）の長さを有する。

【０３２２】

いくつかの場合では、細胞内ドメインは、以下のＴｂｘ２１配列：
MGIVEPGCGDMLTGTEPMPGSDEGRAPGADPQHRYFYPEPGAQDADERRGGGSLGSPY
PGGALVPAPPSRFLGAYAYPPRPQAAGFPGAGESFPPPADAEGYQPGEGYAAPDPRAGL
YPGPREDYALPAGLEVSGKLRVALNNHLLWSKFNQHQTEMIITKQGRRMFPFLSFTVAG
LEPTSHYRMFVDVVLVDQHHWRYQSGKWVQCGKAEGSMPGNRLYVHPDSPNTGAH
WMRQEVSFGKLKLTNNKGASNNVTQMIVLQSLHKYQPRLHIVEVNDGEPEAACNASN
THIFTFQETQFIAVTAYQNAEITQLKIDNNPFAKGFRENFESMYTSVDTSIPSPPGPNCQFL
GGDHYSPLLPNQYPVPSRFYPDLPGQAKDVVPQAYWLGAPRDHSYEAEFRAVSMKPAF
LPSAPGPTMSYYRGQEVLAPGAGWPVAPQYPPKMGPASWFRPMRTLPMEPGPGGSEGR
GPEDQGPPLVWTEIAPIRPESSDSGLGEGDSKRRRVSPYPSSGDSSSPAGAPSPFDKEAEG
QFYNYFPN (SEQ ID NO:71)

に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；５３０アミノ酸～５４０アミノ酸（例えば、５３０、５３１、５３２、５３３、５３４、５３５、５３６、５３７、５３８、５３９、または５４０アミノ酸）の長さを有する。

【０３２３】
いくつかの場合では、細胞内ドメインは、以下のＭｙｏＤアミノ酸配列：
MELLSPPLRDIDLTGPDGSLCSFETADDFYDDPCFDSPDLRFFEDLDPRLVHMGALLKPE
EHAHFPTAVHPGPGAREDEHVRAPSGHHQAGRCLLWACKACKRKTTNADRRKAATM
RERRRLSKVNEAFETLKRCTSSNPNQRLPKVEILRNAIRYIEGLQALLRDQDAAPPGAAA
FYAPGPLPPGRGSEHYSGDSDASSPRSNCSDGMMDYSGPPSGPRRQNGYDTAYYSEAA
RESRPGKSAAVSSLDCLSSIVERISTDSPAAPALLLADAPPESPPGPPEGASLSDTEQGTQT
PSPDAAPQCPAGSNPNAIYQVL (SEQ ID NO:72)
に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；３０５～３２５アミノ酸（例えば、３０５、３０６、３０７、３０８、３０９、３１０、３１１、３１２、３１３、３１４、３１５、３１６、３１７、３１８、３１９、３２０、３２１、３２２、３２３、３２４、または３２５アミノ酸）の長さを有する。
【０３２４】
いくつかの場合では、細胞内ドメインは、毒素を含む。毒素の例としては、例えば、ジフテリア毒素Ａ断片、ジフテリア毒素の非結合活性断片、エキソトキシンＡ（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ　ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ由来）、リシンＡ鎖、アブリンＡ鎖、モデシンＡ鎖、α－サルシン、ある特定のＡｌｅｕｒｉｔｅｓ　ｆｏｒｄｉｉタンパク質、ある特定のジアンチンタンパク質、Ｐｈｙｔｏｌａｃｃａ　ａｍｅｒｉｃａｎａタンパク質（ＰＡＰ、ＰＡＰＩＩ及びＰＡＰ－Ｓ）、Ｍｏｒｏｄｉｃａ　ｃｈａｒａｎｔｉａ阻害剤、クルシン、クロチン、Ｓａｐｏｎａｒｉａ　ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓ阻害剤、ゲロニン、ミトギリン、レストリクトシン、フェノマイシン、及びネオマイシンが挙げられる。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、細菌病原体によりＩＩ型分泌系を介して通常分泌されるタンパク質を含む。いくつかの場合では、細胞内ドメインは、ＩＩＩ型（例えば、Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、Ｓｈｉｇｅｌｌａ、Ｙｅｒｓｉｎｉａ、Ｖｉｂｒｉｏ）及びＩＶ型（例えば、Ｂｏｒｄｅｔｅｌｌａ　ｐｅｒｔｕｓｓｉｓ、Ｌｅｇｉｏｎｅｌｌａ　ｐｎｅｕｍｏｐｈｉｌａ、Ａｇｒｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ　ｔｕｍｅｆａｃｉｅｎｓ）分泌系に由来する毒性の細菌エフェクターを含む。ＩＩＩ型細菌分泌系由来の毒性の細菌エフェクターの例としては、例えば、ＶｏｐＱ、ＹｏｐＨ等が挙げられる。例えば、Ｄｅａｎ（２０１１）ＦＥＭＳ　Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｒｅｖ．３５：１１００を参照されたい。ＩＶ型細菌分泌系由来の毒性の細菌エフェクターの例としては、例えば、百日咳毒素、ＣａｇＡ等が挙げられる。
【０３２５】
いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、ホルモンである。好適なホルモンの例としては、例えば、エリスロポエチン（ＥＰＯ）、インスリン、セクレチン、グルカゴン様ポリペプチド１（ＧＬＰ－１）等が挙げられる。かかるホルモンのさらなる例としては、アクチビン、インヒビン、アディポネクチン、脂肪由来ホルモン、副腎皮質刺激ホルモン、アファメラノタイド、アグーチシグナル伝達ペプチド、アラトスタチン、アミリン、アミリンファミリー、アンジオテンシン、心房性ナトリウム利尿ペプチド、ガストリン、ソマトトロピン、ブラジキニン、脳由来神経栄養因子、カルシトニン、コレシストキニン、毛様体神経栄養因子、コルチコトロピン放出ホルモン、コシントロピン、エンドセリアン、エンテログルカゴン、線維芽細胞成長因子１５（ＦＧＦ１５）、ＧＦＧ１５／１９、卵胞刺激ホルモン、ガストリン、胃阻害ペプチド、グレリン、グルカゴン、グルカゴン様ペプチド－１、ゴナドトロピン、ゴナドトロピン放出ホルモン、顆粒球－コロニー刺激因子、成長ホルモン、成長ホルモン放出ホルモン、ヘプシジン、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、ヒト胎盤性ラクトゲン、インクレチン、インスリン、インスリン類似体、インスリン・アスパルト、インスリン・デグルデク、インス

リン・グラルギン、インスリン・リスプロ、インスリン様成長因子、インスリン様成長因子－１、インスリン様成長因子－２、レプチン、リラグルチド、黄体形成ホルモン、メラノコルチン、メラノサイト刺激ホルモン、アルファ－メラノサイト刺激ホルモン、メラノチン（ｍｅｌａｎｏｔｉｎ）ＩＩ、ミニガストリン、Ｎ末端プロ脳性ナトリウム利尿ペプチド、神経成長因子、ニューロトロフィン－３、ニューロトロフィン－４、ＮＰＨインスリン、オベスタチン、オレキシン、オステオカルシン、膵臓ホルモン、副甲状腺ホルモン、ペプチドホルモン、ペプチドＹＹ、血漿レニン活性、プラムリンチド、プレプロホルモン、プロラクチン、リラキシン、リラキシンファミリーペプチドホルモン、レニン、サルカトニン、セクレチン、セクレチンファミリーペプチドホルモン、シンカリド、硬骨魚類レプチン、テンポリン、テサモレリン、甲状腺刺激ホルモン、サイロトロピン放出ホルモン、ウロコルチン、ウロコルチンＩＩ、ウロコルチンＩＩＩ、血管作動性腸管ペプチド、及びビテロゲニンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３２６】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、成長因子である。好適な成長因子の例としては、肝細胞刺激因子、形質細胞腫成長因子、脳由来神経栄養因子（ＢＤＮＦ）、グリア由来神経栄養因子（ＧＤＮＦ）、神経栄養因子３（ＮＴ３）、線維芽細胞成長因子（ＦＧＦ）、トランスフォーミング増殖因子（ＴＧＦ）、血小板トランスフォーミング増殖因子、ミルク成長因子、内皮成長因子（ＥＧＦ）、内皮細胞由来成長因子（ＥＣＤＧＦ）、アルファ－内皮成長因子、ベーター内皮成長因子、神経栄養成長因子、神経成長因子（ＮＧＦ）、血管内皮成長因子（ＶＥＧＦ）、４－１ＢＢ受容体（４－１ＢＢＲ）、ＴＲＡＩＬ（ＴＮＦ関連アポトーシス誘導リガンド）、アルテミン（ＧＦＲアルファ３－ＲＥＴリガンド）、ＢＣＡ－１（Ｂ細胞誘引ケモカイン１）、Ｂリンパ球化学誘引物質（ＢＬＣ）、Ｂ細胞成熟タンパク質（ＢＣＭＡ）、脳由来神経栄養因子（ＢＤＮＦ）、オステオプロテゲリン（ＯＰＧ）などの骨成長因子、骨由来成長因子、巨核球由来成長因子（ＭＧＤＦ）、ケラチノサイト成長因子（ＫＧＦ）、トロンボポエチン、血小板由来成長因子（ＰＧＤＦ）、巨核球由来増殖因子（ＭＧＤＦ）、ケラチノサイト成長因子（ＫＧＦ）、血小板由来成長因子（ＰＧＤＦ）、ニューロトロフィン－２（ＮＴ－２）、ニューロトロフィン－３（ＮＴ－３）、ニューロトロフィン－４（ＮＴ４）、ニューロトロフィン－５（ＮＴ－５）、グリア細胞株由来神経栄養因子（ＧＤＮＦ）、毛様体神経栄養因子（ＣＮＴＦ）、骨成形タンパク質２（ＢＭＰ２）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）、顆粒球コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）、マクロファージコロニー刺激因子（Ｍ－ＣＳＦ）、コロニー刺激因子（ＣＳＦ）等が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３２７】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、サイトカインである。好適なサイトカインの例としては、例えば、インターフェロン（例えば、アルファ－インターフェロン、ベーターインターフェロン、ガンマ－インターフェロン）；インターロイキン（例えば、ＩＬ－１、ＩＬ－１α、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０ＩＬ－１１、ＩＬ－１２；ＩＬ－１３、ＩＬ－１４、ＩＬ－１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１７、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－１８、ＩＬ－１９、ＩＬ－２０、ＩＬ－２４）；腫瘍壊死因子（例えば、ＴＮＦ－α）；トランスフォーミング増殖因子－ベータ；ＴＲＡＩＬ；等が挙げられる。好適なサイトカインの例としては、ｆｌｅｘｉ－１２（Ａｎｄｅｒｓｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９９７）Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．８：１１２５）、ＩＬ－１２ヘテロ二量体の２つのポリペプチド鎖を組み合わせる一本鎖ポリペプチド）；ＩＬ－１２スーパーカインＨ９（Ｌｅｖｉｎ ｅｔ ａｌ．（２０１２）Ｎａｔｕｒｅ ４８４：５２９）；等も挙げられる。

【０３２８】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、ケモカインである。好適なケモカインの例としては、例えば、ＭＩＰ－１、ＭＩＰ－

１β、ＭＣＰ－１、ＲＡＮＴＥＳ、ＩＰ１０等が挙げられる。好適なケモカインの追加の例としては、ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド－２（ＣＣＬ２；単球走化性タンパク質－１またはＭＣＰ１とも称される）；ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド－３（ＣＣＬ３；マクロファージ炎症性タンパク質－１ＡまたはＭＩＰ１Ａとしても知られる）；ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド－５（ＣＣＬ５；ＲＡＮＴＥＳとしても知られる）；ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド－１７（ＣＣＬ１７；胸腺及び活性化制御ケモカインまたはＴＡＲＣとしても知られる）；ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド－１９（ＣＣＬ１９；ＥＢＩ１リガンドケモカインまたはＥＬＣとしても知られる）；ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド－２１（ＣＣＬ２１；６Ｃカインとしても知られる）；Ｃ－Ｃケモカイン受容体型７（ＣＣＲ７）；ケモカイン（Ｃ－Ｘ－Ｃモチーフ）リガンド９（ＣＸＣＬ９；ガンマインターフェロンにより誘導されるモノカインまたはＭＩＧとしても知られる）；ケモカイン（Ｃ－Ｘ－Ｃモチーフ）リガンド１０（ＣＸＣＬ１０；インターフェロンガンマ誘導型タンパク質１０またはＩＰ－１０としても知られる）；ケモカイン（Ｃ－Ｘ－Ｃモチーフ）リガンド１１（ＣＸＣＬ１１；インターフェロン誘導性Ｔ細胞アルファ化学誘引物質またはＩ－ＴＡＣとも呼ばれる）；ケモカイン（Ｃ－Ｘ－Ｃモチーフ）リガンド１６（ＣＸＣＬ１６；ケモカイン（Ｃモチーフ）リガンド（ＸＣＬ１；リンホタクチンとしても知られる）；及びマクロファージコロニー刺激因子（ＭＣＳＦ）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３２９】

いくつかの場合では、結合誘発型転写スイッチ、例えば、本開示の、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、抗体（または抗体の抗原結合性断片）である。好適な抗体には、例えば、ナタリズマブ（タイサブリ；Ｂｉｏｇｅｎ　Ｉｄｅｃ／Ｅｌａｎ）、これはα４β１及びα４β７インテグリンのα４サブユニットを標的とする（ＭＳ及びクローン病の処置に使用される）；ベドリズマブ（ＭＬＮ２；Ｍｉｌｌｅｎｎｉｕｍ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ／Ｔａｋｅｄａ）、これはα４β７インテグリンを標的とする（ＵＣ及びクローン病の処置において使用される）；ベリムマブ（Ｂｅｎｌｙｓｔａ；Ｈｕｍａｎ　Ｇｅｎｏｍｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ／ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ）、これはＢＡＦＦを標的とする（ＳＬＥの処置において使用される）；アタシセプト（ＴＡＣＩ－Ｉｇ；Ｍｅｒｃｋ／Ｓｅｒｏｎｏ）、これはＢＡＦＦ及びＡＰＲＩＬを標的とする（ＳＬＥの処置において使用される）；アレファセプト（Ａｍｅｖｉｖｅ；Ａｓｔｅｌｌａｓ）、これはＣＤ２を標的とする（プラーク乾癬、ＧＶＨＤの処置において使用される）；オテリキシズマブ（ＴＲＸ４；Ｔｏｌｅｒｘ／ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ）、これはＣＤ３を標的とする（Ｔ１Ｄの処置において使用される）；テプリズマブ（ＭＧＡ０３１；ＭａｃｒｏＧｅｎｉｃｓ／Ｅｌｉ　Ｌｉｌｌｙ）、これはＣＤ３を標的とする（Ｔ１Ｄの処置において使用される）；リツキシマブ（Ｒｉｔｕｘａｎ／Ｍａｂｔｈｅｒａ；Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ／Ｂｉｏｇｅｎ　Ｉｄｅｃ）、これはＣＤ２０を標的とする（非ホジキンリンパ腫、（ＴＮＦ遮断に対する応答が不十分な患者における）ＲＡ、及びＣＬＬの処置において使用される）；オファツムマブ（Ａｒｚｅｒｒａ；Ｇｅｎｍａｂ／ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ）、これはＣＤ２０を標的とする（ＣＬＬ、ＲＡの処置において使用される）；オクレリズマブ（２Ｈ７；Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ／Ｂｉｏｇｅｎ　Ｉｄｅｃ）、これはＣＤ２０を標的とする（ＲＡ及びＳＬＥの処置において使用される）；エプラツズマブ（ｈＬＬ２；Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ／ＵＣＢ）、これはＣＤ２２を標的とする（ＳＬＥ及び非ホジキンリンパ腫の処置において使用される）；アレムツズマブ（Ｃａｍｐａｔｈ／ＭａｂＣａｍｐａｔｈ；Ｇｅｎｚｙｍｅ／Ｂａｙｅｒ）、これはＣＤ５２を標的とする（ＣＬＬ、ＭＳの処置において使用される）；アバタセプト（Ｏｒｅｎｃｉａ；Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）、これはＣＤ８０及びＣＤ８６を標的とする（ＲＡ及びＪＩＡ、ＵＣ及びクローン病、ＳＬＥの処置において使用される）；エクリズマブ（Ｓｏｌｉｒｉｓ；Ａｌｅｘｉｏｎ　ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、これはＣ５補体タンパク質を標的とする（発作性夜間血色素尿症の処置において使用される）；オマリズマブ（Ｘｏｌａｉｒ；Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／

Ｒｏｃｈｅ／Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、これはＩｇＥを標的とする（中程度から重度の持続性アレルギー性喘息の処置において使用される）；カナキヌマブ（Ｉｌａｒｉｓ；Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、これはＩＬ－１βを標的とする（クリオピリン関連周期熱症候群、全身型ＪＩＡ、新生児期発症多臓器性炎症性疾患及び急性痛風の処置において使用される）；メポリズマブ（Ｂｏｓａｔｒｉａ；ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ）、これはＩＬ－５を標的とする（特発性好酸球増加症の処置において使用される）；レスリズマブ（ＳＣＨ５５７００；Ｃｅｐｔｉｏｎ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、これはＩＬ－５を標的とする（好酸球性食道炎（Ｅｏｓｉｎｏｐｈｉｌｉｃ ｏｅｓｏｐｈａｇｉｔｉｓ）の処置において使用される）；トシリズマブ（Ａｃｔｅｍｒａ／ＲｏＡｃｔｅｍｒａ；Ｃｈｕｇａｉ／Ｒｏｃｈｅ）、これはＩＬ－６Ｒを標的とする（ＲＡ、ＪＩＡの処置において使用される）；ウステキヌマブ（Ｓｔｅｌａｒａ；Ｃｅｎｔｏｃｏｒ）、これはＩＬ－１２及びＩＬ－２３を標的とする（プラーク乾癬、乾癬性関節炎、クローン病の処置において使用される）；ブリアキヌマブ（ＡＢＴ－８７４；Ａｂｂｏｔｔ）、これはＩＬ－１２及びＩＬ－２３を標的とする（乾癬及びプラーク乾癬の処置において使用される）；エタネルセプト（Ｅｎｂｒｅｌ；Ａｍｇｅｎ／Ｐｆｉｚｅｒ）、これはＴＮＦを標的とする（ＲＡ、ＪＩＡ、乾癬性関節炎、ＡＳ及びプラーク乾癬の処置において使用される）；インフリキシマブ（Ｒｅｍｉｃａｄｅ；Ｃｅｎｔｏｃｏｒ／Ｍｅｒｃｋ）、これはＴＮＦを標的とする（クローン病、ＲＡ、乾癬性関節炎、ＵＣ、ＡＳ及びプラーク乾癬の処置において使用される）；アダリムマブ（Ｈｕｍｉｒａ／Ｔｒｕｄｅｘａ；Ａｂｂｏｔｔ）、これはＴＮＦを標的とする（ＲＡ、ＪＩＡ、乾癬性関節炎、クローン病、ＡＳ及びプラーク乾癬の処置において使用される）；セルトリズマブ・ペゴル（Ｃｉｍｚｉａ；ＵＣＢ）、これはＴＮＦを標的とする（クローン病及びＲＡの処置において使用される）；ゴリムマブ（Ｓｉｍｐｏｎｉ；Ｃｅｎｔｏｃｏｒ）、これはＴＮＦを標的とする（ＲＡ、乾癬性関節炎及びＡＳの処置において使用される）；等が含まれる。いくつかの場合では、その産生が本開示のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの細胞内ドメインにより誘導される抗体は、癌の処置のための治療用抗体である。かかる抗体には、例えば、イピリムマブ、これはＣＴＬＡ－４を標的とする（メラノーマ、前立腺癌、ＲＣＣの処置において使用される）；トレメリムマブ、これはＣＴＬＡ－４を標的とする（ＣＲＣ、胃、メラノーマ、ＮＳＣＬＣの処置において使用される）；ニボルマブ、これはＰＤ－１を標的とする（メラノーマ、ＮＳＣＬＣ、ＲＣＣの処置において使用される）；ＭＫ－３４７５、これはＰＤ－１を標的とする（メラノーマの処置において使用される）；ピジリズマブ、これはＰＤ－１を標的とする（血液悪性疾患の処置において使用される）；ＢＭＳ－９３６５５９、これはＰＤ－Ｌ１を標的とする（メラノーマ、ＮＳＣＬＣ、卵巣、ＲＣＣの処置において使用される）；ＭＥＤＩ４７３６、これはＰＤ－Ｌ１を標的とする；ＭＰＤＬ３３２８０Ａ、これはＰＤ－Ｌ１を標的とする（メラノーマの処置において使用される）；リツキシマブ、これはＣＤ２０を標的とする（非ホジキンリンパ腫の処置において使用される）；イブリツモマブ・チウキセタン及びトシツモマブ（リンパ腫の処置において使用される）；ブレンツキシマブ・ベドチン、これはＣＤ３０を標的とする（ホジキンリンパ腫の処置において使用される）；ゲムツズマブ・オゾガマイシン、これはＣＤ３３を標的とする（急性骨髄性白血病の処置において使用される）；アレムツズマブ、これはＣＤ５２を標的とする（慢性リンパ性白血病の処置において使用される）；ＩＧＮ１０１及びアデカツムマブ、これはＥｐＣＡＭを標的とする（上皮性腫瘍（乳房、結腸及び肺）の処置において使用される）；ラベツズマブ、これはＣＥＡを標的とする（乳房、結腸及び肺腫瘍の処置において使用される）；ｈｕＡ３３、これはｇｐＡ３３を標的とする（結腸直腸癌腫の処置において使用される）；ペムツモマブ及びオレゴボマブ、これはムチンを標的とする（乳房、結腸、肺及び卵巣腫瘍の処置において使用される）；ＣＣ４９（ミンレツモマブ）、これはＴＡＧ－７２を標的とする（乳房、結腸及び肺腫瘍の処置において使用される）；ｃＧ２５０、これはＣＡＩＸを標的とする（腎細胞癌腫の処置において使用される）；Ｊ５９１、これはＰＳＭＡを標的とする（前立腺癌腫の処置において使用される）；ＭＯｖ１８及びＭＯＲＡｂ－００３（ファーレツズマブ）、これは葉酸－結合タンパク質を標的とする（卵巣腫瘍

の処置において使用される）；３Ｆ８、ｃｈ１４．１８及びＫＷ－２８７１、これはガングリオシドを標的とする（例えば、ＧＤ２、ＧＤ３及びＧＭ２）（神経外胚葉性腫瘍及びいくつかの上皮性腫瘍の処置において使用される）；ｈｕ３Ｓ１９３及びＩｇＮ３１１、これはＬｅ　ｙを標的とする（乳房、結腸、肺及び前立腺腫瘍の処置において使用される）；ベバシズマブ、これはＶＥＧＦを標的とする（腫瘍血管系の処置において使用される）；ＩＭ－２Ｃ６及びＣＤＰ７９１、これはＶＥＧＦＲを標的とする（上皮由来固形腫瘍の処置において使用される）；エタラシズマブ、これはインテグリン＿Ｖ＿３を標的とする（腫瘍血管系の処置において使用される）；ボロシキシマブ、これはインテグリン＿５＿１を標的とする（腫瘍血管系の処置において使用される）；セツキシマブ、パニツムマブ、ニモツズマブ及び８０６、これらはＥＧＦＲを標的とする（神経膠腫、肺、乳房、結腸、及び頭頸部腫瘍の処置において使用される）；トラスツズマブ及びペルツズマブ、これらはＥＲＢＢ２を標的とする（乳房、結腸、肺、卵巣及び前立腺腫瘍の処置において使用される）；ＭＭ－１２１、これはＥＲＢＢ３を標的とする（乳房、結腸、肺、卵巣及び前立腺、腫瘍の処置において使用される）；ＡＭＧ　１０２、ＭＥＴＭＡＢ及びＳＣＨ９００１０５、これらはＭＥＴを標的とする（乳房、卵巣及び肺腫瘍の処置において使用される）；ＡＶＥ１６４２、ＩＭＣ－Ａ１２、ＭＫ－０６４６、Ｒ１５０７及びＣＰ　７５１８７１、これらは、ＩＧＦ１Ｒを標的とする（神経膠腫、肺、乳房、頭頸部、前立腺及び甲状腺癌の処置において使用される）；ＫＢ００４及びＩＩＩＡ４、これらはＥＰＨＡ３を標的とする（肺、腎臓及び結腸腫瘍、メラノーマ、神経膠腫ならびに血液学的悪性疾患の処置において使用される）；マパツムマブ（ＨＧＳ－ＥＴＲ１）、これはＴＲＡＩＬＲ１を標的とする（結腸、肺及び膵臓腫瘍及び血液学的悪性疾患の処置において使用される）；ＨＧＳ－ＥＴＲ２及びＣＳ－１００８、これらはＴＲＡＩＬＲ２を標的とする；デノスマブ、これはＲＡＮＫＬを標的とする（前立腺癌及び骨転移の処置において使用される）；シブロツズマブ及びＦ１９、これらはＦＡＰを標的とする（結腸、乳房、肺、膵臓、及び頭頸部腫瘍の処置において使用される）；８１Ｃ６、これはテネイシンを標的とする（神経膠腫、乳房及び前立腺腫瘍の処置において使用される）；ブリナツモマブ（Ｂｌｉｎｃｙｔｏ；Ａｍｇｅｎ）、これはＣＤ３を標的とする（ＡＬＬの処置において使用される）；ペムブロリズマブ、これはＰＤ－１を標的とし、癌免疫療法において使用される；９Ｅ１０抗体、これはｃ－Ｍｙｃを標的とする；等が含まれる。

【０３３０】

結合誘発型転写スイッチの細胞内ドメインにおいて、全体としてまたは部分的に使用され得る抗体には、８Ｈ９、アバゴボマブ、アブシキシマブ、アビツズマブ、アブリルマブ、アクトクスマブ、アデュカヌマブ、アフェリモマブ、アフツズマブ、アラシズマブ・ペゴル、ＡＬＤ５１８、アリロクマブ、アルツモマブ・ペンテテート、アマツキシマブ、アナツモマブ・マフェナトクス、アネツマブ・ラブタンシン、アニフロルマブ、アンルキンズマブ、アポリズマブ、アルシツモマブ、アスクリンバクマブ（Ａｓｃｒｉｎｖａｃｕｍａｂ）、アセリズマブ、アテゾリズマブ、アチヌマブ、アトリズマブ／トシリズマブ、アトロリムマブ、バピネオズマブ、バシリキシマブ、バビツキシマブ、ベクツモマブ、ベゲロマブ、ベンラリズマブ、ベルチリムマブ、ベシレソマブ、ベバシズマブ／ラニビズマブ、ベズロトクスマブ、ビシロマブ、ビマグルマブ、ビメキズマブ（Ｂｉｍｅｋｉｚｕｍａｂ）、ビバツズマブ・メルタンシン、ブロソズマブ、ボコシズマブ、ブレンツキシマブ・ベドチン、ブロダルマブ、ブロルシズマブ、ブロンチクツズマブ（Ｂｒｏｎｔｉｃｔｕｚｕｍａｂ）、カンツズマブ・メルタンシン、カンツズマブ・ラブタンシン、カプラシズマブ、カプロマブ・ペンデチド、カルルマブ、カツマクソマブ、ｃＢＲ９６－ドキソルビシン免疫複合体、セデリズマブ、Ｃｈ．１４．１８、シタツズマブ・ボガトクス、シクスツムマブ、クラザキズマブ、クレノリキシマブ、クリバツズマブ・テトラキセタン、コドリツズマブ、コルツキシマブ・ラブタンシン、コナツムマブ、コンシズマブ、ＣＲ６２６１、クレネズマブ、ダセツズマブ、ダクリズマブ、ダロツズマブ、ダピロリズマブ・ペゴル、ダラツムマブ、デクトレクマブ（Ｄｅｃｔｒｅｋｕｍａｂ）、デムシズマブ、デニンツズマブ・マホドチン、デルロツキシマブ・ビオチン、デツモマブ、ジヌツキシマブ、ジリ

ダブマブ、ドルリモマブ・アリトクス、ドロジツマブ、デュリゴツマブ、デュピルマブ、デュルバルマブ、デュシジツマブ、エクロメキシマブ、エドバコマブ、エドレコロマブ、エファリズマブ、エフングマブ、エルデルマブ、エルゲムツマブ（Ｅｌｇｅｍｔｕｍａｂ）、エロツズマブ、エルシリモマブ、エマクツズマブ（Ｅｍａｃｔｕｚｕｍａｂ）、エミベツズマブ、エナバツズマブ、エンフォルツマブ・ベドチン、エンリモマブ・ペゴル、エノブリツズマブ（Ｅｎｏｂｌｉｔｕｚｕｍａｂ）、エノキズマブ、エノチクマブ、エンシツキシマブ、エピツモマブ・シツキセタン、エルリズマブ、エルツマクソマブ、エトロリズマブ、エビナクマブ、エボロクマブ、エクスビビルマブ、ファノレソマブ、ファラリモマブ、ファーレツズマブ、ファシヌマブ、ＦＢＴＡ０５、フェルビズマブ、フェザキヌマブ、フィクラツズマブ、フィジツムマブ、フィリブマブ（Ｆｉｒｉｖｕｍａｂ）、フランボツマブ、フレチクマブ、フォントリズマブ、フォラルマブ、フォラビルマブ、フレソリムマブ、フルラヌマブ、フツキシマブ、ガリキシマブ、ガニツマブ、ガンテネルマブ、ガビリモマブ、ゲボキズマブ、ギレンツキシマブ、グレムバツムマブ・ベドチン、ゴミリキシマブ、グセルクマブ、イバリズマブ、イバリズマブ、イクルクマブ、イダルシズマブ、イゴボマブ、ＩＭＡＢ３６２、イマルマブ（Ｉｍａｌｕｍａｂ）、イムシロマブ、イムガツズマブ、インクラクマブ、インダツキシマブ・ラブタンシン、インデュサツマブ・ベドチン（Ｉｎｄｕｓａｔｕｍａｂ　ｖｅｄｏｔｉｎ）、イノリモマブ、イノツズマブ・オゾガマイシン、インテツムマブ、イラツムマブ、イサツキシマブ、イトリズマブ、イクセキズマブ、ケリキシマブ、ラムブロリズマブ、ラムパリズマブ、レブリキズマブ、レマレソマブ、レンジルマブ（Ｌｅｎｚｉｌｕｍａｂ）、レルデリムマブ、レキサツムマブ、リビビルマブ、リファスツズマブ・ベドチン、リゲリズマブ、リロトマブ・サテトラキセタン（Ｌｉｌｏｔｏｍａｂ　ｓａｔｅｔｒａｘｅｔａｎ）、リンツズマブ、リリルマブ、ロデルシズマブ、ロキベトマブ（Ｌｏｋｉｖｅｔｍａｂ）、ロルボツズマブ・メルタンシン、ルカツムマブ、ルリズマブ・ペゴル、ルミリキシマブ、ルムレツズマブ（Ｌｕｍｒｅｔｕｚｕｍａｂ）、マルゲツキシマブ、マスリモマブ、マツズマブ、マブリリムマブ、メテリムマブ、ミラツズマブ、ミンレツモマブ、ミルベツキシマブ・ソラブタンシン（Ｍｉｒｖｅｔｕｘｉｍａｂ　ｓｏｒａｖｔａｎｓｉｎｅ）、ミツモマブ、モガムリズマブ、モロリムマブ、モロリムマブ免疫（Ｍｏｒｏｌｉｍｕｍａｂ　ｉｍｍｕｎｅ）、モタビズマブ、モキセツモマブ・パスドトクス、ムロモナブ－ＣＤ３、ナコロマブ・タフェナトクス、ナミルマブ、ナプツモマブ・エスタフェナトクス、ナルナツマブ、ネバクマブ、ネシツムマブ、ネモリズマブ、ネレリモマブ、ネスバクマブ、ノフェツモマブ・メルペンタン、オビルトキサキシマブ、オビヌツズマブ、オカラツズマブ、オヴリモマブ、オララツマブ、オロキズマブ、オナルツズマブ、オンツキシズマブ、オピシヌマブ、オポルツズマブ・モナトクス、オルチクマブ、オトレルツズマブ、オキセルマブ、オザネズマブ、オゾラリズマブ、パギバキシマブ、パリビズマブ、パンコマブ、パノバクマブ、パルサツズマブ、パスコリズマブ、パソツキシズマブ、パテクリズマブ、パトリツマブ、ペラキズマブ、ペキセリズマブ、ピナツズマブ・ベドチン、ピンツモマブ、プラクルマブ、ポラツズマブ・ベドチン、ポネズマブ、プリリキシマブ、プリトキサキシマブ、プリツムマブ、ＰＲＯ　１４０、キリズマブ、ラコツモマブ、ラドレツマブ、ラフィビルマブ、ラルパンシズマブ（Ｒａｌｐａｎｃｉｚｕｍａｂ）、ラムシルマブ、ラニビズマブ、ラキシバクマブ、レファネズマブ（Ｒｅｆａｎｅｚｕｍａｂ）、レガビルマブ、リロツムマブ、リヌクマブ（Ｒｉｎｕｃｕｍａｂ）、ロバツムマブ、ロレヅマブ、ロモソズマブ、ロンタリズマブ、ロベリズマブ、ルプリズマブ、サシツズマブ・ゴビテカン、サマリズマブ、サリルマブ、サツモマブ・ペンデチド、セクキヌマブ、セリバンツマブ、セトキサキシマブ、セビルマブ、ＳＧＮ－ＣＤ１９Ａ、ＳＧＮ－ＣＤ３３Ａ、シファリムマブ、シルツキシマブ、シムツズマブ、シプリズマブ、シルクマブ、ソフィツズマブ・ベドチン、ソラネズマブ、ソリトマブ、ソネプシズマブ、ソンツズマブ、スタムルマブ、スレソマブ、スビズマブ、タバルマブ、タカツズマブ・テトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、タネズマブ、タプリツモマブ・パプトクス、タレクスツマブ、テフィバズマブ、テリモマブ・アリトクス、テナツモマブ、テネリキシマブ、テプロツムマブ、テシドルマブ、テツロマブ（Ｔｅｔｕｌｏｍａ

ｂ）、ＴＧＮ１４１２、チシリムマブ／トレメリムマブ、チガツズマブ、チルドラキズマブ、ＴＮＸ－６５０、トラリズマブ、トサトクスマブ（Ｔｏｓａｔｏｘｕｍａｂ）、トベツマブ、トラロキヌマブ、ＴＲＢＳ０７、トレガリズマブ、トレボグルマブ（Ｔｒｅｖｏｇｒｕｍａｂ）、ツコツズマブ・セルモロイキン、ツビルマブ、ウブリツキシマブ、ウロクプルマブ（Ｕｌｏｃｕｐｌｕｍａｂ）、ウレルマブ、ウルトキサズマブ、バンドルツズマブ・ベドチン、バンチクツマブ、バヌシズマブ、ババリキシマブ、バルリルマブ、バテリズマブ、ベルツズマブ、ベパリモマブ、ベセンクマブ、ビジリズマブ、ボルセツズマブ・マホドチン、ボツムマブ、ザルツムマブ、ザノリムマブ、ザツキシマブ、ジラリムマブ、ゾリモマブ・アリトクス等も含まれるが、これらに限定されない。

【０３３１】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、神経ペプチドである。好適な神経ペプチドの例には、Ｎ－アセチルアスパルチルグルタミン酸、アグーチ関連ペプチド、アルファ－エンドルフィン、ビッグダイノルフィン、ボンベシン、ボンベシン様ペプチド、カルベトシン、コカイン・アンフェタミン調節転写産物（ＣＡＲＴ）、コレシストキニン、コラゾニン、コルチコトロピン様中間ペプチド、コルチスタチン、デモキシトシン、ダイノルフィンＡ、ダイノルフィンＢ、エレドイシン、エンケファリン、ガラニン、ガラニン様ペプチド、ガルミック、ガルノン、ガンマ－エンドルフィン、グレリン、ヘモプレッシン、キスペプチン、ニューロキニンＢ、ニューロメジンＢ、ニューロメジンＮ、ニューロメジンＳ、ニューロメジンＵ、ニューロメジンＳ、ニューロメジンＹ、神経ペプチドＹ、ニューロテンシン、ノシセプチン、オピオルフィン、オレキシン、オレキシン－Ａ、オキシトシン、フィサレミン、プレプロタキキニン、プロクトリン、プロエンケファリン、ポオピオメラノコルチン（ｐｏｏｐｉｏｍｅｌａｎｏｃｏｒｔｉｎ）、プロテインエピステーム、リラキシン－３、ソマトスタチン、サブスタンスＰ、ＴＡＣ１、タキキニンペプチド、バソプレッシン、及びバソトシンも含まれるが、これらに限定されない。

【０３３２】

ｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの放出された細胞内ドメインにより誘導される遺伝子産物

いくつかの場合では、細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、遺伝子産物の産生を誘導する、ポリペプチドである。例えば、いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、遺伝子産物（ポリペプチド；核酸）の産生を誘導する。いくつかの場合では、遺伝子産物は、核酸である。いくつかの場合では、遺伝子産物は、ポリペプチドである。放出された細胞内ドメインにより誘導されるポリペプチド遺伝子産物には、内在性ポリペプチド（例えば、細胞により天然にコードされるポリペプチド）及び異種ポリペプチド（例えば、細胞により天然にはコードされないポリペプチド；細胞を遺伝子改変するために使用される異種核酸によりコードされるポリペプチド）が含まれる。放出された細胞内ドメインにより誘導されるポリペプチド遺伝子産物には、分泌ポリペプチドが含まれる。放出された細胞内ドメインにより誘導されるポリペプチド遺伝子産物には、細胞表面ポリペプチドが含まれる。放出された細胞内ドメインにより誘導されるポリペプチド遺伝子産物には、細胞内ポリペプチド（通常は細胞内に存在するポリペプチド、例えば、転写因子）が含まれる。放出された細胞内ドメインにより誘導されるポリペプチド遺伝子産物には、受容体、サイトカイン、ホルモン、成長因子、ケモカイン、細胞表面ポリペプチド、転写因子（例えば、転写活性化因子；転写抑制因子）、アポトーシス誘導因子、アポトーシス抑制因子、ドミナントネガティブ変異体等が含まれる。その産生が放出された細胞内ドメインにより誘導され得るポリペプチド遺伝子産物には、転写活性化因子、転写抑制因子、キメラ抗原受容体、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）、第二のキメラＮｏｔｃｈポリペプチド、ＣＡＲ、翻訳調節因子、免疫抑制性受容体、免疫抑制性タンパク質、免疫活性化タンパク質、サイトカイン受容体、ケモカイン

受容体、ＤＮＡ結合タンパク質、エピジェネティック調節因子、ＲＮＡ誘導型エンドヌクレアーゼ（例えば、Ｃａｓ９ポリペプチド）、酵素的に不活性なＣａｓ９ポリペプチド、部位特異的ヌクレアーゼ、リコンビナーゼ、分化を誘導する転写因子、脱分化を誘導する転写因子等が含まれる。

【０３３３】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、内在性遺伝子産物の産生を誘導する。内在性遺伝子産物には、例えば、ケモカイン、ケモカイン受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、分化因子、成長因子、成長因子受容体、ホルモン、代謝酵素、増殖誘導因子、受容体、小分子セカンドメッセンジャー合成酵素、Ｔ細胞受容体、転写活性化因子、転写抑制因子、転写活性化因子、転写抑制因子、翻訳調節因子、翻訳活性化因子、翻訳抑制因子、活性化免疫受容体、アポトーシス抑制因子、アポトーシス誘導因子、免疫活性化因子、免疫抑制因子、及び抑制性免疫受容体が含まれる。

【０３３４】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、異種遺伝子産物の産生を誘導する。異種遺伝子産物には、細胞により通常は産生されない遺伝子産物が含まれる。例えば、細胞は、異種遺伝子産物をコードするヌクレオチド配列を含む核酸で遺伝子改変することができる。異種遺伝子産物には、例えば、ケモカイン、ケモカイン受容体、キメラ抗原受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、分化因子、成長因子、成長因子受容体、ホルモン、代謝酵素、病原体由来タンパク質、増殖誘導因子、受容体、ＲＮＡ誘導型ヌクレアーゼ、部位特異的ヌクレアーゼ、小分子セカンドメッセンジャー合成酵素、Ｔ細胞受容体、毒素由来タンパク質、転写活性化因子、転写抑制因子、転写活性化因子、転写抑制因子、翻訳調節因子、翻訳活性化因子、翻訳抑制因子、活性化免疫受容体、抗体、アポトーシス抑制因子、アポトーシス誘導因子、操作Ｔ細胞受容体、免疫活性化因子、免疫抑制因子、抑制性免疫受容体、ＲＮＡ誘導型ＤＮＡ結合タンパク質、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）、ＭＥＳＡポリペプチド、ＴＡＮＧＯポリペプチド、及び第二のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチド（ここで、第二のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドは、その細胞内ドメインが第二のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの産生を誘導したｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドとは異なる）が含まれる。

【０３３５】

放出された細胞内ドメインにより誘導することができるポリペプチド遺伝子産物には、分泌ポリペプチドが含まれる。分泌ポリペプチドの非限定的な例には、例えば、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＴＮＦアルファ、ＩＬ－１２、ＧＭＣＳＦ、ＥＧＦ、ＴＧＦベータ、ＩＬ－１０、ＩＬ－１７、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－１３、ＩＦＮアルファ、ＩＦＮガンマ、ＨＭＧ－Ｂ１、分泌ＰＴＥＮ、Ｗｎｔ、及び一本鎖抗体が含まれる。放出された細胞内ドメインにより誘導することができるポリペプチド遺伝子産物には、ドミナントネガティブポリペプチドが含まれる。ドミナントネガティブポリペプチドの例としては、例えば、ドミナントネガティブＴＧＦ－β受容体；ドミナントネガティブ変異体として機能するＳＴＡＴ３のＤＮＡ結合ドメインに影響を及ぼす１つまたは複数の突然変異を含むＳＴＡＴ３のドミナントネガティブ変異体；等が挙げられる。

【０３３６】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、ホルモンの産生を誘導する。かかるホルモンの例としては、例えば、エリスロポエチン（ＥＰＯ）、インスリン、セクレチン、グルカゴン様ポリペプチド１（ＧＬＰ－１）等が挙げられる。かかるホルモンのさらなる例としては、アクチビン、インヒビン、アディポネクチン、脂肪由来

ホルモン、副腎皮質刺激ホルモン、アファメラノタイド、アグーチシグナル伝達ペプチド、アラトスタチン、アミリン、アンジオテンシン、心房性ナトリウム利尿ペプチド、ガストリン、ソマトトロピン、ブラジキニン、脳由来神経栄養因子、カルシトニン、コレシストキニン、毛様体神経栄養因子、コルチコトロピン放出ホルモン、コシントロピン、エンドセリアン、エンテログルカゴン、線維芽細胞成長因子１５（ＦＧＦ１５）、ＧＦＧ１５／１９、卵胞刺激ホルモン、ガストリン、胃阻害ペプチド、グレリン、グルカゴン、グルカゴン様ペプチド－１、ゴナドトロピン、ゴナドトロピン放出ホルモン、顆粒球－コロニー刺激因子、成長ホルモン、成長ホルモン放出ホルモン、ヘプシジン、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、ヒト胎盤性ラクトゲン、インクレチン、インスリン、インスリン類似体、インスリン・アスパルト、インスリン・デグルデク、インスリン・グラルギン、インスリン・リスプロ、インスリン様成長因子、インスリン様成長因子－１、インスリン様成長因子－２、レプチン、リラグルチド、黄体形成ホルモン、メラノコルチン、メラノサイト刺激ホルモン、アルファ－メラノサイト刺激ホルモン、メラノチン（ｍｅｌａｎｏｔｉｎ）ＩＩ、ミニガストリン、Ｎ末端プロ脳性ナトリウム利尿ペプチド、神経成長因子、ニューロトロフィン－３、ニューロトロフィン－４、ＮＰＨインスリン、オベスタチン、オレキシン、オステオカルシン、膵臓ホルモン、副甲状腺ホルモン、ペプチドホルモン、ペプチドＹＹ、血漿レニン活性、プラムリンチド、プレプロホルモン、プロラクチン、リラキシン、リラキシンファミリーペプチドホルモン、レニン、サルカトニン、セクレチン、セクレチンファミリーペプチドホルモン、シンカリド、硬骨魚類レプチン、テンポリン、テサモレリン、甲状腺刺激ホルモン、サイロトロピン放出ホルモン、ウロコルチン、ウロコルチンＩＩ、ウロコルチンＩＩＩ、血管作動性腸管ペプチド、及びビテロゲニンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３３７】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、成長因子の産生を誘導する。かかる成長因子の例としては、肝細胞刺激因子、形質細胞腫成長因子、脳由来神経栄養因子（ＢＤＮＦ）、グリア由来神経栄養因子（ＧＤＮＦ）、神経栄養因子３（ＮＴ３）、線維芽細胞成長因子（ＦＧＦ）、トランスフォーミング増殖因子（ＴＧＦ）、血小板トランスフォーミング増殖因子、ミルク成長因子、内皮成長因子（ＥＧＦ）、内皮細胞由来成長因子（ＥＣＤＧＦ）、アルファ－内皮成長因子、ベーター内皮成長因子、神経栄養成長因子、神経成長因子（ＮＧＦ）、血管内皮成長因子（ＶＥＧＦ）、４－１ＢＢ受容体（４－１ＢＢＲ）、ＴＲＡＩＬ（ＴＮＦ関連アポトーシス誘導リガンド）、アルテミン（ＧＦＲアルファ３－ＲＥＴリガンド）、ＢＣＡ－１（Ｂ細胞誘引ケモカイン１）、Ｂリンパ球化学誘引物質（ＢＬＣ）、Ｂ細胞成熟タンパク質（ＢＣＭＡ）、脳由来神経栄養因子（ＢＤＮＦ）、オステオプロテゲリン（ＯＰＧ）などの骨成長因子、骨由来成長因子、巨核球由来成長因子（ＭＧＤＦ）、ケラチノサイト成長因子（ＫＧＦ）、トロンボポエチン、血小板由来成長因子（ＰＧＤＦ）、巨核球由来増殖因子（ＭＧＤＦ）、ケラチノサイト成長因子（ＫＧＦ）、血小板由来成長因子（ＰＧＤＦ）、ニューロトロフィン－２（ＮＴ－２）、ニューロトロフィン－３（ＮＴ－３）、ニューロトロフィン－４（ＮＴ４）、ニューロトロフィン－５（ＮＴ－５）、グリア細胞株由来神経栄養因子（ＧＤＮＦ）、毛様体神経栄養因子（ＣＮＴＦ）、骨成形タンパク質２（ＢＭＰ２）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）、顆粒球コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）、マクロファージコロニー刺激因子（Ｍ－ＣＳＦ）、コロニー刺激因子（ＣＳＦ）等が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３３８】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、サイトカインの産生を誘導する。かかるサイトカインの例としては、例えば、インターフェロン（例えば、

アルファーインターフェロン、ベーターインターフェロン、ガンマーインターフェロン）；インターロイキン（例えば、ＩＬ－１、ＩＬ－１α、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０ＩＬ－１１、ＩＬ－１２；ＩＬ－１３、ＩＬ－１４、ＩＬ－１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１７、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－１８、ＩＬ－１９、ＩＬ－２０、ＩＬ－２４）；腫瘍壊死因子（例えば、ＴＮＦ－α）；トランスフォーミング増殖因子－ベータ；ＴＲＡＩＬ；等が挙げられる。かかるサイトカインの例としては、ｆｌｅｘｉ－１２（Ａｎｄｅｒｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．（１９９７）Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ．８：１１２５）、ＩＬ－１２ヘテロ二量体の２つのポリペプチド鎖を組み合わせる一本鎖ポリペプチド）；ＩＬ－１２スーパーカインＨ９（Ｌｅｖｉｎ　ｅｔ　ａｌ．（２０１２）Ｎａｔｕｒｅ　４８４：５２９）；等も挙げられる。

【０３３９】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、ケモカインの産生を誘導する。かかるケモカインの例としては、例えば、ＭＩＰ－１、ＭＩＰ－１β、ＭＣＰ－１、ＲＡＮＴＥＳ、ＩＰ１０等が挙げられる。好適なケモカインの追加の例としては、好適なケモカインの追加の例としては、ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド－２（ＣＣＬ２；単球走化性タンパク質－１またはＭＣＰ１とも称される）；ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド－３（ＣＣＬ３；マクロファージ炎症性タンパク質－１ＡまたはＭＩＰ１Ａとしても知られる）；ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド－５（ＣＣＬ５；ＲＡＮＴＥＳとしても知られる）；ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド－１７（ＣＣＬ１７；胸腺及び活性化制御ケモカインまたはＴＡＲＣとしても知られる）；ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド－１９（ＣＣＬ１９；ＥＢＩ１リガンドケモカインまたはＥＬＣとしても知られる）；ケモカイン（Ｃ－Ｃモチーフ）リガンド－２１（ＣＣＬ２１；６Ｃカインとしても知られる）；Ｃ－Ｃケモカイン受容体型７（ＣＣＲ７）；ケモカイン（Ｃ－Ｘ－Ｃモチーフ）リガンド９（ＣＸＣＬ９；ガンマインターフェロンにより誘導されるモノカインまたはＭＩＧとしても知られる）；ケモカイン（Ｃ－Ｘ－Ｃモチーフ）リガンド１０（ＣＸＣＬ１０；インターフェロンガンマ誘導型タンパク質１０またはＩＰ－１０としても知られる）；ケモカイン（Ｃ－Ｘ－Ｃモチーフ）リガンド１１（ＣＸＣＬ１１；インターフェロン誘導性Ｔ細胞アルファ化学誘引物質またはＩ－ＴＡＣとも呼ばれる）；ケモカイン（Ｃ－Ｘ－Ｃモチーフ）リガンド１６（ＣＸＣＬ１６；ケモカイン（Ｃモチーフ）リガンド（ＸＣＬ１；リンホタクチンとしても知られる）；及びマクロファージコロニー刺激因子（ＭＣＳＦ）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３４０】

いくつかの場合では、結合誘発型転写スイッチ、例えば、本開示の、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、抗体の産生を誘導する。かかる抗体には、例えば、ナタリズマブ（タイサブリ；Ｂｉｏｇｅｎ　Ｉｄｅｃ／Ｅｌａｎ）、これはα４β１及びα４β７インテグリンのα４サブユニットを標的とする（ＭＳ及びクローン病の処置に使用される）；ベドリズマブ（ＭＬＮ２；Ｍｉｌｌｅｎｎｉｕｍ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ／Ｔａｋｅｄａ）、これはα４β７インテグリンを標的とする（ＵＣ及びクローン病の処置において使用される）；ベリムマブ（Ｂｅｎｌｙｓｔａ；Ｈｕｍａｎ　Ｇｅｎｏｍｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ／ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ）、これはＢＡＦＦを標的とする（ＳＬＥの処置において使用される）；アタシセプト（ＴＡＣＩ－Ｉｇ；Ｍｅｒｃｋ／Ｓｅｒｏｎｏ）、これはＢＡＦＦ及びＡＰＲＩＬを標的とする（ＳＬＥの処置において使用される）；アレファセプト（Ａｍｅｖｉｖｅ；Ａｓｔｅｌｌａｓ）、これはＣＤ２を標的とする（プラーク乾癬、ＧＶＨＤの処置において使用される）；オテリキシズマブ（ＴＲＸ４；Ｔｏｌｅｒｘ／ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ）、これはＣＤ３を標的とする（Ｔ１Ｄの処置において使用される）；テプリズマブ（ＭＧＡ０３１；ＭａｃｒｏＧｅｎｉｃｓ／Ｅｌ

ｉ　Ｌｉｌｌｙ）、これはＣＤ３を標的とする（Ｔ１Ｄの処置において使用される）；リツキシマブ（Ｒｉｔｕｘａｎ／Ｍａｂｔｈｅｒａ；Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ／Ｂｉｏｇｅｎ　Ｉｄｅｃ）、これはＣＤ２０を標的とする（非ホジキンリンパ腫、（ＴＮＦ遮断に対する応答が不十分な患者における）ＲＡ、及びＣＬＬの処置において使用される）；オファツムマブ（Ａｒｚｅｒｒａ；Ｇｅｎｍａｂ／ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ）、これはＣＤ２０を標的とする（ＣＬＬ、ＲＡの処置において使用される）；オクレリズマブ（２Ｈ７；Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ／Ｂｉｏｇｅｎ　Ｉｄｅｃ）、これはＣＤ２０を標的とする（ＲＡ及びＳＬＥの処置において使用される）；エプラツズマブ（ｈＬＬ２；Ｉｍｍｕｎｏｍｅｄｉｃｓ／ＵＣＢ）、これはＣＤ２２を標的とする（ＳＬＥ及び非ホジキンリンパ腫の処置において使用される）；アレムツズマブ（Ｃａｍｐａｔｈ／ＭａｂＣａｍｐａｔｈ；Ｇｅｎｚｙｍｅ／Ｂａｙｅｒ）、これはＣＤ５２を標的とする（ＣＬＬ、ＭＳの処置において使用される）；アバタセプト（Ｏｒｅｎｃｉａ；Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ）、これはＣＤ８０及びＣＤ８６を標的とする（ＲＡ及びＪＩＡ、ＵＣ及びクローン病、ＳＬＥの処置において使用される）；エクリズマブ（Ｓｏｌｉｒｉｓ；Ａｌｅｘｉｏｎ　ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、これはＣ５補体タンパク質を標的とする（発作性夜間血色素尿症の処置において使用される）；オマリズマブ（Ｘｏｌａｉｒ；Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／Ｒｏｃｈｅ／Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、これはＩｇＥを標的とする（中程度から重度の持続性アレルギー性喘息の処置において使用される）；カナキヌマブ（Ｉｌａｒｉｓ；Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、これはＩＬ－１βを標的とする（クリオピリン関連周期熱症候群、全身型ＪＩＡ、新生児期発症多臓器性炎症性疾患及び急性痛風の処置において使用される）；メポリズマブ（Ｂｏｓａｔｒｉａ；ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ）、これはＩＬ－５を標的とする（特発性好酸球増加症の処置において使用される）；レスリズマブ（ＳＣＨ５５７００；Ｃｅｐｔｉｏｎ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ）、これはＩＬ－５を標的とする（好酸球性食道炎（Ｅｏｓｉｎｏｐｈｉｌｉｃ　ｏｅｓｏｐｈａｇｉｔｉｓ）の処置において使用される）；トシリズマブ（Ａｃｔｅｍｒａ／ＲｏＡｃｔｅｍｒａ；Ｃｈｕｇａｉ／Ｒｏｃｈｅ）、これはＩＬ－６Ｒを標的とする（ＲＡ、ＪＩＡの処置において使用される）；ウステキヌマブ（Ｓｔｅｌａｒａ；Ｃｅｎｔｏｃｏｒ）、これはＩＬ－１２及びＩＬ－２３を標的とする（プラーク乾癬、乾癬性関節炎、クローン病の処置において使用される）；ブリアキヌマブ（ＡＢＴ－８７４；Ａｂｂｏｔｔ）、これはＩＬ－１２及びＩＬ－２３を標的とする（乾癬及びプラーク乾癬の処置において使用される）；エタネルセプト（Ｅｎｂｒｅｌ；Ａｍｇｅｎ／Ｐｆｉｚｅｒ）、これはＴＮＦを標的とする（ＲＡ、ＪＩＡ、乾癬性関節炎、ＡＳ及びプラーク乾癬の処置において使用される）；インフリキシマブ（Ｒｅｍｉｃａｄｅ；Ｃｅｎｔｏｃｏｒ／Ｍｅｒｃｋ）、これはＴＮＦを標的とする（クローン病、ＲＡ、乾癬性関節炎、ＵＣ、ＡＳ及びプラーク乾癬の処置において使用される）；アダリムマブ（Ｈｕｍｉｒａ／Ｔｒｕｄｅｘａ；Ａｂｂｏｔｔ）、これはＴＮＦを標的とする（ＲＡ、ＪＩＡ、乾癬性関節炎、クローン病、ＡＳ及びプラーク乾癬の処置において使用される）；セルトリズマブ・ペゴル（Ｃｉｍｚｉａ；ＵＣＢ）、これはＴＮＦを標的とする（クローン病及びＲＡの処置において使用される）；ゴリムマブ（Ｓｉｍｐｏｎｉ；Ｃｅｎｔｏｃｏｒ）、これはＴＮＦを標的とする（ＲＡ、乾癬性関節炎及びＡＳの処置において使用される）；等が含まれる。いくつかの場合では、その産生が本開示のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの細胞内ドメインにより誘導される抗体は、癌の処置のための治療用抗体である。かかる抗体には、例えば、イピリムマブ、これはＣＴＬＡ－４を標的とする（メラノーマ、前立腺癌、ＲＣＣの処置において使用される）；トレメリムマブ、これはＣＴＬＡ－４を標的とする（ＣＲＣ、胃、メラノーマ、ＮＳＣＬＣの処置において使用される）；ニボルマブ、これはＰＤ－１を標的とする（メラノーマ、ＮＳＣＬＣ、ＲＣＣの処置において使用される）；ＭＫ－３４７５、これはＰＤ－１を標的とする（メラノーマの処置において使用される）；ピジリズマブ、これはＰＤ－１を標的とする（血液悪性疾患の処置において使用される）；ＢＭＳ－９３６５５９、これはＰＤ－Ｌ１を標的とする（メラノーマ、ＮＳＣＬＣ、卵巣、ＲＣＣの処置において使用される）；ＭＥＤＩ４７３６、これはＰＤ－Ｌ１を標的とす

る；ＭＰＤＬ３３２８０Ａ、これはＰＤ－Ｌ１を標的とする（メラノーマの処置において使用される）；リツキシマブ、これはＣＤ２０を標的とする（非ホジキンリンパ腫の処置において使用される）；イブリツモマブ・チウキセタン及びトシツモマブ（リンパ腫の処置において使用される）；ブレンツキシマブ・ベドチン、これはＣＤ３０を標的とする（ホジキンリンパ腫の処置において使用される）；ゲムツズマブ・オゾガマイシン、これはＣＤ３３を標的とする（急性骨髄性白血病の処置において使用される）；アレムツズマブ、これはＣＤ５２を標的とする（慢性リンパ性白血病の処置において使用される）；ＩＧＮ１０１及びアデカツムマブ、これはＥｐＣＡＭを標的とする（上皮性腫瘍（乳房、結腸及び肺）の処置において使用される）；ラベツズマブ、これはＣＥＡを標的とする（乳房、結腸及び肺腫瘍の処置において使用される）；ｈｕＡ３３、これはｇｐＡ３３を標的とする（結腸直腸癌腫の処置において使用される）；ペムツモマブ及びオレゴボマブ、これはムチンを標的とする（乳房、結腸、肺及び卵巣腫瘍の処置において使用される）；ＣＣ４９（ミンレツモマブ）、これはＴＡＧ－７２を標的とする（乳房、結腸及び肺腫瘍の処置において使用される）；ｃＧ２５０、これはＣＡＩＸを標的とする（腎細胞癌腫の処置において使用される）；Ｊ５９１、これはＰＳＭＡを標的とする（前立腺癌腫の処置において使用される）；ＭＯｖ１８及びＭＯＲＡｂ－００３（ファーレツズマブ）、これは葉酸－結合タンパク質を標的とする（卵巣腫瘍の処置において使用される）；３Ｆ８、ｃｈ１４．１８及びＫＷ－２８７１、これはガングリオシドを標的とする（例えば、ＧＤ２、ＧＤ３及びＧＭ２）（神経外胚葉性腫瘍及びいくつかの上皮性腫瘍の処置において使用される）；ｈｕ３Ｓ１９３及びＩｇＮ３１１、これはＬｅ　ｙを標的とする（乳房、結腸、肺及び前立腺腫瘍の処置において使用される）；ベバシズマブ、これはＶＥＧＦを標的とする（腫瘍血管系の処置において使用される）；ＩＭ－２Ｃ６及びＣＤＰ７９１、これはＶＥＧＦＲを標的とする（上皮由来固形腫瘍の処置において使用される）；エタラシズマブ、これはインテグリン＿Ｖ＿３を標的とする（腫瘍血管系の処置において使用される）；ボロシキシマブ、これはインテグリン＿５＿１を標的とする（腫瘍血管系の処置において使用される）；セツキシマブ、パニツムマブ、ニモツズマブ及び８０６、これらはＥＧＦＲを標的とする（神経膠腫、肺、乳房、結腸、及び頭頸部腫瘍の処置において使用される）；トラスツズマブ及びペルツズマブ、これらはＥＲＢＢ２を標的とする（乳房、結腸、肺、卵巣及び前立腺腫瘍の処置において使用される）；ＭＭ－１２１、これはＥＲＢＢ３を標的とする（乳房、結腸、肺、卵巣及び前立腺、腫瘍の処置において使用される）；ＡＭＧ　１０２、ＭＥＴＭＡＢ及びＳＣＨ　９００１０５、これらはＭＥＴを標的とする（乳房、卵巣及び肺腫瘍の処置において使用される）；ＡＶＥ１６４２、ＩＭＣ－Ａ１２、ＭＫ－０６４６、Ｒ１５０７及びＣＰ　７５１８７１、これらは、ＩＧＦ１Ｒを標的とする（神経膠腫、肺、乳房、頭頸部、前立腺及び甲状腺癌の処置において使用される）；ＫＢ００４及びＩＩＩＡ４、これらはＥＰＨＡ３を標的とする（肺、腎臓及び結腸腫瘍、メラノーマ、神経膠腫ならびに血液学的悪性疾患の処置において使用される）；マパツムマブ（ＨＧＳ－ＥＴＲ１）、これはＴＲＡＩＬＲ１を標的とする（結腸、肺及び膵臓腫瘍及び血液学的悪性疾患の処置において使用される）；ＨＧＳ－ＥＴＲ２及びＣＳ－１００８、これらはＴＲＡＩＬＲ２を標的とする；デノスマブ、これはＲＡＮＫＬを標的とする（前立腺癌及び骨転移の処置において使用される）；シブロツズマブ及びＦ１９、これらはＦＡＰを標的とする（結腸、乳房、肺、膵臓、及び頭頸部腫瘍の処置において使用される）；８１Ｃ６、これはテネイシンを標的とする（神経膠腫、乳房及び前立腺腫瘍の処置において使用される）；ブリナツモマブ（Ｂｌｉｎｃｙｔｏ；Ａｍｇｅｎ）、これはＣＤ３を標的とする（ＡＬＬの処置において使用される）；ペムブロリズマブ、これはＰＤ－１を標的とし、癌免疫療法において使用される；９Ｅ１０抗体、これはｃ－Ｍｙｃを標的とする；等が含まれる。

【０３４１】

本明細書に記載のように、結合誘発型転写スイッチの活性化の結果として、全体としてまたは部分的に発現され得る抗体には、８Ｈ９、アバゴボマブ、アブシキシマブ、アビツズマブ、アブリルマブ、アクトクスマブ、アデュカヌマブ、アフェリモマブ、アフツズマ

ブ、アラシズマブ・ペゴル、ＡＬＤ５１８、アリロクマブ、アルツモマブ・ペンテテート、アマツキシマブ、アナツモマブ・マフェナトクス、アネツマブ・ラブタンシン、アニフロルマブ、アンルキンズマブ、アポリズマブ、アルシツモマブ、アスクリンバクマブ（Ａｓｃｒｉｎｖａｃｕｍａｂ）、アセリズマブ、アテゾリズマブ、アチヌマブ、アトリズマブ／トシリズマブ、アトロリムマブ、バピネオズマブ、バシリキシマブ、バビツキシマブ、ベクツモマブ、ベゲロマブ、ベンラリズマブ、ベルチリムマブ、ベシレソマブ、ベバシズマブ／ラニビズマブ、ベズロトクスマブ、ビシロマブ、ビマグルマブ、ビメキズマブ（Ｂｉｍｅｋｉｚｕｍａｂ）、ビバツズマブ・メルタンシン、ブロソズマブ、ボコシズマブ、ブレンツキシマブ・ベドチン、ブロダルマブ、ブロルシズマブ、ブロンチクツズマブ（Ｂｒｏｎｔｉｃｔｕｚｕｍａｂ）、カンツズマブ・メルタンシン、カンツズマブ・ラブタンシン、カプラシズマブ、カプロマブ・ペンデチド、カルルマブ、カツマクソマブ、ｃＢＲ９６－ドキソルビシン免疫複合体、セデリズマブ、Ｃｈ．１４．１８、シタツズマブ・ボガトクス、シクスツムマブ、クラザキズマブ、クレノリキシマブ、クリバツズマブ・テトラキセタン、コドリツズマブ、コルツキシマブ・ラブタンシン、コナツムマブ、コンシズマブ、ＣＲ６２６１、クレネズマブ、ダセツズマブ、ダクリズマブ、ダロツズマブ、ダピロリズマブ・ペゴル、ダラツムマブ、デクトレクマブ（Ｄｅｃｔｒｅｋｕｍａｂ）、デムシズマブ、デニンツズマブ・マホドチン、デルロツキシマブ・ビオチン、デツモマブ、ジヌツキシマブ、ジリダブマブ、ドルリモマブ・アリトクス、ドロジツマブ、デュリゴツマブ、デュピルマブ、デュルバルマブ、デュシジツマブ、エクロメキシマブ、エドバコマブ、エドレコロマブ、エファリズマブ、エフングマブ、エルデルマブ、エルゲムツマブ（Ｅｌｇｅｍｔｕｍａｂ）、エロツズマブ、エルシリモマブ、エマクツズマブ（Ｅｍａｃｔｕｚｕｍａｂ）、エミベツズマブ、エナバツズマブ、エンフォルツマブ・ベドチン、エンリモマブ・ペゴル、エノブリツズマブ（Ｅｎｏｂｌｉｔｕｚｕｍａｂ）、エノキズマブ、エノチクマブ、エンシツキシマブ、エピツモマブ・シツキセタン、エルリズマブ、エルツマクソマブ、エトロリズマブ、エビナクマブ、エボロクマブ、エクスビビルマブ、ファノレソマブ、ファラリモマブ、ファーレツズマブ、ファシヌマブ、ＦＢＴＡ０５、フェルビズマブ、フェザキヌマブ、フィクラツズマブ、フィジツムマブ、フィリブマブ（Ｆｉｒｉｖｕｍａｂ）、フランボツマブ、フレチクマブ、フォントリズマブ、フォラルマブ、フォラビルマブ、フレソリムマブ、フルラヌマブ、フツキシマブ、ガリキシマブ、ガニツマブ、ガンテネルマブ、ガビリモマブ、ゲボキズマブ、ギレンツキシマブ、グレムバツムマブ・ベドチン、ゴミリキシマブ、グセルクマブ、イバリズマブ、イバリズマブ、イクルクマブ、イダルシズマブ、イゴボマブ、ＩＭＡＢ３６２、イマルマブ（Ｉｍａｌｕｍａｂ）、イムシロマブ、イムガツズマブ、インクラクマブ、インダツキシマブ・ラブタンシン、インデュサツマブ・ベドチン（Ｉｎｄｕｓａｔｕｍａｂ　ｖｅｄｏｔｉｎ）、イノリモマブ、イノツズマブ・オゾガマイシン、インテツムマブ、イラツムマブ、イサツキシマブ、イトリズマブ、イクセキズマブ、ケリキシマブ、ラムブロリズマブ、ラムパリズマブ、レブリキズマブ、レマレソマブ、レンジルマブ（Ｌｅｎｚｉｌｕｍａｂ）、レルデリムマブ、レキサツムマブ、リビビルマブ、リファスツズマブ・ベドチン、リゲリズマブ、リロトマブ・サテトラキセタン（Ｌｉｌｏｔｏｍａｂ　ｓａｔｅｔｒａｘｅｔａｎ）、リンツズマブ、リリルマブ、ロデルシズマブ、ロキベトマブ（Ｌｏｋｉｖｅｔｍａｂ）、ロルボツズマブ・メルタンシン、ルカツムマブ、ルリズマブ・ペゴル、ルミリキシマブ、ルムレツズマブ（Ｌｕｍｒｅｔｕｚｕｍａｂ）、マルゲツキシマブ、マスリモマブ、マツズマブ、マブリリムマブ、メテリムマブ、ミラツズマブ、ミンレツモマブ、ミルベツキシマブ・ソラブタンシン（Ｍｉｒｖｅｔｕｘｉｍａｂ　ｓｏｒａｖｔａｎｓｉｎｅ）、ミツモマブ、モガムリズマブ、モロリムマブ、モロリムマブ免疫（Ｍｏｒｏｌｉｍｕｍａｂ　ｉｍｍｕｎｅ）、モタビズマブ、モキセツモマブ・パスドトクス、ムロモナブ－ＣＤ３、ナコロマブ・タフェナトクス、ナミルマブ、ナプツモマブ・エスタフェナトクス、ナルナツマブ、ネバクマブ、ネシツムマブ、ネモリズマブ、ネレリモマブ、ネスバクマブ、ノフェツモマブ・メルペンタン、オビルトキサキシマブ、オビヌツズマブ、オカラツズマブ、オヅリモマブ、オララツマブ、オロキズマブ、オナルツズマブ、オンツキシズマブ、オピシヌマブ、

オポルツズマブ・モナトクス、オルチクマブ、オトレルツズマブ、オキセルマブ、オザネズマブ、オゾラリズマブ、パギバキシマブ、パリビズマブ、パンコマブ、パノバクマブ、パルサツズマブ、パスコリズマブ、パソツキシズマブ、パテクリズマブ、パトリツマブ、ペラキズマブ、ペキセリズマブ、ピナツズマブ・ベドチン、ピンツモマブ、プラクルマブ、ポラツズマブ・ベドチン、ポネズマブ、プリリキシマブ、プリトキサキシマブ、プリツムマブ、ＰＲＯ　１４０、キリズマブ、ラコツモマブ、ラドレツマブ、ラフィビルマブ、ラルパンシズマブ（Ｒａｌｐａｎｃｉｚｕｍａｂ）、ラムシルマブ、ラニビズマブ、ラキシバクマブ、レファネズマブ（Ｒｅｆａｎｅｚｕｍａｂ）、レガビルマブ、リロツムマブ、リヌクマブ（Ｒｉｎｕｃｕｍａｂ）、ロバツムマブ、ロレヅマブ、ロモソズマブ、ロンタリズマブ、ロベリズマブ、ルプリズマブ、サシツズマブ・ゴビテカン、サマリズマブ、サリルマブ、サツモマブ・ペンデチド、セクキヌマブ、セリバンツマブ、セトキサキシマブ、セビルマブ、ＳＧＮ－ＣＤ１９Ａ、ＳＧＮ－ＣＤ３３Ａ、シファリムマブ、シルツキシマブ、シムツズマブ、シプリズマブ、シルクマブ、ソフィツズマブ・ベドチン、ソラネズマブ、ソリトマブ、ソネプシズマブ、ソンツズマブ、スタムルマブ、スレソマブ、スビズマブ、タバルマブ、タカツズマブ・テトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、タネズマブ、タプリツモマブ・パプトクス、タレクスツマブ、テフィバズマブ、テリモマブ・アリトクス、テナツモマブ、テネリキシマブ、テプロツムマブ、テシドルマブ、テツロマブ（Ｔｅｔｕｌｏｍａｂ）、ＴＧＮ１４１２、チシリムマブ／トレメリムマブ、チガツズマブ、チルドラキズマブ、ＴＮＸ－６５０、トラリズマブ、トサトクスマブ（Ｔｏｓａｔｏｘｕｍａｂ）、トベツマブ、トラロキヌマブ、ＴＲＢＳ０７、トレガリズマブ、トレボグルマブ（Ｔｒｅｖｏｇｒｕｍａｂ）、ツコツズマブ・セルモロイキン、ツビルマブ、ウブリツキシマブ、ウロクプルマブ（Ｕｌｏｃｕｐｌｕｍａｂ）、ウレルマブ、ウルトキサズマブ、バンドルツズマブ・ベドチン、バンチクツマブ、バヌシズマブ、ババリキシマブ、バルリルマブ、バテリズマブ、ベルツズマブ、ベパリモマブ、ベセンクマブ、ビジリズマブ、ボルセツズマブ・マホドチン、ボツムマブ、ザルツムマブ、ザノリムマブ、ザツキシマブ、ジラリムマブ、ゾリモマブ・アリトクス等も含まれるが、これらに限定されない。

【０３４２】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、神経ペプチドの産生を誘導する。かかる神経ペプチドの例としては、Ｎ－アセチルアスパルチルグルタミン酸、アグーチ関連ペプチド、アルファ－エンドルフィン、ビッグダイノルフィン、ボンベシン、ボンベシン様ペプチド、カルベトシン、コカイン・アンフェタミン調節転写産物（ＣＡＲＴ）、コレシストキニン、コラゾニン、コルチコトロピン様中間ペプチド、コルチスタチン、デモキシトシン、ダイノルフィンＡ、ダイノルフィンＢ、エレドイシン、エンケファリン、ガラニン、ガラニン様ペプチド、ガルミック、ガルノン、ガンマ－エンドルフィン、グレリン、ヘモプレッシン、キスペプチン、ニューロキニンＢ、ニューロメジンＢ、ニューロメジンＮ、ニューロメジンＳ、ニューロメジンＵ、ニューロメジンＳ、ニューロメジンＹ、神経ペプチドＹ、ニューロテンシン、ノシセプチン、オピオルフィン、オレキシン、オレキシン－Ａ、オキシトシン、フィサレミン、プレプロタキキニン、プロクトリン、プロエンケファリン、ポオピオメラノコルチン（ｐｏｏｐｉｏｍｅｌａｎｏｃｏｒｔｉｎ）、プロテインエピステーム、リラキシン－３、ソマトスタチン、サブスタンスＰ、ＴＡＣ１、タキキニンペプチド、バソプレッシン、及びバソトシンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３４３】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、転写調節因子（例えば、転写因子；転写誘導因子；転写抑制因子）の産生を誘導する。転写調節因子の例と

しては、例えば、
ABT1, ACYP2, AEBP1, AEBP2, AES, AFF1, AFF3, AHR, ANK1, ANK2, ANKFY1, ANKIB1, ANKRD1, ANKRD10, ANKRD2, ANKRD32, ANKRD46, ANKRD49, ANKRD56, ANKRD57, ANKS4B, AR, ARHGAP17, ARID1A, ARID1B, ARID3A, ARID4A, ARID5B, ARNT, ARNT2, ARNTL, ARNTL2, ARX, ASB10, ASB11, ASB12, ASB15, ASB2, ASB5, ASB8, ASB9, ASH1L, ASH2L, ASXL1, ASZ1, ATF1, ATF3, ATF4, ATF4, ATF5, ATF6, ATF7, ATF7IP, ATM, ATOH1, ATXN3, 1300003B13RIK, B3GAT3, B930041F14RIK, BACH1, BACH2, BARX1, BARX2, BATF, BATF2, BATF3, BAZ2A, BBX, BC003267, BCL11A, BCL11B, BCL3, BCL6, BCL6B, BCLAF1, BCOR, BHLHA15, BHLHE40, BHLHE41, BLZF1, BMYC, BNC1, BNC2, BPNT1, BRCA1, BRWD1, BTBD11, BTF3, 6030408C04RIK, CAMK4, CARHSP1, CARM1, CBX4, CBX7, CCNC, CCNH, CCNT1, CCNT2, CDC5L, CDK2, CDK4, CDK9, CDKN2C, CDX1, CDX1, CDX2, CEBPA, CEBPB, CEBPD, CEBPG, CEBPG, CEBPZ, CHD4, CHD7, CHGB, CIC, CIITA, CITED1, CITED2, CITED4, CLOCK, CLPB, CML3, CNOT7, COPS2, CREB1, CREB3, CREB3L1, CREB3L1, CREB3L2, CREB3L3, CREB5, CREBBP, CREBL2, CREM, CSDA, CSDA, CSDC2, CSDE1, CTBP2, CTCF, CTCFL, CTNNB1, CTNNBL1, CXXC1, D11BWG0517E, 2300002D11RIK, DACH1, DAXX, DBP, DDIT3, DDX20, DDX54, DDX58, DEAF1, DEK, DIDO1, DLX2, DMRT1, DMRT2, DMRTB1, DNMT1, DNMT3A, DR1, DRG1, DUSP26, DYSFIP1, E2F1, E2F2, E2F3, E2F5, E2F6, EBF1, EBF2, EBF3, EBF3, EED, EGR1, EGR2, EGR3, EHF, EHMT2, EID2, ELAVL2, ELF1, ELF1, ELF2, ELF3, ELF4, ELF5, ELK3, ELK4, ELL2, EMX2, EMX2, EN2, ENPP2, EOMES, EP300, EPAS1, ERF, ERG, ESR1, ESRRA, ESRRB, ESRRG, ETS1, ETS2, ETV1, ETV3, ETV4, ETV5, ETV6, EVI1, EWSR1, EZH1, EZH2,

FAH, FBXL10, FBXL11, FBXW7, FEM1A, FEM1B, FEM1C, FHL2, FLI1, FMNL2, FOS, FOSB, FOSL1, FOSL2, FOXA1, FOXA2, FOXA3, FOXC1, FOXD1, FOXD2, FOXD3, FOXF1, FOXF1A, FOXF2, FOXG1, FOXI1, FOXJ2, FOXJ3, FOXK1, FOXK2, FOXL1, FOXL2, FOXM1, FOXN1, FOXN2, FOXN3, FOXO1, FOXO3, FOXP1, FOXP2, FOXP3, FOXP4, FOXQ1, FUS, FUSIP1, 2810021G02RIK, GABPA, GABPB1, GARNL1, GAS7, GATA1, GATA2, GATA3, GATA4, GATA5, GATA5, GATA6, GBX2, GCDH, GCM1, GFI1, GFI1B, GLI2, GLI3, GLIS1, GLIS2, GLIS3, GLS2, GMEB1, GMEB2, GRHL1, GRHL2, GRHL3, GRLF1, GTF2A1, GTF2B, GTF2E2, GTF2F1, GTF2F2, GTF2H2, GTF2H4, GTF2I, GTF2IRD1, GTF2IRD1, GZF1, HAND2, HBP1, HCLS1, HDAC10, HDAC11, HDAC2, HDAC5, HDAC9, HELZ, HES1, HES4, HES5, HES6, HEXIM1, HEY2, HEYL, HHEX, HHEX, HIC1, HIC2, HIF1A, HIF1AN, HIPK2, HIVEP1, HIVEP2, HIVEP2, HIVEP3, HLF, HLTF, HLX, HMBOX1, HMG20A, HMGA2, HMGB2, HMGB3, HNF1B, HNF4A, HNF4G, HOMEZ, HOXA10, HOXA11, HOXA13, HOXA2, HOXA3, HOXA4, HOXA5, HOXA6, HOXA7, HOXA9, HOXB1, HOXB2, HOXB3, HOXB4, HOXB6, HOXB7, HOXB8, HOXB9, HOXC10, HOXC10, HOXC11, HOXC5, HOXC6, HOXC8, HOXC9, HOXD8, HOXD9, HR, HSBP1, HSF2BP, HTATIP2, HTATSF1, HUWE1, 5830417I10RIK, ID1, ID2, ID3, ID3, IFNAR2, IKBKB, IKBKG, IKZF1, IKZF2, IKZF3, IKZF4, IL31RA, ILF3, ING1, ING2, ING3, ING4, INSM1, INTS12, IQWD1, IRF1, IRF1, IRF2, IRF3, IRF4, IRF5, IRF6, IRF7, IRF8, IRF8, IRX1, IRX2, IRX3, IRX4, IRX5, ISL1, ISL2, ISX, ISX, IVNS1ABP, 2810021J22RIK, JARID1A, JARID1B, JARID1C, JARID1D, JDP2, JUN, JUNB, JUND, KLF1, KLF10, KLF11, KLF12, KLF13, KLF15, KLF16, KLF2, KLF3, KLF3, KLF4, KLF5, KLF6, KLF7, KLF8, KLF9, KRR1, 6330416L07RIK, L3MBTL2, LASS2, LASS4, LASS6, LBA1, LBH, LBX1, LCOR, LDB1, LDB2, LEF1, LHX1, LHX2, LHX5, LIMD1, LIN28, LMO1, LMO4, LMX1A, LSM11, LSM4, LYL1, 9030612M13RIK, 1810007M14RIK, 3632451O06RIK, MAF, MAFA, MAFB, MAFF, MAFG, MAFK, MAGED1, MAP3K12, MAPK1, MAPK3, MAPK8, MAPK8IP1, MAX, MAZ, MBD2, MCM2, MCM4, MCM5, MCM6, MCM7, MECOM, MECP2, MED12, MED8, MEF2A, MEF2B, MEF2C, MEF2D, MEIS1, MEIS1, MEIS2, MEOX2, MESP2, MID1, MITF, MKI67IP, MKL1, MLL1, MLL3, MLLT10, MLLT3, MLX, MLXIP, MLXIPL, MNT, MNX1, MPL, MSC, MSRB2, MSX2, MTA3, MTF1, MTF2, MTPN, MXD1, MXD4, MXI1, MYB, MYBBP1A, MYBL2, MYC, MYCBP, MYCL1, MYCN, MYEF2, MYF6, MYNN, MYOCD, MYOD1, MYOG, MYST3,

MYST4, MYT1L, MZF1, NAB1, NAB2, NANOG, NARG1, NCOA1, NCOA2, NCOA3, NCOR1, NCOR2, NDN, NEUROD1, NEUROD4, NEUROD6, NEUROG1, NEUROG2, NFAT5, NFATC1, NFATC2, NFATC2IP, NFATC3, NFATC3, NFATC4, NFE2, NFE2L1, NFE2L2, NFIA, NFIA, NFIB, NFIC, NFIL3, NFIX, NFKB1, NFKB2, NFKBIB, NFKBIE, NFKBIZ, NFX1, NFXL1, NFYA, NFYB, NHLH1, NKX2-2, NKX2-3, NKX2-5, NKX2-6, NKX6-2, NMI, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, NPAS1, NPAS2, NPAS3, NR0B1, NR0B2, NR1D1, NR1D2, NR1H3, NR1H4, NR1I2, NR1I3, NR2C1, NR2C2, NR2E3, NR2F1, NR2F2, NR2F6, NR3C1, NR3C2, NR4A1, NR4A2, NR4A2, NR4A3, NR5A1, NR5A2, NRARP, NRIP1, NRIP2, NSBP1, NSD1, NUDT12, NULL, NUPR1, 1700065O13RIK, OLIG1, OLIG2, OLIG2, ONECUT1, ONECUT2, ONECUT3, ORC2L, OSGIN1, OSR1, OSR2, OSTF1, OVOL1, OVOL2, PAPOLA, PAPOLG, PAPPA2, PATZ1, PAWR, PAX2, PAX5, PAX6, PAX7, PAX8, PAX9, PBX1, PBX2, PBX3, PBX4, PCBD1, PCGF6, PDCD11, PDLIM4, PDX1, PEG3, PER1, PFDN1, PGR, PHF1, PHF10, PHF12, PHF13, PHF14, PHF20, PHF21A, PHF5A, PHF7, PHOX2A, PHOX2B, PIAS2, PIR, PITX1, PITX2, PKNOX1, PKNOX2, PLA2G6, PLAGL1, PLAGL2, PLRG1, PML, POGK, POLR2B, POLR2E, POLR2H, POLR3E, POLR3H, POLRMT, POU1F1, POU2AF1, POU2F1, POU2F2, POU3F2, POU3F3, POU3F3, POU5F1, POU6F1, PPARA, PPARD, PPARG, PPARGC1A, PPARGC1B, PPP1R12C, PPP1R13B, PPP1R16B, PPP1R1B, PPP2R1A, PPP3CB, PQBP1, PRDM1, PRDM14, PRDM15, PRDM16, PRDM2, PRDM4, PRDM5, PRDM6, PRDM8, PREB, PRKAR1A, PRKCBP1, PROX1, PRRX1, PRRX2, PSMC5, PSMD10, PSMD9, PTF1A, PTGES2, PURB, PWP1, RAB11A, RAB11B, RAB15, RAB18, RAB1B, RAB25, RAB8A, RAB8B, RAI14, RARA, RARB, RARG, RASSF7, RB1, RBBP7, RBL1, RBM14, RBM39, RBM9, RBPJ, RBPJL, RCOR2, REL, RELA, RELB, RERE, REST, REXO4, RFC1, RFX1, RFX2, RFX3, RFX5, RFX7, RFX8, RHOX5, RHOX6, RHOX9, RIPK4, RNF12, RNF14, RNF141, RNF38, RNF4, RORA, RORA, RORB, RORC, RPS6KA4, RREB1, RSRC1, RUNX1, RUNX1T1, RUNX2, RUNX2, RUNX3, RUVBL1, RUVBL2, RXRA, RXRG, RYBP, SAFB2, SALL1, SALL1, SALL2, SALL4, SAP30, SAP30BP, SATB1, SATB2, SATB2, SCAND1, SCAP, SCRT2, SEC14L2, SERTAD1, SF1, SFPI1, SFRS5, SH3D19, SH3PXD2B, SHANK3, SHOX2, SHPRH, SIN3A, SIN3B, SIRT2, SIRT3, SIRT5, SIX1, SIX1, SIX2, SIX3, SIX4, SIX5, SKI, SMAD1, SMAD2, SMAD3, SMAD7, SMARCA1, SMARCA2, SMARCA5, SMARCB1, SMYD1, SNAI1, SNAI2, SNAPC2, SNAPC4, SNIP1, SOLH, SOX1,

SOX10, SOX11, SOX12, SOX13, SOX15, SOX17, SOX18, SOX2, SOX21, SOX4, SOX5, SOX6, SOX7, SOX8, SOX9, SP1, SP110, SP140L, SP2, SP3, SP4, SP6, SP8, SPDEF, SPEN, SPI1, SPIB, SQSTM1, SREBF1, SREBF2, SREBF2, SRF, SSBP2, SSBP3, SSBP4, SSRP1, ST18, STAG1, STAT1, STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B, STAT5B, STAT6, SUB1, SUZ12, TADA2L, TAF13, TAF5, TAF5L, TAF7, TAF9, TAL1, TAL1, TARDBP, TBPL1, TBR1, TBX1, TBX10, TBX15, TBX18, TBX2, TBX2, TBX20, TBX21, TBX3, TBX4, TBX5, TBX6, TCEA1, TCEA3, TCEAL1, TCEB3, TCERG1, TCF12, TCF15, TCF19, TCF20, TCF21, TCF21, TCF3, TCF4, TCF7, TCF7L2, TCFAP2A, TCFAP2B, TCFAP2C, TCFCP2L1, TCFE2A, TCFE3, TCFEB, TCFEC, TCFL5, TEAD1, TEAD2, TEAD3, TEAD4, TEF, TFAP2A, TFAP2C, TFCP2L1, TFDP2, TFEB, TFEC, TGFB1I1, TGIF1, TGIF2, TGIF2LX, THRA, THRAP3, THRB, THRSP, TIAL1, TLE1, TLE6, TMEM131, TMPO, TNFAIP3, TOB1, TOX4, TP63, TRERF1, TRIB3, TRIM24, TRIM28, TRIM30, TRIP13, TRIP4, TRIP6, TRP53, TRP53BP1, TRP63, TRPS1, TRPS1, TSC22D1, TSC22D2, TSC22D3, TSC22D4, TSHZ1, TSHZ1, TSHZ3, TTRAP, TUB, TULP4, TWIST1, TWIST2, TYSND1, UBE2W, UBN1, UBP1, UBTF, UGP2, UHRF1, UHRF2, UNCX, USF1, USF2, UTF1, VDR, VEZF1, VGLL2, VSX1, WASL, WHSC1, WHSC2, WT1, WWP1, WWTR1, XBP1, YAF2, YY1, ZBED1, ZBED4, ZBTB1, ZBTB10, ZBTB16, ZBTB16, ZBTB17, ZBTB2, ZBTB20, ZBTB22, ZBTB25, ZBTB32, ZBTB38, ZBTB4, ZBTB43, ZBTB45, ZBTB47, ZBTB7A, ZBTB7B, ZBTB7C, ZCCHC8, ZDHHC13, ZDHHC16, ZDHHC21, ZDHHC5, ZDHHC6, ZEB2, ANK2ZEB2, ZFHX2, ZFHX3, ZFHX4, ZFP105, ZFP110, ZFP143, ZFP148, ZFP161, ZFP192, ZFP207, ZFP219, ZFP238, ZFP263, ZFP275, ZFP277, ZFP281, ZFP287, ZFP292, ZFP35, ZFP354C, ZFP36, ZFP36L1, ZFP386, ZFP407, ZFP42, ZFP423, ZFP426, ZFP445, ZFP451, ATF5ZFP451, ZFP467, ZFP52, ZFP57, ZFP592, ZFP593, ZFP597, ZFP612, ZFP637, ZFP64, ZFP647, ZFP748, ZFP810, ZFP9, ZFP91, ZFPM1, ZFPM2, ZFX, ZHX2, ZHX3, ZIC1, ZIC2, ZIC3, ZIC4, ZIC5, ZKSCAN1, ZKSCAN3, ZMYND11, ZNF143, ZNF160, ZNF175, ZNF184, ZNF192, ZNF213, ZNF217, ZNF219, ZNF22, ZNF238, ZNF24, ZNF267, ZNF273, ZNF276, ZNF280D, ZNF281, ZNF292, ZNF311, ZNF331, ZNF335, ZNF337, ZNF33B, ZNF366, ZNF394, ZNF398, ZNF41, ZNF410, ZNF415, ZNF423, ZNF436, ZNF444, ZNF445, ZNF451, ZNF460, ZNF496, ZNF498, ZNF516, ZNF521, ZNF532, ZNF536, ZNF546, ZNF552, ZNF563, ZNF576, ZNF580, ZNF596, ZNF621, ZNF628, ZNF648, ZNF649, ZNF652, ZNF655, ZNF664, ZNF668, ZNF687, ZNF692, ZNF696, ZNF697, ZNF710, ZNF80, ZNF91, ZNF92, ZNRD1, ZSCAN10, ZSCAN16, ZSCAN20, ZSCAN21, ZXDC, 及びZZZ3

が挙げられる。転写調節因子の追加の例は、上記の通りである。転写因子（転写活性化因子；転写抑制因子）の非限定的な例を、図３７～８３に示す。例えば、転写因子は、図３

７～８３のいずれか１つに示すアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。

【０３４４】

上記のような転写調節因子の追加の例としては、１つまたは複数の免疫細胞において調節的役割を有する転写因子（すなわち、免疫細胞調節転写因子）が挙げられるが、これらに限定されない。好適な免疫細胞調節転写因子には、例えば、
2210012G02Rik, Akap8l, Appl2, Arid4b, Arid5b, Ash1l, Atf7, Atm,
C430014K11Rik, Chd9, Dmtf1, Fos, Foxo1, Foxp1, Hmbox1, Kdm5b, Klf2, Mga, Mll1, Mll3,
Myst4, Pcgf6, Rev3l, Scml4, Scp2, Smarca2, Ssbp2, Suhw4, Tcf7, Tfdp2, Tox, Zbtb20, Zbtb44,
Zeb1, Zfml, Zfp1, Zfp319, Zfp329, Zfp35, Zfp386, Zfp445, Zfp518, Zfp652, Zfp827, Zhx2,
Eomes, Arntl, Bbx, Hbp1, Jun, Mef2d, Mterfd1, Nfat5, Nfe2l2, Nr1d2, Phf21a, Taf4b, Trf,
Zbtb25, Zfp326, Zfp451, Zfp58, Zfp672, Egr2, Ikzf2, Taf1d, Chrac1, Dnajb6, Aplp2, Batf,
Bhlhe40, Fosb, Hist1h1c, Hopx, Ifih1, Ikzf3, Lass4, Lin54, Mxd1, Mxi1, Prdm1, Prf1, Rora,
Rpa2, Sap30, Stat2, Stat3, Taf9b, Tbx21, Trps1, Xbp1, Zeb2, Atf3, Cenpc1, Lass6, Rb1, Zbtb41,
Crem, Fosl2, Gtf2b, Irf7, Maff, Nr4a1, Nr4a2, Nr4a3, Obfc2a, Rbl2, Rel, Rybp, Sra1, Tgif1,
Tnfaip3, Uhrf2, Zbtb1, Ccdc124, Csda, E2f3, Epas1, H1f0, H2afz, Hif1a, Ikzf5, Irf4, Nsbp1,
Pim1, Rfc2, Swap70, Tfb1m, 2610036L11Rik, 5133400G04Rik, Apitd1, Blm, Brca1, Brip1,
C1d, C79407, Cenpa, Cfl1, Clspn, Ddx1, Dscc1, E2f7, E2f8, Ercc6l, Ezh2, Fen1, Foxm1, Gen1,
Gsg2, H2afx, Hdac1, Hdgf, Hells, Hist1h1e, Hist3h2a, Hjurp, Hmgb2, Hmgb3, Irf1, Irf8, Kif22,
Kif4, Lig1, Lmo2, Lnp, Mbd4, Mcm2, Mcm3, Mcm4, Mcm5, Mcm6, Mcm7, Mybl2, Neil3,
Nusap1, Orc6l, Pola1, Pola2, Pole, Pole2, Polh, Polr2f, Polr2j, Ppp1r8, Prim2, Psmc3ip, Rad51,
Rad51c, Rad54l, Rfc3, Rfc4, Rnps1, Rpa1, Smarcc1, Spic, Ssrp1, Taf9, Tfdp1, Tmpo, Topbp1,
Trdmt1, Uhrf1, Wdhd1, Whsc1, Zbp1, Zbtb32, Zfp367, Car1, Polg2, Atr, Lef1, Myc, Nucb2,
Satb1, Taf1a, Ift57, Apex1, Chd7, Chtf8, Ctnnb1, Etv3, Irf9, Myb, Mybbp1a, Pms2, Preb,
Sp110, Stat1, Trp53, Zfp414, App, Cdk9, Ddb1, Hsf2, Lbr, Pa2g4, Rbms1, Rfc1, Rfc5, Tada2l,
Tex261, Xrcc6
等が含まれる。

【０３４５】

いくつかの場合では、転写因子は、例えば、ジンクフィンガー系人工転写因子（例えば、Ｓｅｒａ Ｔ．Ａｄｖ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ Ｒｅｖ．２００９ ６１（７－８）：５１３－２６；Ｃｏｌｌｉｎｓ ｅｔ ａｌ．Ｃｕｒｒ Ｏｐｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２００３ １４（４）：３７１－８；Ｏｎｏｒｉ ｅｔ ａｌ．ＢＭＣ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ．２０１３ １４：３、これらの開示はその全体が参照により本明細書に組み込まれる、に記載のものを含む）を含むが、これらに限定されない、人工転写因子（ＡＴＦ）であってよい。

【０３４６】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、免疫受容体（例えば、活性化免疫受容体または抑制性免疫受容体）の産生を誘導する。かかる免疫受容体の例としては、活性化免疫受容体が挙げられる。好適な活性化免疫受容体は、免疫受容体チロシン系活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）を含むことができる。ＩＴＡＭモチーフは、YX_1

X_2Ｌ／Ｉであり、ここで、X_1及びX_2は独立して任意のアミノ酸である。好適な免疫受容体は、ＩＴＡＭモチーフを含有するポリペプチドに由来するＩＴＡＭモチーフ含有部分を含むことができる。例えば、好適な免疫受容体は、任意のＩＴＡＭモチーフ含有タンパク質からのＩＴＡＭモチーフ含有ドメインを含むことができる。ゆえに、好適な免疫受容体は、それが由来するタンパク質全体の配列全体を含有する必要はない。好適なＩＴＡＭモチーフ含有ポリペプチドの例としては、ＤＡＰ１２；ＦＣＥＲ１Ｇ（Ｆｃイプシロン受容体Ｉガンマ鎖）；ＣＤ３Ｄ（ＣＤ３デルタ）；ＣＤ３Ｅ（ＣＤ３イプシロン）；ＣＤ３Ｇ（ＣＤ３ガンマ）；ＣＤ３Ｚ（ＣＤ３ゼータ）；及びＣＤ７９Ａ（抗原受容体複合体関連タンパク質アルファ鎖）が挙げられるが、これらに限定されない。好適なＩＴＡＭモチーフ含有ポリペプチドのさらなる例は、上記の通りである。

【０３４７】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、Ｔ細胞表面糖タンパク質ＣＤ３デルタ鎖（ＣＤ３Ｄ；ＣＤ３－デルタ；Ｔ３Ｄ；ＣＤ３抗原、デルタサブユニット；ＣＤ３デルタ；ＣＤ３ｄ抗原、デルタポリペプチド（ＴｉＴ３複合体）；ＯＫＴ３、デルタ鎖；Ｔ細胞受容体Ｔ３デルタ鎖；Ｔ細胞表面糖タンパク質ＣＤ３デルタ鎖；等としても知られる）の産生を誘導する。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、Ｔ細胞表面糖タンパク質ＣＤ３イプシロン鎖（ＣＤ３ｅ、Ｔ細胞表面抗原Ｔ３／Ｌｅｕ－４イプシロン鎖、Ｔ細胞表面糖タンパク質ＣＤ３イプシロン鎖、ＡＩ５０４７８３、ＣＤ３、ＣＤ３イプシロン、Ｔ３ｅ等としても知られる）の産生を誘導する。

【０３４８】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、共刺激ポリペプチドの産生を誘導する。好適な共刺激ポリペプチドの非限定的な例としては、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＣＤ２８、ＩＣＯＳ、ＯＸ－４０、ＢＴＬＡ、ＣＤ２７、ＣＤ３０、ＧＩＴＲ、及びＨＶＥＭが挙げられるが、これらに限定されない。好適な共刺激ポリペプチドのさらなる例は、上記の通りである。

【０３４９】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、抑制性免疫受容体の産生を誘導する。抑制性免疫受容体は、免疫受容体チロシン系阻害モチーフ（ＩＴＩＭ）、免疫受容体チロシン系スイッチモチーフ（ＩＴＳＭ）、ＮｐｘＹモチーフ、またはＹＸＸΦモチーフを含むことができる。好適なインヒビター免疫受容体には、ＰＤ１；ＣＴＬＡ４；ＢＴＬＡ；ＣＤ１６０；ＫＲＬＧ－１；２Ｂ４；Ｌａｇ－３；及びＴｉｍ－３が含まれる。例えば、Ｏｄｏｒｉｚｚｉ ａｎｄ Ｗｈｅｒｒｙ（２０１２）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８８：２９５７；及びＢａｉｔｓｃｈ ｅｔ ａｌ．（２０１２）ＰＬｏＳＯｎｅ ７：ｅ３０８５２を参照されたい。抑制性免疫受容体のさらなる例は、上記の通りである。

【０３５０】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、リコンビナーゼの産生を誘導する。リコンビナーゼの非限定的な例としては、Ｃｒｅリコンビナーゼ；Ｆｌｐリコンビナーゼ；Ｄｒｅリコンビナーゼ；等が挙げられる。リコンビナーゼのさらなる

例は、ＦＬＰｅリコンビナーゼ（例えば、Ａｋｂｕｄａｋ　ａｎｄ　Ｓｒｉｖａｓｔａｖａ（２０１１）Ｍｏｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．４９：８２を参照されたい）である。好適なリコンビナーゼは、Ｆｌｐｏリコンビナーゼである。リコンビナーゼのさらなる例は、上記の通りである。

【０３５１】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、部位特異的ヌクレアーゼの産生を誘導する。部位特異的ヌクレアーゼの非限定的な例としては、ヌクレアーゼ活性を有するＲＮＡ誘導型ＤＮＡ結合タンパク質、例えば、Ｃａｓ９ポリペプチド；転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥＮ）；ジンクフィンガーヌクレアーゼ；等が挙げられるが、これらに限定されない。部位特異的ヌクレアーゼのさらなる例は、上記の通りである。

【０３５２】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、アポトーシス誘導因子の産生を誘導する。アポトーシス誘導因子の非限定的な例は、ｔＢＩＤポリペプチドである。「ｔＢＩＤ」という用語は、（例えば、活性カスパーゼによる）細胞質ＢＩＤの酵素切断から生じるＢＨ３共役デスアゴニスト（ＢＩＤ）タンパク質のＣ末端切断断片を指す。アポトーシスの初期段階では、ｔＢＩＤは、ミトコンドリアに転位置し、そこからのＣｙｔ　ｃの放出を媒介する。ｔＢＩＤタンパク質の非限定的な例としては、ヒトｔＢＩＤ（ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＣＡＧ３０２７５にて提供されるアミノ酸配列のアミノ酸６１～１９５）が挙げられる。

【０３５３】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、結合誘発型転写スイッチの産生を誘導する。

【０３５４】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、ＴＣＲの産生を誘導する。ＴＣＲは、いくつかの場合では、抗原のエピトープに対して特異的である。かかる抗原の例としては、例えば、腫瘍抗原；癌細胞関連抗原；血液学的悪性疾患抗原；固形腫瘍抗原；細胞表面抗原（例えば、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）により標的とされる細胞表面抗原；細胞内抗原；等が挙げられる。血液学的悪性疾患抗原の例としては、例えば、ＣＤ１９（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ２０（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ２２（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ３０（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ３３（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＣＤ７０（例えば、Ｂ細胞／Ｔ細胞において発現する）、ＣＤ１２３（例えば、骨髄系細胞において発現する）、カッパ（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ルイスＹ（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＮＫＧ２Ｄリガンド（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＲＯＲ１（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＳＬＡＭＦ７／ＣＳ１（例えば、骨髄腫細胞、ナチュラルキラー細胞、Ｔ細胞、及び大半のＢ細胞型において発現する）、ＣＤ１３８（例えば、多発性骨髄腫の悪性形質細胞において発現する）、ＣＤ５６（例えば、骨髄腫細胞、神経細胞、ナチュラルキラー細胞、Ｔ細胞、及び小柱骨芽細胞（ｔｒａｂｅｃｕｌａｒ　ｏｓｔｅｏｂｌａｓｔｓ）において発現する）ＣＤ３８（例えば、Ｂ細胞／Ｔ細胞にいて発現する）及びＣＤ１６０（例えば、ＮＫ細胞／Ｔ細胞において発現する）等が挙げられる。固形腫瘍抗原の例としては、例えば、Ｂ７Ｈ３（例えば、肉腫、神経膠腫において発

現する）、ＣＡＩＸ（例えば、腎臓において発現する）、ＣＤ４４　ｖ６／ｖ７（例えば、子宮頸部において発現する）、ＣＤ１７１（例えば、神経芽細胞腫において発現する）、ＣＥＡ（例えば、結腸において発現する）、ＥＧＦＲｖＩＩＩ（例えば、神経膠腫において発現する）、ＥＧＰ２（例えば、癌腫において発現する）、ＥＧＰ４０（例えば、結腸において発現する）、ＥｐｈＡ２（例えば、神経膠腫、肺において発現する）、ＥｒｂＢ２（ＨＥＲ２）（例えば、乳房、肺、前立腺、神経膠腫において発現する）、ＥｒｂＢ受容体ファミリー（例えば、乳房、肺、前立腺、神経膠腫において発現する）、ＥｒｂＢ３／４（例えば、乳房、卵巣において発現する）、ＨＬＡ－Ａ１／ＭＡＧＥ１（例えば、メラノーマにおいて発現する）、ＨＬＡ－Ａ２／ＮＹ－ＥＳＯ－１（例えば、肉腫、メラノーマにおいて発現する）、ＦＲ－ａ（例えば、卵巣において発現する）、ＦＡＰ†（例えば、癌関連線維芽細胞において発現する）、ＦＡＲ（例えば、横紋筋肉腫において発現する）、ＧＤ２（例えば、神経芽細胞腫、肉腫、メラノーマにおいて発現する）、ＧＤ３（例えば、メラノーマ、肺癌において発現する）、ＨＭＷ－ＭＡＡ（例えば、メラノーマにおいて発現する）、ＩＬ１１Ｒａ（例えば、骨肉腫において発現する）、ＩＬ１３Ｒａ２（例えば、神経膠腫において発現する）、ルイスＹ（例えば、乳房／卵巣／膵臓において発現する）、メソテリン（例えば、中皮腫、乳房、膵臓において発現する）、Ｍｕｃ１（例えば、卵巣、乳房、前立腺において発現する）、ＮＣＡＭ（例えば、神経芽細胞腫、結腸直腸において発現する）、ＮＫＧ２Ｄリガンド（例えば、卵巣、肉腫（ｓａｃｏｍａ）において発現する）、ＰＳＣＡ（例えば、前立腺、膵臓において発現する）、ＰＳＭＡ（例えば、前立腺において発現する）、ＴＡＧ７２（例えば、結腸において発現する）、ＶＥＧＦＲ－２（例えば、腫瘍血管系において発現する）、Ａｘｌ（例えば、肺癌において発現する）、Ｍｅｔ（例えば、肺癌において発現する）、α５β３（例えば、腫瘍血管系において発現する）、α５β１（例えば、腫瘍血管系において発現する）、ＴＲＡＩＬ－Ｒ１／ＴＲＡＩＬ－Ｒ２（例えば、固形腫瘍（結腸、肺、膵臓）及び血液学的悪性疾患において発現する）、ＲＡＮＫＬ（例えば、前立腺癌及び骨転移において発現する）、テネイシン（例えば、神経膠腫、上皮性腫瘍（乳房、前立腺）において発現する）、ＥｐＣＡＭ（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する）、ＣＥＡ（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する）、ｇｐＡ３３（例えば、大腸癌腫において発現する）、ムチン（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺、卵巣）において発現する）、ＴＡＧ－７２（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する）、ＥｐｈＡ３（例えば、肺、腎臓、メラノーマ、神経膠腫、血液学的悪性疾患において発現する）及びＩＧＦ１Ｒ（例えば、肺、乳房、頭頸部、前立腺、甲状腺、神経膠腫において発現する）が挙げられる。表面及び細胞内抗原の例としては、例えば、Ｈｅｒ２（遺伝子記号ＥＲＢＢ２）、ＭＡＧＥ－Ａ１（遺伝子記号ＭＡＧＥＡ１）、ＭＡＲＴ－１（遺伝子記号ＭＬＡＮＡ）、ＮＹ－ＥＳＯ（遺伝子記号ＣＴＡＧ１）、ＷＴ１（遺伝子記号ＷＴ１）、ＭＵＣ１７及びＭＵＣ１３が挙げられる。他の抗原の例としては、例えば、ＢＣＭＡ（遺伝子記号ＴＮＦＲＳＦ１７）、Ｂ７Ｈ６（遺伝子記号ＮＣＲ３ＬＧ１）、ＣＡＩＸ（遺伝子記号ＣＡ９）、ＣＤ１２３（遺伝子記号ＩＬ３ＲＡ）、ＣＤ１３８（遺伝子記号ＳＤＣ１）、ＣＤ１７１（遺伝子記号Ｌ１ＣＡＭ）、ＣＤ１９（遺伝子記号ＣＤ１９）、ＣＤ２０（遺伝子記号ＣＤ２０）、ＣＤ２２（遺伝子記号ＣＤ２２）、ＣＤ３０（遺伝子記号ＴＮＦＲＳＦ８）、ＣＤ３３（遺伝子記号ＣＤ３３）、ＣＤ３８（遺伝子記号ＣＤ３８）、ＣＤ４４、スプライス変異体ｉｎｃｌ　７及び８（文献にてｖＸと示される）（遺伝子記号ＣＤ４４）、ＣＥＡ、ＣＳ１（遺伝子記号ＳＬＡＭＦ７）、ＥＧＦＲｖＩＩＩ（遺伝子記号ＥＧＦＲ、ｖＩＩＩ欠失変異体）、ＥＧＰ２、ＥＧＰ４０（遺伝子記号ＥＰＣＡＭ）、Ｅｒｂファミリーメンバー（遺伝子記号ＥＲＢＢ１、ＥＲＢＢ２、ＥＲＢＢ３、ＥＲＢＢ４）、ＦＡＰ（遺伝子記号ＦＡＰ）、胎児性アセチルコリン受容体（遺伝子記号ＡＣｈＲ）、葉酸受容体アルファ（遺伝子記号ＦＯＬＲ１）、葉酸受容体ベータ（遺伝子記号ＦＯＬＲ２）、ＧＤ２、ＧＤ３、ＧＰＣ３（遺伝子記号ＧＰＣ３）、Ｈｅｒ２／ｎｅｕ（遺伝子記号ＥＲＢＢ２）、ＩＬ－１３Ｒａ２（遺伝子記号ＩＬ１３ＲＡ２）、カッパ軽鎖（遺伝子記号ＩＧＫ）、ルイス－Ｙ、メソテリン（遺伝子記号ＭＳＬＮ）、ムチン－１（遺伝

子記号ＭＵＣ１）、ムチン－１６（遺伝子記号ＭＵＣ１６）、ＮＫＧ２Ｄリガンド、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）（遺伝子記号ＦＯＬＨ１）、前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）（遺伝子記号ＰＳＣＡ）、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（遺伝子記号ＲＯＲ１）、及び未分化リンパ腫受容体チロシンキナーゼ（遺伝子記号ＡＬＫ）が挙げられる。

【０３５５】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、ＭＥＳＡポリペプチドの産生を誘導する。ＭＥＳＡポリペプチドは、いくつかの場合では、抗原と特異的に結合するドメインを含む。かかる抗原の例としては、例えば、腫瘍抗原；癌細胞関連抗原；血液学的悪性疾患抗原；固形腫瘍抗原；細胞表面抗原（例えば、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）により標的とされる細胞表面抗原；細胞内抗原；等が挙げられる。血液学的悪性疾患抗原の例としては、例えば、ＣＤ１９（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ２０（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ２２（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ３０（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ３３（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＣＤ７０（例えば、Ｂ細胞／Ｔ細胞において発現する）、ＣＤ１２３（例えば、骨髄系細胞において発現する）、カッパ（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ルイスＹ（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＮＫＧ２Ｄリガンド（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＲＯＲ１（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＳＬＡＭＦ７／ＣＳ１（例えば、骨髄腫細胞、ナチュラルキラー細胞、Ｔ細胞、及び大半のＢ細胞型において発現する）、ＣＤ１３８（例えば、多発性骨髄腫の悪性形質細胞において発現する）、ＣＤ５６（例えば、骨髄腫細胞、神経細胞、ナチュラルキラー細胞、Ｔ細胞、及び小柱骨芽細胞（ｔｒａｂｅｃｕｌａｒ　ｏｓｔｅｏｂｌａｓｔｓ）において発現する）ＣＤ３８（例えば、Ｂ細胞／Ｔ細胞にいて発現する）及びＣＤ１６０（例えば、ＮＫ細胞／Ｔ細胞において発現する）等が挙げられる。固形腫瘍抗原の例としては、例えば、Ｂ７Ｈ３（例えば、肉腫、神経膠腫において発現する）、ＣＡＩＸ（例えば、腎臓において発現する）、ＣＤ４４　ｖ６／ｖ７（例えば、子宮頸部において発現する）、ＣＤ１７１（例えば、神経芽細胞腫において発現する）、ＣＥＡ（例えば、結腸において発現する）、ＥＧＦＲｖＩＩＩ（例えば、神経膠腫において発現する）、ＥＧＰ２（例えば、癌腫において発現する）、ＥＧＰ４０（例えば、結腸において発現する）、ＥｐｈＡ２（例えば、神経膠腫、肺において発現する）、ＥｒｂＢ２（ＨＥＲ２）（例えば、乳房、肺、前立腺、神経膠腫において発現する）、ＥｒｂＢ受容体ファミリー（例えば、乳房、肺、前立腺、神経膠腫において発現する）、ＥｒｂＢ３／４（例えば、乳房、卵巣において発現する）、ＨＬＡ－Ａ１／ＭＡＧＥ１（例えば、メラノーマにおいて発現する）、ＨＬＡ－Ａ２／ＮＹ－ＥＳＯ－１（例えば、肉腫、メラノーマにおいて発現する）、ＦＲ－ａ（例えば、卵巣において発現する）、ＦＡＰ†（例えば、癌関連線維芽細胞において発現する）、ＦＡＲ（例えば、横紋筋肉腫において発現する）、ＧＤ２（例えば、神経芽細胞腫、肉腫、メラノーマにおいて発現する）、ＧＤ３（例えば、メラノーマ、肺癌において発現する）、ＨＭＷ－ＭＡＡ（例えば、メラノーマにおいて発現する）、ＩＬ１１Ｒａ（例えば、骨肉腫において発現する）、ＩＬ１３Ｒａ２（例えば、神経膠腫において発現する）、ルイスＹ（例えば、乳房／卵巣／膵臓において発現する）、メソテリン（例えば、中皮腫、乳房、膵臓において発現する）、Ｍｕｃ１（例えば、卵巣、乳房、前立腺において発現する）、ＮＣＡＭ（例えば、神経芽細胞腫、結腸直腸において発現する）、ＮＫＧ２Ｄリガンド（例えば、卵巣、肉腫（ｓａｃｏｍａ）において発現する）、ＰＳＣＡ（例えば、前立腺、膵臓において発現する）、ＰＳＭＡ（例えば、前立腺において発現する）、ＴＡＧ７２（例えば、結腸において発現する）、ＶＥＧＦＲ－２（例えば、腫瘍血管系において発現する）、Ａｘｌ（例えば、肺癌において発現する）、Ｍｅｔ（例えば、肺癌において発現する）、α５β３（例えば、腫瘍血管系において発現する）、α５β１（例えば、腫瘍血管系において発現する）、ＴＲＡＩＬ－Ｒ１／ＴＲＡＩＬ－Ｒ２（例えば、固形腫瘍（結腸、肺

、膵臓）及び血液学的悪性疾患において発現する）、ＲＡＮＫＬ（例えば、前立腺癌及び骨転移において発現する）、テネイシン（例えば、神経膠腫、上皮性腫瘍（乳房、前立腺）において発現する）、ＥｐＣＡＭ（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する））、ＣＥＡ（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する））、ｇｐＡ３３（例えば、大腸癌腫において発現する）、ムチン（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺、卵巣）において発現する））、ＴＡＧ－７２（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する））、ＥｐｈＡ３（例えば、肺、腎臓、メラノーマ、神経膠腫、血液学的悪性疾患において発現する）及びＩＧＦ１Ｒ（例えば、肺、乳房、頭頸部、前立腺、甲状腺、神経膠腫において発現する）が挙げられる。表面及び細胞内抗原の例としては、例えば、Ｈｅｒ２（遺伝子記号ＥＲＢＢ２）、ＭＡＧＥ－Ａ１（遺伝子記号ＭＡＧＥＡ１）、ＭＡＲＴ－１（遺伝子記号ＭＬＡＮＡ）、ＮＹ－ＥＳＯ（遺伝子記号ＣＴＡＧ１）、ＷＴ１（遺伝子記号ＷＴ１）、ＭＵＣ１７及びＭＵＣ１３が挙げられる。他の抗原の例としては、例えば、ＢＣＭＡ（遺伝子記号ＴＮＦＲＳＦ１７）、Ｂ７Ｈ６（遺伝子記号ＮＣＲ３ＬＧ１）、ＣＡＩＸ（遺伝子記号ＣＡ９）、ＣＤ１２３（遺伝子記号ＩＬ３ＲＡ）、ＣＤ１３８（遺伝子記号ＳＤＣ１）、ＣＤ１７１（遺伝子記号Ｌ１ＣＡＭ）、ＣＤ１９（遺伝子記号ＣＤ１９）、ＣＤ２０（遺伝子記号ＣＤ２０）、ＣＤ２２（遺伝子記号ＣＤ２２）、ＣＤ３０（遺伝子記号ＴＮＦＲＳＦ８）、ＣＤ３３（遺伝子記号ＣＤ３３）、ＣＤ３８（遺伝子記号ＣＤ３８）、ＣＤ４４、スプライス変異体ｉｎｃｌ　７及び８（文献にてｖＸと示される）（遺伝子記号ＣＤ４４）、ＣＥＡ、ＣＳ１（遺伝子記号ＳＬＡＭＦ７）、ＥＧＦＲｖＩＩＩ（遺伝子記号ＥＧＦＲ、ｖＩＩＩ欠失変異体）、ＥＧＰ２、ＥＧＰ４０（遺伝子記号ＥＰＣＡＭ）、Ｅｒｂファミリーメンバー（遺伝子記号ＥＲＢＢ１、ＥＲＢＢ２、ＥＲＢＢ３、ＥＲＢＢ４）、ＦＡＰ（遺伝子記号ＦＡＰ）、胎児性アセチルコリン受容体（遺伝子記号ＡＣｈＲ）、葉酸受容体アルファ（遺伝子記号ＦＯＬＲ１）、葉酸受容体ベータ（遺伝子記号ＦＯＬＲ２）、ＧＤ２、ＧＤ３、ＧＰＣ３（遺伝子記号ＧＰＣ３）、Ｈｅｒ２／ｎｅｕ（遺伝子記号ＥＲＢＢ２）、ＩＬ－１３Ｒａ２（遺伝子記号ＩＬ１３ＲＡ２）、カッパ軽鎖（遺伝子記号ＩＧＫ）、ルイス－Ｙ、メソテリン（遺伝子記号ＭＳＬＮ）、ムチン－１（遺伝子記号ＭＵＣ１）、ムチン－１６（遺伝子記号ＭＵＣ１６）、ＮＫＧ２Ｄリガンド、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）（遺伝子記号ＦＯＬＨ１）、前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）（遺伝子記号ＰＳＣＡ）、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（遺伝子記号ＲＯＲ１）、及び未分化リンパ腫受容体チロシンキナーゼ（遺伝子記号ＡＬＫ）が挙げられる。

【０３５６】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、ＣＡＲの産生を誘導する。ＣＡＲは、いくつかの場合では、抗原と特異的に結合するドメインを含む。かかる抗原の例としては、例えば、腫瘍抗原；癌細胞関連抗原；血液学的悪性疾患抗原；固形腫瘍抗原；細胞表面抗原（例えば、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）により標的とされる細胞表面抗原；細胞内抗原；等が挙げられる。血液学的悪性疾患抗原の例としては、例えば、ＣＤ１９（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ２０（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ２２（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ３０（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ３３（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＣＤ７０（例えば、Ｂ細胞／Ｔ細胞において発現する）、ＣＤ１２３（例えば、骨髄系細胞において発現する）、カッパ（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ルイスＹ（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＮＫＧ２Ｄリガンド（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＲＯＲ１（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＳＬＡＭＦ７／ＣＳ１（例えば、骨髄腫細胞、ナチュラルキラー細胞、Ｔ細胞、及び大半のＢ細胞型において発現する）、ＣＤ１３８（例えば、多発性骨髄腫の悪性形質細胞において発現する）、ＣＤ５６（例えば、骨髄腫細胞、神経細胞、ナチュラルキラー細胞、Ｔ細胞、及び小柱骨芽細胞（ｔｒａｂｅｃｕｌａｒ　ｏｓｔｅｏｂｌａｓｔｓ）において発現する）ＣＤ３８（例えば、Ｂ細胞／Ｔ細胞にいて

発現する）及びＣＤ１６０（例えば、ＮＫ細胞／Ｔ細胞において発現する）等が挙げられる。固形腫瘍抗原の例としては、例えば、Ｂ７Ｈ３（例えば、肉腫、神経膠腫において発現する）、ＣＡＩＸ（例えば、腎臓において発現する）、ＣＤ４４　ｖ６／ｖ７（例えば、子宮頸部において発現する）、ＣＤ１７１（例えば、神経芽細胞腫において発現する）、ＣＥＡ（例えば、結腸において発現する）、ＥＧＦＲｖＩＩＩ（例えば、神経膠腫において発現する）、ＥＧＰ２（例えば、癌腫において発現する）、ＥＧＰ４０（例えば、結腸において発現する）、ＥｐｈＡ２（例えば、神経膠腫、肺において発現する）、ＥｒｂＢ２（ＨＥＲ２）（例えば、乳房、肺、前立腺、神経膠腫において発現する）、ＥｒｂＢ受容体ファミリー（例えば、乳房、肺、前立腺、神経膠腫において発現する）、ＥｒｂＢ３／４（例えば、乳房、卵巣において発現する）、ＨＬＡ－Ａ１／ＭＡＧＥ１（例えば、メラノーマにおいて発現する）、ＨＬＡ－Ａ２／ＮＹ－ＥＳＯ－１（例えば、肉腫、メラノーマにおいて発現する）、ＦＲ－ａ（例えば、卵巣において発現する）、ＦＡＰ†（例えば、癌関連線維芽細胞において発現する）、ＦＡＲ（例えば、横紋筋肉腫において発現する）、ＧＤ２（例えば、神経芽細胞腫、肉腫、メラノーマにおいて発現する）、ＧＤ３（例えば、メラノーマ、肺癌において発現する）、ＨＭＷ－ＭＡＡ（例えば、メラノーマにおいて発現する）、ＩＬ１１Ｒａ（例えば、骨肉腫において発現する）、ＩＬ１３Ｒａ２（例えば、神経膠腫において発現する）、ルイスＹ（例えば、乳房／卵巣／膵臓において発現する）、メソテリン（例えば、中皮腫、乳房、膵臓において発現する）、Ｍｕｃ１（例えば、卵巣、乳房、前立腺において発現する）、ＮＣＡＭ（例えば、神経芽細胞腫、結腸直腸において発現する）、ＮＫＧ２Ｄリガンド（例えば、卵巣、肉腫（ｓａｃｏｍａ）において発現する）、ＰＳＣＡ（例えば、前立腺、膵臓において発現する）、ＰＳＭＡ（例えば、前立腺において発現する）、ＴＡＧ７２（例えば、結腸において発現する）、ＶＥＧＦＲ－２（例えば、腫瘍血管系において発現する）、Ａｘｌ（例えば、肺癌において発現する）、Ｍｅｔ（例えば、肺癌において発現する）、α５β３（例えば、腫瘍血管系において発現する）、α５β１（例えば、腫瘍血管系において発現する）、ＴＲＡＩＬ－Ｒ１／ＴＲＡＩＬ－Ｒ２（例えば、固形腫瘍（結腸、肺、膵臓）及び血液学的悪性疾患において発現する）、ＲＡＮＫＬ（例えば、前立腺癌及び骨転移において発現する）、テネイシン（例えば、神経膠腫、上皮性腫瘍（乳房、前立腺）において発現する）、ＥｐＣＡＭ（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する）、ＣＥＡ（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する）、ｇｐＡ３３（例えば、大腸癌腫において発現する）、ムチン（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺、卵巣）において発現する）、ＴＡＧ－７２（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する）、ＥｐｈＡ３（例えば、肺、腎臓、メラノーマ、神経膠腫、血液学的悪性疾患において発現する）及びＩＧＦ１Ｒ（例えば、肺、乳房、頭頸部、前立腺、甲状腺、神経膠腫において発現する）が挙げられる。表面及び細胞内抗原の例としては、例えば、Ｈｅｒ２（遺伝子記号ＥＲＢＢ２）、ＭＡＧＥ－Ａ１（遺伝子記号ＭＡＧＥＡ１）、ＭＡＲＴ－１（遺伝子記号ＭＬＡＮＡ）、ＮＹ－ＥＳＯ（遺伝子記号ＣＴＡＧ１）、ＷＴ１（遺伝子記号ＷＴ１）、ＭＵＣ１７及びＭＵＣ１３が挙げられる。他の抗原の例としては、例えば、ＢＣＭＡ（遺伝子記号ＴＮＦＲＳＦ１７）、Ｂ７Ｈ６（遺伝子記号ＮＣＲ３ＬＧ１）、ＣＡＩＸ（遺伝子記号ＣＡ９）、ＣＤ１２３（遺伝子記号ＩＬ３ＲＡ）、ＣＤ１３８（遺伝子記号ＳＤＣ１）、ＣＤ１７１（遺伝子記号Ｌ１ＣＡＭ）、ＣＤ１９（遺伝子記号ＣＤ１９）、ＣＤ２０（遺伝子記号ＣＤ２０）、ＣＤ２２（遺伝子記号ＣＤ２２）、ＣＤ３０（遺伝子記号ＴＮＦＲＳＦ８）、ＣＤ３３（遺伝子記号ＣＤ３３）、ＣＤ３８（遺伝子記号ＣＤ３８）、ＣＤ４４、スプライス変異体ｉｎｃｌ　７及び８（文献にてｖＸと示される）（遺伝子記号ＣＤ４４）、ＣＥＡ、ＣＳ１（遺伝子記号ＳＬＡＭＦ７）、ＥＧＦＲｖＩＩＩ（遺伝子記号ＥＧＦＲ、ｖＩＩＩ欠失変異体）、ＥＧＰ２、ＥＧＰ４０（遺伝子記号ＥＰＣＡＭ）、Ｅｒｂファミリーメンバー（遺伝子記号ＥＲＢＢ１、ＥＲＢＢ２、ＥＲＢＢ３、ＥＲＢＢ４）、ＦＡＰ（遺伝子記号ＦＡＰ）、胎児性アセチルコリン受容体（遺伝子記号ＡＣｈＲ）、葉酸受容体アルファ（遺伝子記号ＦＯＬＲ１）、葉酸受容体ベータ（遺伝子記号ＦＯＬＲ２）、ＧＤ２、ＧＤ３、ＧＰＣ３（遺伝子記号ＧＰＣ３）、Ｈｅｒ２／ｎｅｕ（遺伝

子記号ＥＲＢＢ２）、ＩＬ－１３Ｒａ２（遺伝子記号ＩＬ１３ＲＡ２）、カッパ軽鎖（遺伝子記号ＩＧＫ）、ルイス－Ｙ、メソテリン（遺伝子記号ＭＳＬＮ）、ムチン－１（遺伝子記号ＭＵＣ１）、ムチン－１６（遺伝子記号ＭＵＣ１６）、ＮＫＧ２Ｄリガンド、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）（遺伝子記号ＦＯＬＨ１）、前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）（遺伝子記号ＰＳＣＡ）、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（遺伝子記号ＲＯＲ１）、及び未分化リンパ腫受容体チロシンキナーゼ（遺伝子記号ＡＬＫ）が挙げられる。

【０３５７】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド（例えば、第一のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチド）の細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、第二のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの産生を誘導する。第二のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドは、いくつかの場合では、抗原と特異的に結合するドメインを含む。かかる抗原の例としては、例えば、腫瘍抗原；癌細胞関連抗原；血液学的悪性疾患抗原；固形腫瘍抗原；細胞表面抗原（例えば、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）により標的とされる細胞表面抗原；細胞内抗原；等が挙げられる。血液学的悪性疾患抗原の例としては、例えば、ＣＤ１９（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ２０（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ２２（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ３０（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ３３（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＣＤ７０（例えば、Ｂ細胞／Ｔ細胞において発現する）、ＣＤ１２３（例えば、骨髄系細胞において発現する）、カッパ（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ルイスＹ（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＮＫＧ２Ｄリガンド（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＲＯＲ１（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＳＬＡＭＦ７／ＣＳ１（例えば、骨髄腫細胞、ナチュラルキラー細胞、Ｔ細胞、及び大半のＢ細胞型において発現する）、ＣＤ１３８（例えば、多発性骨髄腫の悪性形質細胞において発現する）、ＣＤ５６（例えば、骨髄腫細胞、神経細胞、ナチュラルキラー細胞、Ｔ細胞、及び小柱骨芽細胞（ｔｒａｂｅｃｕｌａｒ　ｏｓｔｅｏｂｌａｓｔｓ）において発現する）ＣＤ３８（例えば、Ｂ細胞／Ｔ細胞にいて発現する）及びＣＤ１６０（例えば、ＮＫ細胞／Ｔ細胞において発現する）等が挙げられる。固形腫瘍抗原の例としては、例えば、Ｂ７Ｈ３（例えば、肉腫、神経膠腫において発現する）、ＣＡＩＸ（例えば、腎臓において発現する）、ＣＤ４４　ｖ６／ｖ７（例えば、子宮頸部において発現する）、ＣＤ１７１（例えば、神経芽細胞腫において発現する）、ＣＥＡ（例えば、結腸において発現する）、ＥＧＦＲｖＩＩＩ（例えば、神経膠腫において発現する）、ＥＧＰ２（例えば、癌腫において発現する）、ＥＧＰ４０（例えば、結腸において発現する）、ＥｐｈＡ２（例えば、神経膠腫、肺において発現する）、ＥｒｂＢ２（ＨＥＲ２）（例えば、乳房、肺、前立腺、神経膠腫において発現する）、ＥｒｂＢ受容体ファミリー（例えば、乳房、肺、前立腺、神経膠腫において発現する）、ＥｒｂＢ３／４（例えば、乳房、卵巣において発現する）、ＨＬＡ－Ａ１／ＭＡＧＥ１（例えば、メラノーマにおいて発現する）、ＨＬＡ－Ａ２／ＮＹ－ＥＳＯ－１（例えば、肉腫、メラノーマにおいて発現する）、ＦＲ－ａ（例えば、卵巣において発現する）、ＦＡＰ†（例えば、癌関連線維芽細胞において発現する）、ＦＡＲ（例えば、横紋筋肉腫において発現する）、ＧＤ２（例えば、神経芽細胞腫、肉腫、メラノーマにおいて発現する）、ＧＤ３（例えば、メラノーマ、肺癌において発現する）、ＨＭＷ－ＭＡＡ（例えば、メラノーマにおいて発現する）、ＩＬ１１Ｒａ（例えば、骨肉腫において発現する）、ＩＬ１３Ｒａ２（例えば、神経膠腫において発現する）、ルイスＹ（例えば、乳房／卵巣／膵臓において発現する）、メソテリン（例えば、中皮腫、乳房、膵臓において発現する）、Ｍｕｃ１（例えば、卵巣、乳房、前立腺において発現する）、ＮＣＡＭ（例えば、神経芽細胞腫、結腸直腸において発現する）、ＮＫＧ２Ｄリガンド（例えば、卵巣、肉腫（ｓａｃｏｍａ）において発現する）、ＰＳＣＡ（例えば、前立腺、膵臓において発現する）、ＰＳＭＡ（例えば、前立腺において発現する）、ＴＡＧ７２（例えば、結腸において発現する）、ＶＥＧＦＲ－２（例えば、腫瘍血管系において発現する）、Ａｘ

ｌ（例えば、肺癌において発現する）、Ｍｅｔ（例えば、肺癌において発現する）、α５β３（例えば、腫瘍血管系において発現する）、α５β１（例えば、腫瘍血管系において発現する）、ＴＲＡＩＬ－Ｒ１／ＴＲＡＩＬ－Ｒ２（例えば、固形腫瘍（結腸、肺、膵臓）及び血液学的悪性疾患において発現する）、ＲＡＮＫＬ（例えば、前立腺癌及び骨転移において発現する）、テネイシン（例えば、神経膠腫、上皮性腫瘍（乳房、前立腺）において発現する）、ＥｐＣＡＭ（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する）、ＣＥＡ（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する）、ｇｐＡ３３（例えば、大腸癌腫において発現する）、ムチン（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺、卵巣）において発現する）、ＴＡＧ－７２（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する）、ＥｐｈＡ３（例えば、肺、腎臓、メラノーマ、神経膠腫、血液学的悪性疾患において発現する）及びＩＧＦ１Ｒ（例えば、肺、乳房、頭頸部、前立腺、甲状腺、神経膠腫において発現する）が挙げられる。表面及び細胞内抗原の例としては、例えば、Ｈｅｒ２（遺伝子記号ＥＲＢＢ２）、ＭＡＧＥ－Ａ１（遺伝子記号ＭＡＧＥＡ１）、ＭＡＲＴ－１（遺伝子記号ＭＬＡＮＡ）、ＮＹ－ＥＳＯ（遺伝子記号ＣＴＡＧ１）、ＷＴ１（遺伝子記号ＷＴ１）、ＭＵＣ１７及びＭＵＣ１３が挙げられる。他の抗原の例としては、例えば、ＢＣＭＡ（遺伝子記号ＴＮＦＲＳＦ１７）、Ｂ７Ｈ６（遺伝子記号ＮＣＲ３ＬＧ１）、ＣＡＩＸ（遺伝子記号ＣＡ９）、ＣＤ１２３（遺伝子記号ＩＬ３ＲＡ）、ＣＤ１３８（遺伝子記号ＳＤＣ１）、ＣＤ１７１（遺伝子記号Ｌ１ＣＡＭ）、ＣＤ１９（遺伝子記号ＣＤ１９）、ＣＤ２０（遺伝子記号ＣＤ２０）、ＣＤ２２（遺伝子記号ＣＤ２２）、ＣＤ３０（遺伝子記号ＴＮＦＲＳＦ８）、ＣＤ３３（遺伝子記号ＣＤ３３）、ＣＤ３８（遺伝子記号ＣＤ３８）、ＣＤ４４、スプライス変異体ｉｎｃｌ　７及び８（文献にてｖＸと示される）（遺伝子記号ＣＤ４４）、ＣＥＡ、ＣＳ１（遺伝子記号ＳＬＡＭＦ７）、ＥＧＦＲｖＩＩＩ（遺伝子記号ＥＧＦＲ、ｖＩＩＩ欠失変異体）、ＥＧＰ２、ＥＧＰ４０（遺伝子記号ＥＰＣＡＭ）、Ｅｒｂファミリーメンバー（遺伝子記号ＥＲＢＢ１、ＥＲＢＢ２、ＥＲＢＢ３、ＥＲＢＢ４）、ＦＡＰ（遺伝子記号ＦＡＰ）、胎児性アセチルコリン受容体（遺伝子記号ＡＣｈＲ）、葉酸受容体アルファ（遺伝子記号ＦＯＬＲ１）、葉酸受容体ベータ（遺伝子記号ＦＯＬＲ２）、ＧＤ２、ＧＤ３、ＧＰＣ３（遺伝子記号ＧＰＣ３）、Ｈｅｒ２／ｎｅｕ（遺伝子記号ＥＲＢＢ２）、ＩＬ－１３Ｒａ２（遺伝子記号ＩＬ１３ＲＡ２）、カッパ軽鎖（遺伝子記号ＩＧＫ）、ルイス－Ｙ、メソテリン（遺伝子記号ＭＳＬＮ）、ムチン－１（遺伝子記号ＭＵＣ１）、ムチン－１６（遺伝子記号ＭＵＣ１６）、ＮＫＧ２Ｄリガンド、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）（遺伝子記号ＦＯＬＨ１）、前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）（遺伝子記号ＰＳＣＡ）、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（遺伝子記号ＲＯＲ１）、及び未分化リンパ腫受容体チロシンキナーゼ（遺伝子記号ＡＬＫ）が挙げられる。いくつかの場合では、第一のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチド及び第二のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドは、２つの異なる抗原と特異的に結合する。

【０３５８】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるとき、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、ＴＡＮＧＯポリペプチドの産生を誘導する。

【０３５９】

本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインが、特異的結合対の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に放出されるときに、本明細書に記載のような様々なポリペプチドの発現を誘導し得るため、いくつかの例では、２つ以上のポリペプチドの誘導された発現は、論理ゲート使用回路を生成し得る。かかる論理ゲート使用回路は、例えば、「ＡＮＤゲート」、「ＯＲゲート」、「ＮＯＴゲート」及びそれらの組み合わせを含んでよいがこれらに限定されず、これには、例えば、高次ＡＮＤゲート、高次ＯＲゲート、高次ＮＯＴゲート、高次組み合わせゲート（すなわち、ＡＮＤ、ＯＲ、及び／またはＮＯＴゲートのいくつかの組み合わせを使用するゲート）を含む、例えば、高次ゲートが含まれる。

【０３６０】
本開示の「ＡＮＤ」ゲートは、２つ以上の入力がシグナルの伝播に必要とされる場合を含む。例えば、いくつかの例では、ＡＮＤゲートは、２つの入力、例えば、２つの抗原が２つ以上の結合誘発型転写スイッチまたはその部分を通したシグナル伝達のために必要とされる場合に、２つ以上の結合誘発型転写スイッチまたはその部分を通したシグナル伝達を可能にする。
【０３６１】
本開示の「ＯＲ」ゲートは、２つ以上の入力のいずれかがシグナルの伝播を可能にし得る場合を含まれる。例えば、いくつかの例では、ＯＲゲートは、任意の１つの入力、例えば、２つの抗原のいずれかが、２つ以上の結合誘発型転写スイッチまたはその部分のシグナル伝達出力を誘導し得る場合に、２つ以上の結合誘発型転写スイッチまたはその部分を通したシグナル伝達を可能にする。
【０３６２】
本開示の「ＮＯＴ」ゲートは、１つの入力がシグナルの伝播を防ぐことができる場合を含む。例えば、いくつかの例では、ＮＯＴゲートは、結合誘発型転写スイッチを通したシグナル伝達を阻害する。一実施形態では、ＮＯＴゲートは、結合相互作用の阻害を含んでよい。例えば、分割結合誘発型転写スイッチの一部の結合を防ぐ競合阻害因子は、結合誘発型転写スイッチを通したシグナル伝達を防ぐＮＯＴゲートとして機能してよい。別の実施形態では、ＮＯＴゲートは、回路の要素の機能的な阻害を含んでよい。例えば、結合誘発型転写スイッチを通したシグナル伝達または結合誘発型転写スイッチを通したシグナル伝達の結果を機能的に防ぐ阻害因子は、本明細書に記載のような分子回路のＮＯＴゲートとして機能してよい。一例として、阻害因子ドメイン、例えば、阻害性ＰＤ－１ドメインは、ＮＯＴゲートとして機能して、例えば、細胞活性化をもたらす、結合誘発型転写スイッチを通したシグナル伝達を防ぎ得る。
【０３６３】
多入力ゲートは、ＮＯＴゲート（例えば、特定の負の抗原）を活性化するシグナルが存在するとき及び／または場合、様々な異なる方法でＮＯＴゲートを活用して、回路のいくつかの他の構成要素を通したシグナル伝達を防ぎ得る、または細胞反応を遮断し得る。例えば、ＡＮＤ＋ＮＯＴゲートは、第一の抗原の存在下で特定の細胞の活性に正の影響を及ぼす結合誘発型スイッチ及び第二の抗原の存在下で細胞の活性に負の影響を及ぼす結合誘発型スイッチを含んでよい。
【０３６４】
一実施形態では、抗原Ａ及びＸの存在下でＣＡＲが活性となるように、抗原Ａに応答する第一の結合誘発型転写スイッチは抗原Ｘに応答するＣＡＲの発現を誘発し、これがＴ細胞活性化をもたらす（図１３６を参照されたい）。回路は、抗原Ｂの存在下で、（例えば、阻害性細胞内ドメイン（例えば、ＰＤ－１、ＣＬＴＡ４、ＣＤ４５等を通して）ＣＡＲを抑制し、Ｔ細胞活性化を防ぐ、第二の結合誘発型転写スイッチをさらに含む（図１３６）。それゆえ、３つの入力ＡＮＤ＋ＮＯＴゲートの記載された実施形態では、抗原Ａ及びＸが存在し、抗原Ｂが存在しないときにのみ、Ｔ細胞活性化の細胞の活性が誘導される。
【０３６５】
いくつかの例では、高次多入力ゲートは、ＮＯＴゲート機能を含む。例えば、活性化が、所望の細胞の活性を誘導するためにＡＮＤゲートでの分割転写因子の２つのパーツの発現に依存する回路では、ＮＯＴ機能性が、例えば、分割転写因子の活性を抑制するために、採用されてよい。
【０３６６】
一実施形態では、抗原Ａに応答する第一のＳｙｎＮｏｔｃｈは、抗原Ａの存在下で分割転写因子の第一部の発現を誘導するまたはそれを放出し、抗原Ｂに応答する第二のＳｙｎＮｏｔｃｈは、抗原Ｂの存在下で分割転写因子の第二部の発現を誘導するまたはそれを放出し、したがって分割転写因子の第一及び第二部が存在するとき、及び／または遊離しているとき、転写因子は何らかの下流活性、例えば、抗原Ｄに応答するＣＡＲの発現を活性

化する（図１３７を参照されたい）。かかる実施形態では、回路は、ＮＯＴ機能性を、例えば、抗原Ｃに応答する第三のＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体の形態で含んでよく、これは、抗原Ｃの存在下で分割転写因子のドミナントネガティブ阻害因子を誘導するまたは放出する。転写因子の任意の好都合なドミナントネガティブ阻害因子は、例えば、２つのパーツが機能的な転写因子（例えば、相互作用ドメイン）を形成するために必要とされるドメインを欠く分割転写因子の一部を含むが、これらに限定されない、かかるＮＯＴ機能性において使用されてよい。それゆえ、ＮＯＴ機能性を伴う多入力ゲートの記載した実施形態（図１３７）では、抗原Ａ、Ｂ及びＤが存在し、抗原Ｃが存在しないときにのみ、ＣＡＲの細胞の活性、例えば、Ｔ細胞活性化が誘導される。

【０３６７】

別の実施形態では、抗原Ａに応答する第一のＳｙｎＮｏｔｃｈは、抗原Ｘに応答する分割ＣＡＲの第一部の発現を誘導し、抗原Ｂに応答する第二のＳｙｎＮｏｔｃｈは、抗原Ｘに応答する分割ＣＡＲの第二部の発現を誘導し、したがって抗原Ａ及びＢが存在するときに、分割ＣＡＲのこれらの２つのパーツが抗原Ｘに応答する機能的なＣＡＲを形成し、これが抗原Ｘの存在下でＴ細胞活性化をもたらす（図１３８を参照されたい）。このような回路は、抗原Ｃの存在下で細胞内阻害ドメインが発現されるまたは放出されるように、抗原Ｃに応答する第三のＳｙｎＮｏｔｃｈの形態でＮＯＴ機能性をさらに含んでよく、これが分割ＣＡＲからのＴ細胞活性化を阻害する（図１３８を参照されたい）。それゆえ、ＮＯＴ機能性を有する４つの入力ゲートの記載された実施形態（図１３８）では、抗原Ａ、Ｂ及びＸが存在し、抗原Ｃが存在しないときにのみ、ゲートの細胞の活性、例えば、分割ＣＡＲを通したＴ細胞活性化が誘導される。

【０３６８】

いくつかの例では、２つの入力ゲート使用回路は、そのそれぞれの抗原により特異的に結合されるときに、分割ＣＡＲの一部の発現を誘導する、第一のＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドを含んでよい。いくつかの例では、本開示の細胞は、分割ＣＡＲの第一部を構成的に発現し得、ゆえに、分割ＣＡＲの第二部の発現が誘導される際に、分割ＣＡＲは、存在する場合その抗原に応答するようになる。分割ＣＡＲの第二部の発現に関する必要性は、いくつかの例では、分割ＣＡＲの第二部の発現が、分割ＣＡＲが応答する抗原に応答するためのシステムをプライムするように「プライミング」と称されてよい。

【０３６９】

かかる２つの抗原ゲート使用回路の構成は変動してよい。いくつかの例では、第一の抗原（すなわち、抗原Ａ）に応答するＳｙｎＮｏｔｃｈは、第二の抗原（すなわち、抗原Ｘ）に応答する抗原認識ドメインを含有する分割ＣＡＲの一部の発現を誘導する（例えば、図１３０を参照されたい）。かかる構成では、分割ＣＡＲは、ＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドにより誘導される分割ＣＡＲの一部の発現により細胞がプライムされるまで、抗原Ｘを認識しない。従って、抗原Ａ及び抗原Ｘの両方の存在が、Ｔ細胞活性化に必要とされる。

【０３７０】

いくつかの例では、第一の抗原（すなわち、抗原Ａ）に応答するＳｙｎＮｏｔｃｈは、Ｔ細胞活性化のために必要な１つまたは複数の細胞内成分を含有する、第二の抗原（すなわち、抗原Ｘ）に応答する、分割ＣＡＲの一部の発現を誘導する（例えば、図１３１を参照されたい）。かかる構成では、分割ＣＡＲは、プライミングの前に抗原Ｘを認識するが、抗原Ａの不在下では、抗原Ｘの結合は、Ｔ細胞活性化を誘導するように伝播されない。しかしながら、ＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドにより誘導される分割ＣＡＲの一部が発現されるとき、抗原Ｘの結合は、伝播されてＴ細胞活性化をもたらす。従って、抗原Ａ及び抗原Ｘの両方の存在が、Ｔ細胞活性化に必要とされる。

【０３７１】

いくつかの例では、３つの入力ＡＮＤゲートは、それらのそれぞれの第一及び第二の抗原により特異的に結合されるとき、第三の抗原の結合の際に活性化される第三の抗原応答性ポリペプチドの発現を誘導する、２つのＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドを含んでよい。

例えば、一実施形態では、３つの入力ＡＮＤゲートは、第一の抗原に応答する第一のＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチド及び第二の抗原に応答する第二のＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドを含んでよく、第一及び第二のＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドは、第三の抗原に応答する分割ＣＡＲの第一及び第二部の発現を誘導する。ゆえに、第一及び第二の抗原（すなわち、抗原Ａ及びＢ）の存在下で、分割ＣＡＲの第一及び第二部は発現され、第三の抗原（すなわち、抗原Ｃ）の存在下で、分割ＣＡＲはＴ細胞を活性化し、そこでそれは発現される。（図１３２を参照されたい）。抗原Ａ及び抗原Ｂを認識する２つのＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドが、抗原Ｘを認識する分割ＣＡＲの一部の発現を誘導する場合の、３つの抗原ゲーティングシステムのさらなる概略図を図１３３に示す。かかるシステムでは、抗原Ａ、Ｂ及びＸが、Ｔ細胞活性化に必要とされる。

【０３７２】

いくつかの例では、４つの入力ＡＮＤゲートは、それらのそれぞれの第一、第二及び第三の抗原により特異的に結合されるとき、第四の抗原の結合の際に活性化される第四の抗原応答性ポリペプチドの発現を、直接的または間接的に誘導する、３つのＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドを含んでよい。例えば、一実施形態では、４つの入力ＡＮＤゲートは、第一の抗原に応答する第一のＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチド、第二の抗原に応答する第二のＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチド及び第三の抗原に応答する第三のＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドを含んでよく、第一のＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドは、第四の抗原に応答する分割ＣＡＲの第一部の発現を誘導し、第二及び第三のＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドは、両部分が存在するときに、第四の抗原に応答する分割ＣＡＲの第二部の発現を誘導する、転写因子の第一及び第二部の発現を誘導する。これは、第一、第二及び第三の抗原（すなわち、抗原Ａ、Ｂ及びＣ）の存在下で、分割ＣＡＲの第一及び第二部は発現され、第四の抗原（すなわち、抗原Ｄ）の存在下で、分割ＣＡＲは、Ｔ細胞を活性化し、そこでそれは発現される（図１３４を参照されたい）。

【０３７３】

いくつかの例では、５つの入力ＡＮＤゲートは、それらのそれぞれの第一、第二、第三及び第四の抗原により特異的に結合されるときに、第五の抗原の結合の際に活性化される第五の抗原応答性ポリペプチドの発現を誘導する、４つのＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドを含んでよい。例えば、一実施形態では、５つの入力ＡＮＤゲートは、分割ＣＡＲの第一部の発現を、両部分が存在するときに誘導する第一の転写因子の第一及び第二部の発現を誘導する、第一及び第二の抗原に応答する第一及び第二のＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチド、ならびに、第五の抗原に応答する分割ＣＡＲの第二部の発現を、両部分が存在するときに誘導する第二の転写因子の第一及び第二部の発現を誘導する、第三及び第四の抗原に応答する第三及び第四のＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドを含んでよい。ゆえに、第一の、第二、第三及び第四の抗原（すなわち、抗原Ａ、Ｂ、Ｃ及びＤ）の存在下で、分割ＣＡＲの第一及び第二部が発現され、第五の抗原（すなわち、抗原Ｅ）の存在下で、分割ＣＡＲは、Ｔ細胞を活性化し、そこでそれは活性化される（図１３５を参照されたい）。

【０３７４】

例えば、論理ゲート使用ＳｙｎＮｏｔｃｈ回路のように、分割転写因子を活用する場合、転写因子またはその部分は、このシステムの他の発現カセット、例えば、ＳｙｎＮｏｔｃｈまたはその部分をコードする配列、ＣＡＲまたはその部分をコードする配列等を含有する発現カセットとは別の発現カセットから細胞内で発現され得る。転写因子またはその部分、例えば、分割転写因子の部分が、回路の他の構成要素とは別の発現カセットに含有される場合、転写因子発現カセットは、転写因子またはその部分をコードする配列、及び、例えば、プロモーター、エンハンサー等を含むその発現に必要な配列エレメントのみを含有し得る。別々の転写因子またはその部分は、例えば、レポーターをコードする配列、タグをコードする配列等を含む、転写の発現または機能を物質的に影響しないさらなるエレメントを含有してもしなくてもよい。

【０３７５】

他の例では、例えば、論理ゲート使用ＳｙｎＮｏｔｃｈ回路のように、分割転写因子を

活用する場合、転写因子またはその部分は、システムの他の構成要素と共有された発現カセット、例えば、ＳｙｎＮｏｔｃｈまたはその部分をコードする発現カセット、ＣＡＲまたはその部分をコードする発現カセット等から細胞内で発現され得る。システムの他の構成要素と共有された発現カセット上に存在する転写因子またはその部分をコードする配列は、独立して制御されてよい、すなわち、カセットの他のシステムエレメントとは別の発現制御エレメント（すなわち、プロモーター、エンハンサー等）を含有してよい、または発現カセットの他のシステムエレメントと同時に制御されてよい、すなわち、転写因子及び他のシステムエレメントの１つまたは複数は、同一の発現制御エレメントから制御される。転写因子またはその部分をコードする配列が、発現カセットの他のシステムエレメントと同時に制御される場合、転写因子またはその部分は、他のシステムエレメントの１つまたは複数に付着するようにコードされてよい。

【０３７６】

ある特定の実施形態では、結合誘発型転写スイッチをコードする核酸は、結合誘発型転写スイッチの活性化の際に、分割転写因子の部分が放出され、分割転写因子の１つまたは複数の他の部分と複合体形成するために利用可能となって、機能的な転写因子を形成するように、結合誘発型転写スイッチの１つまたは複数のドメインに作動可能に連結した分割転写因子の一部分をコードするように構成される。

【０３７７】

従って、１つまたは複数の結合誘発型転写スイッチの活性化は、分割転写因子の部分の発現を誘導してよく、これは、分割転写因子部分のヘテロ二量体化及び／または複合体形成をもたらし、これが、機能的な転写因子の形成をもたらす。あるいは、１つまたは複数の結合誘発型転写スイッチの活性化は、１つまたは複数の結合誘発型転写スイッチからの分割転写因子部分の放出をもたらしてよく、これは、分割転写因子部分のヘテロ二量体化及び／または複合体形成をもたらし、これが、機能的な転写因子の形成をもたらす。加えて、分割転写因子部分の誘導及び放出は組み合わされてよく、例えば、１つまたは複数の結合誘発型転写スイッチの活性化が、分割転写因子の部分の発現及び１つまたは複数の結合誘発型転写スイッチからの分割転写因子部分の放出を誘導してよく、これが分割転写因子部分のヘテロ二量体化及び／または複合体形成をもたらし、これが機能的な転写因子の形成をもたらす場合である。

【０３７８】

本開示の論理ゲート使用システムは、具体的に記載したものに限定されず、代替となる構成及び／または記載されたものよりも高次のゲートを含んでよい。例えば、いくつかの例では、本開示の論理ゲート使用システムは、２つの入力ゲート、３つの入力ゲート、４つの入力ゲート、５つの入力ゲート、６つの入力ゲート、７つの入力ゲート、８つの入力ゲート、９つの入力ゲート、１０の入力ゲートまたはそれ以上であってよい。さらには、本開示の論理ゲート使用システムの構成要素は、さらなる回路構成要素の発現の誘導のためのＳｙｎＮｏｔｃｈに限定されず、例えば、他の結合誘発型転写スイッチを含んでよく、これには例えば、本明細書に記載のものが含まれるが、これらに限定されない。加えて、前述の例を記載する一方で、簡潔性のために、分割ＣＡＲのパーツの発現の誘導に関して、例えば、分割ＳｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドを含むが、これらに限定されない、他の分割分子が、本開示の論理ゲート使用回路において使用されてよい。

【０３７９】

本開示は、以下を含む、標的細胞の活性を調節する方法を提供する：

ａ）標的細胞において本開示の第一のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドを発現させること、ここで、第一のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドは、可溶性アダプター分子（例えば、抗原）上の第一のエピトープと結合する抗原結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ、ナノボディ等）を含む；

ｂ）標的細胞と、

ｉ）本開示の第二のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する第二の細胞、ここで、第二のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドは、可溶性アダプター分子（例えば、抗原）上の第

二のエピトープと結合する抗原結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ、ナノボディ等）を含む；及び

ｉｉ）可溶性アダプター分子（例えば、抗原）

を接触させること、ここで、第一のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの抗原結合ドメイン及び第二のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの抗原結合ドメインの、可溶性アダプター分子（例えば、抗原）への結合が、第一のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの細胞内ドメインの切断を誘導し、それにより、細胞内ドメインが放出され、放出された細胞内ドメインが標的細胞の活性を調節する。標的細胞の活性は、細胞の遺伝子産物の発現、細胞の増殖、細胞のアポトーシス、細胞の非アポトーシス性死、細胞の分化、細胞の脱分化、細胞の遊走、細胞からの分子の分泌及び細胞の細胞接着からなる群より選択されることができる。アダプター分子は、癌関連抗原、病原体関連抗原、抗体等であることができる。

【０３８０】

追加の配列

本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数の追加のポリペプチドをさらに含むことができ、ここで、好適な追加のポリペプチドには、シグナル配列；エピトープタグ；親和性ドメイン；核局在化シグナル（ＮＬＳ）；及び検出可能シグナルを産生するポリペプチドが含まれるが、これらに限定されない。

【０３８１】

シグナル配列

本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドにおける使用に好適なシグナル配列には、天然に存在するシグナル配列、合成の（例えば、人工）シグナル配列等を含む任意の真核生物シグナル配列が含まれる。

【０３８２】

エピトープタグ

好適なエピトープタグには、

ヘマグルチニン (HA; 例えば

YPYDVPDYA (SEQ ID NO:73); FLAG (例えば DYKDDDDK (SEQ ID NO:74); c-myc (例えば

EQKLISEEDL; SEQ ID NO:75)

等が含まれるが、これらに限定されない。

【０３８３】

親和性ドメイン

親和性ドメインは、結合パートナーと相互作用することができるペプチド配列、例えば、同定または精製に有用な、固体支持体の上に固定されたものなどを含む。複数の連続する単一のアミノ酸、例えば、ヒスチジンは、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドに融合したとき、ニッケルセファロースなどの樹脂カラムへの高親和性結合による組換えキメラポリペプチドのワンステップ精製のために使用されてよい。例示的な親和性ドメインには、

His5 (HHHHH) (SEQ ID NO:76), HisX6 (HHHHHH)

(SEQ ID NO:77), C-myc (EQKLISEEDL) (SEQ ID NO:75), Flag (DYKDDDDK) (SEQ ID

NO:74), StrepTag (WSHPQFEK) (SEQ ID NO:78)

、ヘマグルチニン、例えば、ＨＡタグ

(YPYDVPDYA) (SEQ ID NO:73)

、ＧＳＴ、チオレドキシン、セルロース結合ドメイン、ＲＹＩＲＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７９）、Ｐｈｅ－Ｈｉｓ－Ｈｉｓ－Ｔｈｒ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：８０）、キチン結合ドメイン、Ｓ－ペプチド、Ｔ７ペプチド、ＳＨ２ドメイン、Ｃ末端ＲＮＡタグ、

WEAAAREACCRECCARA (SEQ ID NO:81)

、金属結合ドメイン、例えば、亜鉛結合ドメインまたはカルシウム結合ドメイン、例えばカルシウム結合タンパク質からのもの、例えば、カルモジュリン、トロポニンＣ、カルシ

ニューリンＢ、ミオシン軽鎖、リカバリン、Ｓ－モジュリン、ビシニン、ＶＩＬＩＰ、ニューロカルシン、ヒポカルシン、フリクエニン、カルトラクチン、カルパイン大サブユニット、Ｓ１００タンパク質、パルブアルブミン、カルビンディンＤ９Ｋ、カルビンディンＤ２８Ｋ、及びカルレチニン、インテイン、ビオチン、ストレプトアビジン、ＭｙｏＤ、Ｉｄ、ロイシンジッパー配列、並びにマルトース結合タンパク質が含まれる。

【０３８４】

核局在化配列

好適な核局在化シグナル（「ＮＬＳ」；本明細書で「核局在化配列」とも称される）には、例えば、

PKKKRKV (SEQ ID NO:82);

KRPAATKKAGQAKKKK (SEQ ID NO:83); MVPKKKRK (SEQ ID NO:84);

MAPKKKRKVGIHGVPAA (SEQ ID NO:85)

等が含まれる。ＮＬＳは、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのＮ末端；本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのＮ末端付近（例えば、Ｎ末端の５アミノ酸以内、１０アミノ酸以内、または２０アミノ酸以内）；本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのＣ末端；本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのＣ末端付近（例えば、Ｃ末端の５アミノ酸以内、１０アミノ酸以内、または２０アミノ酸以内）；または本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの内部に存在することができる。

【０３８５】

検出可能シグナル産生ポリペプチド

好適な検出可能シグナル産生タンパク質には、例えば、蛍光タンパク質；検出可能シグナルを産物として生成する反応を触媒する酵素；等が含まれる。

【０３８６】

好適な蛍光タンパク質には、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）またはその変異体、ＧＦＰの青色蛍光変異体（ＢＦＰ）、ＧＦＰのシアン蛍光変異体（ＣＦＰ）、ＧＦＰの黄色蛍光変異体（ＹＦＰ）、強化ＧＦＰ（ＥＧＦＰ）、強化ＣＦＰ（ＥＣＦＰ）、強化ＹＦＰ（ＥＹＦＰ）、ＧＦＰＳ６５Ｔ、エメラルド、トパーズ（ＴＹＦＰ）、ビーナス、シトリン、ｍＣｉｔｒｉｎｅ、ＧＦＰｕｖ、不安定化ＥＧＦＰ（ｄＥＧＦＰ）、不安定化ＥＣＦＰ（ｄＥＣＦＰ）、不安定化ＥＹＦＰ（ｄＥＹＦＰ）、ｍＣＦＰｍ、セルリアン、Ｔ－Ｓａｐｐｈｉｒｅ、ＣｙＰｅｔ、ＹＰｅｔ、ｍＫＯ、ＨｃＲｅｄ、ｔ－ＨｃＲｅｄ、ＤｓＲｅｄ、ＤｓＲｅｄ２、ＤｓＲｅｄ－ｍｏｎｏｍｅｒ、Ｊ－Ｒｅｄ、ｄｉｍｅｒ２、ｔ－ｄｉｍｅｒ２（１２）、ｍＲＦＰ１、ポシロポリン、ウミシイタケＧＦＰ、モンスターＧＦＰ、ｐａＧＦＰ、カエデタンパク質及びキンドリングタンパク質、フィコビリタンパク質及びフィコビリタンパク質コンジュゲート、例えば、Ｂ－フィコエリトリン、Ｒ－フィコエリトリン及びアロフィコシアニンが含まれるが、これらに限定されない。蛍光タンパク質の他の例としては、ｍＨｏｎｅｙｄｅｗ、ｍＢａｎａｎａ、ｍＯｒａｎｇｅ、ｄＴｏｍａｔｏ、ｔｄＴｏｍａｔｏ、ｍＴａｎｇｅｒｉｎｅ、ｍＳｔｒａｗｂｅｒｒｙ、ｍＣｈｅｒｒｙ、ｍＧｒａｐｅ１、ｍＲａｓｐｂｅｒｒｙ、ｍＧｒａｐｅ２、ｍＰｌｕｍ（Ｓｈａｎｅｒ ｅｔ ａｌ．（２００５）Ｎａｔ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２：９０５－９０９）等が挙げられる。例えば、Ｍａｔｚ ｅｔ ａｌ．（１９９９）Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１７：９６９－９７３に記載のような、花虫類種由来の様々な蛍光及び有色タンパク質のいずれかが使用に好適である。

【０３８７】

好適な酵素には、ホースラディッシュペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）、アルカリホスファターゼ（ＡＰ）、ベーターガラクトシダーゼ（ＧＡＬ）、グルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ、ベーターＮ－アセチルグルコサミニダーゼ、β－グルクロニダーゼ、インベルターゼ、キサンチンオキシダーゼ、ホタルルシフェラーゼ、グルコースオキシダーゼ（ＧＯ）等が含まれるが、これらに限定されない。

【０３８８】

特異的結合対の第二のメンバーの例

上記の通り、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドの特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出される。上記の通り、特異的結合対の第二のメンバーは、様々な分子のいずれかであることができる。いくつかの場合では、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドは、抗原と特異的に結合する；例えば、特異的結合対の第二のメンバーは、抗原である。かかる抗原の例としては、例えば、腫瘍抗原；癌細胞関連抗原；血液学的悪性疾患抗原；固形腫瘍抗原；細胞表面抗原（例えば、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）により標的とされる細胞表面抗原；細胞内抗原；等が挙げられる。血液学的悪性疾患抗原の例としては、例えば、ＣＤ１９（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ２０（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ２２（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ３０（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＣＤ３３（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＣＤ７０（例えば、Ｂ細胞／Ｔ細胞において発現する）、ＣＤ１２３（例えば、骨髄系細胞において発現する）、カッパ（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ルイスＹ（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＮＫＧ２Ｄリガンド（例えば、骨髄系細胞において発現する）、ＲＯＲ１（例えば、Ｂ細胞において発現する）、ＳＬＡＭＦ７／ＣＳ１（例えば、骨髄腫細胞、ナチュラルキラー細胞、Ｔ細胞、及び大半のＢ細胞型において発現する）、ＣＤ１３８（例えば、多発性骨髄腫の悪性形質細胞において発現する）、ＣＤ５６（例えば、骨髄腫細胞、神経細胞、ナチュラルキラー細胞、Ｔ細胞、及び小柱骨芽細胞（ｔｒａｂｅｃｕｌａｒ ｏｓｔｅｏｂｌａｓｔｓ）において発現する）ＣＤ３８（例えば、Ｂ細胞／Ｔ細胞にいて発現する）及びＣＤ１６０（例えば、ＮＫ細胞／Ｔ細胞において発現する）等が挙げられる。固形腫瘍抗原の例としては、例えば、Ｂ７Ｈ３（例えば、肉腫、神経膠腫において発現する）、ＣＡＩＸ（例えば、腎臓において発現する）、ＣＤ４４ ｖ６／ｖ７（例えば、子宮頸部において発現する）、ＣＤ１７１（例えば、神経芽細胞腫において発現する）、ＣＥＡ（例えば、結腸において発現する）、ＥＧＦＲｖＩＩＩ（例えば、神経膠腫において発現する）、ＥＧＰ２（例えば、癌腫において発現する）、ＥＧＰ４０（例えば、結腸において発現する）、ＥｐｈＡ２（例えば、神経膠腫、肺において発現する）、ＥｒｂＢ２（ＨＥＲ２）（例えば、乳房、肺、前立腺、神経膠腫において発現する）、ＥｒｂＢ受容体ファミリー（例えば、乳房、肺、前立腺、神経膠腫において発現する）、ＥｒｂＢ３／４（例えば、乳房、卵巣において発現する）、ＨＬＡ－Ａ１／ＭＡＧＥ１（例えば、メラノーマにおいて発現する）、ＨＬＡ－Ａ２／ＮＹ－ＥＳＯ－１（例えば、肉腫、メラノーマにおいて発現する）、ＦＲ－ａ（例えば、卵巣において発現する）、ＦＡＰ†（例えば、癌関連線維芽細胞において発現する）、ＦＡＲ（例えば、横紋筋肉腫において発現する）、ＧＤ２（例えば、神経芽細胞腫、肉腫、メラノーマにおいて発現する）、ＧＤ３（例えば、メラノーマ、肺癌において発現する）、ＨＭＷ－ＭＡＡ（例えば、メラノーマにおいて発現する）、ＩＬ１１Ｒａ（例えば、骨肉腫において発現する）、ＩＬ１３Ｒａ２（例えば、神経膠腫において発現する）、ルイスＹ（例えば、乳房／卵巣／膵臓において発現する）、メソテリン（例えば、中皮腫、乳房、膵臓において発現する）、Ｍｕｃ１（例えば、卵巣、乳房、前立腺において発現する）、ＮＣＡＭ（例えば、神経芽細胞腫、結腸直腸において発現する）、ＮＫＧ２Ｄリガンド（例えば、卵巣、肉腫（ｓａｃｏｍａ）において発現する）、ＰＳＣＡ（例えば、前立腺、膵臓において発現する）、ＰＳＭＡ（例えば、前立腺において発現する）、ＴＡＧ７２（例えば、結腸において発現する）、ＶＥＧＦＲ－２（例えば、腫瘍血管系において発現する）、Ａｘｌ（例えば、肺癌において発現する）、Ｍｅｔ（例えば、肺癌において発現する）、α５β３（例えば、腫瘍血管系において発現する）、α５β１（例えば、腫瘍血管系において発現する）、ＴＲＡＩＬ－Ｒ１／ＴＲＡＩＬ－Ｒ２（例えば、固形腫瘍（結腸、肺、膵臓）及び血液学的悪性疾患において発現する）、ＲＡＮＫＬ（例えば、前立腺癌及び骨転移において発現する）、テネイシン（例えば、神経膠腫、上皮性腫瘍（乳房、前立腺）において発現する）、ＥｐＣＡＭ（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する））、ＣＥＡ（例えば、上

皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する））、ｇｐＡ３３（例えば、大腸癌腫において発現する）、ムチン（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺、卵巣）において発現する））、ＴＡＧ－７２（例えば、上皮性腫瘍（乳房、結腸、肺）において発現する））、ＥｐｈＡ３（例えば、肺、腎臓、メラノーマ、神経膠腫、血液学的悪性疾患において発現する）及びＩＧＦ１Ｒ（例えば、肺、乳房、頭頸部、前立腺、甲状腺、神経膠腫において発現する）が挙げられる。表面及び細胞内抗原の例としては、例えば、Ｈｅｒ２（遺伝子記号ＥＲＢＢ２）、ＭＡＧＥ－Ａ１（遺伝子記号ＭＡＧＥＡ１）、ＭＡＲＴ－１（遺伝子記号ＭＬＡＮＡ）、ＮＹ－ＥＳＯ（遺伝子記号ＣＴＡＧ１）、ＷＴ１（遺伝子記号ＷＴ１）、ＭＵＣ１７及びＭＵＣ１３が挙げられる。他の抗原の例としては、例えば、ＢＣＭＡ（遺伝子記号ＴＮＦＲＳＦ１７）、Ｂ７Ｈ６（遺伝子記号ＮＣＲ３ＬＧ１）、ＣＡＩＸ（遺伝子記号ＣＡ９）、ＣＤ１２３（遺伝子記号ＩＬ３ＲＡ）、ＣＤ１３８（遺伝子記号ＳＤＣ１）、ＣＤ１７１（遺伝子記号Ｌ１ＣＡＭ）、ＣＤ１９（遺伝子記号ＣＤ１９）、ＣＤ２０（遺伝子記号ＣＤ２０）、ＣＤ２２（遺伝子記号ＣＤ２２）、ＣＤ３０（遺伝子記号ＴＮＦＲＳＦ８）、ＣＤ３３（遺伝子記号ＣＤ３３）、ＣＤ３８（遺伝子記号ＣＤ３８）、ＣＤ４４、スプライス変異体ｉｎｃｌ　７及び８（文献にてｖＸと示される）（遺伝子記号ＣＤ４４）、ＣＥＡ、ＣＳ１（遺伝子記号ＳＬＡＭＦ７）、ＥＧＦＲｖＩＩＩ（遺伝子記号ＥＧＦＲ、ｖＩＩＩ欠失変異体）、ＥＧＰ２、ＥＧＰ４０（遺伝子記号ＥＰＣＡＭ）、Ｅｒｂファミリーメンバー（遺伝子記号ＥＲＢＢ１、ＥＲＢＢ２、ＥＲＢＢ３、ＥＲＢＢ４）、ＦＡＰ（遺伝子記号ＦＡＰ）、胎児性アセチルコリン受容体（遺伝子記号ＡＣｈＲ）、葉酸受容体アルファ（遺伝子記号ＦＯＬＲ１）、葉酸受容体ベータ（遺伝子記号ＦＯＬＲ２）、ＧＤ２、ＧＤ３、ＧＰＣ３（遺伝子記号ＧＰＣ３）、Ｈｅｒ２／ｎｅｕ（遺伝子記号ＥＲＢＢ２）、ＩＬ－１３Ｒａ２（遺伝子記号ＩＬ１３ＲＡ２）、カッパ軽鎖（遺伝子記号ＩＧＫ）、ルイス－Ｙ、メソテリン（遺伝子記号ＭＳＬＮ）、ムチン－１（遺伝子記号ＭＵＣ１）、ムチン－１６（遺伝子記号ＭＵＣ１６）、ＮＫＧ２Ｄリガンド、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）（遺伝子記号ＦＯＬＨ１）、前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）（遺伝子記号ＰＳＣＡ）、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（遺伝子記号ＲＯＲ１）、及び未分化リンパ腫受容体チロシンキナーゼ（遺伝子記号ＡＬＫ）が挙げられる。

【０３８９】

例示的な実施形態

以下は、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの非限定的な例である。

【０３９０】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）Ｌｉｎ　Ｎｏｔｃｈリピート Ａ～Ｃ（ＬＮＲセグメント）；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；ｉｉｉ）ＴＭドメインを含み；Ｓ１タンパク質分解切断部位、Ｓ２タンパク質分解切断部位、及びＳ３タンパク質分解切断部位を含む、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを含む。かかるＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図１６Ａに示す。図１６Ａでは、Ｌｉｎ　Ｎｏｔｃｈリピート Ａ～Ｃ（ＬＮＲセグメント）は、以下のアミノ酸配列：

PPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWK

YFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECE

WDGLDC (SEQ ID NO:5)

を有し；ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）は、以下のアミノ酸配列：

AAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYGHEEELR

KHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGG**RQRR**ELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQCFQSAT

DVAAFLGALASLGSLNIPYKIE**AV**KSEPVEPPLP (SEQ ID NO:6)

を有し、ここで、Ｓ１タンパク質分解切断部位は、配列ＲＱＲＲ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：

８６）を含み、Ｓ２タンパク質分解切断部位は、配列ＡＶを含み；ＴＭドメインは、以下のアミノ酸配列：
HLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLS (SEQ ID NO:7)
を含み、ここで、Ｓ３タンパク質分解切断部位は、配列ＶＬＬＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：８７）を含む。

【０３９１】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ｉ）ＥＧＦリピート；ｉｉ）Ｌｉｎ　ＮｏｔｃｈリピートＡ～Ｃ（ＬＮＲセグメント）；ｉｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；ｉｖ）ＴＭドメインを含み；Ｓ１タンパク質分解切断部位、Ｓ２タンパク質分解切断部位、及びＳ３タンパク質分解切断部位を含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを含む。かかるＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図１６Ｂに示す。図１６Ｂでは、ＥＧＦリピートは、以下のアミノ酸配列：
PCVGSNPCYNQGTCEPTSENPFYRCLCPAKFNGLLCH (SEQ ID NO:8)
を有し；ＬＮＲセグメント、ヘテロ二量体化ドメイン、ＴＭドメイン、Ｓ１タンパク質分解切断部位、Ｓ２タンパク質分解切断部位、及びＳ３タンパク質分解切断部位は、図１６Ａに示す通りである。

【０３９２】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：
IPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKL (SEQ ID NO:4)
を含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを含み；ここで、ＴＭドメインは下線を引いており；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ２タンパク質分解切断部位及びＳ３タンパク質分解切断部位を含み；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、５６アミノ酸の長さを有する。

【０３９３】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）Ｆｃ受容体ＦｃγＩＩＩａ（ＣＤ１６Ａ）；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）Ｆｃ受容体ＦｃγＩＩＩａ（ＣＤ１６Ａ）；ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ｔＴＡ転写因子である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図１６Ｃに示す。Ｓ１、Ｓ２、及びＳ３切断部位の位置は図１６Ａに示す。図１６Ｃでは、ＣＤ１６Ａは、以下のアミノ酸配列：
MWQLLLPTALLLLVSAGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPEDNST
QWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPRWV
FKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGLF
GSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPG (SEQ ID NO:88)
を有し；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図１６Ａに示すアミノ酸配列を含み；ｔＴＡ転写因子は、以下のアミノ酸配列：

MSRLDKSKVINSALELLNEVGIEGLTTRKLAQKLGVEQPTLYWHVKNKRALLDALAIE
MLDRHHTHFCPLEGESWQDFLRNNAKSFRCALLSHRDGAKVHLGTRPTEKQYETLENQ
LAFLCQQGFSLENALYALSAVGHFTLGCVLEDQEHQVAKEERETPTTDSMPPLLRQAIE
LFDHQGAEPAFLFGLELIICGLEKQLKCESGGPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDMLP
ADALDDFDLDMLPG (SEQ ID NO:69)

を有する。

【０３９４】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）細胞表面抗原；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）ＣＤ１９ポリペプチド；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ｔＴＡ転写因子である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図１７Ａに示す。図１７Ａでは、ＣＤ１９ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：
RPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRESPLKPFLKLSLGLPGLGIHMRP
LAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLGGLGCG
LKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNQSLSQDLTMAPGST
LWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMETGLLLPRATA
QDAGKYYCHRGNLTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWK (SEQ ID NO:89)

を有し；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図１６Ａに示すアミノ酸配列を含み；ｔＴＡ転写因子は、図１６Ｃに示すアミノ酸配列を有する。

【０３９５】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）細胞表面抗原に対して特異的な抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで

、細胞内ドメインは、ｔＴＡ転写因子である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図１７Ｂに示す。図１７Ｂでは、抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖは、以下のアミノ酸配列：

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGG
GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETT
YYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTS
VTVSS (SEQ ID NO:90)

を有し；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図１６Ａに示すアミノ酸配列を含み；ｔＴＡ転写因子は、図１６Ｃに示すアミノ酸配列を有する。

【０３９６】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗体；ｂ）ｉ）ＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｖ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここでＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）細胞表面抗原に対して特異的な抗体；ｂ）ｉ）ＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｖ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここでＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ；ｂ）ｉ）ＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｖ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここでＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ｔＴＡ転写因子である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図１７Ｃに示す。図１７Ｃでは、抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖは、以下のアミノ酸配列：

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGG
GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETT
YYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTS
VTVSS (SEQ ID NO:90)

を有し；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図１６Ｂに示すアミノ酸配列を含み；ｔＴＡ転写因子は、図１６Ｃに示すアミノ酸配列を有する。

【０３９７】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗体；ｂ）ｉ）ＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｖ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここでＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ

末端の順で、ａ）細胞表面抗原に対して特異的な抗体、例えば、癌細胞の表面上に存在する細胞表面抗原（例えば、癌特異的抗原）；ｂ）ｉ）ＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｖ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここでＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗メソテリンｓｃＦｖ；ｂ）ｉ）ＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｖ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここでＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ｔＴＡ転写因子である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図１８に示す。図１８では、抗メソテリンｓｃＦｖは、以下のアミノ酸配列：

GSQVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKSLEWIGLITPYNGA

SSYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLSLTSEDSAVYFCARGGYDGRGFDYWGQGTT

VTVSSGGGGSGGGGSSGGGSDIELTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKS

GTSPKRWIYDTSKLASGVPGRFSGSGSGNSYSLTISSVEAEDDATYYCQQWSKHPLTYG

AGTKLEIKAS (SEQ ID NO:91)

を有し；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図１６Ｂに示すアミノ酸配列を含み；ｔＴＡ転写因子は、図１６Ｃに示すアミノ酸配列を有する。

【０３９８】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）転写因子に対して特異的な抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗ｍｙｃ　ｓｃＦｖ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ｔＴＡ転写因子である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの例を図１９Ａ及び１９Ｂに示す。図１９Ａ及び１９Ｂでは、抗Ｍｙｃ　ｓｃＦｖは、以下のアミノ酸配列：

GSQVQLQQQVQLQESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFTFSHYGMSWVRQTPDKRLEWVA
TIGSRGTYTHYPDSVKGRFTISRDNDKNALYLQMNSLKSEDTAMYYCARRSEFYYYGN
TYYYSAMDYWGQGASVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPAFLAVSLGQRATISC
RASESVDNYGFSFMNWFQQKPGQPPKLLIYAISNRGSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPVE
EDDPAMYFCQQTKEVPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:92)

を有し；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図１６Ａに示すアミノ酸配列を含み；ｔＴＡ転写因子は、図１６Ｃに示すアミノ酸配列を有する。

【０３９９】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）ナノボディ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）ＬａＧ　９ナノボディ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ｔＴＡ転写因子である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図２０Ａに示す。図２０Ａでは、ＬａＧ　９ナノボディは、以下のアミノ酸配列：

MADVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSTSAMGWFRQAPGKEREFVARITWSA
GYTAYSDSVKGRFTISRDKAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCASRSAGYSSSLTRREDY
AYWGQGTQVTVS (SEQ ID NO:93)

を有し；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図１６Ａに示すアミノ酸配列を含み；ｔＴＡ転写因子は、図１６Ｃに示すアミノ酸配列を有する。

【０４００】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）ナノボディ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）ＬａＧ　５０ナノボディ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ｔＴＡ転写因子である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図２０Ｂに示す。図２０Ｂでは、ＬａＧ　５０ナノボディは、以下のアミノ酸配列：

MADVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTISMAAMSWFRQAPGKEREFVAGISRSAG
SAVHADSVKGRFTISRDNTKNTLYLQMNSLKAEDTAVYYCAVRTSGFFGSIPRTGTAFD
YWGQGTQVTVS (SEQ ID NO:94)

を有し；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図１６Ａに示すアミノ酸配列を含み；ｔＴＡ

転写因子は、図１６Ｃに示すアミノ酸配列を有する。

【０４０１】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）ナノボディ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）ＬａＧ　１８ナノボディ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ｔＴＡ転写因子である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図２０Ｃに示す。図２０Ｃでは、ＬａＧ　１８ナノボディは、以下のアミノ酸配列：

MAQVQLVESGGGLVQTGGSLKLSCTASVRTLSYYHVGWFRQAPGKEREFVAGIHRSGE

STFYADSVKGRFTISRDNAKNTVHLQMNSLKPEDTAVYYCAQRVRGFFGPLRSTPSWY

DYWGQGTQVTVS (SEQ ID NO:95)

を有し；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図１６Ａに示すアミノ酸配列を含み；ｔＴＡ転写因子は、図１６Ｃに示すアミノ酸配列を有する。

【０４０２】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）ナノボディ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）ＬａＧ　１６／ＬａＧ　２ナノボディ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ｔＴＡ転写因子である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図２０Ｄに示す。図２０Ｄでは、ＬａＧ　１６／ＬａＧ　２ナノボディは、以下のアミノ酸配列：

MAQVQLVESGGRLVQAGDSLRLSCAASGRTFSTSAMAWFRQAPGREREFVAAITWTV

GNTILGDSVKGRFTISRDRAKNTVDLQMDNLEPEDTAVYYCSARSRGYVLSVLRSVDSY

DYWGQGTQVTVSGGGGSGGGGSGGGGSMAQVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGR

TFSNYAMGWFRQAPGKEREFVAAISWTGVSTYYADSVKGRFTISRDNDKNTVYVQMN

SLIPEDTAIYYCAAVRARSFSDTYSRVNEYDYWGQGTQVTV (SEQ ID NO:96)

を有し；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図１６Ａに示すアミノ酸配列を含み；ｔＴＡ転写因子は、図１６Ｃに示すアミノ酸配列を有する。

【０４０３】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）アポトーシス調節タンパク質；ｂ）ｉ）ＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ

－Ｃセグメント）；及びｉｖ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここでＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）プログラムされた細胞死タンパク質１（ＰＤ－１）細胞外ドメイン；ｂ）ｉ）ＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｖ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここでＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ｔＴＡ転写因子である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図２１に示す。図２１では、ＰＤ１細胞外ドメインは、以下のアミノ酸配列：

MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPPTFSPALLVVTEGDATFTCSFSNT

SESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAFPEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDFHMSVVRARRND

SGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQEQKLISEEDL

(SEQ ID NO:97)

を有し；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図１６Ｂに示すアミノ酸配列を含み；ｔＴＡ転写因子は、図１６Ｃに示すアミノ酸配列を有する。

【０４０４】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）細胞表面抗原に対して特異的な抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、Ｇａｌ４－ＶＰ６４転写活性化因子である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図２２に示す。図２２では、抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖは、以下のアミノ酸配列：

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS

RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGG

GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETT

YYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTS

VTVSS (SEQ ID NO:90)

を有し；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図１６Ａに示すアミノ酸配列を含み；Ｇａｌ４－ＶＰ６４転写活性化因子は、以下のアミノ酸配列：

MKLLSSIEQACDICRLKKLKCSKEKPKCAKCLKNNWECRYSPKTKRSPLTRAHLTEVES
RLERLEQLFLLIFPREDLDMILKMDSLQDIKALLTGLFVQDNVNKDAVTDRLASVETDM
PLTLRQHRISATSSSEESSNKGQRQLTVSAAAGGSGGSGGSDALDDFDLDMLGSDALDD
FDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGS (SEQ ID NO:70)
を有する。

【０４０５】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ＤＮＡ結合ポリペプチドである。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、Ｚｉｐ（－）Ｇａｌ４　ＤＮＡ結合ポリペプチドである。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図２３に示す。図２３では、抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖは、図２２に示すアミノ酸配列を有し；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図１６Ａに示すアミノ酸配列を含み；Ｚｉｐ（－）Ｇａｌ４　ＤＮＡ結合ポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：
LEIRAAFLRQRNTALRTEVAELEQEVQRLENEVSQYETRYGPLGGGKGGSGGSGGSMK
LLSSIEQACDICRLKKLKCSKEKPKCAKCLKNNWECRYSPKTKRSPLTRAHLTEVESRLE
RLEQLFLLIFPREDLDMILKMDSLQDIKALLTGLFVQDNVNKDAVTDRLASVETDMPLT
LRQHRISATSSSEESSNKGQRQLTVSAA (SEQ ID NO:68)
を有する。

【０４０６】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗体；ｂ）ｉ）ＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｖ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここでＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗メソテリンｓｃＦｖ；ｂ）ｉ）ＥＧＦリピート；ｉｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｖ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここでＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ＮＬＳを含むＶＰ６４　Ｚｉｐ（＋）である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図２４に示す。図２４では、抗メソテリンｓｃＦｖは、以下のアミノ酸配列：
GSQVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKSLEWIGLITPYNGA
SSYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLSLTSEDSAVYFCARGGYDGRGFDYWGQGTT
VTVSSGGGGSGGGGSSGGGSDIELTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKS
GTSPKRWIYD (SEQ ID NO:98)
を有し；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、図１６Ｂに示すアミノ酸配列を含み；ＶＰ６

４　Ｚｉｐ（＋）転写活性化因子は、以下のアミノ酸配列：
PKKKRKVDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDM

LGSGGSGGSGGSLEIEAAFLERENTALETRVAELRQRVQRLRNRVSQYRTRYGPLGGGK

(SEQ ID NO:99)

を有する。

【０４０７】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、リコンビナーゼである。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）細胞表面抗原に対して特異的な抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、リコンビナーゼである。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ＦＬＰｅリコンビナーゼである（例えば、Ａｋｂｕｄａｋ　ａｎｄ　Ｓｒｉｖａｓｔａｖａ（２０１１）Ｍｏｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．４９：８２を参照されたい）。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図２５に示す。図２５では、抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖは、図２２に示すアミノ酸配列を有し；Ｎｏｔｃｈポリペプチドは、図１６Ａに示すアミノ酸配列を含み；ＦＬＰｅリコンビナーゼは、以下のアミノ酸配列：

MSQFDILCKTPPKVLVRQFVERFERPSGEKIASCAAELTYLCWMITHNGTAIKRATFMSY

NTIISNSLSFDIVNKSLQFKYKTQKATILEASLKKLIPAWEFTIIPYNGQKHQSDITDIVSSL

QLQFESSEEADKGNSHSKKMLKALLSEGESIWEITEKILNSFEYTSRFTKTKTLYQFLFLA

TFINCGRFSDIKNVDPKSFKLVQNKYLGVIIQCLVTETKTSVSRHIYFFSARGRIDPLVYL

DEFLRNSEPVLKRVNRTGNSSSNKQEYQLLKDNLVRSYNKALKKNAPYPIFAIKNGPKS

HIGRHLMTSFLSMKGLTELTNVVGNWSDKRASAVARTTYTHQITAIPDHYFALVSRYY

AYDPISKEMIALKDETNPIEEWQHIEQLKGSAEGSIRYPAWNGIISQEVLDYLSSYINRRIG

PVEQKLISEEDL (SEQ ID NO:65)

を有する。

【０４０８】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、リコンビナーゼである。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）細胞表面抗原に対して特異的な抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ド

メイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、リコンビナーゼである。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ＮＬＳを含むＣｒｅリコンビナーゼである。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図２６に示す。図２６では、抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖは、図２２に示すアミノ酸配列を有し；Ｎｏｔｃｈポリペプチドは、図１６Ａに示すアミノ酸配列を含み；Ｃｒｅリコンビナーゼは、以下のアミノ酸配列：

MVPKKKRKVSNLLTVHQNLPALPVDATSDEVRKNLMDMFRDRQAFSEHTWKMLLSV
CRSWAAWCKLNNRKWFPAEPEDVRDYLLYLQARGLAVKTIQQHLGQLNMLHRRSGLP
RPSDSNAVSLVMRRIRKENVDAGERAKQALAFERTDFDQVRSLMENSDRCQDIRNLAF
LGIAYNTLLRIAEIARIRVKDISRTDGGRMLIHIGRTKTLVSTAGVEKALSLGVTKLVERW
ISVSGVADDPNNYLFCRVRKNGVAAPSATSQLSTRALEGIFEATHRLIYGAKDDSGQRY
LAWSGHSARVGAARDMARAGVSIPEIMQAGGWTNVNIVMNYIRNLDSETGAMVRLLE
DGD (SEQ ID NO:100)

を有し、ここでＣｒｅリコンビナーゼは、ＮＬＳ
(MVPKKKRK; SEQ ID NO:84)
を含む。

【０４０９】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、調節因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）細胞表面抗原に対して特異的な抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、筋原性調節因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ＭｙｏＤポリペプチドである。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図２７に示す。この例では、ＭｙｏＤは、赤色蛍光タンパク質（ＲＦＰ）に融合している。図２７では、抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖは、図２２に示すアミノ酸配列を有し；Ｎｏｔｃｈポリペプチドは、図１６Ａに示すアミノ酸配列を含み；ＭｙｏＤポリペプチドは、以下のアミノ酸配列：

MELLSPPLRDIDLTGPDGSLCSFETADDFYDDPCFDSPDLRFFEDLDPRLVHMGALLKPE
EHAHFPTAVHPGPGAREDEHVRAPSGHHQAGRCLLWACKACKRKTTNADRRKAATM
RERRRLSKVNEAFETLKRCTSSNPNQRLPKVEILRNAIRYIEGLQALLRDQDAAPPGAAA
FYAPGPLPPGRGSEHYSGDSDASSPRSNCSDGMMDYSGPPSGPRRQNGYDTAYYSEAA
RESRPGKSAAVSSLDCLSSIVERISTDSPAAPALLLADAPPESPPGPPEGASLSDTEQGTQT
PSPDAAPQCPAGSNPNAIYQVL (SEQ ID NO:72)

を有する。

【０４１０】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは転写因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）細胞表面抗原に対して特異的な抗体；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、Ｔボックス含有転写因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｎ末端からＣ末端の順で、ａ）抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ；ｂ）ｉ）ＬＮＲセグメント；ｉｉ）ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ－Ｎセグメント及びＨＤ－Ｃセグメント）；及びｉｉｉ）ＴＭドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、Ｔｂｘ２１ポリペプチド（Ｔｂｅｔ（ＧｅｎＢａｎｋ　ＢＣ０３９７３９）としても知られる）である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図２８に示す。Ｔｂｘ２１タンパク質は、インターフェロン－ガンマ、Ｔｈ１サイトカインの発現を制御するＴｈ１細胞特異的転写因子である。図２８では、抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖは、図２２に示すアミノ酸配列を有し；Ｎｏｔｃｈポリペプチドは、図１６Ａに示すアミノ酸配列を含み；Ｔｂｘ２１タンパク質は、以下のアミノ酸配列：

MGIVEPGCGDMLTGTEPMPGSDEGRAPGADPQHRYFYPEPGAQDADERRGGGSLGSPY
PGGALVPAPPSRFLGAYAYPPRPQAAGFPGAGESFPPPADAEGYQPGEGYAAPDPRAGL
YPGPREDYALPAGLEVSGKLRVALNNHLLWSKFNQHQTEMIITKQGRRMFPFLSFTVAG
LEPTSHYRMFVDVVLVDQHHWRYQSGKWVQCGKAEGSMPGNRLYVHPDSPNTGAH
WMRQEVSFGKLKLTNNKGASNNVTQMIVLQSLHKYQPRLHIVEVNDGEPEAACNASN
THIFTFQETQFIAVTAYQNAEITQLKIDNNPFAKGFRENFESMYTSVDTSIPSPPGPNCQFL
GGDHYSPLLPNQYPVPSRFYPDLPGQAKDVVPQAYWLGAPRDHSYEAEFRAVSMKPAF
LPSAPGPTMSYYRGQEVLAPGAGWPVAPQYPPKMGPASWFRPMRTLPMEPGPGGSEGR
GPEDQGPPLVWTEIAPIRPESSDSGLGEGDSKRRRVSPYPSSGDSSSPAGAPSPFDKEAEG
QFYNYFPN (SEQ ID NO:71)

を有する。

【０４１１】

１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、ａ）細胞外ドメイン；ｂ）以下のアミノ酸配列：

IPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKL (SEQ ID NO:4)
を含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；ここで、ＴＭドメインは下線を引いており；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ２タンパク質分解切断部位及びＳ３タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含む。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、ａ）細胞外ドメイン；ｂ）以下のアミノ酸配列：
IPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKL (SEQ ID NO:4)
を含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；ここで、ＴＭドメインは下線を引いており；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ２タンパク質分解切断部位及びＳ３タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、ａ）細胞外ドメイン、ここで、細胞外ドメインは、免疫細胞（Ｔ細胞、単球、マクロファージ、及び樹状細胞）の表面上で見いだされるポリペプチドである；ｂ）以下のアミノ酸配列：
IPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKL (SEQ ID NO:4)
を含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；ここで、ＴＭドメインは下線を引いており；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ２タンパク質分解切断部位及びＳ３タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。１つの非限定的な実施形態では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、ａ）細胞外ドメイン、ここで、細胞外ドメインはＣＤ４細胞外ドメインである；ｂ）以下のアミノ酸配列：
IPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKL (SEQ ID NO:4)
を含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；ここで、ＴＭドメインは下線を引いており；Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、Ｓ２タンパク質分解切断部位及びＳ３タンパク質分解切断部位を含む；ならびにｃ）細胞内ドメインを含み、ここで、細胞内ドメインは、ｔＴＡ転写活性化因子である。かかるキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの一例を図２９に示す。

【０４１２】

核酸

本開示は、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸は、発現ベクター内に含有される。ゆえに、本開示は、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を含む組換え発現ベクターを提供する。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、転写制御エレメント（例えば、プロモーター；エンハンサー；等）に作動可能に連結している。いくつかの場合では、転写制御エレメントは、誘導可能である。いくつかの場合では、転写制御エレメントは、構成的である。いくつかの場合では、プロモーターは、真核細胞において機能的である。いくつかの場合では、プロモーターは、細胞型特異的プロモーターである。いくつかの場合では、プロモーターは、組織特異的プロモーターである。

【０４１３】

利用される宿主／ベクターシステムに依存して、構成的及び誘導性のプロモーター、転写エンハンサーエレメント、転写終結因子等を含む多くの好適な転写及び翻訳制御エレメントのいずれを発現ベクターにおいて使用してもよい（例えば、Ｂｉｔｔｅｒ　ｅｔ　ａｌ．（１９８７）Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，１５３：５１６－５４４を参照されたい）。

【０４１４】

プロモーターは、構成的に活性なプロモーター（すなわち、構成的に、活性／「オン」状態であるプロモーター）であることができ、それは誘導性プロモーター（すなわち、その状態、活性／「オン」または不活性／「オフ」が、外的刺激、例えば、特定の温度、化

合物、またはタンパク質の存在により制御されるプロモーター）であってよく、それは空間的に制限されたプロモーター（すなわち、転写制御エレメント、エンハンサー等）（例えば、組織特異的プロモーター、細胞型特異的プロモーター等）であってよく、それは一時的に制限されたプロモーター（すなわち、プロモーターが、胚発生の特定の段階中または生物学的プロセスの特定の段階中、例えば、マウスにおける毛包周期に、「オン」状態または「オフ」状態にある）であってよい。

【０４１５】

好適なプロモーター及びエンハンサーエレメントは、当該分野で公知である。細菌細胞における発現については、好適なプロモーターには、ｌａｃＩ、ｌａｃＺ、Ｔ３、Ｔ７、ｇｐｔ、ラムダＰ及びｔｒｃが含まれるが、これらに限定されない。真核細胞における発現については、好適なプロモーターには、軽鎖及び／または重鎖免疫グロブリン遺伝子プロモーター及びエンハンサーエレメント；サイトメガロウイルス最初期プロモーター；単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼプロモーター；初期及び後期ＳＶ４０プロモーター；レトロウイルスからの長末端反復配列に存在するプロモーター；マウスメタロチオネイン－Ｉプロモーター；ならびに種々の当該分野で公知の組織特異的プロモーターが含まれるが、これらに限定されない。

【０４１６】

可逆的な誘導性プロモーターを含む、好適な可逆性のプロモーターは、当該分野で公知である。かかる可逆性のプロモーターは、多くの生物、例えば、真核生物及び原核生物から単離されてよく、これに由来してよい。第二の生物において使用するための第一の生物に由来する可逆性のプロモーターの改変、例えば、第一が原核生物で第二が真核生物、第一が真核生物で第二が原核生物等は、当該分野で周知である。かかる可逆性のプロモーター、及びかかる可逆性のプロモーターに基づくが追加の制御タンパク質を含むシステムには、アルコール調節プロモーター（例えば、アルコールデヒドロゲナーゼＩ（ａｌｃＡ）遺伝子プロモーター、アルコールトランス活性化因子タンパク質に応答するプロモーター（ＡｌｃＲ）等）、テトラサイクリン調節プロモーター、（例えば、Ｔｅｔアクチベーター、Ｔｅｔオン、Ｔｅｔオフ等を含むプロモーターシステム）、ステロイド調節プロモーター（例えば、ラットグルココルチコイド受容体プロモーターシステム、ヒトエストロゲン受容体プロモーターシステム、レチノイドプロモーターシステム、甲状腺プロモーターシステム、エクジソンプロモーターシステム、ミフェプリストンプロモーターシステム等）、金属調節プロモーター（例えば、メタロチオネインプロモーターシステム等）、病原性関連調節プロモーター（例えば、サリチル酸調節プロモーター、エチレン調節プロモーター、ベンゾチアジアゾール調節プロモーター等）、温度調節プロモーター（例えば、熱ショック誘導性プロモーター（例えば、ＨＳＰ－７０、ＨＳＰ－９０、ダイズ熱ショックプロモーター等）、光調節プロモーター、合成誘導性プロモーター等が含まれるが、これらに限定されない。

【０４１７】

使用に好適な誘導性プロモーターには、本明細書に記載または当業者に公知の任意の誘導性プロモーターが含まれる。誘導性プロモーターの例としては、これらに限定されないが、化学的に／生化学的に調節される及び物理的に調節されるプロモーター、例えば、アルコール調節プロモーター、テトラサイクリン調節プロモーター（例えば、アンヒドロテトラサイクリン（ａＴｃ）反応性プロモーター及び他のテトラサイクリン反応性プロモーターシステム、これには、テトラサイクリン抑制因子タンパク質（ｔｅｔＲ）、テトラサイクリンオペレーター配列（ｔｅｔＯ）及びテトラサイクリントランス活性化因子融合タンパク質（ｔＴＡ）が含まれる）、ステロイド調節プロモーター（例えば、ラットグルココルチコイド受容体、ヒトエストロゲン受容体、モスエクジソン受容体系プロモーター、及びステロイド／レチノイド／甲状腺受容体スーパーファミリー由来のプロモーター）、金属調節プロモーター（例えば、酵母、マウス及びヒトからのメタロチオネイン（金属イオンと結合し捕捉するタンパク質）遺伝子に由来するプロモーター）、病原性調節プロモーター（例えば、サリチル酸、エチレンまたはベンゾチアジアゾール（ＢＴＨ）により誘

導される）、温度／熱誘導性プロモーター（例えば、熱ショックプロモーター）、及び光調節プロモーター（例えば、植物細胞からの光応答性プロモーター）が含まれる。

【０４１８】

いくつかの場合では、プロモーターは、ＣＤ８細胞特異的プロモーター、ＣＤ４細胞特異的プロモーター、好中球特異的プロモーター、またはＮＫ特異的プロモーターである。例えば、ＣＤ４遺伝子プロモーターを使用することができる；例えば、Ｓａｌｍｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：７７３９；及びＭａｒｏｄｏｎ ｅｔ ａｌ．（２００３）Ｂｌｏｏｄ １０１：３４１６を参照されたい。別の例として、ＣＤ８遺伝子プロモーターを使用することができる。ＮＫ細胞特異的発現を、Ｎｃｒ１（ｐ４６）プロモーターを使用することにより達成することができる；例えば、Ｅｃｋｅｌｈａｒｔ ｅｔ ａｌ．（２０１１）Ｂｌｏｏｄ １１７：１５６５を参照されたい。

【０４１９】

いくつかの場合では、プロモーターは、心筋細胞特異的プロモーターである。いくつかの場合では、プロモーターは、平滑筋細胞特異的プロモーターである。いくつかの場合では、プロモーターは、ニューロン特異的プロモーターである。いくつかの場合では、プロモーターは、脂肪細胞特異的プロモーターである。他の細胞型特異的プロモーターは、当該分野で公知であり、本明細書での使用に好適である。

【０４２０】

いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸は、組換え発現ベクターである。いくつかの実施形態では、組換え発現ベクターは、ウイルス構築物、例えば、組換えアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）構築物、組換えアデノウイルス構築物、組換えレンチウイルス構築物、組換えレトロウイルス構築物等である。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸は、組換えレンチウイルスベクターである。いくつかの場合では、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸は、組換えＡＡＶベクターである。

【０４２１】

好適な発現ベクターには、ウイルスベクター（例えば、以下をベースとするウイルスベクター、ワクシニアウイルス；ポリオウイルス；アデノウイルス（例えば、Ｌｉ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｖｅｓｔ Ｏｐｔｈａｌｍｏｌ Ｖｉｓ Ｓｃｉ ３５：２５４３ ２５４９，１９９４；Ｂｏｒｒａｓ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ ６：５１５ ５２４，１９９９；Ｌｉ ａｎｄ Ｄａｖｉｄｓｏｎ，ＰＮＡＳ ９２：７７００ ７７０４，１９９５；Ｓａｋａｍｏｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ｈｕｍ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ ５：１０８８ １０９７，１９９９；ＷＯ９４／１２６４９、ＷＯ９３／０３７６９；ＷＯ９３／１９１９１；ＷＯ９４／２８９３８；ＷＯ９５／１１９８４及びＷＯ９５／００６５５を参照されたい）；アデノ随伴ウイルス（例えば、Ａｌｉ ｅｔ ａｌ．，Ｈｕｍ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ ９：８１ ８６，１９９８、Ｆｌａｎｎｅｒｙ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ ９４：６９１６ ６９２１，１９９７；Ｂｅｎｎｅｔｔ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｖｅｓｔ Ｏｐｔｈａｌｍｏｌ Ｖｉｓ Ｓｃｉ ３８：２８５７ ２８６３，１９９７；Ｊｏｍａｒｙ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ ４：６８３ ６９０，１９９７、Ｒｏｌｌｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｈｕｍ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ １０：６４１ ６４８，１９９９；Ａｌｉ ｅｔ ａｌ．，Ｈｕｍ Ｍｏｌ Ｇｅｎｅｔ ５：５９１ ５９４，１９９６；ＷＯ９３／０９２３９のＳｒｉｖａｓｔａｖａ、Ｓａｍｕｌｓｋｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｖｉｒ（１９８９）６３：３８２２ ３８２８；Ｍｅｎｄｅｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｖｉｒｏｌ（１９８８）１６６：１５４ １６５；及びＦｌｏｔｔｅ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ（１９９３）９０：１０６１３ １０６１７を参照されたい）；ＳＶ４０；単純ヘルペスウイルス；ヒト免疫不全ウイルス（例えば、Ｍｉｙｏｓｈｉ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ ９４：１０３１９ ２３，１９９７；Ｔａｋａｈａｓｈｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｖｉｒｏｌ ７３：７８１２ ７８１６，１９９９を参照されたい）；レトロウイルスベクタ

ー（例えば、マウス白血病ウイルス、脾臓壊死ウイルス、ならびにレトロウイルス、例えば、ラウス肉腫ウイルス、ハーベイ肉腫ウイルス、トリ白血病ウイルス、レンチウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、骨髄増殖性肉腫ウイルス、及び哺乳類腫瘍ウイルスに由来するベクター）；等が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの場合では、ベクターは、レンチウイルスベクターである。加えて好適なものは、トランスポゾン媒介ベクター、例えば、ピギーバック及びスリーピングビューティーベクターである。

【０４２２】

宿主細胞

本開示は、本開示の核酸で遺伝子改変された宿主細胞、すなわち、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸で遺伝子改変された宿主細胞を提供する。本開示は、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞の活性を調節する方法を提供する。該方法は、概して、細胞と特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを必然的に含む。特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出される。細胞内ドメインの放出が、細胞の活性を調節する。

【０４２３】

いくつかの場合では、細胞は、真核細胞である。いくつかの場合では、細胞は、哺乳類細胞、両生類細胞、爬虫類細胞、鳥類細胞、または植物細胞である。いくつかの場合では、細胞は、植物細胞である。

【０４２４】

いくつかの場合では、細胞は、哺乳類細胞である。いくつかの場合では、細胞は、ヒト細胞である。いくつかの場合では、細胞は、マウス細胞である。いくつかの場合では、細胞は、ラット細胞である。いくつかの場合では、細胞は、非ヒト霊長類細胞である。いくつかの場合では、細胞は、ウサギ類細胞である。いくつかの場合では、細胞は、有蹄類細胞である。

【０４２５】

いくつかの場合では、細胞は、免疫細胞、例えば、Ｔ細胞、Ｂ細胞、マクロファージ、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、単球等である。いくつかの場合では、細胞は、Ｔ細胞である。いくつかの場合では、細胞は、細胞傷害性Ｔ細胞（例えば、ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞）である。いくつかの場合では、細胞は、ヘルパーＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞）である。いくつかの場合では、細胞は、制御性Ｔ細胞（「Ｔｒｅｇ」）である。いくつかの場合では、細胞は、Ｂ細胞である。いくつかの場合では、細胞は、マクロファージである。いくつかの場合では、細胞は、樹状細胞である。いくつかの場合では、細胞は、末梢血単核細胞である。いくつかの場合では、細胞は、単球である。いくつかの場合では、細胞は、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞である。いくつかの場合では、細胞は、ＣＤ４$^{+}$、ＦＯＸＰ３$^{+}$Ｔｒｅｇ細胞である。いくつかの場合では、細胞は、ＣＤ４$^{+}$、ＦＯＸＰ３$^{-}$Ｔｒｅｇ細胞である。

【０４２６】

いくつかの例では、細胞は、個体から得られる。例えば、いくつかの場合では、細胞は、初代細胞である。別の例として、細胞は、個体から得られた幹細胞または始原細胞である。

【０４２７】

１つの非限定的な例として、いくつかの場合では、細胞は、個体から得られた免疫細胞である。一例として、細胞は、個体から得られたＴリンパ球であることができる。別の例として、細胞は、個体から得られた細胞傷害性細胞（例えば、細胞傷害性Ｔ細胞）である。別の例として、細胞は、個体から得られたヘルパーＴ細胞であることができる。別の例として、細胞は、個体から得られた制御性Ｔ細胞であることができる。別の例として、細胞は、個体から得られたＮＫ細胞であることができる。別の例として、細胞は、個体から得られたマクロファージであることができる。別の例として、細胞は、個体から得られた

樹状細胞であることができる。別の例として、細胞は、個体から得られたＢ細胞であることができる。別の例として、細胞は、個体から得られた末梢血単核細胞であることができる。

【０４２８】

いくつかの場合では、宿主細胞は、体細胞、例えば、線維芽細胞、造血細胞、ニューロン、膵臓細胞、筋肉細胞、骨細胞、肝細胞、膵臓細胞、上皮細胞、内皮細胞、心筋細胞、Ｔ細胞、Ｂ細胞、骨細胞、等である。

【０４２９】

いくつかの場合では、細胞は、２つの異なる本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現するように遺伝子改変される。例えば、いくつかの場合では、宿主細胞は、ｉ）第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；及びｉｉ）少なくとも、第二の特異的結合対の第一のメンバーを含む第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現するように遺伝子改変され、ここで第一及び第二の特異的結合対は互いに異なり、そのため、第一の特異的結合対の第二のメンバーの第一の特異的結合対第一のメンバーへの結合は、第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインの放出をもたらさず、第二の特異的結合対の第二のメンバーの第二の特異的結合対の第一のメンバーへの結合は、第一の第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインの放出をもたらさない。

【０４３０】

いくつかの場合では、細胞は、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現するように遺伝子改変される。いくつかの場合では、細胞は、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現するように遺伝子改変され；キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するようにさらに遺伝子改変される。例えば、いくつかの場合では、宿主細胞は、ＣＡＲをコードするヌクレオチド配列を含む核酸で遺伝子改変され、キメラポリペプチドの細胞内ドメインは、転写活性化因子である。いくつかの場合では、ＣＡＲをコードするヌクレオチド配列は、キメラポリペプチドの細胞内ドメインにより活性化される転写制御エレメントに作動可能に連結している。多くのＣＡＲポリペプチドが当該分野で記載されているが、そのいずれもが本明細書での使用に好適である。

【０４３１】

いくつかの場合では、ＣＡＲは、細胞外ドメイン、膜貫通領域及び細胞内シグナル伝達ドメインを含み；ここで、細胞外ドメインは、細胞外ドメインを細胞表面に繋留することができる随意の支持領域に連結したリガンドまたは受容体を含み、細胞内シグナル伝達ドメインは、ヒトＣＤ３複合体のゼータ鎖（ＣＤ３ゼータ）からのシグナル伝達ドメイン及び１つまたは複数の共刺激シグナル伝達ドメイン、例えば、ＣＤ２８、４－１ＢＢ及びＯＸ－４０からのものを含む。細胞外ドメインは、ＣＡＲが標的に結合することを可能にする認識エレメント（例えば、抗体または他の標的結合足場）を含有する。いくつかの場合では、ＣＡＲは、Ｔ細胞シグナル伝達ドメインに連結した抗体の抗原結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）を含む。いくつかの場合では、Ｔ細胞の表面上で発現したとき、ＣＡＲは、Ｔ細胞活性を、この認識エレメントがそれに対して特異的である受容体またはリガンドを発現する細胞に指向することができる。一例として、腫瘍抗原に対して特異的な認識エレメントを含有する細胞外ドメインを含有するＣＡＲは、Ｔ細胞活性を、腫瘍抗原を担持する腫瘍細胞に指向することができる。細胞内領域は、細胞（例えば、Ｔ細胞）が、共刺激シグナルを受け取ることを可能にする。共刺激シグナル伝達ドメインは、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、ＯＸ－４０またはこれらの任意の組み合わせから選択することができる。例示的なＣＡＲは、ヒトＣＤ４膜貫通領域、ヒトＩｇＧ４　Ｆｃ及び腫瘍特異的である受容体またはリガンド、例えば、ＩＬ１３またはＩＬ３分子を含む。

【０４３２】

細胞外ドメインは、細胞外ドメインを細胞表面に繋留することができる随意の支持領域に連結した（標的腫瘍抗原または他の腫瘍細胞表面分子に対して特異的である）可溶性受容体リガンドからなる。いくつかの場合では、ＣＡＲは、ＷＯ２０１４／１２７２６１に

記載のような、ヘテロ二量体、条件的に活性なＣＡＲである。いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体、条件的に活性なＣＡＲは、ｉ）ＣＡＲがそれに対して特異的である抗原と結合すること；及びｉｉ）ヘテロ二量体、条件的に活性なＣＡＲの２つのポリペプチド鎖の二量体化を誘導する二量体化剤によって活性化される。二量体化剤は、小分子であることができる、または光であることができる。

【０４３３】

トランスジェニック生物

本開示は、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドをコードする核酸を含む非ヒトトランスジェニック生物を提供する。本開示のトランスジェニック非ヒト生物は、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を含むように遺伝子改変されているゲノムを含む。

【０４３４】

遺伝子改変生物を産生する方法は、当該分野で公知である。例えば、Ｃｈｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒ Ｐｒｏｔｏｃ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．２００９ Ｍａｒ；Ｃｈａｐｔｅｒ １９：Ｕｎｉｔ １９．１１：Ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ ｏｆ ｔｒａｎｓｇｅｎｉｃ ｍｉｃｅ；Ｇａｍａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒａｉｎ Ｓｔｒｕｃｔ Ｆｕｎｃｔ ２０１０ Ｍａｒ；２１４（２－３）：９１－１０９ Ｅｐｕｂ ２００９ Ｎｏｖ ２５：Ａｎｉｍａｌ ｔｒａｎｓｇｅｎｅｓｉｓ：ａｎ ｏｖｅｒｖｉｅｗ；及びＨｕｓａｉｎｉ ｅｔ ａｌ．，ＧＭ Ｃｒｏｐｓ ２０１１ Ｊｕｎ－Ｄｅｃ；２（３）：１５０－６２ Ｅｐｕｂ ２０１１ Ｊｕｎ １：Ａｐｐｒｏａｃｈｅｓ ｆｏｒ ｇｅｎｅ ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ａｎｄ ｔａｒｇｅｔｅｄ ｇｅｎｅ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｉｎ ｐｌａｎｔｓを参照されたい。

【０４３５】

本開示の非ヒトトランスジェニック生物では、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸は、（例えば、核酸が宿主細胞ゲノムに無作為にインテグレートするとき）未知のプロモーターの制御下にある（すなわち、作動可能に連結する）ことができるか、または公知プロモーターの制御下にある（すなわち、作動可能に連結する）ことができる。好適な公知のプロモーターは、任意の公知プロモーターであることができ、構成的に活性なプロモーター（例えば、ＣＭＶプロモーター）、誘導性プロモーター（例えば、熱ショックプロモーター、テトラサイクリン調節プロモーター、ステロイド調節プロモーター、金属調節プロモーター、エストロゲン受容体調節プロモーター、等）、空間的に制限された及び／または一次的に制限されたプロモーター（例えば、組織特異的プロモーター、細胞型特異的プロモーター等）等を含む。

【０４３６】

主題の遺伝子改変生物（例えば、そのゲノムが本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む生物は、例えば、植物；無脊椎動物（例えば、刺胞動物、棘皮動物、ワーム、ハエ等）；非哺乳類脊椎動物（例えば、魚（例えば、ゼブラフィッシュ、フグ、キンギョ等））；両生類（例えば、サンショウウオ、カエル等）；爬虫類；鳥類；哺乳類；等）；有蹄類（例えば、ヤギ、ブタ、ヒツジ、ウシ等）；げっ歯類（例えば、マウス、ラット、ハムスター、モルモット）；ウサギ類（例えば、ウサギ）；等を含む任意の生物であることができる。いくつかの場合では、トランスジェニック非ヒト生物は、マウスである。いくつかの場合では、トランスジェニック非ヒト生物は、ラットである。いくつかの場合では、トランスジェニック非ヒト生物は、植物である。

【０４３７】

いくつかの実施形態では、トランスジェニック非ヒト動物は、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドをコードする導入遺伝子に関してホモ接合である。いくつかの実施形態では、トランスジェニック非ヒト動物は、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドをコードする導入遺伝子に関してヘテロ接合である。

【０４３８】

方法

本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、及び本開示の核酸（キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸）、及び本開示の核酸を含む組換え発現ベクターが、様々な用途で有用である。本開示は、かかる用途を提供する。

【０４３９】

本開示は、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞の活性を調節する方法を提供する。細胞の活性を調節するための本開示の方法は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏ、またはｉｎ　ｖｉｖｏで実行されることができる。細胞の活性を調節するための本開示の方法は、単一の細胞、または多細胞環境（例えば、天然に存在する組織；人工の組織；等）において実行されることができる。細胞の活性を調節するための本開示の方法は、並行してまたは一連で実行されることができる。

【０４４０】

細胞の活性を調節する方法

本開示は、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞の活性を調節する方法を提供する。いくつかの場合では、該方法は、細胞と特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを含み、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出され、細胞内ドメインの放出が、細胞の活性を調節する。細胞内ドメインは、「エフェクター機能」を提供し、ここで、エフェクター機能は、転写活性化；転写抑制；翻訳活性化；翻訳抑制；細胞小器官機能の調節；免疫細胞活性化；免疫細胞抑制；アポトーシスの誘導；アポトーシスの抑制；ヌクレアーゼ活性；分化の調節；標的核酸の置換；標的核酸の改変；等であることができる。本開示の方法を使用して調節することができる細胞の活性には、免疫細胞活性化（例えば、Ｔ細胞活性化等）；アポトーシス；エフェクター分子（例えば、サイトカイン、抗体、成長因子等）の産生；標的核酸の転写；標的ｍＲＮＡの翻訳；細胞小器官活性；細胞内トラフィッキング；分化；等が含まれるが、これらに限定されない。本開示の方法は、形質膜で作用するエフェクターの放出を引き起こすために使用することもでき、それにより細胞の活性の改変（例えば、免疫活性化を提供する免疫共抑制受容体モチーフの放出）がもたらされる。

【０４４１】

本開示は、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞において、エフェクター機能を誘導する方法を提供する。いくつかの場合では、該方法は、細胞と特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを含み、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出され、細胞内ドメインはエフェクター機能を提供し、細胞内ドメインの放出は、細胞におけるエフェクター機能の作用を提供する。

【０４４２】

いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出され、ここで細胞内ドメインは、アポトーシス誘導因子である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出され、ここで、細胞内ドメインは、リコンビナーゼである。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出され、ここで、細胞内ドメインは、Ｃａｓ９ポリペプチドである。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それによ

り細胞内ドメインが放出され、ここで、細胞内ドメインは、ｄＣａｓ９ポリペプチドである。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出され、ここで、細胞内ドメインは、転写活性化因子である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出され、ここで、細胞内ドメインは、転写抑制因子である。

【０４４３】

本開示の方法は、ｉｎ　ｖｉｖｏ、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ、またはｅｘ　ｖｉｖｏで実行されることができる。

【０４４４】

いくつかの場合では、本開示の方法は、ｅｘ　ｖｉｖｏで実行され、この場合、細胞は個体から獲得され、ｉ）単一の本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；ｉｉ）２つ以上の本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；ｉｉｉ）本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド及びＣＡＲ；またはｉｖ）本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド及び細胞において非内在性応答能力を提供する天然に存在するもしくは合成の受容体を発現するように遺伝子改変される。

【０４４５】

１つの非限定的な例として、本開示は、以下を含む、癌を有する個体において癌を処置する方法を提供する：

ｉ）個体から得たＴリンパ球またはナチュラルキラー（ＮＫ）細胞を、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクターで遺伝子改変すること、ここで、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは個体の癌細胞上のエピトープに対して特異的であり、遺伝子改変は、ｅｘ　ｖｉｖｏで実行される；

ｉｉ）遺伝子改変されたＴリンパ球またはＮＫ細胞を個体に導入すること、ここで、遺伝子改変されたＴリンパ球またはＮＫが癌細胞を認識して殺傷し、それにより癌を処置する。

【０４４６】

いくつかの場合では、本開示の方法は、ｉｎ　ｖｉｖｏで実行される、例えば、この場合、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクターは、それを必要とする個体に投与される。発現ベクターを個体に投与する方法は、当該分野で周知である；発現ベクターを個体に投与するための公知の方法はいずれも、本開示の方法における使用に好適である。

【０４４７】

いくつかの場合では、本開示の方法は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ、例えば、細胞を懸濁液中の単一細胞として増殖させる、細胞を固体支持体上で増殖させる、細胞を３次元足場等において増殖させる、等のｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞培養物において実行される。

【０４４８】

エフェクター機能の直接制御

本開示は、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞の活性を調節する方法を提供する。上に詳述するように、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドは、特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインを含む。キメラＮｏｔｃｈポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位；及び細胞内ドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドも含む。いくつかの場合では、該方法は、細胞と特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを含み、ここで、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出され、細胞内ドメインの放出が、細胞の活性を調節する。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞

と接触する第二の細胞の細胞表面上に存在する。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、可溶性である。

【０４４９】

いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞を直接的に調節する。かかる実施形態を図５に概略的に示す。

【０４５０】

エフェクター機能の直接制御の非限定的な例として、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、リガンドに対して特異的なｓｃＦｖを含む細胞外ドメイン、及びアポトーシス調節因子（例えば、ｔＢＩＤ）を細胞内ドメインとして含む。キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、第一の細胞の表面上に発現される。第二の細胞の表面上の特異的結合対の第二のメンバー（この場合では、ｓｃＦｖにより特異的に結合されるリガンド（抗原）である）への結合の際に、ｔＢＩＤが第一の細胞において放出され、第一の細胞においてアポトーシスを誘導する。この例を図６に概略的に示す。

【０４５１】

エフェクター機能の間接的制御

本開示は、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞の活性を調節する方法を提供する。上に詳述するように、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドは、特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインを含む。キメラＮｏｔｃｈポリペプチドは、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位；及び細胞内ドメインを含むＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドも含む。いくつかの場合では、該方法は、細胞と特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを含み、ここで、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出される。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞と接触する第二の細胞の細胞表面上に存在する。いくつかの場合では、特異的結合対の第二のメンバーは、可溶性である。

【０４５２】

いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、放出されるときに、標的核酸の発現を調節（例えば、転写を増加する；転写を低減させる；翻訳を増加する；翻訳を低減させる；等）する転写因子または翻訳因子である。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、放出されるときに、エフェクター遺伝子によりコードされる遺伝子産物（例えば、エフェクターポリペプチド；エフェクター核酸）の産生をもたらす、エフェクター遺伝子の転写を誘導する転写因子である。エフェクター機能のかかる「間接的」制御の一例を、図７に示す。いくつかの場合では、エフェクターポリペプチドは、アポトーシス誘導因子、活性化免疫受容体、抑制性免疫受容体、転写因子、アポトーシス抑制因子、分泌因子（例えば、サイトカイン；ホルモン；ケモカイン；抗体；１つまたは複数の内在性因子に応答するように細胞の能力を変える受容体；ドミナントネガティブ調節タンパク質；細胞内ブロッキングタンパク質；等）または部位特異的ヌクレアーゼである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、放出されるときに、標的遺伝子産物の、翻訳、ｍＲＮＡ安定性、またはタンパク質プロセシングを調節する（増加するまたは低減させる）ポリペプチドであり、ここで、標的遺伝子産物が、エフェクター機能を提供する。

【０４５３】

エフェクター機能の間接的制御の非限定的な例として、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、リガンドに対して特異的なｓｃＦｖを含む細胞外ドメイン、及び転写因子（例えば、ｔＴａ）を含む細胞内ドメインを含む。キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、第一の細胞の表面上で発現する。第二の細胞の表面上にある特異的結合対の第二のメンバー（この場合では、ｓｃＦｖにより特異的に結合されるリガンド（抗原）である）への結合の際に、転写因子（この場合は、ｔＴａ）が第一の細胞において放出され、アポトーシス誘導因子（この場合、ｔＢＩＤ）をコードする核酸の転写を誘導する。ｔＢＩＤは、第一の細胞で産生され、第一の細胞においてアポトーシスを誘導する。この例を図

８に概略的に示す。

【０４５４】

標的化送達及び生物学的製剤の分泌におけるキメラｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの使用

本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを使用して、生物学的分子、例えば、サイトカイン、成長因子、抗体、及び、遺伝子コードされている他の結合剤、アゴニスト、捕捉剤、またはブロッキング剤の発現及び分泌を制御することができる。

【０４５５】

キメラＮｏｔｃｈ受容体（または協同的に作用するキメラＮｏｔｃｈ受容体の組み合わせ）の結合を使用して、体内の特定の領域、組織または細胞型を感知することができ、これが、その部位への、分泌された生物製剤の局所的発現／送達を誘発する。生物製剤の送達の制御は、間接的制御（物質の転写の制御）を介して、または生物製剤の発現、プロセシング及び分泌に関与する他のプロセスの制御を介することができる。

【０４５６】

キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド－多数の受容体の並行した組み合わせ使用；キメラＮｏｔｃｈポリペプチド及びＣＡＲ

本開示は、ｉ）本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチド；及びｂ）キメラ抗原受容体を発現する細胞の活性を調節する方法を提供する。該方法は、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド及びＣＡＲの両方を発現する細胞を、ｉ）特異的結合対の第二のメンバー（ここで、特異的結合対の第二のメンバーは、特異的結合対の、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドに存在する、第一のメンバーに結合する）；及びｉｉ）ＣＡＲが結合する抗原と接触させることを必然的に含む。これらの実施形態では、細胞の活性の調節は、特異的結合対の第二のメンバー、及びＣＡＲが特異的に結合する抗原の両方が必要とされる。

【０４５７】

いくつかの場合では、ＣＡＲは、細胞外ドメイン、膜貫通領域及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む；ここで、細胞外ドメインは、細胞外ドメインを細胞表面に繋留することができる随意の支持領域に連結したリガンドまたは受容体を含み、細胞内ドメインは、ヒトＣＤ３複合体のゼータ鎖（ＣＤ３ゼータ）からのシグナル伝達ドメイン及び１つまたは複数の共刺激シグナル伝達ドメイン、例えば、ＣＤ２８、４－１ＢＢ及びＯＸ－４０からのものを含む。細胞外ドメインは、ＣＡＲが標的に結合することを可能にする認識エレメント（例えば、抗体または他の標的結合足場）を含有する。いくつかの場合では、ＣＡＲは、Ｔ細胞シグナル伝達ドメインに連結した抗体の抗原結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖ）を含む。いくつかの場合では、Ｔ細胞の表面上で発現したとき、ＣＡＲは、Ｔ細胞活性を、この認識エレメントがそれに対して特異的である受容体またはリガンドを発現する細胞に指向することができる。一例として、腫瘍抗原に対して特異的な認識エレメントを含有する細胞外ドメインを含有するＣＡＲは、Ｔ細胞活性を、腫瘍抗原を担持する腫瘍細胞に指向することができる。細胞内領域は、細胞（例えば、Ｔ細胞）が、共刺激シグナルを受け取ることを可能にする。共刺激シグナル伝達ドメインは、ＣＤ２８、４－１ＢＢ、ＯＸ－４０またはこれらの任意の組み合わせから選択することができる。例示的なＣＡＲは、ヒトＣＤ４膜貫通領域、ヒトＩｇＧ４　Ｆｃ及び腫瘍特異的である受容体またはリガンド、例えば、ＩＬ１３またはＩＬ３分子を含む。

【０４５８】

細胞外ドメインは、細胞外ドメインを細胞表面に繋留することができる随意の支持領域に連結した（標的腫瘍抗原または他の腫瘍細胞表面分子に対して特異的である）可溶性受容体リガンドからなる。いくつかの場合では、ＣＡＲは、ＷＯ２０１４／１２７２６１に記載のような、ヘテロ二量体、条件的に活性なＣＡＲである。

【０４５９】

キメラｎｏｔｃｈ受容体を使用して、その活性が細胞内に構成的に存在しないまたは通常はその活性が細胞内に存在しない、任意の他の天然、キメラ、または直交受容体の活性を同様に調節し、それにより細胞が応答するシグナルを変えることもできる。

【０４６０】
キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド－複数の受容体の並行した組み合わせ使用；２つの異なるキメラＮｏｔｃｈポリペプチド
本開示は、ｉ）第一の本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチド；及びｂ）第二の本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞の活性を調節する方法を提供する。例えば、いくつかの場合では、細胞は、ｉ）第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；及びｉｉ）少なくとも、第二の特異的結合対の第一のメンバーを含む第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現し、ここで、第一及び第二の特異的結合対は互いに異なり、そのため、第一の特異的結合対の第二のメンバーの第一の特異的結合対の第一のメンバーへの結合は、第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインの放出をもたらさず、第二の特異的結合対の第二のメンバーの第二の特異的結合対の第一のメンバーへの結合は、第一の第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインの放出をもたらさない。これらの実施形態では、第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、第一のエフェクター機能を提供し；第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、第一のエフェクター機能とは異なる第二のエフェクター機能を提供する。これらの実施形態の概略図を図９Ａに提示する。
【０４６１】
本開示は、ｉ）第一の本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチド；及びｂ）第二の本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現する細胞の活性を調節する方法を提供する。例えば、いくつかの場合では、細胞は、ｉ）第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド；及びｉｉ）少なくとも、第二の特異的結合対の第一のメンバーを含む第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現し、ここで、第一及び第二の特異的結合対は互いに異なり、そのため、第一の特異的結合対の第二のメンバーの第一の特異的結合対の第一のメンバーへの結合は、第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインの放出をもたらさず、第二の特異的結合対の第二のメンバーの第二の特異的結合対の第一のメンバーへの結合は、第一の第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインの放出をもたらさない。これらの実施形態では、第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの放出された細胞内ドメインに結合（またあるいは、これと作動可能に相互作用）して、エフェクター機能を提供する。第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの放出された細胞内ドメイン単体では、エフェクター機能を提供せず；第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの放出された細胞内ドメイン単体では、エフェクター機能を提供しない。しかしながら、２つの放出された細胞内ドメインは一緒になってエフェクター機能を提供する。これらの実施形態の概略図を図９Ａに提示する。
【０４６２】
類似した実施形態は、２つの異なるキメラＮｏｔｃｈ受容体による間接的な調節を活用し得、これは、２つの異なるキメラＮｏｔｃｈ受容体のそれぞれが、一緒に発現されたときにのみエフェクター機能を誘導し得るエフェクターの発現を誘導し得ることによる。
【０４６３】
本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体を使用して、その活性が細胞内に構成的に存在しないまたは通常は細胞内に存在しない、任意の他の天然、キメラ、または直交受容体の活性を同様に調節することもできる。
【０４６４】
キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド－複数の受容体の一連の組み合わせ使用；キメラＮｏｔｃｈポリペプチド及びＣＡＲ
本開示は、ａ）本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸；及びｂ）キメラ抗原受容体をコードするヌクレオチド配列を含む核酸で遺伝子改変されている細胞の活性を調節する方法であって、キメラ抗原受容体をコードするヌクレオチド配列が誘導性プロモーターの制御下にある、前記方法を提供する。該方法は、

以下を必要とする：
ｉ）本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現する（がＣＡＲは発現しない）細胞と、特異的結合対の第二のメンバー（ここで、特異的結合対の第二のメンバーは、特異的結合対の、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドに存在する、第一のメンバーに結合する）を接触させること、ここで、細胞と特異的結合対の第二のメンバーの接触は、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインの放出を誘導し、ここで、細胞内ドメインは、キメラ抗原受容体をコードするヌクレオチド配列を含む核酸の転写を活性化させる転写因子であり、これによりＣＡＲの発現がもたらされる；及び
ｉｉ）（ｉ）の接触ステップの後に、細胞と、ＣＡＲが結合する抗原を接触させること。二回目の接触ステップは、ＣＡＲによる活性の調節をもたらす。これらの実施形態では、細胞の活性の調節は、特異的結合対の第二のメンバー、及びＣＡＲが特異的に結合する抗原の両方を必要とする。これらの実施形態の一例を図１０に概略的に示す。

【０４６５】
本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体を使用して、その活性が細胞内に構成的に存在しないまたは通常は細胞内に存在しない、任意の他の天然、キメラ、または直交受容体の活性を同様に調節することもできる。

【０４６６】
いくつかの場合では、細胞は、２つ以上の本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを産生するように遺伝子改変される。ゆえに、いくつかの場合では、本開示は、ａ）２つ以上（例えば、２、３、４、またはそれ以上）の本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸；及びｂ）キメラ抗原受容体をコードするヌクレオチド配列を含む核酸で遺伝子改変されている細胞の活性を調節する方法であって、キメラ抗原受容体をコードするヌクレオチド配列が誘導性プロモーターの制御下にある、前記方法を提供する。該方法は、以下を必要とする：
ｉ）２つ以上の本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現する（がＣＡＲは発現しない）細胞と、特異的結合対の第二のメンバー（ここで、特異的結合対の第二のメンバーは、特異的結合対の、キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドに存在する、第一のメンバーに結合する）を接触させること、ここで、細胞と特異的結合対の第二のメンバーとの接触が、２つ以上のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの少なくとも１つの細胞内ドメインの放出を誘導し、ここで、細胞内ドメインは、キメラ抗原受容体をコードするヌクレオチド配列を含む核酸の転写を活性化する転写因子であり、これによりＣＡＲの発現がもたらされる；及び
ｉｉ）（ｉ）の接触ステップの後に、細胞と、ＣＡＲが結合する抗原を接触させること。二回目の接触ステップは、ＣＡＲによる活性の調節をもたらす。これらの実施形態では、細胞の活性の調節は、特異的結合対の第二のメンバー、及びＣＡＲが特異的に結合する抗原の両方を必要とする。

【０４６７】
本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体を使用して、その活性が細胞内に構成的に存在しないまたは通常は細胞内に存在しない、任意の他の天然、キメラ、または直交受容体の活性を同様に調節することもできる。一緒に機能する複数のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを、同様に使用して、その活性が細胞内に構成的に存在しないまたは通常は細胞内に存在しない、任意の他の天然、キメラ、または直交受容体の活性を調節することができる。

【０４６８】
キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド－複数の受容体の一連の組み合わせ使用；２つの異なるキメラＮｏｔｃｈポリペプチド
本開示は、ｉ）第一の本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸；及びｂ）第二の本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸で遺伝子改変されている細胞の活性を調節する方法を提供する。例えば、いくつかの場合では、細胞は、ｉ）第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核

酸；及びｉｉ）第二の特異的結合対の第一のメンバーを含む少なくとも第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸で遺伝子改変されており、ここで第一及び第二の特異的結合対は互いに異なり、そのため、第一の特異的結合対の第二のメンバーの第一の特異的結合対の第一のメンバーへの結合は、第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインの放出をもたらさず、第二の特異的結合対の第二のメンバーの第二の特異的結合対の第一のメンバーへの結合は、第一の第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインの放出をもたらさない。これらの実施形態では、第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、第一のエフェクター機能を提供し、ここでエフェクター機能は第二のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドの転写の誘導を提供し；第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、第一のエフェクター機能とは異なる第二のエフェクター機能を提供する。

【０４６９】

本方法は、ｉ）第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現する（が第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは発現しない）細胞と、第一の特異的結合対の第二のメンバー（ここで、第一の特異的結合対の第二のメンバーは、第一の特異的結合対の、第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドに存在する、第一のメンバーに結合する）を接触させること、ここで細胞と第一の特異的結合対の第二のメンバーとの接触は、第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインの放出を誘導し、第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸の転写を活性化させる転写因子であり、これにより第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの発現がもたらされる；及びｉｉ）（ｉ）の接触ステップの後に、細胞と第二の特異的結合対の第二のメンバー（ここで、第二の特異的結合対の第二のメンバーは、第二の特異的結合対の、第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドに存在する、第一のメンバーに結合する）を接触させることを必然的に含む。二回目の接触ステップは、第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインの放出をもたらし、ここで第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、細胞の活性を調節するエフェクター機能を提供する。これらの実施形態では、細胞の活性の調節は、細胞とまず、第一の特異的結合対の第二のメンバーを、次いで、第二の特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを必要とする。これらの実施形態の一例を図１１に概略的に示す。

【０４７０】

２つ以上の本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体をこの様式にて一連で使用して、その活性が細胞内に構成的に存在しないまたは通常は細胞内に存在しない、任意の他の天然、キメラ、または直交受容体の活性を同様に調節することもできる。

【０４７１】

２つ以上の細胞を用いた複数の受容体回路に関与する方法

本開示は、第一の細胞の活性を調節するための方法であって、第一の細胞と第二の細胞を接触させることを含み、第二の細胞が、特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインを含むキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現し；第二の細胞が、その表面上で特異的結合対の第二のメンバーを含む分子を発現する、前記方法を提供する。いくつかの場合では、第一の細胞と第二の細胞を接触させることは、第一の細胞における活性を調節する。いくつかの場合では、第一の細胞と第二の細胞を接触させることは、第二の細胞の活性を調節する。

【０４７２】

本開示は、第一の細胞の活性を調節する方法であって、第一の細胞と第二の細胞を接触させることを必然的に含み、第二の細胞が、第一の特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインを含む第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現し；第一の細胞が、第二の特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインを含む第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現し、第一の細胞が、ＣＡＲをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を含む、前記方法を提供する。第二の細胞と第一の特異的結合対の第二のメ

ンバーを接触させ、それにより第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインの放出がもたらされ、第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、第二の特異的結合対の第二のメンバーをコードする核酸の転写を誘導する転写因子である。第二の特異的結合対の第二のメンバーは、第二の細胞の表面上に発現される。第二の特異的結合対の第二のメンバーが、第一の細胞と接触することになる第二の細胞の表面上に発現されるとき、第二の特異的結合対の第二のメンバーは、第一の細胞の細胞表面上に存在する第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドに存在する第一のメンバーに結合し、それにより第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインの放出がもたらされる。第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの細胞内ドメインは、ＣＡＲが第一の細胞の表面上で発現されるように、例えば、ＣＡＲの全部または一部の転写を誘導する転写因子であることができる。いくつかの場合では、第二の細胞の表面上に存在する第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、及び第一の細胞の表面上に存在するＣＡＲは、第三の細胞の表面上に存在する２つの別々の抗原を認識する。いくつかの場合では、第三の細胞は、標的細胞である。いくつかの場合では、第二の細胞は、「ヘルパー細胞」であり、これは、第一の抗原と接触したときに、第一の細胞の表面上にＣＡＲの発現をもたらし、ＣＡＲは、標的細胞上の第二の抗原を認識する。これらの実施形態を図１２に概略的に示す。

【０４７３】

多細胞環境において細胞活性を調節する方法

細胞の活性を調節するための本開示の方法は、多細胞環境において実行することができる。例えば、第一のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、第一の細胞（「第一の受信側細胞」）に存在し、近接する細胞（例えば、「送信側」細胞）上の第一のリガンドへの結合の後に放出されたとき、第二の細胞上の第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドが結合する第二のリガンドの転写を提供する、細胞内ドメインを含むことができ、ここで、第二のリガンドは、第一の細胞の表面上に発現される。第二の細胞（「第二の受信側細胞」）は、その表面上で第二のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現し；第一の受信側細胞との相互作用の際、第二の受信側細胞における細胞内エフェクター機能は、放出され、第二の受信側細胞の活性の調節を提供する。これらの実施形態を図１３に概略的に示す。このような方法は、、例えば、構造化された組織を構築すること；細胞結合性をトラッキングすること；等に有用である。

【０４７４】

標的細胞の二重認識を必然的に含む細胞活性を調節する方法

いくつかの場合では、細胞の活性を調節するための本開示の方法は、標的細胞上の２つの別々の標的分子の認識を必然的に含む。例えば、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを発現する第一の細胞は、標的細胞上の第一の標的分子；及び標的細胞上の第二の標的分子と結合する受容体または他の認識分子をその細胞表面上で発現する第二の細胞を認識する。第一及び第二の細胞の、標的細胞上の第一及び第二の標的分子への結合は、第二の細胞による新しいエフェクター機能（例えば、新しいポリペプチドなどの新しい遺伝子産物）の発現をもたらす。いくつかの場合では、第一の細胞の、標的細胞上の第一の標的分子への結合は、第一の細胞において遺伝子産物（例えば、ポリペプチド）の発現を誘導し；ここで、いくつかの場合では、第一の細胞により産生される新しい遺伝子産物は、第一の細胞の表面上で発現され、第二の細胞の表面上にある受容体または他の認識分子と結合し、この結合が、第二の細胞の活性（例えば、第二の細胞が新しいエフェクター機能（例えば、新しいポリペプチドなどの新しい遺伝子産物を発現するように、核酸の転写の誘導）の調節をもたらし得る。いくつかの場合では、第一及び第二の細胞の、標的細胞上の第一及び第二の標的分子への結合は、第二の細胞による標的細胞の殺傷、または第二の細胞により発現される新しいエフェクター機能による標的細胞の殺傷をもたらす。いくつかの場合では、第一及び第二の細胞の、標的細胞上の第一及び第二の標的分子への結合は、標的細胞の活性の調節をもたらす；例えば、標的細胞の活性の調節が、第二の細胞により産生された新しいエフェクター機能により誘導される場合である。これらの実施形態

を図１４に概略的に示す。

【０４７５】

方法

本開示は、結合誘発型転写スイッチ（例えば、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチド；ＭＥＳＡポリペプチド；ＴＡＮＧＯポリペプチド；等）を発現する細胞の活性を調節する方法を提供する。細胞の活性を調節するための本開示の方法は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏ、またはｉｎ　ｖｉｖｏで実行されることができる。細胞の活性を調節するための本開示の方法は、単一細胞において、または多細胞環境（例えば、天然に存在する組織；人工の組織；等）において実行されることができる。細胞の活性を調節するための本開示の方法は、並行してまたは一連で実行されることができる。

【０４７６】

本開示は、細胞の活性を局所的に調節する方法を提供する。該方法は、概して、ａ）細胞において、特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含む結合誘発型転写スイッチを発現させること；及びｂ）細胞と特異的結合対の第二のメンバーを接触させること必然的に含む。特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、結合トランスデューサが結合シグナルを伝達するように誘導して、細胞内ドメインを活性化させ、それにより、活性化した細胞内ドメインが産生される。活性化した細胞内ドメインは、細胞の活性を調節する。本方法を使用して調節することができる細胞の活性には、ｉ）細胞の遺伝子産物の発現；ｉｉ）細胞の増殖；ｉｉｉ）細胞のアポトーシス；ｉｖ）細胞の非アポトーシス性死；ｖ）細胞の分化；ｖｉ）細胞の脱分化；ｖｉｉ）細胞の遊走；ｖｉｉｉ）細胞からの分子の分泌；及びｉｘ）細胞の細胞接着が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの場合では、接触工程は、ｉｎ　ｖｉｖｏで実行される。いくつかの場合では、接触工程は、ｅｘ　ｖｉｖｏで実行される。いくつかの場合では、接触工程は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される。

【０４７７】

本開示は、細胞の活性を局所的に調節する方法を提供する。該方法は、概して、以下を必要とする：

ａ）細胞において、本開示のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現させること、ここで、キメラＮｏｔｃｈポリペプチドは、ｉ）特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメイン；ｉｉ）Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチド、ここで、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドは、上記の通りであり、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含む；及びｉｉｉ）細胞内ドメインを含む；ならびに

ｂ）細胞と特異的結合対の第二のメンバーを接触させること。特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合が、Ｎｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより細胞内ドメインが放出される。放出された細胞内ドメインは、細胞の活性を調節する。本方法を使用して調節することができる細胞の活性には、ｉ）細胞の遺伝子産物の発現；ｉｉ）細胞の増殖；ｉｉｉ）細胞のアポトーシス；ｉｖ）細胞の非アポトーシス性死；ｖ）細胞の分化；ｖｉ）細胞の脱分化；ｖｉｉ）細胞の遊走；ｖｉｉｉ）細胞からの分子の分泌；及びｉｘ）細胞の細胞接着が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの場合では、接触工程は、ｉｎ　ｖｉｖｏで実行される。いくつかの場合では、接触工程は、ｅｘ　ｖｉｖｏで実行される。いくつかの場合では、接触工程は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される。

【０４７８】

本開示は、細胞の活性を局所的に調節する方法を提供する。該方法は、概して、ａ）細胞内において、特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、及び細胞内ドメインとを含むＭＥＳＡポリペプチドを発現させること；及びｂ）細胞と特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを必然的に含む。特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、結合トランスデューサ

が結合シグナルを伝達するように誘導して、細胞内ドメインが放出され、それにより放出された細胞内ドメインが産生される。放出された細胞内ドメインは、細胞の活性を調節する。本方法を使用して調節することができる細胞の活性には、ｉ）細胞の遺伝子産物の発現；ｉｉ）細胞の増殖；ｉｉｉ）細胞のアポトーシス；ｉｖ）細胞の非アポトーシス性死；ｖ）細胞の分化；ｖｉ）細胞の脱分化；ｖｉｉ）細胞の遊走；ｖｉｉｉ）細胞からの分子の分泌；及びｉｘ）細胞の細胞接着が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの場合では、接触工程は、ｉｎ　ｖｉｖｏで実行される。いくつかの場合では、接触工程は、ｅｘ　ｖｉｖｏで実行される。いくつかの場合では、接触工程は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される。

【０４７９】

本開示は、細胞の活性を局所的に調節する方法を提供する。該方法は、概して、ａ）細胞において、特異的結合対の第一のメンバーを含む細胞外ドメインと、結合トランスデューサと、細胞内ドメインとを含むＴＡＮＧＯポリペプチドを発現させること；及びｂ）細胞と特異的結合対の第二のメンバーを接触させることを必然的に含む。特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、結合トランスデューサが結合シグナルを伝達するように誘導して、細胞内ドメインが放出され、それにより放出された細胞内ドメインが産生される。放出された細胞内ドメインは、細胞の活性を調節する。本方法を使用して調節することができる細胞の活性には、ｉ）細胞の遺伝子産物の発現；ｉｉ）細胞の増殖；ｉｉｉ）細胞のアポトーシス；ｉｖ）細胞の非アポトーシス性死；ｖ）細胞の分化；ｖｉ）細胞の脱分化；ｖｉｉ）細胞の遊走；ｖｉｉｉ）細胞からの分子の分泌；及びｉｘ）細胞の細胞接着が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの場合では、接触工程は、ｉｎ　ｖｉｖｏで実行される。いくつかの場合では、接触工程は、ｅｘ　ｖｉｖｏで実行される。いくつかの場合では、接触工程は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで実行される。

【０４８０】

いくつかの場合では、活性化された（または放出された）細胞内ドメインは、細胞における内在性遺伝子産物の発現を調節する。いくつかの場合では、細胞の内在性遺伝子産物は、ケモカイン、ケモカイン受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、分化因子、成長因子、成長因子受容体、ホルモン、代謝酵素、増殖誘導因子、受容体、小分子セカンドメッセンジャー合成酵素、Ｔ細胞受容体、転写活性化因子、転写抑制因子、転写活性化因子、転写抑制因子、翻訳調節因子、翻訳活性化因子、翻訳抑制因子、活性化免疫受容体、アポトーシス抑制因子、アポトーシス誘導因子、免疫活性化因子、免疫抑制因子、または抑制性免疫受容体である。いくつかの場合では、内在性遺伝子産物は、分泌された遺伝子産物である。いくつかの場合では、内在性遺伝子産物は、細胞表面遺伝子産物である。いくつかの場合では、内在性遺伝子産物は、細胞内遺伝子産物である。いくつかの場合では、活性化した細胞内ドメインは、細胞内の２つ以上の内在性遺伝子産物の発現を同時に調節する。「活性化した細胞内ドメイン」は、放出された細胞内ドメインであることができる（例えば、結合誘発型転写スイッチのタンパク質分解切断により放出される。「活性化した細胞内ドメイン」は、リン酸化細胞内ドメインであることができる、例えば、細胞内ドメインがその非リン酸化状態では不活性で、そのリン酸化状態で活性である場合である。

【０４８１】

いくつかの場合では、活性化された（または放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を調節する。異種遺伝子産物は、細胞により通常産生されないものである。例えば、細胞は、異種遺伝子産物をコードするヌクレオチド配列を含む核酸で遺伝子改変されることができる。いくつかの場合では、異種遺伝子産物は、ケモカイン、ケモカイン受容体、キメラ抗原受容体、サイトカイン、サイトカイン受容体、分化因子、成長因子、成長因子受容体、ホルモン、代謝酵素、病原体由来タンパク質、増殖誘導因子、受容体、ＲＮＡ誘導型ヌクレアーゼ、部位特異的ヌクレアーゼ、小分子セカンドメッセンジャー合成酵素、Ｔ細胞受容体、毒素由来タンパク質、転写活性化因子、転写抑制因

子、転写活性化因子、転写抑制因子、翻訳調節因子、翻訳活性化因子、翻訳抑制因子、活性化免疫受容体、抗体、アポトーシス抑制因子、アポトーシス誘導因子、操作Ｔ細胞受容体、免疫活性化因子、免疫抑制因子、抑制性免疫受容体、ＲＮＡ誘導型ＤＮＡ結合タンパク質、本開示のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチド、ＭＥＳＡポリペプチド、ＴＡＮＧＯポリペプチド、ＣＡＲ、ＴＣＲ、または第二の結合誘発型転写スイッチである。いくつかの場合では、異種遺伝子産物は、分泌された遺伝子産物である。いくつかの場合では、異種遺伝子産物は、細胞表面遺伝子産物である。いくつかの場合では、異種遺伝子産物は、細胞内遺伝子産物である。いくつかの場合では、活性化した細胞内ドメインは、細胞内の２つ以上の異種遺伝子産物の発現を同時に調節する。「活性化した細胞内ドメイン」は、放出された細胞内ドメインであることができる（例えば、結合誘発型転写スイッチのタンパク質分解切断により放出される。「活性化した細胞内ドメイン」は、リン酸化細胞内ドメインであることができる、例えば、細胞内ドメインがその非リン酸化状態では不活性で、そのリン酸化状態で活性である場合である。

【０４８２】

いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、本開示のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、本開示の第一のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、第一のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、本開示の第二のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの発現を誘導する。

【０４８３】

いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、ＣＡＲである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、本開示のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、ｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、ＣＡＲの発現を誘導する。

【０４８４】

いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、ＭＥＳＡポリペプチドである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、本開示のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、ｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、ＭＥＳＡポリペプチドの発現を誘導する。

【０４８５】

いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、ＴＡＮＧＯポリペプチドである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、本開示のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、ｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、ＴＡＮＧＯポリペプチドの発現を誘導する。

【０４８６】

いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、ＴＣＲである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、本開示のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、ｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、ＴＣＲの発現を誘導する。

【０４８７】

いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、ＭＥＳＡポリペプチドである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、第一のＭＥＳＡポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、第一のＭＥＳＡポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、第二のＭＥＳＡポリペプチドの発現を誘導する。

【０４８８】
いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、ＣＡＲである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、ＭＥＳＡポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、ＭＥＳＡポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、ＣＡＲの発現を誘導する。
【０４８９】
いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、本開示のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、ＭＥＳＡポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、ＭＥＳＡポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、本開示のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの発現を誘導する。
【０４９０】
いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、ＴＡＮＧＯポリペプチドである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、ＭＥＳＡポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、ＭＥＳＡポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、ＴＡＮＧＯポリペプチドの発現を誘導する。
【０４９１】
いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、ＴＣＲである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、ＭＥＳＡポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、ＭＥＳＡポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、ＴＣＲの発現を誘導する。
【０４９２】
いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、ＴＡＮＧＯポリペプチドである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、第一のＴＡＮＧＯポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、第一のＴＡＮＧＯポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、第二のＴＡＮＧＯポリペプチドの発現を誘導する。
【０４９３】
いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、ＣＡＲである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、ＴＡＮＧＯポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、ＴＡＮＧＯポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、ＣＡＲの発現を誘導する。
【０４９４】
いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、本開示のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、ＴＡＮＧＯポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、ＴＡＮＧＯポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、本開示のｓｙｎＮｏｔｃｈポリペプチドの発現を誘導する。
【０４９５】
いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞における異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、ＭＥＳＡポリペプチドである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、ＴＡＮＧＯポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、ＴＡＮＧＯポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、ＭＥＳＡポリペプチドの発現を誘導する。
【０４９６】
いくつかの場合では、活性化された（例えば、放出された）細胞内ドメインは、細胞に

おける異種遺伝子産物の発現を誘導し、ここで、異種遺伝子産物は、ＴＣＲである。いくつかの場合では、放出された細胞内ドメインは、ＴＡＮＧＯポリペプチドの細胞内ドメインであり、ここで、ＴＡＮＧＯポリペプチドの放出された細胞内ドメインは、ＴＣＲの発現を誘導する。

【０４９７】

上記の実施形態のいずれかにおいて、特異的結合対の第二のメンバーは、第二の細胞の表面上にあることができ、不溶性基体上に固定されることができ、細胞外マトリックス中に存在することができ、人工マトリックス中に存在することができるか、または可溶性であることができる。

【０４９８】

ＭＥＳＡ

本開示の方法における使用に好適なモジュラー細胞外センサー構造（ＭＥＳＡ）ポリペプチドは、米国特許公開第２０１４／０２３４８５１号に記載のＭＥＳＡポリペプチドであることができる。ＭＥＳＡポリペプチドは、ａ）リガンド結合ドメイン；ｂ）膜貫通ドメイン；ｃ）プロテアーゼ切断部位；及びｄ）機能的なドメインを含む。機能的なドメインは、転写調節因子（例えば、転写活性化因子、転写抑制因子）であることができる。いくつかの場合では、ＭＥＳＡ受容体は、２つのポリペプチド鎖を含む。いくつかの場合では、ＭＥＳＡ受容体は、単一のポリペプチド鎖を含む。

【０４９９】

ＴＡＮＧＯ

好適なＴＡＮＧＯポリペプチドは、第一はタバコエッチ病ウイルス（Ｔｅｖ）プロテアーゼを含み、第二のポリペプチドは、転写因子に融合したＴｅｖタンパク質分解切断部位（ＰＣＳ）を含む、ヘテロ二量体である。２つのポリペプチドが、互いに近接するとき、この近接は、自然なタンパク質間相互作用により媒介され、Ｔｅｖは、ＰＣＳを切断して、転写因子を放出する。Ｂａｒｎｅａ ｅｔ ａｌ．（Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ．２００８ Ｊａｎ．８；１０５（１）：６４－９）。

【０５００】

ＴＣＲ

いくつかの場合では、結合誘発型スイッチは、細胞内でＴ細胞受容体（ＴＣＲ）の発現を誘導する。本開示の方法を使用して誘導することができるＴＣＲは、例えば、癌細胞の表面上にあるエピトープ、ウイルス感染細胞の表面上にあるエピトープ、自己抗原内に存在するエピトープ、等を含む、様々なエピトープのいずれかに対して特異的であるＴＣＲを含む。ＴＣＲは、アルファ鎖及びベータ鎖を通常含み；主要組織適合性複合体により提示されるときに抗原を認識する。いくつかの場合では、ＴＣＲは、操作ＴＣＲである。

【０５０１】

免疫細胞活性化機能を有する任意の操作ＴＣＲは、本開示の方法を使用して誘導することができる。かかるＴＣＲには、例えば、抗原特異的ＴＣＲ、モノクローナルＴＣＲ（ＭＴＣＲ）、一本鎖ＭＴＣＲ、高親和性ＣＤＲ２突然変異体ＴＣＲ、ＣＤ１結合ＭＴＣＲ、高親和性ＮＹ－ＥＳＯ ＴＣＲ、ＶＹＧ ＨＬＡ－Ａ２４テロメラーゼＴＣＲが含まれ、これには、例えば、ＰＣＴ公開番号ＷＯ２００３／０２０７６３、ＷＯ２００４／０３３６８５、ＷＯ２００４／０４４００４、ＷＯ２００５／１１４２１５、ＷＯ２００６／０００８３０、ＷＯ２００８／０３８００２、ＷＯ２００８／０３９８１８、ＷＯ２００４／０７４３２２、ＷＯ２００５／１１３５９５、ＷＯ２００６／１２５９６２；Ｓｔｒｏｍｍｅｓ ｅｔ ａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｒｅｖ ２０１４；２５７（１）：１４５－６４；Ｓｃｈｍｉｔｔ ｅｔ ａｌ Ｂｌｏｏｄ ２０１３；１２２（３）：３４８－５６；Ｃｈａｐｕｌｓ ｅｔ ａｌ Ｓｃｉ Ｔｒａｎｓｌ Ｍｅｄ ２０１３；５（１７４）：１７４ｒａ２７；Ｔｈａｘｔｏｎ ｅｔ ａｌ Ｈｕｍ Ｖａｃｃｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ ２０１４；１０（１１）：３３１３－２１（ＰＭＩＤ：２５４８３６４４）；Ｇｓｃｈｗｅｎｇ ｅｔ ａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｒｅｖ ２０１４；２５７（１）：２３７－４９（ＰＭＩＤ：２４３２９８０１）；Ｈｉｎｒｉｃｈｓ ｅｔ ａｌ Ｉｍｍ

unol Rev 2014;257(1):56-71(PMID:24329789);Zoete et al Front Immunol 2013;4:268(PMID:24062738);Marr et al Clin Exp Immunol 2012;167(2):216-25(PMID:22235997);Zhang et al Adv Drug Deliv Rev 2012;64(8):756-62(PMID:22178904);Chhabra et al Scientific World Journal 2011;11:121-9(PMID:21218269);Boulter et al Clin Exp Immunol 2005;142(3):454-60(PMID:16297157);Sami et al Protein Eng Des Sel 2007;20(8):397-403;Boulter et al Protein Eng 2003;16(9):707-11;Ashfield et al IDrugs 2006;9(8):554-9;Li et al Nat Biotechnol 2005;23(3):349-54;Dunn et al Protein Sci 2006;15(4):710-21;Liddy et al Mol Biotechnol 2010;45(2);Liddy et al Nat Med 2012;18(6):980-7;Oates, et al Oncoimmunology 2013;2(2):e22891;McCormack, et al Cancer Immunol Immunother 2013 Apr;62(4):773-85;Bossi et al Cancer Immunol Immunother 2014;63(5):437-48 and Oates, et al Mol Immunol 2015 Oct;67(2 Pt A):67-74に記載のものが含まれ;これらの開示は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0502】

CAR

いくつかの場合では、結合誘発型スイッチは、細胞におけるCARの発現を誘導する。「キメラ抗原受容体」及び「CAR」という用語は、本明細書で互換可能に使用され、免疫細胞の活性化を誘発するまたは阻害することができる人工のマルチモジュール分子を指し、通常、排他的ではなく、細胞外ドメイン（例えば、リガンド／抗原結合ドメイン）、膜貫通ドメイン及び1つまたは複数の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。CARという用語は、CAR分子に限定されず、CAR変異体も含む。CAR変異体は、分割CARを含み、CARの細胞外部分（例えば、リガンド結合部分）及び細胞内部分（例えば、細胞内シグナル伝達部分）は、2つの別々の分子上に存在する。CAR変異体は、例えば、分割CARを含む、条件的に活性化可能なCARである、オンスイッチCARも含み、分割CARの2つの部分の条件的ヘテロ二量体化は、薬理学的に制御される。CAR変異体は、一次CARの活性を増幅または阻害することができる二次CAR結合ドメインを含む、二重特異性CARも含む。CAR変異体は、阻害性キメラ抗原受容体（iCAR）も含み、これは、例えば、二重特異性CARシステムの構成要素として使用してよく、ここで、二次CAR結合ドメインの結合は、一次CAR活性化の阻害をもたらす。CAR分子及びその誘導体（すなわち、CAR変異体）は、例えば、PCT出願番号US2014／016527;Fedorov et al Sci Transl Med（2013）;5（215）:215ra172;Glienke et al Front Pharmacol（2015）6:21;Kakarla & Gottschalk 52 Cancer J（2014）20（2）:151-5;Riddell et al Cancer J（2014）20（2）:141-4;Pegram et al Cancer J（2014）20（2）:127-33;Cheadle et al Immunol Rev（2014）257（1）:91-106;Barrett et al Annu Rev Med（2014）65:333-47;Sadelain et al Cancer Discov（2013）3（4）:388-98;Cartellieri et al., J Biomed Biotechnol（20

１０）９５６３０４に記載されており；これらの開示は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０５０３】

分割ＣＡＲは、細胞外で分割または細胞内で分割されていてよく、条件的にヘテロ二量体化可能であってもなくてもよい。例えば、条件的にヘテロ二量体化可能ではない分割ＣＡＲシステムは、構成的ヘテロ二量体化ドメイン、または分割部分の組み立てから活性ＣＡＲの形成をもたらすヘテロ二量体化のための１つまたは複数の追加の分子の存在に依存しない他の結合対（例えば、Ｆｃ結合対または他の直交結合対）を含有してよい。

【０５０４】

いくつかの例では、細胞外分割ＣＡＲは、抗原結合ドメインで２つのパーツへと細胞外で分割されてよく、これは、例えば、分割ＣＡＲの第一部が、抗原認識ドメインを含有する分割ＣＡＲの第二部に特異的に結合する細胞外Ｆｃ結合ドメインを含有する場合を含み、図１２９Ａに概して示すとおりである。

【０５０５】

いくつかの例では、細胞外分割ＣＡＲは、抗原結合ドメインで２つのパーツへと細胞外で分割されてよく、これは、例えば、分割ＣＡＲの第一部が、抗原認識ドメインを含有する分割ＣＡＲの第二部に含有されている直交タンパク質結合対の第二部に特異的に結合する直交タンパク質結合対の第一部を含有する場合を含み、図１２９Ｂに概して示すとおりである。

【０５０６】

いくつかの例では、細胞内分割ＣＡＲは、膜貫通ドメインに近位して２つのパーツへと細胞内で分割されてよく、これは、例えば、分割ＣＡＲの第一部が、抗原認識ドメイン、膜貫通ドメイン及び構成的ヘテロ二量体化ドメインの細胞内の第一の部分を含み、分割ＣＡＲの第二部が、膜貫通ドメイン、膜貫通ドメインに近位する構成的ヘテロ二量体化ドメインの第二の部分、１つまたは複数の共刺激ドメイン及び１つまたは複数のシグナル伝達ドメイン（例えば、ＩＴＡＭドメイン）を含む場合を含み、例えば、図１２９Ｃに概して示すとおりである。

【０５０７】

いくつかの例では、細胞内分割ＣＡＲは、細胞内ドメインに近位して、または２つの細胞内ドメインの間で２つのパーツへと細胞内で分割されてよく、これは、例えば、分割ＣＡＲの第一部が、抗原認識ドメイン、膜貫通ドメイン、１つまたは複数の共刺激ドメイン及び構成的ヘテロ二量体化ドメインの細胞内の第一の部分を含み、分割ＣＡＲの第二部が、膜貫通ドメイン、１つまたは複数の共刺激ドメイン、１つまたは複数のシグナル伝達ドメイン（例えば、ＩＴＡＭドメイン）及び１つまたは複数の共刺激ドメインと１つまたは複数のシグナル伝達ドメインの間の構成的ヘテロ二量体化ドメインの第二の部分を含む場合を含み、例えば、図１２９Ｄに概して示すとおりである。

【０５０８】

いくつかの例では、細胞内分割ＣＡＲは、細胞内ドメインの間で２つのパーツへと細胞内で分割されてよく、これは、例えば、分割ＣＡＲの第一部が、抗原認識ドメイン、膜貫通ドメイン、１つまたは複数の共刺激ドメイン及び分割ＣＡＲの第一部の細胞内末端に近位する構成的ヘテロ二量体化ドメインの細胞内の第一の部分を含み、分割ＣＡＲの第二部が、膜貫通ドメイン、１つまたは複数のシグナル伝達ドメイン（例えば、ＩＴＡＭドメイン）及び膜貫通ドメインと１つまたは複数のシグナル伝達ドメインの間の構成的ヘテロ二量体化ドメインの第二の部分を含む場合を含み、例えば、図１２９Ｅに概して示すとおりである。

【０５０９】

当業者は、分割ＣＡＲの第一及び第二部の配置が、本明細書に具体的に記載された配置に限定されないことを容易に認識する。分割ＣＡＲを生成するように単一のＣＡＲが分割され得る具体的な位置は変動し得るが、ただし、かかる１つまたは複数の分割から生じる２つ以上のポリペプチドは、それらが単一細胞内での同時に存在する際に、機能的なＣＡ

Ｒを形成することが機能的に可能であることを条件とする。かかる機能的な活性は、例えば、本明細書に記載のアッセイのうちの１つまたは複数の使用を通して、容易に決定され得る。

【０５１０】

特異的結合対の第一のメンバー

特異的結合対の第一のメンバーは、種々の特異的結合対のいずれかの第一のメンバーであることができる。好適な特異的結合対は、上に詳述している。

【０５１１】

いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、抗体をベースとする認識足場を含む。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、抗体を含む。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーが抗体である場合、抗体は、腫瘍特異的抗原、疾患関連抗原、または細胞外マトリックス成分と特異的に結合する。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーが抗体である場合、抗体は、細胞表面抗原、可溶性抗原、または不溶性基体上に固定された抗原と特異的に結合する。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーが抗体である場合、抗体は、一本鎖Ｆｖである。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、ナノボディ、単一ドメイン抗体、ダイアボディ、トリアボディ、またはミニボディである。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、非抗体をベースとする認識足場である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーが非抗体をベースとする認識足場である場合、非抗体をベースとする認識足場は、アビマー、ＤＡＲＰｉｎ、アドネクチン、アビマー、アフィボディ、アンチカリン、またはアフィリンである。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、抗原である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーが抗原である場合、抗原は、内在性抗原である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーが抗原である場合、抗原は、外来性抗原である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、受容体に対するリガンドである。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、受容体である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、細胞接着分子（例えば、細胞接着分子の細胞外領域の全てまたは一部分）である。いくつかの場合では、特異的結合対の第一のメンバーは、第一の二量体化ドメインを含み、特異的結合対の第二のメンバーは、第二の二量体化ドメインを含む；例えば、いくつかの場合では、第一の二量体化ドメインの、第二の二量体化ドメインへの結合は、小分子二量体化剤により誘導され、他の場合では、第一の二量体化ドメインの、第二の二量体化ドメインへの結合は、光により誘導される。

【０５１２】

特異的結合対の第二のメンバー

特異的結合対には、例えば、抗原－抗体特異的結合対、ここで、第一のメンバーは、抗原である第二のメンバーに特異的に結合する抗体（または抗体をベースとする認識足場）であるか、または第一のメンバーは抗原であり、第二のメンバーが抗原に特異的に結合する抗体（または抗体をベースとする認識足場）である；リガンド－受容体特異的結合対、ここで、第一のメンバーはリガンドであり、第二のメンバーはリガンドが結合する受容体であるか、または第一のメンバーは受容体であり、第二のメンバーが受容体に結合するリガンドである；非抗体をベースとする認識足場－標的特異的結合対、ここで、第一のメンバーは非抗体をベースとする認識足場であり、第二のメンバーは非抗体をベースとする認識足場に結合する標的であるか、または第一のメンバーは標的であり、第二のメンバーが標的に結合する非抗体をベースとする認識足場である；接着分子－細胞外マトリックス結合対；Ｆｃ受容体－Ｆｃ結合対、ここで、第一のメンバーは、Ｆｃ受容体である第二のメンバーに結合する免疫グロブリンＦｃを含むか、または第一のメンバーが免疫グロブリンＦｃを含む第二のメンバーに結合するＦｃ受容体である；及び受容体－共受容体結合対を含み、ここで、第一のメンバーは、共受容体である第二のメンバーに特異的に結合する受容体であるか、または第一のメンバーが受容体である第二のメンバーに特異的に結合する共受容体である。

【０５１３】
特異的結合対の第二のメンバーは、細胞の表面上に存在することができる。特異的結合対の第二のメンバーは、不溶性支持体上に固定されることができる。特異的結合対の第二のメンバーは、可溶性であることができる。特異的結合対の第二のメンバーは、細胞外環境（例えば、細胞外マトリックス）中に存在することができる。特異的結合対の第二のメンバーは、人工マトリックス中に存在することができる。特異的結合対の第二のメンバーは、無細胞環境中に存在することができる。
【０５１４】
細胞内ドメイン
いくつかの場合では、細胞内ドメインは、転写調節因子、例えば、転写活性化因子または転写抑制因子などの転写因子である。いくつかの場合では、転写因子は、細胞の分化を直接調節する。いくつかの場合では、転写因子は、細胞の分化を、第二の転写因子の発現を調節することにより間接的に調節する。
【０５１５】
転写調節因子の例としては、例えば、
ABT1, ACYP2, AEBP1, AEBP2,
AES, AFF1, AFF3, AHR, ANK1, ANK2, ANKFY1, ANKIB1, ANKRD1, ANKRD10,
ANKRD2, ANKRD32, ANKRD46, ANKRD49, ANKRD56, ANKRD57, ANKS4B, AR,
ARHGAP17, ARID1A, ARID1B, ARID3A, ARID4A, ARID5B, ARNT, ARNT2, ARNTL,
ARNTL2, ARX, ASB10, ASB11, ASB12, ASB15, ASB2, ASB5, ASB8, ASB9, ASH1L,
ASH2L, ASXL1, ASZ1, ATF1, ATF3, ATF4, ATF4, ATF5, ATF6, ATF7, ATF7IP, ATM,
ATOH1, ATXN3, 1300003B13RIK, B3GAT3, B930041F14RIK, BACH1, BACH2, BARX1,
BARX2, BATF, BATF2, BATF3, BAZ2A, BBX, BC003267, BCL11A, BCL11B, BCL3,
BCL6, BCL6B, BCLAF1, BCOR, BHLHA15, BHLHE40, BHLHE41, BLZF1, BMYC, BNC1,
BNC2, BPNT1, BRCA1, BRWD1, BTBD11, BTF3, 6030408C04RIK, CAMK4, CARHSP1,
CARM1, CBX4, CBX7, CCNC, CCNH, CCNT1, CCNT2, CDC5L, CDK2, CDK4, CDK9,
CDKN2C, CDX1, CDX1, CDX2, CEBPA, CEBPB, CEBPD, CEBPG, CEBPG, CEBPZ,
CHD4, CHD7, CHGB, CIC, CIITA, CITED1, CITED2, CITED4, CLOCK, CLPB, CML3,
CNOT7, COPS2, CREB1, CREB3, CREB3L1, CREB3L1, CREB3L2, CREB3L3, CREB5,
CREBBP, CREBL2, CREM, CSDA, CSDA, CSDC2, CSDE1, CTBP2, CTCF, CTCFL,
CTNNB1, CTNNBL1, CXXC1, D11BWG0517E, 2300002D11RIK, DACH1, DAXX, DBP,
DDIT3, DDX20, DDX54, DDX58, DEAF1, DEK, DIDO1, DLX2, DMRT1, DMRT2,
DMRTB1, DNMT1, DNMT3A, DR1, DRG1, DUSP26, DYSFIP1, E2F1, E2F2, E2F3, E2F5,
E2F6, EBF1, EBF2, EBF3, EBF3, EED, EGR1, EGR2, EGR3, EHF, EHMT2, EID2, ELAVL2,
ELF1, ELF1, ELF2, ELF3, ELF4, ELF5, ELK3, ELK4, ELL2, EMX2, EMX2, EN2, ENPP2,
EOMES, EP300, EPAS1, ERF, ERG, ESR1, ESRRA, ESRRB, ESRRG, ETS1, ETS2, ETV1,
ETV3, ETV4, ETV5, ETV6, EVI1, EWSR1, EZH1, EZH2, FAH, FBXL10, FBXL11, FBXW7,
FEM1A, FEM1B, FEM1C, FHL2, FLI1, FMNL2, FOS, FOSB, FOSL1, FOSL2, FOXA1,

FOXA2, FOXA3, FOXC1, FOXD1, FOXD2, FOXD3, FOXF1, FOXF1A, FOXF2, FOXG1, FOXI1, FOXJ2, FOXJ3, FOXK1, FOXK2, FOXL1, FOXL2, FOXM1, FOXN1, FOXN2, FOXN3, FOXO1, FOXO3, FOXP1, FOXP2, FOXP3, FOXP4, FOXQ1, FUS, FUSIP1, 2810021G02RIK, GABPA, GABPB1, GARNL1, GAS7, GATA1, GATA2, GATA3, GATA4, GATA5, GATA5, GATA6, GBX2, GCDH, GCM1, GFI1, GFI1B, GLI2, GLI3, GLIS1, GLIS2, GLIS3, GLS2, GMEB1, GMEB2, GRHL1, GRHL2, GRHL3, GRLF1, GTF2A1, GTF2B, GTF2E2, GTF2F1, GTF2F2, GTF2H2, GTF2H4, GTF2I, GTF2IRD1, GTF2IRD1, GZF1, HAND2, HBP1, HCLS1, HDAC10, HDAC11, HDAC2, HDAC5, HDAC9, HELZ, HES1, HES4, HES5, HES6, HEXIM1, HEY2, HEYL, HHEX, HHEX, HIC1, HIC2, HIF1A, HIF1AN, HIPK2, HIVEP1, HIVEP2, HIVEP2, HIVEP3, HLF, HLTF, HLX, HMBOX1, HMG20A, HMGA2, HMGB2, HMGB3, HNF1B, HNF4A, HNF4G, HOMEZ, HOXA10, HOXA11, HOXA13, HOXA2, HOXA3, HOXA4, HOXA5, HOXA6, HOXA7, HOXA9, HOXB1, HOXB2, HOXB3, HOXB4, HOXB6, HOXB7, HOXB8, HOXB9, HOXC10, HOXC10, HOXC11, HOXC5, HOXC6, HOXC8, HOXC9, HOXD8, HOXD9, HR, HSBP1, HSF2BP, HTATIP2, HTATSF1, HUWE1, 5830417I10RIK, ID1, ID2, ID3, ID3, IFNAR2, IKBKB, IKBKG, IKZF1, IKZF2, IKZF3, IKZF4, IL31RA, ILF3, ING1, ING2, ING3, ING4, INSM1, INTS12, IQWD1, IRF1, IRF1, IRF2, IRF3, IRF4, IRF5, IRF6, IRF7, IRF8, IRF8, IRX1, IRX2, IRX3, IRX4, IRX5, ISL1, ISL2, ISX, ISX, IVNS1ABP, 2810021J22RIK, JARID1A, JARID1B, JARID1C, JARID1D, JDP2, JUN, JUNB, JUND, KLF1, KLF10, KLF11, KLF12, KLF13, KLF15, KLF16, KLF2, KLF3, KLF3, KLF4, KLF5, KLF6, KLF7, KLF8, KLF9, KRR1, 6330416L07RIK, L3MBTL2, LASS2, LASS4, LASS6, LBA1, LBH, LBX1, LCOR, LDB1, LDB2, LEF1, LHX1, LHX2, LHX5, LIMD1, LIN28, LMO1, LMO4, LMX1A, LSM11, LSM4, LYL1, 9030612M13RIK, 1810007M14RIK, 3632451O06RIK, MAF, MAFA, MAFB, MAFF, MAFG, MAFK, MAGED1, MAP3K12, MAPK1, MAPK3, MAPK8, MAPK8IP1, MAX, MAZ, MBD2, MCM2, MCM4, MCM5, MCM6, MCM7, MECOM, MECP2, MED12, MED8, MEF2A, MEF2B, MEF2C, MEF2D, MEIS1, MEIS1, MEIS2, MEOX2, MESP2, MID1, MITF, MKI67IP, MKL1, MLL1, MLL3, MLLT10, MLLT3, MLX, MLXIP, MLXIPL, MNT, MNX1, MPL, MSC, MSRB2, MSX2, MTA3, MTF1, MTF2, MTPN, MXD1, MXD4, MXI1, MYB, MYBBP1A, MYBL2, MYC, MYCBP, MYCL1, MYCN, MYEF2, MYF6, MYNN, MYOCD, MYOD1, MYOG, MYST3, MYST4, MYT1L, MZF1, NAB1, NAB2, NANOG, NARG1, NCOA1, NCOA2, NCOA3, NCOR1, NCOR2,

NDN, NEUROD1, NEUROD4, NEUROD6, NEUROG1, NEUROG2, NFAT5, NFATC1, NFATC2, NFATC2IP, NFATC3, NFATC3, NFATC4, NFE2, NFE2L1, NFE2L2, NFIA, NFIA, NFIB, NFIC, NFIL3, NFIX, NFKB1, NFKB2, NFKBIB, NFKBIE, NFKBIZ, NFX1, NFXL1, NFYA, NFYB, NHLH1, NKX2-2, NKX2-3, NKX2-5, NKX2-6, NKX6-2, NMI, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, NPAS1, NPAS2, NPAS3, NR0B1, NR0B2, NR1D1, NR1D2, NR1H3, NR1H4, NR1I2, NR1I3, NR2C1, NR2C2, NR2E3, NR2F1, NR2F2, NR2F6, NR3C1, NR3C2, NR4A1, NR4A2, NR4A2, NR4A3, NR5A1, NR5A2, NRARP, NRIP1, NRIP2, NSBP1, NSD1, NUDT12, NULL, NUPR1, 1700065O13RIK, OLIG1, OLIG2, OLIG2, ONECUT1, ONECUT2, ONECUT3, ORC2L, OSGIN1, OSR1, OSR2, OSTF1, OVOL1, OVOL2, PAPOLA, PAPOLG, PAPPA2, PATZ1, PAWR, PAX2, PAX5, PAX6, PAX7, PAX8, PAX9, PBX1, PBX2, PBX3, PBX4, PCBD1, PCGF6, PDCD11, PDLIM4, PDX1, PEG3, PER1, PFDN1, PGR, PHF1, PHF10, PHF12, PHF13, PHF14, PHF20, PHF21A, PHF5A, PHF7, PHOX2A, PHOX2B, PIAS2, PIR, PITX1, PITX2, PKNOX1, PKNOX2, PLA2G6, PLAGL1, PLAGL2, PLRG1, PML, POGK, POLR2B, POLR2E, POLR2H, POLR3E, POLR3H, POLRMT, POU1F1, POU2AF1, POU2F1, POU2F2, POU3F2, POU3F3, POU3F3, POU5F1, POU6F1, PPARA, PPARD, PPARG, PPARGC1A, PPARGC1B, PPP1R12C, PPP1R13B, PPP1R16B, PPP1R1B, PPP2R1A, PPP3CB, PQBP1, PRDM1, PRDM14, PRDM15, PRDM16, PRDM2, PRDM4, PRDM5, PRDM6, PRDM8, PREB, PRKAR1A, PRKCBP1, PROX1, PRRX1, PRRX2, PSMC5, PSMD10, PSMD9, PTF1A, PTGES2, PURB, PWP1, RAB11A, RAB11B, RAB15, RAB18, RAB1B, RAB25, RAB8A, RAB8B, RAI14, RARA, RARB, RARG, RASSF7, RB1, RBBP7, RBL1, RBM14, RBM39, RBM9, RBPJ, RBPJL, RCOR2, REL, RELA, RELB, RERE, REST, REXO4, RFC1, RFX1, RFX2, RFX3, RFX5, RFX7, RFX8, RHOX5, RHOX6, RHOX9, RIPK4, RNF12, RNF14, RNF141, RNF38, RNF4, RORA, RORA, RORB, RORC, RPS6KA4, RREB1, RSRC1, RUNX1, RUNX1T1, RUNX2, RUNX2, RUNX3, RUVBL1, RUVBL2, RXRA, RXRG, RYBP, SAFB2, SALL1, SALL1, SALL2, SALL4, SAP30, SAP30BP, SATB1, SATB2, SATB2, SCAND1, SCAP, SCRT2, SEC14L2, SERTAD1, SF1, SFPI1, SFRS5, SH3D19, SH3PXD2B, SHANK3, SHOX2, SHPRH, SIN3A, SIN3B, SIRT2, SIRT3, SIRT5, SIX1, SIX1, SIX2, SIX3, SIX4, SIX5, SKI, SMAD1, SMAD2, SMAD3, SMAD7, SMARCA1, SMARCA2, SMARCA5, SMARCB1, SMYD1, SNAI1, SNAI2, SNAPC2, SNAPC4, SNIP1, SOLH, SOX1, SOX10, SOX11, SOX12, SOX13, SOX15, SOX17, SOX18, SOX2, SOX21, SOX4, SOX5,

SOX6, SOX7, SOX8, SOX9, SP1, SP110, SP140L, SP2, SP3, SP4, SP6, SP8, SPDEF, SPEN, SPI1, SPIB, SQSTM1, SREBF1, SREBF2, SREBF2, SRF, SSBP2, SSBP3, SSBP4, SSRP1, ST18, STAG1, STAT1, STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B, STAT5B, STAT6, SUB1, SUZ12, TADA2L, TAF13, TAF5, TAF5L, TAF7, TAF9, TAL1, TAL1, TARDBP, TBPL1, TBR1, TBX1, TBX10, TBX15, TBX18, TBX2, TBX2, TBX20, TBX21, TBX3, TBX4, TBX5, TBX6, TCEA1, TCEA3, TCEAL1, TCEB3, TCERG1, TCF12, TCF15, TCF19, TCF20, TCF21, TCF21, TCF3, TCF4, TCF7, TCF7L2, TCFAP2A, TCFAP2B, TCFAP2C, TCFCP2L1, TCFE2A, TCFE3, TCFEB, TCFEC, TCFL5, TEAD1, TEAD2, TEAD3, TEAD4, TEF, TFAP2A, TFAP2C, TFCP2L1, TFDP2, TFEB, TFEC, TGFB1I1, TGIF1, TGIF2, TGIF2LX, THRA, THRAP3, THRB, THRSP, TIAL1, TLE1, TLE6, TMEM131, TMPO, TNFAIP3, TOB1, TOX4, TP63, TRERF1, TRIB3, TRIM24, TRIM28, TRIM30, TRIP13, TRIP4, TRIP6, TRP53, TRP53BP1, TRP63, TRPS1, TRPS1, TSC22D1, TSC22D2, TSC22D3, TSC22D4, TSHZ1, TSHZ1, TSHZ3, TTRAP, TUB, TULP4, TWIST1, TWIST2, TYSND1, UBE2W, UBN1, UBP1, UBTF, UGP2, UHRF1, UHRF2, UNCX, USF1, USF2, UTF1, VDR, VEZF1, VGLL2, VSX1, WASL, WHSC1, WHSC2, WT1, WWP1, WWTR1, XBP1, YAF2, YY1, ZBED1, ZBED4, ZBTB1, ZBTB10, ZBTB16, ZBTB16, ZBTB17, ZBTB2, ZBTB20, ZBTB22, ZBTB25, ZBTB32, ZBTB38, ZBTB4, ZBTB43, ZBTB45, ZBTB47, ZBTB7A, ZBTB7B, ZBTB7C, ZCCHC8, ZDHHC13, ZDHHC16, ZDHHC21, ZDHHC5, ZDHHC6, ZEB2, ANK2ZEB2, ZFHX2, ZFHX3, ZFHX4, ZFP105, ZFP110, ZFP143, ZFP148, ZFP161, ZFP192, ZFP207, ZFP219, ZFP238, ZFP263, ZFP275, ZFP277, ZFP281, ZFP287, ZFP292, ZFP35, ZFP354C, ZFP36, ZFP36L1, ZFP386, ZFP407, ZFP42, ZFP423, ZFP426, ZFP445, ZFP451, ATF5ZFP451, ZFP467, ZFP52, ZFP57, ZFP592, ZFP593, ZFP597, ZFP612, ZFP637, ZFP64, ZFP647, ZFP748, ZFP810, ZFP9, ZFP91, ZFPM1, ZFPM2, ZFX, ZHX2, ZHX3, ZIC1, ZIC2, ZIC3, ZIC4, ZIC5, ZKSCAN1, ZKSCAN3, ZMYND11, ZNF143, ZNF160, ZNF175, ZNF184, ZNF192, ZNF213, ZNF217, ZNF219, ZNF22, ZNF238, ZNF24, ZNF267, ZNF273, ZNF276, ZNF280D, ZNF281, ZNF292, ZNF311, ZNF331, ZNF335, ZNF337, ZNF33B, ZNF366, ZNF394, ZNF398, ZNF41, ZNF410, ZNF415, ZNF423, ZNF436, ZNF444, ZNF445, ZNF451, ZNF460, ZNF496, ZNF498, ZNF516, ZNF521, ZNF532, ZNF536, ZNF546, ZNF552, ZNF563, ZNF576, ZNF580, ZNF596, ZNF621, ZNF628, ZNF648, ZNF649, ZNF652, ZNF655, ZNF664, ZNF668, ZNF687, ZNF692, ZNF696, ZNF697, ZNF710, ZNF80, ZNF91, ZNF92, ZNRD1, ZSCAN10, ZSCAN16, ZSCAN20, ZSCAN21, ZXDC, 及びZZZ3

が挙げられる。転写調節因子の追加の例は、上記の通りである。転写因子（転写活性化因子；転写抑制因子）の非限定的な例を、図３７～８３に示す。例えば、転写因子は、図３７～８３のいずれか１つに示すアミノ酸配列に対して、少なくとも７５％、少なくとも８

０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％、アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。

【０５１６】

いくつかの場合では、細胞内ドメインの活性化（例えば、リン酸化；放出）は、細胞の内在性遺伝子の発現を、転写調節、クロマチン制御、翻訳、トラフィッキングまたは翻訳後プロセシングを通して調節する。いくつかの場合では、細胞内ドメインの活性化（例えば、リン酸化；放出）は細胞の、第二の細胞へのまたは細胞外マトリックスへの細胞接着を調節する。

【０５１７】

結合トランスデューサ

結合トランスデューサは、リガンド誘導性タンパク質分解切断部位を含むことができ、ここで、特異的結合対の第一のメンバーの、特異的結合対の第二のメンバーへの結合は、結合トランスデューサのリガンド誘導性タンパク質分解切断部位での切断を誘導し、それにより、結合シグナルが伝達されかつ、細胞内ドメインが、細胞内ドメインをタンパク質分解的に放出することによって活性化される。ｓｙｎＮｏｔｃｈにおけるタンパク質分解切断部位の例は、上記の通りである。

【０５１８】

他の例として、タンパク質分解切断部位は、例えば、メタロプロテアーゼ切断部位、例えば、コラゲナーゼ－１、－２、及び－３（ＭＭＰ－１、－８、及び－１３）、ゼラチナーゼＡ及びＢ（ＭＭＰ－２及び－９）、ストロメライシン１、２、及び３（ＭＭＰ－３、－１０、及び－１１）、マトリライシン（ＭＭＰ－７）、及び膜メタロプロテイナーゼ（ＭＴ１－ＭＭＰ及びＭＴ２－ＭＭＰ）から選択されたＭＭＰに対する切断部位であることができる。例えば、ＭＭＰ－９の切断配列は、Ｐｒｏ－Ｘ－Ｘ－Ｈｙ（ここで、Ｘは、任意の残基；Ｈｙ、疎水性残基を表す）、例えば、Ｐｒｏ－Ｘ－Ｘ－Ｈｙ－（Ｓｅｒ／Ｔｈｒ）、例えば、Ｐｒｏ－Ｌｅｕ／Ｇｌｎ－Ｇｌｙ－Ｍｅｔ－Ｔｈｒ－Ｓｅｒ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１０１）またはＰｒｏ－Ｌｅｕ／Ｇｌｎ－Ｇｌｙ－Ｍｅｔ－Ｔｈｒ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１０２）である。プロテアーゼ切断部位の別の例は、プラスミノーゲン活性化因子切断部位、例えば、ｕＰＡまたは組織プラスミノーゲン活性化因子（ｔＰＡ）切断部位である。好適なプロテアーゼ切断部位の別の例は、プロラクチン切断部位である。ｕＰＡ及びｔＰＡの切断配列の特定の例には、Ｖａｌ－Ｇｌｙ－Ａｒｇを含む配列が含まれる。タンパク質分解的に切断可能なリンカーに含まれることができるプロテアーゼ切断部位の別の例は、タバコエッチ病ウイルス（ＴＥＶ）プロテアーゼ切断部位、例えば、ＥＮＬＹＴＱＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１０３）であり、この場合、プロテアーゼはグルタミンとセリンの間で切断する。タンパク質分解的に切断可能なリンカーに含まれることができるプロテアーゼ切断部位の別の例は、エンテロキナーゼ切断部位、例えば、ＤＤＤＤＫ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１０４）であり、この場合、切断は、リジン残基の後で生じる。タンパク質分解的に切断可能なリンカーに含まれることができるプロテアーゼ切断部位の別の例は、トロンビン切断部位、例えば、ＬＶＰＲ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１０５）である。プロテアーゼ切断部位を含む追加の好適なリンカーには、以下のアミノ酸配列：ＬＥＶＬＦＱＧＰ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１０６）、ＰｒｅＳｃｉｓｓｉｏｎプロテアーゼ（ヒトライノウイルス３Ｃプロテアーゼ及びグルタチオン－Ｓ－トランスフェラーゼを含む融合タンパク質；Ｗａｌｋｅｒ　ｅｔ　ａｌ．（１９９４）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１２：６０１）により切断；トロンビン切断部位、例えば、

カテプシンＢにより切断される
CGLVPAGSGP (SEQ ID NO:107); SLLKSRMVPNFN (SEQ ID NO:108) または

SLLIARRMPNFN (SEQ ID NO:109)

；エプスタイン・バー・ウイルスプロテアーゼにより切断される
SKLVQASASGVN (SEQ ID NO:110) または SSYLKASDAPDN (SEQ ID NO:111)

；ＭＭＰ－３（ストロメライシン）により切断される
RPKPQQFFGLMN (SEQ ID NO:112)
；ＭＭＰ－７（マトリライシン）により切断される
SLRPLALWRSFN (SEQ ID NO:113)
；ＭＭＰ－９により切断される
SPQGIAGQRNFN (SEQ ID NO:114)
；サーモライシン様ＭＭＰにより切断される
DVDERDVRGFASFL SEQ ID NO: 115)
；マトリックスメタロプロテアーゼ２（ＭＭＰ－２）により切断される
SLPLGLWAPNFN (SEQ ID NO:116)
；カテスピン（ｃａｔｈｅｓｐｉｎ）Ｌにより切断される
SLLIFRSWANFN (SEQ ID NO:117)
；カテプシンＤにより切断される
SGVVIATVIVIT (SEQ ID NO:118)
；マトリックスメタロプロテアーゼ１（ＭＭＰ－１）により切断される
SLGPQGIWGQFN (SEQ ID NO:119)
；ウロキナーゼ型プラスミノーゲン活性化因子により切断される
KKSPGRVVGGSV (SEQ ID NO:120)
；膜型マトリックスメタロプロテアーゼ１（ＭＴ－ＭＭＰ）により切断される
PQGLLGAPGILG (SEQ ID NO:121)
；ストロメライシン３（またはＭＭＰ－１１）、サーモライシン、線維芽細胞コラゲナーゼ及びストロメライシン－１により切断される
HGPEGLRVGFYESDVMGRGHARLVHVEEPHT (SEQ ID NO:122)
；マトリックスメタロプロテアーゼ１３（コラゲナーゼ－３）により切断される
GPQGLAGQRGIV (SEQ ID NO:123)
；組織型プラスミノーゲン活性化因子（ｔＰＡ）により切断される
GGSGQRGRKALE (SEQ ID NO:124)
；ヒト前立腺特異的抗原により切断される
SLSALLSSDIFN (SEQ ID NO:125)
；カリクレイン（ｈＫ３）により切断される
SLPRFKIIGGFN (SEQ ID NO:126)
；好中球エラスターゼにより切断される
SLLGIAVPGNFN (SEQ ID NO:127)
；及び、カルパイン（カルシウム活性化中性プロテアーゼ）により切断される
FFKNIVTPRTPP (SEQ ID NO:128)
の１つまたは複数を含むリンカーが含まれる。

【０５１９】

細胞

本開示の方法を使用して、任意の真核細胞の活性を調節することができる。いくつかの場合では、細胞は、ｉｎ　ｖｉｖｏである。いくつかの場合では、細胞は、ｅｘ　ｖｉｖｏである。いくつかの場合では、細胞は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏである。いくつかの場合では、細胞は、哺乳類細胞である。いくつかの場合では、細胞は、ヒト細胞である。いくつかの場合では、細胞は、非ヒト霊長類細胞である。いくつかの場合では、細胞は、げっ歯類細胞である。いくつかの場合では、細胞は、マウス細胞である。いくつかの場合では、細胞は、ラット細胞である。

【０５２０】

好適な細胞には、網膜細胞（例えば、ミュラー細胞、ガングリオン細胞、アマクリン細胞、水平細胞、両極細胞、及び光受容体細胞、例えば杆体錐体、ミュラーグリア細胞、及び網膜色素上皮）；神経細胞（例えば、視床、感覚野、不確帯（ＺＩ）、腹側被蓋野（ＶＴＡ）、前頭前野（ｐｒｅｆｏｎｔａｌ　ｃｏｒｔｅｘ）（ＰＦＣ）、側坐核（ＮＡｃ）

、扁桃体（ＢＬＡ）、黒質、腹側淡蒼球、淡蒼球、背側線条体、腹側線条体、視床下核、海馬、歯状回、帯状回、嗅内皮質、嗅皮質、一次運動野、または小脳の細胞）；肝臓細胞；腎臓細胞；免疫細胞；心臓細胞；骨格筋肉細胞；平滑筋細胞；肺細胞；等が含まれる。

【０５２１】

好適な細胞には、幹細胞（例えば、胚性幹（ＥＳ）細胞、誘導多能性幹細胞（ｉＰＳ）細胞；生殖細胞（例えば、卵母細胞、精液、卵原細胞、精原細胞等）；体細胞、例えば、線維芽細胞、乏突起膠細胞、グリア細胞、造血細胞、ニューロン、筋肉細胞、骨細胞、肝細胞、膵臓細胞等が含まれる。

【０５２２】

好適な細胞には、ヒト胚性幹細胞、胎児性心筋細胞、筋線維芽細胞、間葉系幹細胞、自家移植拡大心筋細胞、脂肪細胞、全能性細胞、多能性細胞、血液幹細胞、筋芽細胞、成体幹細胞、骨髄細胞、間葉系細胞、胚性幹細胞、実質細胞、上皮細胞、内皮細胞、中皮細胞、線維芽細胞、骨芽細胞、軟骨細胞、外在性細胞、内在性細胞、幹細胞、造血幹細胞、骨髄由来前駆細胞、心筋細胞、骨格細胞、胎児性細胞、未分化細胞、多能性前駆細胞、単能性前駆細胞、単球、心臓筋芽細胞、骨格筋芽細胞、マクロファージ、キャピラリー内皮細胞、同種間細胞、同種異系間細胞、及び出生後幹細胞が含まれる。

【０５２３】

いくつかの場合では、細胞は、免疫細胞、ニューロン、上皮細胞、及び内皮細胞、または幹細胞である。いくつかの場合では、免疫細胞は、Ｔ細胞、Ｂ細胞、単球、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、またはマクロファージである。いくつかの場合では、免疫細胞は、細胞傷害性Ｔ細胞である。いくつかの場合では、免疫細胞は、ヘルパーＴ細胞である。いくつかの場合では、免疫細胞は、制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）である。

【０５２４】

いくつかの場合では、細胞は、幹細胞である。いくつかの場合では、細胞は、誘導多能性幹細胞である。いくつかの場合では、細胞は、間葉系幹細胞である。いくつかの場合では、細胞は、造血幹細胞である。いくつかの場合では、細胞は、成体幹細胞である。

【０５２５】

好適な細胞には、気管支肺胞上皮幹細胞（ＢＡＳＣ）、バルジ上皮性幹細胞（ｂＥＳＣ）、角膜上皮性幹細胞（ＣＥＳＣ）、心筋幹細胞（ＣＳＣ）、上皮神経堤幹細胞（ｅＮＣＳＣ）、胚性幹細胞（ＥＳＣ）、内皮前駆細胞（ＥＰＣ）、肝オーバル細胞（ＨＯＣ）、造血性（ｈｅｍａｔｏｐｏｅｔｉｃ）幹細胞（ＨＳＣ）、ケラチノサイト幹細胞（ＫＳＣ）、間葉系幹細胞（ＭＳＣ）、神経幹細胞（ＮＳＣ）、膵臓幹細胞（ＰＳＣ）、網膜幹細胞（ＲＳＣ）、及び皮膚由来前駆体（ＳＫＰ）が含まれる。

【０５２６】

いくつかの場合では、幹細胞は、造血幹細胞（ＨＳＣ）、及び赤血液細胞、血小板、リンパ球、単球、好中球、好塩基球、または好酸球へのＨＳＣの分化を誘導する転写因子である。いくつかの場合では、幹細胞は、間葉系幹細胞（ＭＳＣ）、及び骨、軟骨、平滑筋、腱、靱帯、間質、骨髄、真皮、または脂肪の細胞などの結合組織細胞へとＭＳＣの分化を誘導する転写因子である。

【０５２７】

キット

本開示は、細胞の活性を調節する方法を実行するためのキットを提供する。

【０５２８】

いくつかの場合では、主題のキットは、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクターを含む。いくつかの場合では、主題のキットは、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドを含む。

【０５２９】

いくつかの場合では、主題のキットは、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸で遺伝子改変されている宿主細胞を含む。いくつかの場合では、主題のキットは、本開示のキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドをコー

ドするヌクレオチド配列を含む組換え発現ベクターで遺伝子改変されている宿主細胞を含む。キット構成要素は、同一の容器内、または別々の容器内にあることができる。

【０５３０】

上記のキットのいずれかは、１つまたは複数の追加の試薬をさらに含むことができ、この場合、このような追加の試薬は、希釈緩衝液；再構成のための溶液；洗浄緩衝液；対照試薬；対照発現ベクター；陰性対照ポリペプチド（例えば、１つまたは複数のリガンド誘導性タンパク質分解切断部位を欠き、そのため、特異的結合の第一のメンバーの特異的結合対の第二のメンバーへの結合の際に、細胞内ドメインが放出されないキメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチド）；陽性対照ポリペプチド；キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドのｉｎ　ｖｉｔｒｏ産生のための試薬、等から選択されることができる。

【０５３１】

上記の構成要素に加えて、主題のキットは、主題の方法を実践するためのキットの構成要素の使用に関する指示書をさらに含むことができる。主題の方法を実践するための指示書は、一般に、好適な記録媒体に記録される。例えば、指示書は、紙またはプラスチック等の基材に印刷してよい。そのような場合、指示書は、キットにおいて、添付文書として、キットまたはその構成要素の容器のラベル（すなわち包装または副次的な包装（ｓｕｂ　ｐａｃｋａｇｉｎｇ）と関連付けて）などの形で存在してよい。他の実施形態では、指示書は、コンピューターで判読可能な好適な記憶媒体、例えば、ＣＤ－ＲＯＭ、ディスケット、フラッシュドライブ等に存在する電子保存データファイルとして存在する。さらに他の実施形態では、実際の指示書はキット内に存在せず、例えば、インターネットを介して、リモートソースから指示書を入手するための方法が提供される。この実施形態の一例は、指示書の確認及び／または指示のダウンロードが行えるウェブアドレスを含むキットである。指示書の場合と同様、指示書を入手するための方法も、好適な媒体に記録される。

【実施例】

【０５３２】

以下の実施例は、本発明を作成及び使用する方法の完全な開示及び説明を当業者に提供するために提示され、本発明者らが彼らの発明とみなすものの範囲を限定することを意図せず、かつ、以下の実験が行われた全てまたは唯一の実験であると表すことを意図しない。使用される数値（例えば、量、温度等）に関して正確性を確保するための努力がなされているが、いくらかの実験誤差及び偏差は考慮されるべきである。別途指示されない限り、部は重量部であり、分子量は重量平均分子量であり、温度は摂氏であり、圧力は大気圧または大気圧近傍である。標準の省略形式は、例えば、ｂｐ、塩基対（複数可）；ｋｂ、キロベース（複数可）；ｐｌ、ピコリットル（複数可）；ｓまたはｓｅｃ、秒（複数可）；ｍｉｎ、分（複数可）；ｈまたはｈｒ、時間（複数可）；ａａ、アミノ酸（複数可）；ｋｂ、キロベース（複数可）；ｂｐ、塩基対（複数可）；ｎｔ、ヌクレオチド（複数可）；ｉ．ｍ．、筋肉内（に）；ｉ．ｐ．、腹腔内（に）；ｓ．ｃ．、皮下（に）；等を使用してよい。

【０５３３】

実施例１：キメラＮｏｔｃｈ受容体ポリペプチドの生成及び特徴決定

材料及び方法

Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞を、レンチウイルスを介して、Ｔｅｔ応答エレメント（ＴＲＥ）抗メソテリンＣＡＲ－ＥＧＦＰ／ｐＧＫ　ｍＣｈｅｒｒｙデュアルベクターで安定して形質導入した。形質導入された細胞は、ｍＣｈｅｒｒｙを構成的に発現し、抗メソテリンＣＡＲ－ＥＧＦＰ融合体を、Ｔｅｔトランス活性化因子（ｔＴａ）の存在下で誘導性に発現した。この安定した株を、次いで、抗ＣＤ１９　Ｎｏｔｃｈ　ｔＴＡ受容体で形質導入した。結果得られたＪｕｒｋａｔ細胞を、次いで、抗原ＣＤ１９、メソテリン、または両方を発現する慢性骨髄性白血病Ｋ５６２癌細胞との共培養を介してアッセイした。Ｔ細胞を、ＥＧＦＰタグ付きＣＡＲの発現及び活性化マーカーであるＣＤ６９に関してフローサイトメトリーにより２４時間でアッセイした。共培養物の上清も回収し、ＩＬ－２の分泌をＥＬＩＳＡにより決定した。

【０５３４】
結果
キメラＮｏｔｃｈ受容体特徴決定
キメラＮｏｔｃｈプラットフォームを使用して、リガンド結合の際に受信側細胞において転写を誘導できることを示すために、以下のレポーター細胞株を生成した：マウスＬ９２９線維芽細胞レポーターラインを、Ｔｅｔ応答エレメント（ＴＲＥ）－＞ＥＧＦＰレポーター／ｐＧＫ　ｍＣｈｅｒｒｙデュアルベクター（ＴＲＥレポーター）またはＧａｌ４ＵＡＳ－＞ＥＧＦＰ／ｐＧＫピューロマイシン耐性デュアルベクター（ＵＡＳレポーター）での形質導入により生成した。キメラＮｏｔｃｈ変異体を、対応するＬ９２９レポーター細胞株へと形質導入して、キメラＮｏｔｃｈレポーター細胞を生成した。これらのキメラＮｏｔｃｈレポーター細胞を、２つの方法により並行して刺激した。まず、キメラＮｏｔｃｈ発現細胞を、受容体の細胞外ドメインに特異的に結合する固定化抗体に暴露した。次に、細胞を、同族キメラＮｏｔｃｈリガンドを発現するＫ５６２細胞またはＬ９２９線維芽細胞とインキュベートした。キメラＮｏｔｃｈ発現細胞を、ＥＧＦＰ蛍光に関して、フローサイトメトリーによりアッセイして、レポーター活性を測定した。図３０～３２は、ＴＲＥレポーターラインにおけるキメラＮｏｔｃｈと抗ＣＤ１９（図３０Ａ～Ｂ）及び抗メソテリン（図３１Ａ～Ｂ）に、及びＵＡＳレポーターラインにおけるキメラＮｏｔｃｈ抗ＣＤ１９（図３２Ａ～Ｂ）に関する結果を示す。
【０５３５】
キメラＮｏｔｃｈプラットフォームを使用して、転写を抑制できることを示すために、複合ＳＶ４０／ＵＡＳプロモーターの下流でＥＧＦＰを発現する別のレポーターラインを生成した（ＳＶ４０／ＵＡＳレポーター）。図３３Ａ、これらのＳＶ４０／ＵＡＳレポーター細胞株は、ＧＦＰを高レベルで発現する。これらのＳＶ４０／ＵＡＳレポーター細胞を、その細胞内ドメインがＧａｌ４　ＤＮＡ結合ドメインと転写抑制因子ドメインＫＲＡＢの融合体である抗ＣＤ１９キメラＮｏｔｃｈで形質導入した。図３３Ｂに示すように、未処置キメラＮｏｔｃｈ　ＳＶ４０／ＵＡＳレポーター細胞は、高いＥＧＦＰ発現を呈し；キメラＮｏｔｃｈ受容体に対するリガンドの存在下では、ＥＧＦＰ発現は下方制御される。
【０５３６】
シグナル伝達リレーのカスケードを構築できることを示すために、複数のキメラＮｏｔｃｈポリペプチドのカスケードを以下の方法で設計した。細胞Ａは、第一のリガンドＡ（メソテリン）を発現する。細胞Ｂは、抗メソテリンｓｃＦｖを細胞外ドメインとして、及びｔＴＡを細胞内ドメインとして有するキメラＮｏｔｃｈを発現し；細胞Ｂは、さらに、第二のリガンドであるＣＤ１９、及びＴＲＥ配列の制御下で青色蛍光タンパク質（ＢＦＰ）を発現する。細胞Ｃは、ｔＴＡを細胞内ドメインとして有する抗ＣＤ１９キメラＮｏｔｃｈを発現し；さらには、細胞Ｃは、ＴＲＥ配列により制御されるＧＦＰを発現する。図３４は、細胞Ａ＋細胞Ｂ＋細胞Ｃの１つの代表的な凝集体の顕微鏡写真の時間経過を示す。細胞Ｂは、細胞Ａにより発現されたリガンドにより活性化され、培養の１日目でのＢＦＰ及びＣＤ１９の発現を誘導し；細胞ＢからのＣＤ１９が、今度は、細胞ＣにおけるＧＦＰの発現を誘導し、これは２日目から始まる。
【０５３７】
キメラＮｏｔｃｈは、癌細胞に対してキメラ抗原受容体発現及びＴ細胞活性化をゲートする
キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）として知られる人工のＴ細胞受容体を発現するように操作されたＴ細胞は、ある特定のＢ細胞癌に対する治療薬として有効である。しかしながら、ＣＡＲ　Ｔ細胞癌免疫療法での主な懸念事項は、オフターゲット作用であり、この場合、治療用Ｔ細胞が正常組織を破壊して、深刻な副作用、そして死亡さえももたらす。このような問題を軽減する可能性がある戦略は、治療用Ｔ細胞が、腫瘍微小環境においてのみＣＡＲを発現し、より局在化したＴ細胞応答を提供することである。このような戦略を実現するために、キメラＮｏｔｃｈを治療用Ｔ細胞において用いて、最初に、腫瘍特異的細胞

表面抗原と結合することにより腫瘍を検出し、腫瘍内にある第二の腫瘍特異抗原に対してのみＣＡＲの発現を開始させることができると推論された。効果的に、これは、Ｔ細胞活性に対する二重抗原制御及び腫瘍局在化応答の両方を提供する。Ｉｎ　ｖｉｔｒｏデータでの原理証明をＪｕｒｋａｔ細胞において提示する。

【０５３８】

メソテリンｓｃＦｖ　ＣＡＲ－ＥＧＦＰの発現を推進するＴＲＥを備えたＣＤ１９　ｓｃＦｖキメラＮｏｔｃｈ　ｔＴＡを発現するＪｕｒｋａｔ　Ｔ細胞を、メソテリン＋またはＣＤ１９／メソテリン＋Ｋ５６２癌細胞に暴露し、ＣＡＲ発現及びＴ細胞活性化を２４時間で評価した（図３５Ａ）。活性化マーカーであるＣＤ６９の上方制御及びＩＬ－２分泌を、Ｔ細胞活性化の指標として使用した。キメラＮｏｔｃｈ操作Ｔ細胞は、両抗原を発現する癌細胞に暴露したときにのみ、ＣＡＲを発現し、活性化された（図３５Ｂ～Ｃ）。

【０５３９】

図３５Ａ～Ｃ。キメラＮｏｔｃｈは、癌細胞に対してキメラ抗原受容体発現及びＴ細胞活性化をゲートする。（Ａ）抗メソテリンＣＡＲの抗ＣＤ１９キメラＮｏｔｃｈ　ｔＴＡゲート使用発現によるＴ細胞活性化の２つの抗原制御の概略図。（Ｂ）フローサイトメトリー分析、指定の抗原に対して陽性であるＫ５６２癌細胞への暴露後にメソテリンｓｃＦｖ　ＣＡＲ－ＥＧＦＰの発現を推進するＴＲＥを備えたＣＤ１９　ｓｃＦｖキメラＮｏｔｃｈ　ｔＴＡを発現するＪｕｒｋａｔ　Ｔ細胞のＣＡＲ－ＧＦＰ発現（左パネル）及びＣＤ６９レベル（右パネル）。（Ｃ）パネルＢに記載の同一の実験からの共培養物上清におけるＩＬ－２レベル。

【０５４０】

実施例２：ガンマセクレターゼプロテアーゼ活性及びキメラＮｏｔｃｈシグナル伝達

図３０Ａに示し、実施例１に記載するような、（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖを細胞外ポリペプチドとして、及びｔＴＡ転写活性化因子を細胞内ドメインとして含む）キメラＮｏｔｃｈポリペプチドを発現し、ｐＴｅｔ－ＧＦＰ構築物を含む「受信側」細胞と、ＣＤ１９をその表面上に発現する「送信側」細胞を、１ｍＭのＮ－［（３，５－ジフルオロフェニル）アセチル］－Ｌ－アラニル－２－フェニル］グリシン－１，１－ジメチルエチルエステル（ＤＡＰＴ）の存在下または不在下で接触させた。ＤＡＰＴは、ガンマセクレターゼ阻害因子である。データは、ＧＦＰ$^{+}$「受信側」細胞として表す。図８４Ａ及び８４Ｂに示すように、送信側細胞及びＤＡＰＴの存在下では、ＧＦＰ$^{+}$「受信側」細胞は、対象、未処置レベルであり；ＤＡＰＴの不在下では、送信側細胞との接触は、キメラＮｏｔｃｈポリペプチド及びＧＦＰの発現を強く活性化した。

【０５４１】

実施例３：合成Ｎｏｔｃｈ受容体は、カスタマイズされた細胞感知及び応答挙動を操作するためのモジュール式プラットフォームである

最小ｎｏｔｃｈ膜貫通領域を、新規の細胞外及び細胞内ドメインと組み合わせて、多様なキメラ受容体を構築することができる。

Ｎｏｔｃｈ伝達経路のコアは、膜貫通領域にある。この設計は、多様なアレイの膜提示リガンドを検出する一連の受容体を操作するためのプラットフォームであるとして考えることができる（図８５Ａ）。細胞内側では、Ｎｏｔｃｈ細胞内ドメイン（ＮＩＣＤ）を、Ｎｏｔｃｈシグナル伝達活性化について報告するために、直交転写因子により置き換えることができる。細胞外では、内在性デルタ結合ドメインは、タンパク質結合ドメイン（例えば、ＦＫＢＰ、抗ＧＦＰナノボディ等）により置き換えることができ、切断は、同族結合パートナーが結合するときに誘導される。従って、異なる細胞内ドメインとそれぞれカップリングした異なる細胞外ドメインを有する受容体分子のライブラリーが生成された（図８５Ｂ）。図８６Ａに示すように、合成受容体の応答は、切断依存性様式で同族リガンドを発現する送信側細胞との細胞間接触により活性化される。異なる細胞外及び細胞内ドメイン組み合わせでの結果を、図８７Ａに提供する。

【０５４２】

合成受容体の応答の活性化は、リガンド発現細胞の除去の際に可逆的であり、２４時間

での転写応答は、１時間程度の短い刺激パルスによって活性化され得る（図８７Ｂ）；さらには、リガンド量と受容体活性化との間の用量／応答関係は段階付けされ、内在性Ｎｏｔｃｈシグナリングの特徴を複製している（図８７Ｃ）。細胞によって発現される受容体の量は、レポーターの誘導強度と直線的に相関する（図８７Ｄ）。ある特定の細胞外ドメインについては、準最適なバックグラウンド活性または乏しい誘導性が観察された。合成Ｎｏｔｃｈの調節された切断膜貫通領域を１つまたは複数のＥＧＦリピートを組み込むようにわずかに延長することによって、時には合成受容体機能を改善し得ることが発見された。例えば、細胞外抗メソテリンｓｃＦｖを有するｓｙｎＮｏｔｃｈ分子は、この延長が組み込まれたとき、活性化に対して閾値の改善を示した（図８８Ａ）。

【０５４３】

ｓｙｎＮｏｔｃｈを検出するＧＦＰ及びＣＤ１９を、異なる形式（可溶性、細胞表面発現、及びシス細胞表面発現（すなわち受容体と同じ細胞上））で提示されたリガンドに対して検査した（図８６Ｃ）。ｓｙｎＮｏｔｃｈは、それらのリガンドが対向する表面上に提示されたときにのみシグナルを伝達することが見出された；同族リガンドが溶液であるか、または受容体と同じ表面上に提示された（シス）ときは、活性化は検出されなかった。興味深いことに、リガンドが、受容体を発現する細胞上にシス提示されるとき、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、鈍化した活性化を示し（図８６Ｃ、カラム「細胞」対「細胞＋シス」、及び図８８Ｂ～Ｃ）、これは未変性Ｎｏｔｃｈにおいてシス阻害として知られている特徴である。

【０５４４】

細胞内側では、転写抑制ならびに活性化を指向することができることが示された。このために、細胞内ドメインとしてＧａｌ４ＤＮＡ結合ドメインに融合した転写抑制因子ドメイン（ＫＲＡＢ）を有する受容体のバージョンを生成した。このｓｙｎＮｏｔｃｈを発現する細胞は、送信側細胞と共培養したときに、レポーター遺伝子を下方制御することによって応答する（図８６Ｂ）。

【０５４５】

他の細胞内ドメインもまた、ｓｙｎ－Ｎｏｔｃｈに挿入され、これには、Ｃｒｅリコンビナーゼ、ならびにＭｙｏＤ及びＳｎａｉｌなどのマスター転写因子が含まれる。これらのいくつかは、調節された活性を示したが、全体的にこれらの活性は非常に低く、これは、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体出力ドメインが化学量論的に機能し、増幅を示さないことによる可能性が高い。ゆえに、この受容体システムは、高度に増幅された出力に対してより良好に作用し得る。

【０５４６】

合成Ｎｏｔｃｈ受容体は、多様な初代細胞で作用する：ニューロン＆免疫細胞

ＳｙｎＮｏｔｃｈ細胞株は、受容体活性化の際に強い活性化を示した。この結果が細胞株特異的であるか否かを検査するために、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受信側細胞株を、一連の樹立細胞株：上皮性ＭＤＣＫ細胞、Ｌ９２９及びＣ３Ｈマウス線維芽細胞株、ＨＥＫ２９３ヒト上皮性細胞株、Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞を操作することにより産生した。これらの全ては、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体活性化の際に、レポーター遺伝子活性化の強い誘導を不変的に示した（図８９Ｂ）。重要なことに、初代細胞も、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体で操作することができ、こうして、これらは新規のリガンド刺激に応答するようになる。図８９Ａ（及び図９０）では、ｓｙｎＮｏｔｃｈ及びレポーターを発現する一次海馬ニューロンを誘導して、リガンド発現送信側細胞との接触によりＧＦＰレポーターカセットを発現することができることが示される。

【０５４７】

合成Ｎｏｔｃｈ受容体は、空間的に制御された様式で多様な細胞挙動を調節することができる。

ＳｙｎＮｏｔｃｈ受信側細胞は、隣接細胞がリガンドを発現しているかどうかを検出することができる。上皮細胞層に配置されたｓｙｎＮｏｔｃｈ受信側細胞を、空間的に誘導してレポーター遺伝子を発現することができるかどうかを検査した。リガンド発現送信側

細胞が、受信側細胞の層に低密度に播種されるとき、送信側細胞と直接接触する受信側細胞のみが、合成Ｎｏｔｃｈ受容体を活性化し、これは緑色送信側細胞の周囲の青色細胞（活性化受信側）の環により目視できる。一方で、離れた受信側細胞は不活性のままである（図９１Ａ）。

【０５４８】

次に、この合成の細胞間シグナル伝達を使用して、空間的に制御された様式で細胞運命を調節することができるかどうかを検査した。具体的には、ｓｙｎ－Ｎｏｔｃｈ受容体を使用して、筋肉細胞運命の制御因子であるＭｙｏＤなどの細胞運命マスターレギュレーターの発現を誘導できるかどうかを検査した。図８９Ｂに示すように、ｓｙｎＮｏｔｃｈ線維芽細胞の分化転換は、リガンド発現細胞の近傍においてのみ誘導できる。この実験では、ＣＤ１９発現細胞をまず局所的に播種し、次いで、抗ＣＤ１９－ｓｙｎＮｏｔｃｈ線維芽細胞を均一に重ねた。ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体がそのリガンドと係合する場合、受信側線維芽細胞は、筋形成のためのプロトタイプのマスター転写因子であるｍｙｏＤを上方制御し、これにより筋管の分化転換及び形成を局所的にのみもたらす（受信側細胞におけるｍｙｏＤ－ＧＦＰからの緑色チャネルが、送信側細胞におけるＢＦＰからの青色チャネルと空間的に重なる、図８９Ｂ；時間経過については図９２Ａを参照されたい）。

【０５４９】

別の例では、ｓｙｎＮｏｔｃｈを使用して、上皮間葉転換を制御できることが実証された。抗ＧＦＰ（または抗ＣＤ１９）を使用して、ＥＭＴマスターレギュレーター遺伝子ｓｎａｉｌの発現を制御した。これらの上皮細胞では、それらをリガンド－ＧＦＰ発現細胞に暴露することにより上皮間葉転換を誘導した。しかし、リガンドを発現しない細胞では誘導しなかった（図９１Ｃ及び９２Ｂ）。

【０５５０】

ｓｙｎＮｏｔｃｈを使用して、多細胞アセンブリの空間的な自己組織化を制御することができることも示された。これらの実験のために、操作した線維芽細胞を、相対的な細胞間接着強度がジオメトリーを決定づけるセットアップである低接着性プレートにおいてスフェロイドとして培養した。抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈを発現する受信側細胞は、ＣＤ１９を発現する送信側細胞による刺激の際にＥ－カドヘリンを誘導する。実験の開始時に、ＣＤ１９－送信側細胞及び抗ＣＤ１９－ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容細胞を無作為に混合する（図９１Ｄ、左）。受信側細胞におけるｓｙｎＮｏｔｃｈの下流でのＥ－カドヘリン発現の誘導は、それらの接着能力を増加させる。活性化された受信側細胞は、互いに強く接着し、スフェロイドの内側に移動し、送信側細胞を外層に残す（図９１Ｄ）。対照として、送信側及び受信側細胞のこのインサイドアウトの非対称性が、Ｅ－カドヘリンの代わりに、蛍光タンパク質のみがｓｙｎＮｏｔｃｈ活性化に応答して活性化するときに自己組織化することが示された（図９２Ｃ）。

【０５５１】

合成Ｎｏｔｃｈ受容体は、互いに及び未変性ｎｏｔｃｈに直交する。

複数のｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、クロストークすることなく、同じ細胞内で機能し得るかどうかを探求した。直交機能は、細胞が複数の入力の有無に応じて異なる出力を生成することを可能にするだろう。ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、シグナル伝達の機構のために、互いに直交して機能し得ると仮定された。異なる受容体の細胞内転写調節因子が異なる場合、クロストークを生じさせ得る共通の中間体（例えば、活性化キナーゼ）は存在しない。ｓｙｎＮｏｔｃｈと内因性Ｎｏｔｃｈとの間に何らかのクロストークがあった場合、シグナル伝達を最初に検査した。これを示すために、抗ＣＤ１９－ｓｙｎＮｏｔｃｈならびに異なる蛍光タンパク質を有する完全長Ｎｏｔｃｈについて報告するように細胞を操作した。細胞をデルタのみで刺激したとき、完全長Ｎｏｔｃｈ応答のみが活性化された；同じことがＣＤ１９に対するｓｙｎＮｏｔｃｈの応答にも当てはまる：２つの経路は独立した活性化を示す（図９３Ａ）。

【０５５２】

２つの異なるｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、同じ細胞内で独立して機能し得るか否かを、

次いで検査した。図９３Ｂでは、２つの独立したｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体、抗ＣＤ１９受容体及び抗ＧＦＰ受容体に対する単一リガンドならびに組み合わせたリガンドによる刺激の結果が報告された。それぞれは異なる細胞内転写活性化ドメイン（それぞれＧａｌ４及びｔＴＡ）に連結され、これは別個のレポーター蛍光タンパク質を発現する。ＣＤ１９によって活性化されると、抗ＣＤ１９－ｓｙｎＮｏｔｃｈ応答のみが活性化される；逆に、ＧＦＰ発現送信側細胞によって活性化されると、抗ＧＦＰ－ｓｙｎＮｏｔｃｈ応答のみが活性化される。重要なことに、細胞がＣＤ１９及びＧＦＰの両方によって刺激されると、２つの応答は共に活性化される（図９４Ｂ）。ゆえに、複数のｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、同じ細胞において孤立されたシグナル伝達経路として作用することができる。

【０５５３】

複数のｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用し、複数の入力を組み合わせてインテグレートする細胞を操作することができる。

複数のｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を同じ細胞内で使用して、多様な応答を生成することができる。組み合わせの環境の合図をインテグレートし、ある特定の基準が満たされたときにのみ応答する細胞の操作が設計された。具体的には、それらの環境上で２つの異なる抗原の存在下でのみ応答するが、それぞれに単独では応答しないだろう細胞の生成に、専念した。これを達成するために、抗ＣＤ１９及び抗ＧＦＰ細胞外ドメインを有する二重ｓｙｎＮｏｔｃｈ発現細胞（各ｓｙｎＮｏｔｃｈの活性化により分割Ｇａｌ４タンパク質の半分が活性化される）を操作した。このようにして、２つの入力が受信側細胞のみに提示される場合、活性化は見られない（図９３Ｃ、列１～３）。２つの受容体が活性化されたときにのみ、分割された分子が再構成され、受信側細胞における応答が誘導される（図９３Ｃ、最後の列）。

【０５５４】

複数のｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を用いて細胞間シグナル伝達のカスケードを操作する。

細胞間コミュニケーションのための複数のｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を用いて、細胞間コミュニケーションの多細胞シグナル伝達システムを設計した。具体的には、上皮細胞層における自己組織化多層空間的パターニングの誘導に焦点をあてた。このために、受信側細胞は、２つのｓｙｎＮｏｔｃｈを有し、そのうちの１つは他方のリガンドを誘導する。この特定の例において、抗ＧＦＰ－ｓｙｎＮｏｔｃｈは、ＣＤ１９リガンド発現（及びレポータータンパク質ｍＣｈｅｒｒｙ）を誘導し；抗ＣＤ１９－ｓｙｎＮｏｔｃｈは、レポータータンパク質ｔａｇＢＦＰを誘導する。次に、層のカスケードの誘導を開始するために、ＧＦＰ送信側細胞を、二重ｓｙｎＮｏｔｃｈ受信側細胞の単層に低密度に播く。この回路は、送信側細胞島の周りに活性化の２つの同心円環の形成を可能にした：第一の隣接細胞は、抗ＧＦＰ－ｓｙｎＮｏｔｃｈの活性化後に赤色になり、それらはＣＤ１９送信側になる（図９４Ａ、１日目）。そして、送信側細胞から一直径離れた細胞は、第一の隣接細胞によって発現されたＣＤ１９リガンドに応答することができ、図９４Ａ、２日の二重環パターンを生成する。このようにして、２つの異なる細胞型が、空間的に制御された様式で受信側細胞の均一な集団から産生される（図９４Ｃ）。ゆえに、複数のｓｙｎ－Ｎｏｔｃｈ受容体を使用して、自然発達過程で観察されるものと同様の、より複雑な多段階パターン形成応答を操作することができる（図９４Ｂ）。

【０５５５】

図８５．ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体のモジュール式構成

（図８５Ａ）Ｎｏｔｃｈレポーター、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体への、野生型Ｎｏｔｃｈから開始した連続的な操作としての、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体システムの概念設計。後者は、ｎｏｔｃｈレポーターの細胞内直交転写因子の柔軟性を利用し、細胞外ドメインを置換することによって新規の入力に応答するプラットフォームを構築する。

【０５５６】

（図８５Ｂ）プラットフォームのモジュール性：Ｎｏｔｃｈドメイン構造から抽出された細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインは、外側の多様なドメイン（抗体ベースまたはペプチドタグが示されている）及び内側の多様なエフェクター（異なるＤＮ

Ａ結合ドメインを有する転写活性化因子、ならびに転写抑制因子が示される）と交換され得る。

【０５５７】

図８７は、図８５に関連するデータを提供する。

（図８７Ａ）異なる細胞外及び細胞内ドメインを有する一連のｓｙｎＮｏｔｃｈ受信側細胞は、同族リガンドを用いた刺激の際に活性化を示す。細胞は、マウス線維芽細胞株Ｌ９２９であり、プレート結合型刺激により、またはリガンドを発現する送信側細胞を用いるかのいずれかで刺激され、これは図に示す通りである。

【０５５８】

（図８７Ｂ）送信側細胞を加えた際の受信側細胞の活性化の時間経過（左）；完全な活性化が達成された後、送信側細胞の除去により、受信側細胞の不活性化が誘導される（右）。

【０５５９】

（図８７Ｃ）異なる量のプレート結合型リガンドを有する受信側細胞の活性化の用量応答。ＭｙｃタグｓｙｎＮｏｔｃｈ（左）及び抗ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ（右）受信側細胞を、増加する量のリガンドに暴露する；２４時間でのレポーター統合強度をグラフに示す。

【０５６０】

（図８７Ｄ）ＳｙｎＮｏｔｃｈ発現レベルは、レポーター活性化の強度に直線的に影響する。グラフには、レポーターとしてＧＦＰを誘導する、ｍｙｃタグ細胞外ドメインを有するｓｙｎＮｏｔｃｈを発現する線維芽細胞のｎ＝２４クローン集団の受容体発現レベルに対するレポーター強度が示されている。青色の点は、刺激されていない細胞からのデータであり、緑色の点は、刺激後に記録されたデータである。受容体発現とＧＦＰ強度との間の正の相関が認められる。

【０５６１】

図８６．ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用して、接触依存性転写調節をプログラムすることができる。

（図８６Ａ～Ｂ）合成ｎｏｔｃｈ受容体を使用して、内因性疾患抗原を検出し、レポーター遺伝子の転写を増減させることができる。

【０５６２】

（図８６Ａ）抗ＣＤ１９／ｔＴＡ　ｓｙｎＮｏｔｃｈを有するマウス線維芽細胞（Ｌ９２９株）を、デルタ、またはＣＤ１９、またはガンマ－セクレターゼ阻害剤ＤＡＰＴの存在下でＣＤ１９を発現する送信側細胞と培養する。受信側細胞において結果得られたＧＦＰ強度のＦＡＣＳプロットを示す。

【０５６３】

（図８６Ｂ）転写抑制因子細胞内ドメインを有する抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈを有するマウス線維芽細胞（Ｌ９２９株）を、送信側細胞を伴ってまたは伴わずに共培養する。受信側細胞は、ＳＶ４０／ＵＡＳ複合プロモーターの下流で構成的にＧＦＰを発現する。受信側細胞ＧＦＰ強度のＦＡＣＳプロットは、膜上にＣＤ１９を伴ってまたは伴わずに両方とも送信側細胞の存在下で示される。

【０５６４】

（図８６Ｃ）異なる形式のリガンドでｓｙｎＮｏｔｃｈ刺激を発現するマウス線維芽細胞（Ｌ９２９）株。左：抗ＧＦＰ／ｔＴＡ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受信側細胞は、可溶性または送信側細胞提示、または受信側細胞上にシス提示されるかのいずれかのＧＦＰを用いてシミュレートされる。棒グラフは、種々のリガンド提示選択の存在下でのレポーター活性化を示す：活性化は、リガンドが対向する表面上に提示されるときにのみ生じる。右：ｍｙｃタグ付き抗ＣＤ１９／ｔＴＡ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受信側細胞は、抗ｍｙｃ可溶性抗体、または送信側細胞からのＣＤ１９、または同じ受信側細胞中のＣＤ１９（シス）のいずれかの、異なる形式のリガンドで刺激される。棒グラフは、レポーターの活性化を示す：活性化は、リガンドが対向する表面上に提示されるときにのみ誘導される。

【０５６５】
図８８．図８６に関連する。
（図８８Ａ）細胞外ドメイン上へのＥＧＦリピートの付加は、抗メソテリンｓｙｎＮｏｔｃｈにおける基礎活性化を低下させる。抗メソテリンＳｃＦｖの前にＥＧＦリピートを有するまたは有さない抗メソテリンｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を、Ｌ９２９線維芽細胞において誘導する。これらの受容体の活性化は、ＧＦＰレポーターを活性化する。示したデータは、２つのシナリオにおけるＦＡＣＳプロットである：上、ＥＧＦリピート無し、レポーターの誘導は、リガンドの不在下であっても構成的である；下、ＥＧＦリピート有り、基礎レポーター活性化は消滅し（オフライン）、誘導によりＧＦＰ強度はオン状態になる。
【０５６６】
（図８８Ｂ）パルス活性化。短時間にわたって、抗ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受信側細胞を刺激するために、受信側細胞をプレート上に２４時間播種し、次いで１時間または４時間、懸濁送信側細胞（膜貫通ＧＦＰを発現するＫ５６２）とインキュベートする；その後、懸濁送信側細胞を洗い流し、送信側細胞の最初の付加からｔ＝２４時間で、受信側細胞中の蛍光をＦＡＣＳによって測定する。棒グラフは、各条件について少なくとも１０，０００個の細胞の統合された蛍光応答である。データは平均と標準誤差である。データは、抗ＧＦＰ　ＬａＧ１７及びＬａＧ１６／２細胞外ドメインに関するものである。
【０５６７】
（図８８Ｃ）主となる図８６Ｃのシス阻害結果に関するＦＡＣＳプロット。プロットは、各条件について少なくとも１０，０００細胞のレポーター蛍光に対する細胞数である。送信側細胞は、操作されたＫ５６２であり、受信側細胞は、操作されたＬ９２９マウス線維芽細胞である。左には、抗ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈに関するデータ；右には、抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈに関するデータを示す。
【０５６８】
図８９．ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、ニューロン及びリンパ球を含む、多様な細胞型で機能する。
（図８９Ａ）海馬ニューロン。一次海馬ニューロンを、Ｅ１８ラット胚から解離し、核酸遺伝子導入（ｎｕｃｌｅｏｆｅｃｔｅｄ）して、抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ及びカップリングしたＧＦＰレポーターを発現した。ニューロンは、ポリ－Ｄ－リジン及びラミニンでコーティングされたガラス底３５ｍｍ培養皿上に播種する。ニューロンプレーティングの２時間後、送信側細胞（Ｋ５６２）を培養物に加えて共培養系を形成する。画像は、プレーティング後４日目に生細胞から取得する。右に、プレーンなＫ５６２細胞（上のパネル）またはＣＤ１９＋Ｋ５６２送信側細胞（下のパネル）と共培養されたニューロンの代表的な画像を示す。リガンド提示送信側細胞と共培養したニューロンは、対照細胞より有意に高いＧＦＰ発現を有する。
【０５６９】
（図８９Ｂ）Ｔ細胞株。Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞株を、ＧＦＰをレポーターとして発現する、抗ＣＤ１９／ｔＴＡ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を安定して発現するように操作する。右のデータは、ｔ＝２４時間でのＣＤ１９＋またはＣＤ１９－送信側細胞（Ｋ５６２）で刺激した際のＪｕｒｋａｔ細胞の蛍光を示す。Ｔ細胞は、それらがｓｙｎＮｏｔｃｈ同族リガンドと会うときにのみ活性化される。
【０５７０】
図９０．図８９に関連する。
（図９０Ａ）実験及びニューロンにおいて発現される構築物の実証。一次海馬ニューロンを、Ｅ１８ラット胚から解離し、ｃＮｏｔｃｈ受容体ならびにＴｅｔＯ－ＧＦＰレポーターを発現する構築物で核酸遺伝子導入する。ニューロンを、ポリ－Ｄ－リジン及びラミニンでコーティングされたガラス底３５ｍｍ培養皿上に播種する。ニューロンプレーティングの２時間後、Ｋ５６２送信側細胞を培養物に加えて共培養系を形成する。画像は、プレーティング後４日目に生細胞から取得する。

【０５７１】
（図９０Ｂ）各処理について１００個のニューロンにおけるＧＦＰ蛍光強度の分布。ＧＦＰ強度は、蛍光共焦点画像から算出される。
【０５７２】
（図９０Ｃ）各処理について約１００個のニューロンからの平均ＧＦＰ蛍光強度の定量。
【０５７３】
図９１．ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、多様な細胞挙動の空間的制御をもたらす
（図９１Ａ）上皮単層における境界検出。上皮細胞（ＭＤＣＫ）を以下のように操作する：送信側細胞は、膜貫通ドメインに連結した細胞外ＧＦＰを発現する；受信側細胞は、ＬａＧ１７抗ＧＦＰナノボディを細胞外ドメインとして、及びＧａｌ４－ＶＰ６４を細胞内ドメインとして、ＵＡＳ－＞ＢＦＰレポーター構築物とともに有する抗ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈを発現する。送信側及び受信側を１：５０の比率で一緒に混ぜ、コンフルエントな単層のプレーティングの４８時間後に共焦点画像を取得する。高倍率及び低倍率の代表的な画像を、距離に対する蛍光強度の代表的なラインとともに示す。緑色送信側細胞と接触している受信側細胞のみが青色のレポーターをオンにし、送信側細胞の周りに環を形成する。
【０５７４】
（図９１Ｂ）線維芽細胞における筋形成マスターレギュレーター（ｍｙｏＤ）のｓｙｎＮｏｔｃｈ活性化は、空間的に制御された様式で分化転換を誘導する。Ｃ３Ｈマウス線維芽細胞を以下のように操作する：送信側細胞は、膜貫通ドメインに連結した細胞外ＣＤ１９を、さらにｔａｇＢＦＰマーカーを発現する；受信側細胞は、ｔＴＡ細胞内ドメインを、ＴＲＥ－＞ｍｙｏＤレポーター構築物及び構成的ｍＣｈｅｒｒｙマーカーとともに有する抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈを発現する。送達線維芽細胞を、まずプレートの限られた領域に播種する；１時間後、送信側細胞をプレートに付着させ、受信側細胞を、ガラスプレート全体を覆うように播種する。示された画像は、共培養後４８時間である（時間経過については図９２を参照されたい）。ＧＦＰチャネルは、青色チャネルと重複する領域にｍｙｏＤ－ＧＦＰの誘導を示し、送信側細胞を標識する。緑色チャネルに関してこの視野のより高い倍率を右に示す。
【０５７５】
（図９１Ｃ）ｓｙｎＮｏｔｃｈは、培養上皮細胞において上皮間葉転換を誘導することができる。上皮細胞（ＭＤＣＫ）を以下のように操作する：受信側細胞は、ＬａＧ１７抗ＧＦＰナノボディを細胞外ドメインとして、及びｔＴＡを細胞内ドメインとして、ＴＲＥ－＞Ｓｎａｉｌ－ｉｒｅｓ－ＢＦＰエフェクター構築物とともに有する抗ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈを発現する。送信側細胞は、ＧＦＰ発現Ｋ５６２である。送信側細胞を加える前後の上皮細胞の代表的な明視野顕微鏡画像を示す。定量化については図９２を参照されたい。
【０５７６】
（図９１Ｄ）線維芽細胞における接着のｓｙｎＮｏｔｃｈ誘導は、線維芽細胞スフェロイド培養物における対称性破壊再編成を支配することができる。Ｌ９２９マウス線維芽細胞を以下のように操作する：送信側細胞は、膜貫通ドメインに連結した細胞外ＣＤ１９を、さらにｔａｇＢＦＰマーカーを発現する；受信側細胞は、ｔＴＡ細胞内ドメインを、ＴＲＥ－＞Ｅ－カドヘリン－ＧＦＰエフェクター構築物、及び構成的赤色マーカー（ｍＣｈｅｒｒｙ）とともに有する抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈを発現する。顕微鏡で収集した蛍光シグナルを、代表的なスフェロイドについて、ｔ＝０（左）及びｔ＝２０時間（右）で示す。ｔ＝０にて、細胞を混合する；ｔ＝２０時間で、受信側細胞はＥ－カドヘリン（緑色チャネル）を誘導し、スフェロイドの内層（赤色）で選別し、一方で送信側細胞（青色）は外側にある。
【０５７７】
図９２．図９１に関連する。

（図９２Ａ；図９１Ｂとの比較）Ｃ３Ｈマウス線維芽細胞を以下のように操作する：送信側細胞は、膜貫通ドメインに連結した細胞外ＣＤ１９を、さらにｔａｇＢＦＰマーカーを発現する。受信側細胞は、ｔＴＡ細胞内ドメインを、ＴＲＥ－＞ｍｙｏＤエフェクター構築物及び構成的ｍＣｈｅｒｒｙマーカーとともに有する抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈを発現する。送達線維芽細胞を、まずプレートの限られた領域に播種する；１時間後、送信側細胞をプレートに付着させ、受信側細胞を、ガラスプレート全体を覆うように播種する。画像は右側で１０時間ごとに取得する。

下に、送信側細胞と受信側細胞の共培養（上）または受信側細胞単独（下）の実験の代表的な視野を示す。

【０５７８】

（図９２Ｂ；図９１Ｃとの比較）上皮細胞（ＭＤＣＫ）を以下のように操作する：受信側細胞は、ＬａＧ１７抗ＧＦＰナノボディを細胞外ドメインとして、及びｔＴＡを細胞内ドメインとして、ＴＲＥ－＞Ｓｎａｉｌ－ｉｒｅｓ－ＢＦＰエフェクター構築物とともに有する抗ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈを発現する。送信側細胞は、ＧＦＰ発現Ｋ５６２である。受信側細胞ＢＦＰシグナルのＦＡＣＳプロットを、送信側細胞がない、無関係のリガンドを発現する送信側細胞、及び同族リガンドＧＦＰを発現する送信側細胞の存在下で示す。蛍光の定量は、棒グラフ上に提示する。

右端の棒グラフは、様々な条件における、受信側細胞の、または親細胞のＥ－カドヘリン発現レベルを報告する。Ｅ－カドヘリンレベルは、同族抗原ＧＦＰを発現する送信側細胞の存在下でのみ低下する。

【０５７９】

（図９２Ｃ；図９１Ｄとの比較）

上パネル：Ｌ９２９マウス線維芽細胞を以下のように操作する：送信側細胞は、膜貫通ドメインに連結した細胞外ＣＤ１９、さらにｔａｇＢＦＰマーカーを発現する；受信側細胞は、ｔＴＡ細胞内ドメインを、ＴＲＥ－＞Ｅ－カドヘリン－ＧＦＰエフェクター構築物、及び構成的赤色マーカー（ｍＣｈｅｒｒｙ）とともに有する抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈを発現する。顕微鏡で収集した蛍光シグナルを、送信側及び受信側細胞を有する代表的なスフェロイドについて、ならびに示すように受信側細胞のみを有するものについて、ｔ＝２０時間で示す。緑色蛍光は、送信側細胞の存在下でのみ、受信側細胞において誘導される（Ｅ－カドヘリンチャネル、右端）。

下パネル：Ｌ９２９マウス線維芽細胞を以下のように操作する：送信側細胞は、膜貫通ドメインに連結した細胞外ＧＦＰを発現する；受信側細胞は、ｔＴＡ細胞内ドメインを、ＴＲＥ－＞ｍＣｈｅｒｒｙレポーター構築物、及び構成的青色マーカー（ｔａｇＢＦＰ）とともに有する抗ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈを発現する。共焦点顕微鏡で収集した蛍光シグナルを、送信側＋受信側細胞を有する代表的なスフェロイドについて、及び受信側細胞のみを有するものについて、ｔ＝０　ｔ＝２０時間で示す。赤色蛍光は、送信側細胞の存在下でのみ、受信側細胞において誘導される（ｍＣｈｅｒｒｙレポーターチャネル、右端）。送信側細胞と受信側細胞の再編成は認められない。

【０５８０】

図９３．ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体は互いに直行し、組み合わせ調節のために使用することができる

（図９３Ａ）ｓｙｎＮｏｔｃｈ及び野生型Ｎｏｔｃｈは、直交シグナル伝達経路を活性化する。Ｌ９２９マウス線維芽細胞受信側を、（ｉ）ｔＴＡ細胞内ドメイン及びＴＲＥ－＞ＧＦＰレポーターを有する野生型Ｎｏｔｃｈ受容体、ならびに（ｉｉ）抗ＣＤ１９細胞外ドメインとＧａｌ４－ＶＰ６４細胞内ドメイン、及びＵＡＳ－＞ｔａｇＢＦＰレポーターを有するｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を発現するように操作する。右側のグラフは、異なる条件におけるＢＦＰ及びＧＦＰレポーターに関する受信側細胞蛍光シグナルを報告する。黒色点は未処理細胞であり、青色点受信側細胞はＣＤ１９発現送信側で刺激され、橙色点はデルタ送信側で刺激した受信側細胞であり、赤色点はＣＤ１９及びデルタの両方を発現する送信側細胞で刺激された受信側細胞である。送信側細胞は、マウスＬ９２９線維芽細

胞である。

【０５８１】

（図９３Ｂ）複数のｓｙｎＮｏｔｃｈは互いに直交する。Ｌ９２９マウス線維芽細胞受信側を、（ｉ）ｔＴＡ細胞内ドメイン及びＴＲＥ－＞ＢＦＰレポーターを有する抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体；ならびにさらに（ｉｉ）抗ＣＤ１９細胞外ドメインとＧａｌ４－ＶＰ６４細胞内ドメイン、及びＵＡＳ－＞ｍＣｈｅｒｒｙレポーターを有するｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を発現するように操作する。右のグラフは、異なる条件におけるＢＦＰ及びＧＦＰレポーターに関する受信側細胞蛍光シグナルを報告する：黒色点は未処理細胞であり、赤色点はＣＤ１９発現送信側で刺激された受信側細胞であり、緑色点はＧＦＰ送信側で刺激された受信側細胞であり、青色点はＧＦＰ及びＣＤ１９の両方を発現する送信側細胞で刺激された受信側細胞である。送信側細胞は、Ｋ５６２である。

【０５８２】

（図９３Ｃ）２つのｓｙｎＮｏｔｃｈで操作した細胞は、両方の入力が存在するときにのみ応答することができる。Ｌ９２９マウス線維芽細胞受信側を、（ｉ）ｔＴＡ細胞内ドメイン及びロイシンジッパードメインに融合したＧａｌ４のＤＮＡ結合ドメイン（ＤＢＤ）の発現を推進するＴＲＥプロモーターを有する抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体、ならびに（ｉｉ）抗ＧＦＰ細胞外ドメイン及び細胞内ドメインとして相補的なロイシンジッパーに融合したＶＰ６４転写活性化ドメインを有するｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体、ならびに（ｉｉｉ）赤色蛍光タンパク質（ｍＣｈｅｒｒｙ）を発現するＧａｌ４応答性プロモーターを発現するように操作した。右のグラフは、２つのリガンドを単独（ＧＦＰまたはＣＤ１９）で、または両方のリガンドを一緒に発現する、異なる送信側細胞（Ｋ５６２）との共培養における受信側細胞から収集した正規化ｍＣｈｅｒｒｙ蛍光を示す。活性化は、両方の入力が存在するときにのみ生じる。

【０５８３】

図９４．複数のｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用して、多層自己組織化上皮パターンを生成することができる。

上皮細胞（ＭＤＣＫ）を以下のように操作する：送信側細胞は、膜貫通ドメインに連結した細胞外ＧＦＰを発現する；受信側細胞は、（ｉ）ｔＴＡ細胞内ドメインを、ＴＲＥ－＞ＣＤ１９－ｍＣｈｅｒｒｙエフェクターカセットとともに有する抗ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ；（ｉｉ）Ｇａｌ４－ＶＰ６４細胞内ドメイン、及びＵＡＳ－＞ｔａｇＢＦＰレポーターを有する抗ＣＤ１９受容体を発現する。

【０５８４】

（図９４Ａ）１０時間（開始）３４時間（１日目）及び５８時間（２日目）の、１：５０の割合で共培養された送信側細胞及び受信側細胞の上皮層について代表的な画像を示す。

【０５８５】

（図９４Ｂ）２日目の共培養の異なる視野の複数の画像。

【０５８６】

（図９４Ｃ）２日の、送信側細胞周辺のパターンについての蛍光画像から算出された蛍光シグナルの代表的な定量化。

【０５８７】

図９５．ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体のモジュール性は、哺乳類細胞の感知／応答操作を拡大させる。

（図９５Ａ）ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体の活性化の推定上の構造機構。ＬＮＲドメインは、未結合立体構造においてプロテアーゼ切断部位をマスクする（左）。リガンドが受容体と係合すると、この部位は露出し、この事象が伝達を開始する（右）。

【０５８８】

（図９５Ｂ）初期の後生動物由来のＬＮＲ含有分子のアライメント。

【０５８９】

（図９５Ｃ）ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体プラットフォームのモジュール性により、ユーザ

ーは、細胞がこれから応答する細胞外キュー、ならびに受容体活性化の下流で誘導される細胞応答を特定することができる。

【０５９０】

実施例４：合成Ｎｏｔｃｈ受容体を使用してカスタマイズされた治療応答プログラムによるＴ細胞の操作

材料及び方法

別段の指示がない限り、以下の材料及び方法が、実施例４に記載の結果に適用される。

【０５９１】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体及び応答エレメント構築物設計

ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、ＣＤ１９　ｓｃＦｖ、ＬａＧ１７（低親和性）、またはＬａＧ１６＿２（高親和性）ＧＦＰナノボディをマウスＮｏｔｃｈ１（ＮＭ＿００８７１４）最小調節領域（Ｉｌｅ１４２７～Ａｒｇ１７５２）及びＧａｌ４ＶＰ６４に融合させることにより構築した。全てのｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、ｎ末端ＣＤ８αシグナルペプチド

(MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:129))

を膜標的化のために、及びｍｙｃ－タグ

(EQKLISEEDL (SEQ ID NO:75))

をα－ｍｙｃ　Ａ６４７を伴う表面発現の容易な決定のために含有する（ｃｅｌｌ－ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　＃２２３３）。受容体を、全ての初代Ｔ細胞実験に関してＰＧＫプロモーターを含有する改変ｐＨＲ’ＳＩＮ：ＣＳＷベクターへとクローニングした。ｐＨＲ’ＳＩＮ：ＣＳＷベクターは、応答エレメントプラスミドを作成するようにも改変された。Ｇａｌ４　ＤＮＡ結合ドメイン標的配列

(GGAGCACTGTCCTCCGAACG (SEQ ID NO:130))

の５つのコピーを５’で最小ＣＭＶプロモーターにクローニングした。ヒトＩＬ－２、ＩＬ－１０、Ｔｂｅｔ、またはＴＲＡＩＬコドン最適化ｍＲＮＡ配列を、Ｇａｌ４誘導性プロモーターのＭＣＳ下流及びＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙレポーターの５’にクローニングした。全ての構築物は、Ｉｎ－Ｆｕｓｉｏｎクローニング（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ　＃ＳＴ０３４５））を介してクローニングした。

【０５９２】

初代ヒトＴ細胞単離及び培養

初代ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を、陰性選択によるアフェレーシスの後に匿名のドナー血液から単離した（ＳＴＥＭＣＥＬＬ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　＃１５０６２及び１５０６３）。血液は、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ　Ｒｅｖｉｅｗ　Ｂｏａｒｄの承認を得て、Ｂｌｏｏｄ　Ｃｅｎｔｅｒｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｐａｃｉｆｉｃ（カリフォルニア州サンフランシスコ）から得た。Ｔ細胞を、２０％ヒトＡＢ血清（Ｖａｌｌｅｙ　Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ　Ｉｎｃ．，＃ＨＰ１０２２）及び１０％ＤＭＳＯを含むＲＰＭＩ－１６４０（ＵＣＳＦ　ｃｅｌｌ　ｃｕｌｔｕｒｅ　ｃｏｒｅ）中で凍結保存した。解凍後、実施例４の全ての実験について、３０単位／ｍＬ　ＩＬ－２（ＮＣＩ　ＢＲＢ　Ｐｒｅｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｒｅｐｏｓｉｔｏｒｙ）を補充した、Ｘ－ＶＩＶＯ　１５（Ｌｏｎｚａ　＃０４－４１８Ｑ）、５％ヒトＡＢ血清及び１０ｍＭ中和Ｎ－アセチルＬ－システイン（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ　＃Ａ９１６５）からなるヒトＴ細胞培地中でＴ細胞を培養した。

【０５９３】

ヒトＴ細胞のレンチウイルス形質導入

汎親和性ＶＳＶ－Ｇ偽型レンチウイルスを、Ｆｕｇｅｎｅ　ＨＤ（Ｐｒｏｍｅｇａ　＃Ｅ２３１２）を使用して、ｐＨＲ’ＳＩＮ：ＣＳＷ導入遺伝子発現ベクターならびにウイルスパッケージングプラスミドｐＣＭＶｄＲ８．９１及びｐＭＤ２．Ｇを用いたレンチ－Ｘ　２９３Ｔ細胞（Ｃｌｏｎｅｔｅｃｈ　＃１１１３１Ｄ）のトランスフェクションを介して産生した。初代Ｔ細胞を、同日に解凍し、培養２４時間後、１：３の細胞：ビード比率でＤｙｎａｂｅａｄｓ　Ｈｕｍａｎ　Ｔ－Ａｃｔｉｖａｔｏｒ　ＣＤ３／ＣＤ２８（Ｌ

ｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　＃１１１３１Ｄ）で刺激した。４８時間で、ウイルス上清を回収し、初代Ｔ細胞を２４時間ウイルスに曝露した。Ｔ細胞刺激後４日目に、Ｄｙｎａｂｅａｄｓを除去し、それらを静止させアッセイに使用できる９日目までＴ細胞を増殖させた。Ｔ細胞を、ＦＡＣｓ　ＡＲＩＡ　ＩＩを用いたアッセイのために選別した。

【０５９４】

癌細胞株

使用した癌細胞株は、Ｋ５６２骨髄性白血病細胞（ＡＴＣＣ　＃ＣＣＬ－２４３）、Ｄａｕｄｉ　Ｂ細胞リンパ芽球（ＡＴＣＣ　＃ＣＣＬ－２１３）、及びＨＣＴ１１５結腸癌細胞（ＡＴＣＣ　＃ＣＣＬ－２４７）とした。Ｄａｕｄｉ腫瘍と同等のレベルでヒトＣＤ１９を安定して発現させるために、Ｋ５６２をレンチウイルスで形質導入した。ＣＤ１９レベルは、細胞をα－ＣＤ１９　ＡＰＣ（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　＃３０２２１２）で染色することによって決定した。Ｋ５６２を、表面ＧＦＰ（ＰＤＧＦ膜貫通ドメインに融合したＧＦＰ）を安定して発現するためにも形質導入した。全ての細胞株を導入遺伝子の発現について選別した。

【０５９５】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞のｉｎ　ｖｉｔｒｏ刺激

全てのｉｎ　ｖｉｔｒｏ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞刺激について、2×10^5個のＴ細胞を１：１の比率で送信側細胞と共培養した。丸底９６ウェル組織培養プレートでＴ細胞及び送信側細胞を混合した後、細胞を４００ｘｇで１分間遠心分離して、細胞の相互作用を引き起こし、培養物をレポーター発現またはカスタム遺伝子誘導の発現について、ＢＤ　ＬＳＲ　ＩＩを用いたフローサイトメトリーを介して２４時間で分析した。全てのフローサイトメトリー分析は、ＦｌｏｗＪｏソフトウェア（ＴｒｅｅＳｔａｒ）で行った。

【０５９６】

Ｌｕｍｉｎｅｘ　ＭＡＧＰＩＸサイトカイン定量

α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びヒトＩＬ－２またはＩＬ－１０発現のいずれかを制御する５ｘＧａｌ４応答エレメントを発現する初代ＣＤ４＋Ｔ細胞を、Ｋ５６２骨髄性白血病細胞（ＣＤ１９－またはＣＤ１９＋）で上に記載したように刺激した。参考として、α－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲを発現するＣＤ４＋Ｔ細胞は、１：３の比率でα－ＣＤ３／ＣＤ２８　Ｄｙｎａｂｅａｄｓで刺激した形質導入していないＴ細胞とともに刺激した。上清を２４時間で回収し、製造者のプロトコルに従って、Ｌｕｍｉｎｅｘ　ＭＡＧＰＩＸ（Ｌｕｍｉｎｅｘ　Ｃｏｒｐ．）ヒトサイトカインマグネティック２５－プレックスパネル（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ参照番号ＬＨＣ０００９Ｍ）で分析した。全てのサイトカインレベルを、ｘＰＯＮＥＮＴソフトウェア（Ｌｕｍｉｎｅｘ　Ｃｏｒｐ．）を用いて標準曲線に基づいて算出した。

【０５９７】

ＩＬ－２細胞内サイトカイン染色及びＣＤ６９染色

ＩＬ－２産生を制御するｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞をアッセイして、細胞内サイトカイン染色（ＩＣＳ）によって、これらがＩＬ－２を基礎的に産生したかどうかを決定した。ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞及び形質導入していないＴ細胞対照を、ＧｏｌｇｉＰｌｕｇ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　＃５５５０２９）の存在下で６時間培養した。Ｔ細胞を、次いで、α－ＩＬ－２　ＦＩＴＣ（ＢＤ　＃３４０４４８）でＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　ＩＣＳキット（＃５５５０２８）を用いて染色した。ＩＬ－２のレベルを、ＢＤ　ＬＳＲＩＩを用いたフローサイトメトリーを介して分析した。

【０５９８】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体がＴ細胞を活性化したかどうかを評価するために、活性化マーカーＣＤ６９に関して、刺激後にＴ細胞を染色した。ＣＤ６９発現は、細胞をα－ＣＤ６９　ＡＰＣ（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　＃３１０９１０）で染色することによって決定した。

【０５９９】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ推進性Ｔ細胞分化

初代ヒトＣＤ４＋Ｔ細胞を、Ｄｙｎａｂｅａｄｓ　Ｈｕｍａｎ　Ｔ－Ａｃｔｉｖａｔｏ

ｒ　ＣＤ３／ＣＤ２８で上記のように刺激した。活性化中にＴ細胞を$Ｔ_{ｈ１}$サブセットへと分化するために、細胞を上記の通り、ただし、２．５ｎｇ／ｍＬの組換えＩＬ－１２（Ｒ＆Ｄシステム）及び１２．５μｇ／ｍＬのα－ＩＬ－４クローンＭＰ４－２５Ｄ２（ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｇｅｎ　＃５５４４８１）を加えて培養した。ＩＬ－１２及びα－ＩＬ－４を、少なくとも週二回加えた。並行して、初代ＣＤ４　Ｔ細胞を、レンチウイルスで形質導入して、ヒトＴｂｅｔ　Ｔ２Ａ　ｍＣｈｅｒｒｙ（ＴＢＸ２１、ＮＣＢＩ　＃ＥＡＷ９４８０４．１）を発現させ、ＩＬ－２を補充したＴ細胞培地において正常に培養した。α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びＴｂｅｔ　Ｔ２Ａ　ＧＦＰ発現を制御する５ｘ　Ｇａｌ４応答エレメントを発現するＣＤ４＋Ｔ細胞を、ＣＤ１９－またはＣＤ１９＋Ｋ５６２送信側細胞の存在下でウイルス形質導入２４時間後に培養した。ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞を、Ｋ５６２の存在下でＩＬ－２を補充したＴ細胞培地において培養した。全てのＴ細胞を１１～１４日間培養し、次いで、細胞内サイトカイン染色（ＩＣＳ）に供して、$Ｔ_{ｈ１}$　Ｔ細胞の割合（％）を決定した。

【０６００】

ＩＣＳのために、Ｔ細胞を、まず５０ｎｇ／ｍＬのホルボールミリスタートアセタート及び１μｇ／ｍＬのイオノマイシン（両方ともＳｉｇｍａ製）で６時間、ＧｏｌｇｉＰｌｕｇの存在下で処理した。Ｔ細胞を、次いで、α－Ｔｂｅｔ　ＢＶ４２１（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　＃６４４８１６）及びα－ＩＦＮγ　ＡＰＣ（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　＃５０２５１２）で染色した。Ｔｂｅｔ及びＩＦＮγのレベルを、ＢＤ　ＬＳＲＩＩを用いたフローサイトメトリーを介して分析した。

【０６０１】

初代Ｔ細胞における組換えＴＲＡＩＬ及びｓｙｎＮｏｔｃｈ推進性ＴＲＡＩＬ産生に対する癌細胞株の感受性

ＨＣＴ１１６結腸癌細胞及びＫ５６２を、組換えＴＲＡＩＬ（１～２００ｎｇ／ｍＬ、１：２希釈シリーズ）で２４時間処理した。次いで、細胞を回収し、ｌｉｖｅ／ｄｅａｄ染色、ＳＹＴＯＸ　Ｂｌｕｅ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　＃Ｓ３４８５７）で染色し、死滅細胞の割合をＢＤ　ＬＳＲ　ＩＩでのフローサイトメトリーによって決定した。Ｋ５６２により発現されるデスレセプター４（ＤＲ４）のレベルを、α－ＴＲＡＩＬ　Ｒ１（ＤＲ４）ＡＰＣ（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　＃３０７２０８）で染色することによって評価した。

【０６０２】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ推進性ＴＲＡＩＬ細胞傷害性アッセイのために、初代ヒトＣＤ４＋Ｔ細胞を形質導入して、α－ＧＦＰナノボディ（ＬａＧ１７）ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びＬＺ－ＴＲＡＩＬまたは細胞表面野生型ＴＲＡＩＬの発現を制御する５ｘ　Ｇａｌ４応答エレメントを発現させた。ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＴＲＡＩＬ殺傷細胞を、表面ＧＦＰ＋またはＧＦＰ－Ｋ５６２と２４時間共培養し、ＳＹＴＯＸ　Ｂｌｕｅで染色することによって死を決定した。ＴＲＡＩＬの表面レベルを、α－ＴＲＡＩＬ（ＣＤ２５３）ＡＰＣ（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　＃３０８２１０）でＴ細胞を染色することにより決定した。ＬＺ－ＴＲＡＩＬの産生及び分泌を、ＴＲＡＩＬ　ＥＬＩＳＡ（Ｒ＆Ｄ　ｓｙｓｔｅｍ　＃ＤＴＲＬ００）により決定した。

【０６０３】

異種移植腫瘍モデル、細胞単離、及びフローサイトメトリー

動物試験を、ＵＣＳＦ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ　Ａｎｉｍａｌ　Ｃａｒｅ　ａｎｄ　Ｕｓｅ　Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅに承認されたプロトコル下にてＵＣＳＦ　Ｐｒｅｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ　Ｃｏｒｅで実施した。ＮＯＤ　ｓｃｉｄガンマ（ＮＳＧ）（雌、８～１２週齢、Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　＃００５５５７）マウスを、全てのｉｎ　ｖｉｖｏマウス実験に使用した。α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びヒトＩＬ－２　ＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙを制御する５ｘ　Ｇａｌ４応答エレメントを発現する初代ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を、選別し、実験において使用した。

【０６０４】
マウスに、０日目に、５×１０^{6}個のＣＤ１９＋及びＣＤ１９－Ｋ５６２をそれぞれマウスの右側腹部及び左側腹部で皮下注射した。腫瘍を４日間確立させ、Ｔ細胞を４日目に尾静脈（静脈内）を介してまたは８日目に腫瘍内に注射した。Ｔ細胞を全ての注射用にＰＢＳに懸濁した。ＣＤ４＋及びＣＤ８＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞を１：１の比率で注射した。静脈内注射については、全部で６×１０^{6}個のＴ細胞を注射し、腫瘍内注射については、全部で５×１０^{5}個のＴ細胞を注射した。
【０６０５】
腫瘍を、１０日目に１％ＦＢＳを補充したＲＰＭＩ（ＵＣＳＦ　Ｃｅｌｌ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｒｅ）へと回収した。次いで、腫瘍をカミソリの刃で細かく刻み、０．１ｍｇ／ｍＬのＤＮａｓｅ（Ｒｏｃｈｅ　＃１０１０４１５９００１）及び０．２ｍｇ／ｍＬのコラゲナーゼＰ（Ｒｏｃｈｅ　＃１１２４９００２００１）を含むＲＰＭＩ中で３７℃にて１時間消化した。インキュベーション後、消化した腫瘍を７５μｍのセルストレーナーに通し、腫瘍細胞を遠心分離によって集めた。次いで、細胞を赤血球溶解緩衝液（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　＃４２０３０１）で処理し、ＰＢＳで洗浄した。次に、ＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ緑色（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　＃３４９６９）及びα－ＣＤ４　Ａ６４７（ＢＤ　５５７７０７）及びα－ＣＤ８　ＢＶ７８６（ＢＤ　＃５８３８２３）で染色して、腫瘍に浸潤するＴ細胞を分析した。ＩＬ－２　ＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙの発現を、ＢＤ　ＬＳＲ　ＩＩを用いてＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞集団において評価した。
【０６０６】
統計学的分析
統計学的有意性を、別段の指定がない限り、スチューデントのｔ検定（両側検定）によって決定した。実施例４に関する全ての統計学的分析は、Ｐｒｉｓｍ　６（Ｇｒａｐｈｐａｄ）を用いて行い、ｐ値を報告した（有意差無し＝ｐ＞０．０５、＊＝ｐ≦０．０５、＊＊＝ｐ≦０．０１、＊＊＊＝ｐ≦０．００１、＊＊＊＊＝ｐ≦０．０００１）。全てのエラーバーは平均の標準誤差または標準偏差のいずれかを表す。
【０６０７】
結果
ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、ＣＤ４＋及びＣＤ８＋ヒト初代Ｔリンパ球において抗原誘導型転写を推進することができる
Ｎｏｔｃｈ受容体は、３つの重要な要素を有する：１）リガンド結合上皮成長因子（ＥＧＦ）リピート、２）活性化中に受容体の切断を制御するコア調節領域、及び３）放出され、転写を調節するＮｏｔｃｈ細胞内ドメイン（ＮＩＣＤ）。完全にカスタマイズ可能な受容体標的化及び転写調節を可能にするｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体プラットフォームを構築するために、リガンド依存性切断及び活性化を制御するＮｏｔｃｈコア調節領域を最小の足場として利用したが、その後カスタマイズした入力認識及び出力転写モジュールを追加した（実施例３を参照されたい）。Ｎｏｔｃｈコア調節領域には、Ｓ２切断部位のメタロプロテアーゼへのアクセス可能性を制御するＬｉｎ１２－Ｎｏｔｃｈリピート（ＬＮＲ）、ヘテロ二量体化ドメイン（ＨＤ）、及びＮｏｔｃｈ細胞内ドメイン（ＮＩＣＤ）の放出に必要なγ－セクレターゼ切断部位を含有する膜貫通ドメイン（ＴＭＤ）である。天然リガンドデルタの認識に通常関与する細胞外ＥＧＦリピートを除去し、癌抗原ＣＤ１９を対象とする一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）または表面提示ＧＦＰなどの直交抗原に対するナノボディで置換した（図９６Ｂ～９６Ｃ）。転写調節に通常必要とされるＮＩＣＤを、四量体ウイルス転写活性化因子ドメインであるＶＰ６４に融合したＧａｌ４　ＤＮＡ結合ドメインで置換した（図９６Ｂ～９６Ｃ）。この全体のアプローチを使用して、目的の任意の表面抗原に対するｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を操作し、受容体活性を、直交転写因子及びそれらの会合する応答エレメントによって制御されるカスタマイズされた細胞出力につなげることができる（実施例３を参照されたい）。ある範囲の他の細胞外及び細胞内ドメインもｓｙｎＮｏｔｃｈと機能することが示された。
【０６０８】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が細胞療法に関して関連細胞型において機能することができることを示すために、初代ヒトＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を、癌関連抗原ＣＤ１９または直交抗原－表面提示ＧＦＰを対象とするｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体で操作した。ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を、各ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体及びＢＦＰレポーター遺伝子の発現を制御する関連プロモーター（５ｘ　Ｇａｌ４応答エレメント）を発現するように操作した（図９７）。α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体で操作したＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞は、同族リガンドＣＤ１９を発現する細胞－－天然にＣＤ１９を発現するＤａｕｄｉＢ細胞リンパ芽球腫瘍、または異所的にＣＤ１９を発現したＫ５６２骨髄性白血病細胞のいずれかとの共培養の２４時間以内にＴ細胞の８０～９０％においてＢＦＰレポーター発現を推進した（図９７Ａ～９７Ｃ及び図１０３Ａ～１０３Ｃ）。これらのＴ細胞は、刺激されなかったか、または同族ＣＤ１９抗原を発現しなかった細胞で処置したとき、ＢＦＰ発現を示さなかった。これらのデータにより、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が初代Ｔ細胞において制御された及び抗原依存性様式において機能することができ、癌細胞の表面上の抗原の天然レベルを検出できることが示される。ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、Ｔ細胞免疫療法のためにしばしば使用される、ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞においても同等の機能を有する（図９７Ｃならびに図１０３Ａ及び１０３Ｂ）。

【０６０９】

直交表面タンパク質を認識するようにＴ細胞を操作することができるかどうかも、表面発現ＧＦＰを認識したｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を構築することによって検査した。低親和性（Ｋｄ＝５０ｎＭ）または高親和性（Ｋｄ＝０．０３６ｎＭ）を有する２つのα－ＧＦＰナノボディ（Ｆｒｉｄｙ　ｅｔ　ａｌ．，２０１４）を使用した。これらの受容体は、表面ＧＦＰを発現するＫ５６２細胞への曝露の際にレポーター発現を刺激した（が、抗原を欠く細胞では刺激しなかった）。結果得られた転写応答は、α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈについて観察されたものと類似しており、これはｓｙｎＮｏｔｃｈプラットフォームのモジュール性を強調する（図９７Ｄ～９７Ｆ及び図１０３Ｇ～１０３Ｉ）。より高い親和性のα－ＧＦＰナノボディｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、より低い親和性の受容体と比較したとき、Ｋ５６２送信側細胞への暴露の際に、より大きい割合のＴ細胞を、レポーター発現を上方制御するように推進した。とはいえ、両受容体は、Ｔ細胞の半分を超えて遺伝子発現を活性化した（図９７Ｄ～９７Ｆ及び図１０３Ｈ）。これは、ｓｙｎＮｏｔｃｈリガンド結合ドメインの親和性を変化させることにより、細胞応答の大きさを微調整できることを示す。

【０６１０】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、カスタマイズされたＴ細胞サイトカインプロファイルを推進することができる

全身の免疫細胞及び組織は、サイトカインとして知られる可溶性タンパク質を分泌して、細胞挙動を情報伝達及び調節して、全体的な免疫応答を形作る。特定のサイトカインプロファイルは、病原体及び腫瘍を根絶するために重要である。多くの場合、異なるセットのサイトカインは、免疫応答を抑制する反対の効果を有する。さらに、サイトカインが癌に対する免疫を増強するか、または自己免疫設定における有害な炎症を抑制し得るある特定のシナリオでは、これらのサイトカインは存在しない。治療用Ｔ細胞がどのサイトカインを分泌するかを精密に制御することが望ましい。しかしながら、いくつかの例では、Ｔ細胞がＣＡＲまたは天然Ｔ細胞受容体を介して活性化されるとき、産生されるサイトカインに対する制御はほとんどなく、しばしばサイトカインプロファイルは、疾患及び活性化の状況ならびに受容体の特性に依存する（図９８Ａ～９８Ｃ）。多くのＴ細胞療法では、特定の疾患または治療の必要性に免疫応答を合わせるように特定のサイトカインの産生にバイアスをかけることが有益であり得る。

【０６１１】

これを念頭において、ＣＤ４＋Ｔ細胞を、α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体及び単一のサイトカインの発現を制御する対応する転写応答エレメントで操作した。これらの条件下で、Ｔ細胞は、ＣＤ１９抗原に応答して、既定された「アラカルト」サイトカイン

プロファイルのみを選択的に産生した（図９８Ｄ～９８Ｆ）。ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、抗原感知の前の基礎分泌を伴わずにＴ細胞刺激性サイトカインＩＬ－２の高レベル産生を推進した（図１０４Ａ～１０４Ｄ）。ｓｙｎＮｏｔｃｈ活性化によって産生されたＩＬ－２の量は、Ｔ細胞のＣＡＲまたはＴＣＲ刺激（α－ＣＤ３／α－ＣＤ２８ビーズ）に応答して産生される量と同様である（図１０４Ｄ）。ＴＣＲ経路を介したＴ細胞の正常な刺激とは異なり、ｓｙｎＮｏｔｃｈに推進されるサイトカイン産生はＴ細胞活性化を引き起こさず、これは、活性化マーカーＣＤ６９の上方制御の欠如により示される（図１０４Ｅ）。

【０６１２】

Ｔ細胞を、免疫抑制性サイトカインＩＬ－１０を産生するように操作した（図９８Ｄ～９８Ｆ及び図１０４Ｆ～１０４Ｈ）。これは、ＩＬ－２とは異なり、活性化されたＣＡＲＴ細胞のサイトカインプロファイルには存在しなかった（図９８Ｃ）。これは、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体の用途－特定のサイトカインのレベルを、天然には発現していないものであっても、加えるまたは調節する能力を強調する（図９８及び図１０４）。さらには、そのような応答は、Ｔ細胞の正常な活性化を必要としない。Ｔ細胞におけるｓｙｎＮｏｔｃｈ回路のカスタマイズ性及び精度は、自己分泌及びパラ分泌細胞間コミュニケーションに依存する免疫系機能の局所制御が、疾患に対する応答を効果的に調整することを可能にするはずである。

【０６１３】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、抗腫瘍$Ｔ_{ｈ１}$運命へのＴ細胞分化の抗原依存性傾斜を推進することができる

治療用Ｔ細胞の結果を精密に形作るための別の方法は、その分化を制御することである。サイトカインのようなタンパク質エフェクターを産生することを超えて、Ｔ細胞は、有効なサブタイプの免疫応答を開始するために重要な特定の分化プログラムを受ける。これらのサブタイプ分化プログラムは、通常、Ｔ細胞活性化、特定のサイトカイン、及び最終的に特定のＴ細胞運命を開始するマスターレギュレーター転写因子の調節の組み合わせによって決定される。Ｔヘルパー細胞１（$Ｔ_{ｈ１}$）またはＴヘルパー細胞２（$Ｔ_{ｈ２}$）Ｔ細胞は、マスターレギュレーター転写因子であるＴｂｅｔ及びＧＡＴＡ３によりそれぞれ制御される、２つの正準のＣＤ４＋Ｔ細胞運命選択である（図９９Ａ）。$Ｔ_{ｈ１}$細胞は、病原体及び癌に対する細胞免疫のために重要であり、一方で$Ｔ_{ｈ２}$細胞は、抗体産生の刺激に関与する。多くの疾患では、局所環境は、それらが無効にされるように誤った経路に沿ってＴ細胞の分化を傾斜させる。これは、癌において特に当てはまり、この場合、Ｔ細胞は抑制表現型に押し込まれ、免疫反応を妨げ、腫瘍拡大がもたらされる可能性がある。

【０６１４】

癌クリアランスのためのＴ細胞運命選択の重要性を考慮して、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、抗癌免疫にとって重要である、$Ｔ_{ｈ１}$細胞を産生するＩＦＮγへとＴ細胞を分化するように傾斜できるかどうかを調査した。ＩＦＮγは、マクロファージ及び樹状細胞などの、腫瘍クリアランスを助ける先天性免疫細胞の活性化にとって重要であり、ＩＦＮγへの癌細胞の直接曝露は、細胞傷害性Ｔ細胞に対するそれらの感度を向上させることができる。Ｔ細胞分化を傾斜するために、ＣＤ４＋Ｔ細胞を、$Ｔ_{ｈ１}$転写因子であるＴｂｅｔの発現を制御したα－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体で操作した（図９９Ｂ）。Ｔｂｅｔの異所的発現が、ＣＤ４＋Ｔ細胞における$Ｔ_{ｈ１}$運命選択を推進するのに十分であると知られているため、ｓｙｎＮｏｔｃｈが、腫瘍抗原ＣＤ１９に応答してＴｂｅｔのレベルを調節することにより$Ｔ_{ｈ１}$運命調節に対する抗原依存性制御を提供し得ると推論された。

【０６１５】

これを検査するために、操作した初代ＣＤ４＋Ｔ細胞を、ＣＤ１９＋標的Ｋ５６２細胞またはＣＤ１９－対照Ｋ５６２細胞のいずれかと１１日間共培養して、分化を誘導した。比較対照として、ＣＤ４＋Ｔ細胞の同等の集団を、$Ｔ_{ｈ１}$分化物質（ＩＬ－１２及びα－ＩＬ－４）のカクテルで処置したかまたはＴｂｅｔ構成的過剰発現に供した。これらの２つの条件は、当該分野における従来の至適基準に対するｓｙｎＮｏｔｃｈ推進性$Ｔ_{ｈ１}$分

化の比較を可能にした。操作したＳｙｎＮｏｔｃｈ　ＣＤ４＋Ｔ細胞は、刺激の２４時間以内にＣＤ１９に応答してＴｂｅｔを発現した（図９９Ｃ及び図１０５Ａ）。ＣＤ１９＋Ｋ５６２との１１日間の長期共培養の後、Ｔ細胞をホルボールミリスタートアセタート（ＰＭＡ）及びイオノマイシンで細胞内サイトカイン染色のために刺激して、Ｔ細胞がTh_1細胞になっているかどうかを明らかにした。１１日間にわたってＣＤ１９＋Ｋ５６２細胞で刺激されたＴ細胞では、６０％超がＩＦＮγ＋Th_1細胞であることが見出された（図９９Ｄ）。傾斜がかかった分化のこの程度は、Th_1分化カクテルを用いた処置で観察されたものと同等であり、構成的Ｔｂｅｔ過剰発現を用いた処置で観察されたものよりほんのわずかに低かった（図９９Ｅ及び図１０５Ａ～図１０５Ｅ）。ゆえに、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用して、Ｔ細胞を抗腫瘍Th_1運命へと傾斜することができ、原理では、既定されたマスターレギュレーター転写因子の発現が運命決定に十分である限り、これを使用してＴ細胞を多くの既知のＴ細胞運命（例えば、Th_2、$Treg$、Th_{17}）へと傾斜することができる。

【０６１６】

カスタム治療薬のＳｙｎＮｏｔｃｈ推進性Ｔ細胞送達－ＴＲＡＩＬ産生

将来のＴ細胞治療薬の別の重要な要素は、Ｔ細胞を、それらが非未変性のものであってもカスタマイズされた治療ペイロードを送達することを可能にする、新しい能力で操作することである。天然Ｔ細胞またはＣＡＲ　Ｔ細胞は、感染細胞または癌細胞を直接認識し、溶解性顆粒の送達を通してそれらを死滅させる（図１００Ａ）。しかしながら、天然のＴ細胞応答は、疾患を安全に根絶させるには不十分であるかまたは極端すぎることが多い。分泌された生物製剤などの、Ｔ細胞による治療用ペイロードのカスタム送達は、例えば、細胞傷害性活性を局所的に増強することにより、または免疫系により認識され殺傷されるように疾患の部位をプライミングすることにより処置困難な疾患を補助し得る。

【０６１７】

原理証明の実験として、ＣＤ４＋Ｔ細胞－最小限に細胞傷害性であるＴ細胞サブセット－の合成「キラーＴ細胞」への操作を、それを、アポトーシスを引き起こすペイロードを産生するように設計することにより、調査した。α－ＧＦＰナノボディｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体ならびにアポトーシス誘導因子及び癌治療物質である腫瘍壊死因子受容体リガンド（ＴＲＡＩＬ）の産生を制御する応答エレメントを使用した（図１００Ｂ）。Ｔ細胞は、ＴＣＲ刺激の際に通常はＴＲＡＩＬを産生しないため、制御された様式で合成的に発現される場合、これはそれらの細胞傷害活性を補助し得る（図１０６Ａ）。可溶性形態のＴＲＡＩＬは、高感度結腸癌細胞株ＨＣＴ１１６を死滅させるのに有効であるが、Ｋ５６２細胞などの他の癌株については、高用量であっても可溶性ＴＲＡＩＬはアポトーシスを誘導しない（図１０６Ａ～１０６Ｄ）。しかしながら、近年の研究により、ＴＲＡＩＬが膜アンカー形態（例えば、支持された脂質二重層またはリポソーム）で送達される場合、Ｋ５６２細胞などの耐性癌細胞であっても、アポトーシスの誘導においてより有効であることが示された。それゆえ、ＣＤ４＋Ｔ細胞を、２つのＴＲＡＩＬ変異体：１）可溶性単量体ＴＲＡＩＬよりも強力であることが知られているＧＣＮ４三量体ロイシンジッパー（ＬＺ－ＴＲＡＩＬ）に融合した分泌型のＴＲＡＩＬ、または２）天然の表面提示ＴＲＡＩＬのうちの１つを産生するように操作した（図１０６Ｅ　１０６Ｈ）。

【０６１８】

ＴＲＡＩＬ産生を推進するｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞を、ＴＲＡＩＬ耐性Ｋ５６２細胞と共培養して、Ｔ細胞がＴＲＡＩＬのアポトーシス効果を増強する有効な送達プラットフォームであるかどうかを決定した。ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞は、共培養の２４時間以内に細胞表面ＴＲＡＩＬ発現（図１００Ｃ）及びＬＺ－ＴＲＡＩＬ分泌を推進した（図１０６Ｆ～１０６Ｈ）が、細胞表面ＴＲＡＩＬのみがＫ５６２細胞死を開始し、これは、ｌｉｖｅ／ｄｅａｄ染色ＳＹＴＯＸ　Ｂｌｕｅのそれらの取り込みによって示された。対照的に、ＬＺ－ＴＲＡＩＬを分泌したｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞は、耐性Ｋ５６２細胞を死滅させるのに有効ではなく、これは最近の研究と一致する（図１００Ｄ～１００Ｅ）。

【０６１９】

全体として、これらの知見は、ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞が有効であり、ＴＲＡＩＬなどの治療剤の有効な送達物質であることができることを示す。全身に送達されたときに有効でないまたは有毒である任意の生物学的薬剤は、この様式で局所的に送達されると、より効果的及びより安全であり得る。ｓｙｎＮｏｔｃｈ操作Ｔ細胞は、有効性を増強し、全身的なオフターゲット毒性を低下させるための、任意の遺伝子的にコードされた治療剤を局所的に送達する可能性を有する。

【０６２０】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体操作Ｔ細胞を介した固形腫瘍におけるサイトカインのｉｎ　ｖｉｖｏ発現

ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体がｉｎ　ｖｉｔｒｏでＴ細胞応答のスペクトルを精密に調節することができるため、受容体がｉｎ　ｖｉｖｏで固形腫瘍に対して初代ヒトＴ細胞を選択的に標的とし、サイトカインＩＬ－２などのカスタムペイロードの送達を誘導できるかどうかを調査した。これらの実験のために、免疫無防備状態のＮＯＤ　ｓｃｉｄガンマ（ＮＳＧ）マウスにおいて、両側Ｋ５６２異種移植固形腫瘍モデルを確立し、ここで、非標的ＣＤ１９－腫瘍及び標的ＣＤ１９＋腫瘍をそれぞれ左側腹部及び右側腹部に皮下移植した（図１０１Ａ）。腫瘍を４日間確立させ、次にα－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体ならびにＩＬ－２発現及びＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙレポーターを制御する応答エレメントで操作したＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を静脈内（ｉ．ｖ．）注射した（図１０７Ａ）。６日後、腫瘍を回収し、腫瘍浸潤Ｔ細胞をＩＬ－２　ＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙレポーターの発現について分析した（図１０１Ａ～１０１Ｃ）。腫瘍局在化Ｔ細胞のみが、標的ＣＤ１９腫瘍においてＩＬ－２発現に関するｍＣｈｅｒｒｙレポーターを発現し、レポーターレベルは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで刺激されたときに同じＴ細胞について観察されたレベルと同様であった（図１０１Ａ～１０１Ｃならびに図１０７Ｂ及び１０７Ｃ）。Ｔ細胞の頻度は腫瘍内で高くなかったが（ＣＤ４＋では１０００個の細胞中１個、ＣＤ８＋Ｔ細胞では５００個中１個）、Ｔ細胞の活性は標的腫瘍に対して高度に特異的であった（図１０１Ｂ及び１０１Ｃならびに図１０７Ｄ）。ｓｙｎＮｏｔｃｈ－＞ＩＬ－２　Ｔ細胞の静脈内注射に加えて、Ｔ細胞は、非標的及び標的腫瘍にも直接注射された。次いで、腫瘍を回収し、注射２日後にフローサイトメトリーを介して分析し、同じく同様のレベルで標的腫瘍におけるＩＬ－２レポーターの選択的発現を示して、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで刺激したＴ細胞にマッチした（図１０７Ｅ）。これらの腫瘍に浸潤するｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞の能力はさらに改善され得るが、これらのデータは、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体がＴ細胞を原発腫瘍に標的化し、局所的様式で治療物質の産生を選択的に誘導することができることを明確に示す。ゆえに、ｓｙｎＮｏｔｃｈ操作Ｔ細胞は、有効性を増強し、全身投与の毒性を低減する、この両方のために、局所送達から利益を得ることができる広範囲の遺伝的にコード可能な治療剤の送達に有効であると証明し得る。

【０６２１】

図９６．ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用するカスタマイズされた治療用Ｔ細胞応答の操作に対する可能性

（Ａ）ＴＣＲ及びＣＡＲは、Ｔ細胞応答の再形成をほとんど制御しない未変性Ｔ細胞活性化プログラムを推進するキナーゼベースのシグナル伝達カスケードを活性化する。ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、細胞表面抗原（例えば疾患関連抗原）を認識し、Ｔ細胞応答に対するより精密な制御を伴ってカスタム転写プログラムを直接調節する。ゆえに、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を用いて、アラカルト応答を操作することができる。（Ｂ）ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、目的の細胞表面抗原を検出するカスタムリガンド結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖまたはナノボディ）、Ｎｏｔｃｈのコア調節領域、及び直交転写因子を含有する細胞質ドメイン（例えば、Ｇａｌ４　ＶＰ６４）を有し得る。カスタム転写プログラムを制御する直交転写因子の対応する応答エレメントは、受容体とともにＴ細胞へと操作されてよい。（Ｃ）癌関連抗原ＣＤ１９を対象とするｓｃＦｖ及び直交抗原ＧＦＰに対するナノボディを有するｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を操作し、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体プラットフォームの多能性を実証する。

【０６２２】
図９７．ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、ＣＤ４＋及びＣＤ８＋ヒト初代Ｔリンパ球において抗原誘導型転写を推進することができる。
（Ａ）ＣＤ４＋及びＣＤ８＋初代ヒトＴ細胞を、α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びＢＦＰレポーターの発現を制御する５ｘ　Ｇａｌ４応答エレメントで操作した。（Ｂ）２４時間の共培養後の、ＣＤ１９－もしくはＣＤ１９＋Ｋ５６２またはＤａｕｄｉ癌細胞（ＣＤ１９＋）を伴う送信側細胞での刺激に応答するα－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体受信側Ｔ細胞におけるＢＦＰレポーターの選択的誘導を示すヒストグラム（３回以上の実験の代表値）。（Ｃ）パネルＢに示す複製データから算出された、送信側細胞を用いた２４時間の刺激後にＢＦＰレポーターを上方制御するα－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞の割合（％）（全ての条件についてｎ≧３、エラーバー＝平均の標準誤差）。（Ｄ）ＣＤ４＋及びＣＤ８＋初代ヒトＴ細胞を、α－ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体親和性変異体及びＢＦＰレポーターで、パネルＡと同様に操作した。（Ｅ）２４時間の共培養後の、表面ＧＦＰ－またはＧＦＰ＋Ｋ５６２送信側細胞に応答するα－ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体受信側Ｔ細胞におけるＢＦＰレポーターの選択的誘導を示すヒストグラム（３回以上の実験の代表値、エラーバー＝平均の標準誤差）。（Ｆ）パネルＨに示す複製データから算出された、送信側細胞を用いた２４時間の刺激後にＢＦＰレポーターを上方制御するα－ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞の割合（％）（全ての条件についてｎ＞３、エラーバー＝平均の標準誤差）。
【０６２３】
図１０３．図９７Ａ～９７Ｆに関連する補足データ。
（Ａ）α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体（ｍｙｃタグ付き）及びＢＦＰの発現を制御する５ｘＧａｌ４応答エレメントで形質導入されたＣＤ４＋（左プロット）及びＣＤ８＋（右プロット）初代ヒトＴ細胞の２次元ドットプロット。応答エレメントベクターは、挿入された応答エレメントを有するＴ細胞を同定するためにｍＣｈｅｒｒｙの構成的発現を推進するＰＧＫプロモーターも含有する。全てのＢＦＰレポーター発現分析は、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体及びＢＦＰ発現を制御する対応する５ｘＧａｌ４応答エレメントの両方を有したＴ細胞（右上枠の囲った集団）で行った。（Ｂ）２４時間の共培養後に、ＣＤ１９－Ｋ５６２対照細胞と比較してＣＤ１９＋Ｋ５６２またはＤａｕｄｉ腫瘍細胞に応答するｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体受信側Ｔ細胞におけるＢＦＰレポーターの選択的誘導を示すヒストグラム（３回以上の実験の代表値）。（Ｃ）Ｋ５６２及びＤａｕｄｉ腫瘍細胞上のＣＤ１９レベルを示すヒストグラム。Ｄａｕｄｉ腫瘍は天然にＣＤ１９を発現し、Ｋ５６２は異所的にＣＤ１９を同様のレベルで発現する。（Ｄ）α－ＧＦＰナノボディｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体を発現するＣＤ４（上段）及びＣＤ８（下段）初代ヒトＴ細胞に関する、図１０３Ａと同様の二次元ドットプロット。各カラムは、特定のα－ＧＦＰナノボディ親和性変異体（ＬａＧ１７、ＬａＧ１６－２）に関するものである。全てのＢＦＰレポーター発現分析は、図１０３Ａのように右上に輪郭を描いたゲート内のＴ細胞で行った。（Ｅ）２４時間の共培養後に、表面ＧＦＰ－Ｋ５６２と比較して表面ＧＦＰ＋Ｋ５６２癌細胞に応答するｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体受信側Ｔ細胞におけるＢＦＰレポーターの選択的誘導を示すヒストグラム（３回以上の実験の代表値）。（Ｆ）Ｋ５６２　ＧＦＰ－対照と比較した、表面ＧＦＰを発現するＫ５６２癌細胞における総ＧＦＰレベルを示すヒストグラム。
【０６２４】
図９８．ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、抗原誘導型カスタムサイトカインプログラムを推進することができる。
（Ａ）ＣＡＲ活性化は、Ｔ細胞が多様なセットのサイトカインを産生するように推進する。（Ｂ）２４時間の刺激後の、標的ＣＤ１９＋Ｋ５６２細胞（ｙ軸）または陰性対照ＣＤ１９－Ｋ５６２（ｘ軸）で活性化された初代ヒトα－ＣＤ１９　ＣＡＲ　ＣＤ４＋Ｔ細胞により産生された、２５種のサイトカイン（サイトカインの一覧については図９８Ｃを参照されたい）のレベル（ｐｇ／ｍＬ）を示す散布図（ｎ＝３、エラーバー＝平均の標準

誤差）。（Ｃ）標的ＣＤ１９＋Ｋ５６２により刺激されたＣＤ４＋α－ＣＤ１９　ＣＡＲＴ細胞により産生された２５種のサイトカインのレベル（ｎ＝３、エラーバー＝平均の標準誤差）。（Ｄ）ＣＤ４＋Ｔ細胞を、α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びＩＬ－２またはＩＬ－１０のいずれかの発現を制御する対応する応答エレメントで操作した。細胞を、標的ＣＤ１９＋Ｋ５６２またはＣＤ１９－非標的Ｋ５６２と共培養した。（Ｅ）ＣＤ１９＋Ｋ５６２刺激に応答する単一サイトカインの産生を示すパネルＢと同様の散布図（ｎ＝３、エラーバー＝平均の標準誤差）。（Ｆ）ＣＤ１９＋Ｋ５６２細胞に応答してＩＬ－２またはＩＬ－１０産生を推進するα－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞により産生されたサイトカインのレベル。単一のサイトカイン（ＩＬ－２またはＩＬ－１０）のみが、バックグラウンドレベルを超えて産生された（ｎ＝３、エラーバー＝平均の標準誤差）。

【０６２５】

図１０４．図９８Ａ～９８Ｆに関連する補足データ。

（Ａ）ＣＤ４＋ヒト初代Ｔ細胞を、α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びＩＬ－２産生を制御する会合する５ｘＧａｌ４応答エレメントで操作した。（Ｂ）α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及び発現ＩＬ－２発現ＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙを制御する５ｘＧａｌ４応答エレメントで形質導入されたＣＤ４初代ヒトＴ細胞の２次元ドットプロット（左パネル）。応答エレメントベクターは、応答エレメントが挿入されているＴ細胞を同定するためにＢＦＰの構成的発現を推進するＰＧＫプロモーターも含有する。ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体及びＩＬ－２　ＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙ発現を制御する対応する５ｘＧａｌ４応答エレメントの両方を有するＴ細胞を、選別し、図９８及び図１０４の全ての対応するアッセイのために使用した。（右上四角）。左パネルは、形質導入していないＴ細胞と比較して、二重陽性Ｔ細胞においてＩＬ－２　ＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙレポーターの基礎誘導がないことを示す。（Ｃ）刺激されていないＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞、ＩＬ－２産生を制御する刺激されていないα－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４Ｔ細胞、及びＰＭＡ／イオノマイシンで６時間刺激された陽性対照Ｔ細胞について、ＩＬ－２に関する細胞内サイトカイン染色のドットプロットを示す。（Ｄ）基礎及び刺激ＩＬ－２レベルを、形質導入していないＣＤ４＋Ｔ細胞、α－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲ　Ｔ細胞、及びＩＬ－２産生を制御するα－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４　Ｔ細胞から回収された上清について提供する（ｎ＝４）。（Ｅ）α－ＣＤ３／ＣＤ２８　ｄｙｎａｂｅａｄｓで刺激された対照ＣＤ４＋Ｔ細胞及びＣＤ１９－またはＣＤ１９＋Ｋ５６２で刺激されたＩＬ－２産生を制御するα－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４　Ｔ細胞のＣＤ６９レベル（左カラム）及びＩＬ－２　ＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙレポーターレベル。ＣＤ６９は、同族抗原での刺激の際にはｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞で上方制御されない。（Ｆ）ＣＤ４＋ヒト初代Ｔ細胞を、α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びＩＬ－１０産生を制御する会合する５ｘＧａｌ４応答エレメントで操作した。（Ｇ）α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びＩＬ－１０　ＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙ発現の発現を制御する５ｘＧａｌ４応答エレメントで形質導入されたＣＤ４＋初代ヒトＴ細胞に関するパネルＢに同等のデータ。（Ｈ）α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及び発現ＩＬ－１０　ＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙ発現を制御する５ｘＧａｌ４応答エレメントで形質導入されたＣＤ４＋初代ヒトＴ細胞に関するパネルＤに同等のデータ。（Ｉ）α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及び発現ＩＬ－１０　ＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙ発現を制御する５ｘＧａｌ４応答エレメントで形質導入されたＣＤ４＋初代ヒトＴ細胞に関する図１０４Ｅに同等のデータ。

【０６２６】

図９９．ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、抗腫瘍T_{h1}運命へのＴ細胞分化の抗原依存性傾斜を推進することができる。

（Ａ）天然のＴ細胞分化：ＣＤ４＋Ｔ細胞が、抗原提示細胞上のＭＨＣ分子により提示される病原体由来ペプチドの係合を通して活性化されるとき、それらは感染に応じて特定

のＴ細胞サブタイプへと分化する。T_{h1}及びT_{h2}は、異なる免疫反応を推進する正準のＣＤ４＋Ｔ細胞運命である。T_{h1}細胞は、転写因子Ｔｂｅｔを発現し、ＩＦＮγを産生し、細胞免疫及び腫瘍クリアランスを助ける。T_{h2}細胞は、Ｂ細胞による抗体産生の刺激のための重要なサイトカインであるＩＬ－４を産生する。（Ｂ）ＳｙｎＮｏｔｃｈ推進性Ｔ細胞分化：ＣＤ４＋α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞を、発現Ｔｂｅｔを、ゆえにＴ細胞によるT_{h1}運命選択を調節するように操作した。ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞を、標的ＣＤ１９＋または非標的ＣＤ１９－Ｋ５６２細胞と１１日間共培養して、ｓｙｎＮｏｔｃｈ推進性Ｔｂｅｔ発現がＣＤ４＋Ｔ細胞をT_{h1}運命へとＣＤ１９依存性様式で傾斜できるかどうかを決定した。（Ｃ）２４時間のＣＤ４＋α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞とＣＤ１９＋Ｋ５６２の後のＴｂｅｔ　Ｔ２Ａ　ＥＧＦＰの選択的発現を示すヒストグラム（少なくとも３回の実験の代表値）。（Ｄ）ＣＤ１９＋またはＣＤ１９－Ｋ５６２のいずれかとの１１日間の培養後のＴｂｅｔ及びＩＦＮγに関する細胞内染色ＣＤ４＋α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４　Ｔ細胞の２次元ドットプロット。Ｔ細胞を、染色する前にＰＭＡ／イオノマイシンで４時間にわたって刺激してサイトカイン産生を推進した（少なくとも３回の実験の代表値）。（Ｅ）１１日間の指定した処理後のＩＦＮγ＋（T_{h1}）Ｔ細胞の割合（％）（全ての処理についてｎ≧３、エラーバー＝平均の標準誤差、有意性はスチューデントのｔ検定により決定、有意差無しｐ＞０．０５）。

【０６２７】

図１０５．図９９Ａ～９９Ｅに関連する補足データ。

（Ａ）図９９Ｃからの複製データの定量。Ｔｂｅｔ　Ｔ２Ａ　ＧＦＰ発現を制御するα－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体応答エレメントを有するＣＤ４＋Ｔ細胞を、ＣＤ１９＋またはＣＤ１９－Ｋ５６２と２４時間共培養した。Ｔｂｅｔ　Ｔ２Ａ　ＧＦＰ発現を伴うＴ細胞の割合（％）を定量化し、これは、ＴｂｅｔはＴ細胞がＣＤ１９＋Ｋ５６２に曝露されたときにのみ上方制御されたことを示す（ｎ＝３）。（Ｂ）α－ＣＤ３／ＣＤ２８　ｄｙｎａｂｅａｄｓで刺激され、T_{h1}サイトカインＩＦＮγについて細胞内染色された、１１日間の培養後のＣＤ４　Ｔ細胞の代表的なドットプロット。ＩＦＮγ陽性ゲートを赤色で囲った。（Ｃ）T_{h1}分化条件（ＩＬ－１２＋α－ＩＬ－４）において１１日間培養されたＣＤ４＋Ｔ細胞に関するパネルＢと同様の代表的なドットプロット（ｎ＝4）。（Ｄ）形質導入の４８時間後のＴｂｅｔ　Ｔ２Ａ　ｍＣｈｅｒｒｙの構成的過剰発現を伴うＣＤ４　Ｔ細胞の代表的なヒストグラム。（Ｅ）１１日間の培養後での、Ｔｂｅｔ及びＩＦＮγに関する、Ｔｂｅｔ　Ｔ２Ａ　ｍＣｈｅｒｒｙの構成的過剰発現を伴うＣＤ４＋Ｔ細胞の細胞内染色の代表的なドットプロット（ｎ＝６）。二重陽性Ｔｂｅｔ及びＩＦＮγ　Ｔ細胞を赤色で囲った。（Ｆ）対照ＣＤ１９－Ｋ５６２と共培養したＴｂｅｔ　Ｔ２Ａ　ＧＦＰ発現を制御するα－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体応答エレメント（構成的にｍＣｈｅｒｒｙを発現する）を有するＣＤ４＋Ｔ細胞の代表的な顕微鏡検査。ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞（赤色細胞）は、癌細胞と会合しないまたはＴｂｅｔ発現のレポーター（ＧＦＰ）を上方制御しない。（Ｇ）パネルＦと同様だが、Ｔ細胞をＣＤ１９＋Ｔ細胞と共培養した代表的な顕微鏡検査。ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞（赤色細胞）は、ＣＤ１９＋Ｋ５６２と会合体を形成し、Ｔｂｅｔ　Ｔ２Ａ　ＧＦＰ発現を上方制御する。活性化したｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞は、ｍＣｈｅｒｒｙ及びＧＦＰ共発現のために黄色である。

【０６２８】

図１００．ＳｙｎＮｏｔｃｈ推進性ＴＲＡＩＬ産生－非未変性治療薬のカスタムＴ細胞送達。

（Ａ）天然Ｔ細胞の細胞傷害性：ＣＤ８＋細胞傷害性Ｔ細胞は、それらのＴＣＲを介して感染細胞を認識し、パーフォリンで細胞内に孔を作製し、これによりプログラムされた細胞死を開始するグランザイムの送達を可能にし、感染した細胞を直接殺傷する。（Ｂ）ＳｙｎＮｏｔｃｈでカスタマイズしたキラーＴ細胞：ＣＤ４＋Ｔ細胞を、表面ＧＦＰに応答してアポトーシス調節因子ＴＲＡＩＬの発現を制御するα－ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ

で操作した。（Ｃ）２４時間のＣＤ４＋α－ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞と表面ＧＦＰ＋Ｋ５６２の後の表面ＴＲＡＩＬの選択的発現を示すヒストグラム。（Ｄ）２４時間後の死染色ＳＹＴＯＸ　Ｂｌｕｅの取込みを介した表面ＧＦＰ＋Ｋ５６２細胞死を示すヒストグラム。指定したＴ細胞型との共培養（Ｔ細胞：標的細胞比率＝１：１）。（Ｅ）パネルＤに示す複製データから算出した標的細胞生存率（％）（ｎ＝４、エラーバー＝平均の標準誤差）。

【０６２９】

図１０６．図１００Ａ～１００Ｅに関連する補足データ。

（Ａ）静止させたＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を２４時間にわたってα－ＣＤ３／ＣＤ２８　ｄｙｎａｂｅａｄｓで再刺激し、細胞表面ＴＲＡＩＬについて染色した。いずれのＴ細胞サブセットもＴＲＡＩＬ発現を急性に上方制御しなかった。（Ｂ）癌細胞は、組換えＴＲＡＩＬが媒介するアポトーシスに対するそれらの感受性において変動する。ＨＣＴ１１６結腸癌は、デスレセプターがＴＲＡＩＬに結合され、低レベルＴＲＡＩＬ処置に対して感受性であった。Ｋ５６２は、ＴＲＡＩＬに対してデスレセプターを発現するが、ＴＲＡＩＬ処置に対して非感受性であった。（Ｃ）表面ＧＦＰ－もしくはＧＦＰ＋Ｋ５６２またはＨＣＴ１１６癌細胞を、０～２００ｎｇ／ｍＬの組換えＴＲＡＩＬで２４時間にわたって処置し、死亡を死染色ＳＹＴＯＸ　Ｂｌｕｅを用いた染色によりフローサイトメトリーを介してモニターした（ｎ＝４）。（Ｄ）ＴＲＡＩＬに結合されたデスレセプター４（ＤＲ４）に関して染色したＫ５６２のヒストグラム。Ｋ５６２は、受容体を発現し、それらはＴＲＡＩＬ媒介性アポトーシスに対して耐性。（Ｅ）ＬａＧ１７　α－ＧＦＰナノボディｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４及びロイシンジッパーＴＲＡＩＬ（ＬＺ－ＴＲＡＩＬ左パネル）または完全長表面ＴＲＡＩＬ（右パネル）の発現を制御する５ｘＧａｌ４応答エレメントで形質導入されたＣＤ４＋Ｔ細胞の代表的なドットプロット。ＴＲＡＩＬ発現のｍＣｈｅｒｒｙレポーターのレベルを、二重陽性Ｔ細胞及び対照の形質導入していないＴ細胞について以下に示す。（Ｆ）ＬａＧ１７　α－ＧＦＰナノボディｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４及び発現ＬＺ－ＴＲＡＩＬを制御する５ｘＧａｌ４応答エレメントで形質導入されたＣＤ４＋Ｔ細胞を、表面ＧＦＰ－またはＧＦＰ＋Ｋ５６２と２４時間共培養して、ＬＺ－ＴＲＡＩＬがＧＦＰ＋Ｋ５６２に応答してのみ分泌されるかどうかを決定した。（Ｇ）表面ＧＦＰ＝またはＧＦＰ＋Ｋ５６２と共培養された図１０６Ｅに示す選別されたＳｙｎＮｏｔｃｈ　ＣＤ４　ＬＺ－ＴＲＡＩＬ　Ｔ細胞におけるＴＲＡＩＬ産生のｍＣｈｅｒｒｙレポーターレベルのレベルを示すヒストグラム。レポーターは、表面ＧＦＰ＋Ｋ５６２に応答して排他的に活性化した。（Ｈ）表面ＧＦＰ－またはＧＦＰ＋Ｋ５６２のいずれかと２４時間にわたって共培養された、選別されたＳｙｎＮｏｔｃｈ　ＣＤ４　ＬＺ－ＴＲＡＩＬ　Ｔ細胞からの上清のＴＲＡＩＬ　ＥＬＩＳＡ（ｎ＝２）。

【０６３０】

図１０１．ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体操作Ｔ細胞を介した固形腫瘍でのサイトカインのｉｎ　ｖｉｖｏ局所発現。

（Ａ）ＮＳＧマウスに、ＣＤ１９－非標的Ｋ５６２及び標的ＣＤ１９＋をそれぞれ左側腹部及び右側腹部に皮下注射した。ＩＬ－２　ｉＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙ発現を制御するα－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞を、腫瘍が確立した後にマウスに注射し、腫瘍を指定した時点で回収して、ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞が腫瘍に浸潤し、ＩＬ－２及びｍＣｈｅｒｒｙレポーターの発現が誘導されたかどうかを決定した。（Ｂ）腫瘍に浸潤した静脈内注射されたＣＤ４＋及びＣＤ８＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞におけるＩＬ－２　ＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙレポーターレベルのヒストグラムであり、これは、標的ＣＤ１９＋腫瘍におけるｍＣｈｅｒｒｙレポーターの選択的発現を示す（データは、３匹の複製マウスの代表値を表す）。（Ｃ）パネルＢに示す複製データからＩＬ－２発現のｍＣｈｅｒｒｙレポーターの発現を誘導した腫瘍浸潤Ｔ細胞の割合（％）の定量（ｎ＝３、有意性はスチューデントのｔ検定により決定＊＊ｐ＜０．０１）。

【０６３１】

図１０７．図１０１Ａ～１０１Ｃに関する補足データ

（Ａ）α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体（ｍｙｃタグ付き）及びＩＬ－２　ＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙの発現を制御する５ｘＧａｌ４応答エレメントで形質導入されたＣＤ４＋（左プロット）及びＣＤ８＋（右プロット）初代ヒトＴ細胞の２次元ドットプロット。応答エレメントベクターは、応答エレメントを挿入されたＴ細胞を同定するためにＢＦＰの構成的発現を推進するＰＧＫプロモーターも含有する。右上影付き四角内のＴ細胞を選別し、全てのｉｎ　ｖｉｖｏ及びｉｎ　ｖｉｔｒｏ実験で使用した。（Ｂ）ｉｎ　ｖｉｔｒｏでＣＤ１９－またはＣＤ１９＋Ｋ５６２で刺激されたＩＬ－２発現を制御するＣＤ４＋及びＣＤ８＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞の代表的なヒストグラム。ＩＬ－２　ＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙ発現は、ＣＤ１９の存在下でのみ生じた。（Ｃ）図１０７Ｂに示す複製データからのＩＬ－２発現のｍＣｈｅｒｒｙレポーターの発現を誘導したＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞の割合（％）の定量（ｎ＝３、有意性はスチューデントのｔ検定により決定＊＊＊ｐ＜０．００１及び＊＊＊＊ｐ＜０．０００１）。（Ｄ）腫瘍内注射した腫瘍浸潤ＣＤ４＋及びＣＤ８＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞におけるＩＬ－２　ＩＲＥＳ　ｍＣｈｅｒｒｙレポーターレベルのヒストグラムであり、これは、標的ＣＤ１９＋腫瘍におけるｍＣｈｅｒｒｙレポーターの選択的発現を示す（データは、３匹の複製マウスの代表値を表す）。腫瘍内注射実験に関するプロトコルを示す。結果は、静脈内注射したＴ細胞及びｉｎ　ｖｉｔｒｏ刺激したＴ細胞で観察されるものと同様であった。（Ｅ）静脈内注射及び腫瘍内注射の後にＣＤ１９－及びＣＤ１９＋腫瘍に浸潤しているＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞の割合（％）（ｎ＝３、エラーバー＝平均の標準誤差、有意性はスチューデントのｔ検定で決定、有意差無しｐ＞０．０５）。

【０６３２】

図１０２．ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、Ｔ細胞がそれらの微小環境をモニターし、選択的に調節することを可能にする、多能調節因子である。

（Ａ）ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、Ｔ細胞応答の多能調節因子であり：ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、初代ヒトＴ細胞において多様な挙動を推進することができる。ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体はカスタムサイトカイン産生プロファイルを推進し、非未変性治療薬を有効に送達し、Ｔ細胞分化を制御することができ、それは全て抗原依存性でありＴ細胞活性化に依存しない様式である。（Ｂ）ｓｙｎＮｏｔｃｈは、ｉｎ　ｖｉｖｏでＴ細胞を標的として治療用ペイロードを局所的に産生するのに十分である。

【０６３３】

実施例５：合成Ｎｏｔｃｈ及び組み合わせ抗原特性を検出するためのキメラ抗原受容体シグナル伝達をインテグレートする治療用Ｔ細胞による精密腫瘍認識

材料及び方法

以下の材料及び方法を、別段の指定がない限り、実施例５に記載の結果に適用する。

【０６３４】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体及び応答エレメント構築物の設計

ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、ＣＤ１９　ｓｃＦｖ、ＬａＧ１７（低親和性）、またはＬａＧ１６＿２（高親和性）ナノボディをマウスＮｏｔｃｈ１（ＮＭ＿００８７１４）最小調節領域（Ｉｌｅ１４２７～Ａｒｇ１７５２）及びＧａｌ４ＶＰ６４またはＴｅｔＲ　ＶＰ６４（ｔＴａ）に融合させることにより構築した。全てのｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、ｎ末端ＣＤ８αシグナルペプチド

(MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:129))

を膜標的化のために、及びｍｙｃ－タグ

(EQKLISEEDL (SEQ ID NO:75))

をα－ｍｙｃ　Ａ６４７を伴う表面発現の容易な決定のために含有する（ｃｅｌｌ－ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　＃２２３３）。受容体を、全ての初代Ｔ細胞実験に関してＰＧＫプロモーターを含有する改変ｐＨＲ’ＳＩＮ：ＣＳＷベクターへとクローニングした。ｐＨＲ’ＳＩＮ：ＣＳＷベクターは、応答エレメントプラスミドを作成するようにも改変された。

Ｇａｌ４　ＤＮＡ結合ドメイン標的配列

(GGAGCACTGTCCTCCGAACG (SEQ ID NO:130))

の５つのコピーを、最小ＣＭＶプロモーターの５末端にクローニングした。またこれに含まれる応答エレメントプラスミドは、構成的にｍＣｈｅｒｒｙ発現を推進するＰＧＫプロモーターであるため、形質導入されたＴ細胞を容易に区別することができる。全ての誘導性ＣＡＲベクターについて、ＣＡＲをｃ末端にてＧＦＰでタグ付けし、Ｇａｌ４応答エレメントにマルチクローニング部位３’にてＢａｍＨＩ部位を介してクローニングした。全ての構築物は、Ｉｎ－Ｆｕｓｉｏｎクローニング（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ　＃ＳＴ０３４５））を介してクローニングした。

【０６３５】

初代ヒトＴ細胞単離及び培養

初代ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を、陰性選択によるアフェレーシスの後に匿名のドナー血液から単離した（ＳＴＥＭＣＥＬＬ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　＃１５０６２及び１５０６３）。血液は、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ　Ｒｅｖｉｅｗ　Ｂｏａｒｄの承認を得て、Ｂｌｏｏｄ　Ｃｅｎｔｅｒｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｐａｃｉｆｉｃ（カリフォルニア州サンフランシスコ）から得た。Ｔ細胞を、２０％ヒトＡＢ血清（Ｖａｌｌｅｙ　Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ　Ｉｎｃ．，＃ＨＰ１０２２）及び１０％ＤＭＳＯを含むＲＰＭＩ－１６４０（ＵＣＳＦ　ｃｅｌｌ　ｃｕｌｔｕｒｅ　ｃｏｒｅ）中で凍結保存した。解凍後、全ての実験について、３０単位／ｍＬ　ＩＬ－２（ＮＣＩ　ＢＲＢ　Ｐｒｅｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｒｅｐｏｓｉｔｏｒｙ）を補充した、Ｘ－ＶＩＶＯ　１５（Ｌｏｎｚａ　＃０４－４１８Ｑ）、５％ヒトＡＢ血清及び１０ｍＭ中和Ｎ－アセチル－Ｌ－システイン（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ　＃Ａ９１６５）からなるヒトＴ細胞培地中でＴ細胞を培養した。

【０６３６】

ヒトＴ細胞のレンチウイルス形質導入

汎親和性ＶＳＶ－Ｇ偽型レンチウイルスを、Ｆｕｇｅｎｅ　ＨＤ（Ｐｒｏｍｅｇａ　＃Ｅ２３１２）を使用して、ｐＨＲ’ＳＩＮ：ＣＳＷ導入遺伝子発現ベクターならびにウイルスパッケージングプラスミドｐＣＭＶｄＲ８．９１及びｐＭＤ２．Ｇを用いたレンチ－Ｘ　２９３Ｔ細胞（Ｃｌｏｎｅｔｅｃｈ　＃１１１３１Ｄ）のトランスフェクションを介して産生した。初代Ｔ細胞を、同日に解凍し、培養２４時間後、１：３の細胞：ビードの比率でＤｙｎａｂｅａｄｓ　Ｈｕｍａｎ　Ｔ－Ａｃｔｉｖａｔｏｒ　ＣＤ３／ＣＤ２８（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　＃１１１３ＩＤ）で刺激した。４８時間で、ウイルス上清を回収し、初代Ｔ細胞を２４時間ウイルスに曝露した。Ｔ細胞刺激後４日目に、Ｄｙｎａｂｅａｄｓを除去し、それらを静止させアッセイに使用できる９日目までＴ細胞を増殖させた。Ｔ細胞を、ＦＡＣｓ　ＡＲＩＡ　ＩＩを用いたアッセイのために選別した。

【０６３７】

癌細胞株

使用した癌細胞株は、Ｋ５６２骨髄性白血病細胞（ＡＴＣＣ　＃ＣＣＬ－２４３）、Ｄａｕｄｉ　Ｂ細胞リンパ芽球（ＡＴＣＣ　＃ＣＣＬ－２１３）、及びＨＣＴ１１５結腸癌細胞（ＡＴＣＣ　＃ＣＣＬ－２４７）とした。Ｄａｕｄｉ腫瘍と同等のレベルでヒトＣＤ１９を安定して発現させるために、Ｋ５６２をレンチウイルスで形質導入した。ＣＤ１９レベルは、細胞をα－ＣＤ１９　ＡＰＣ（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　＃３０２２１２）で染色することによって決定した。Ｋ５６２を、表面ＧＦＰ（ＰＤＧＦ膜貫通ドメインに融合したＧＦＰ）を安定して発現するためにも形質導入した。全ての細胞株を導入遺伝子の発現について選別した。

【０６３８】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞のｉｎ　ｖｉｔｒｏ刺激

全てのｉｎ　ｖｉｔｒｏ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞刺激について、2×10^5個のＴ細胞を１：１の比率で送信側細胞と共培養した。丸底９６ウェル組織培養プレートでＴ細胞及び送信側細胞を混合した後、細胞を４００ｘｇで１分間遠心分離して、細胞の相互作用を引き起こし、培養物を、ＣＤ４＋Ｔ細胞の活性化のマーカー（例えば、ＣＤ６９）及

びＣＤ８＋Ｔ細胞の標的腫瘍細胞の特異的溶解について、ＢＤ　ＬＳＲ　ＩＩを用いて、２４時間で分析した。全てのフローサイトメトリー分析は、ＦｌｏｗＪｏソフトウェア（ＴｒｅｅＳｔａｒ）で行った。

【０６３９】

Ｌｕｍｉｎｅｘ　ＭＡＧＰＩＸサイトカイン定量

α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びＣＡＲを制御する５ｘＧａｌ４応答エレメントを発現する初代ＣＤ４＋Ｔ細胞を、指定の標的癌細胞株で上に記載したように刺激した。上清を２４時間で回収し、製造者のプロトコルに従って、Ｌｕｍｉｎｅｘ　ＭＡＧＰＩＸ（Ｌｕｍｉｎｅｘ　Ｃｏｒｐ．）ヒトサイトカインマグネティック２５－プレックスパネル（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ参照番号ＬＨＣ０００９Ｍ）で分析した。全てのサイトカインレベルを、ｘＰＯＮＥＮＴソフトウェア（Ｌｕｍｉｎｅｘ　Ｃｏｒｐ．）を用いて標準曲線に基づいて算出した。

【０６４０】

ＩＬ－２　ＥＬＩＳＡ及びＣＤ６９染色

ＣＤ４＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞を、上記のように２４時間にわたって指定した癌細胞株で刺激し、上清を回収した。上清におけるＩＬ－２レベルは、ＩＬ－２　ＥＬＩＳＡ（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　＃ＢＭＳ２２２１ＨＳ）を介して決定した。Ｔ細胞も採取し、α－ＣＤ６９　ＡＰＣ（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　＃３１０９１０）で染色して、それらが活性かどうかを決定した。

【０６４１】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞の細胞傷害性の評価

ＣＤ８＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞を、２４時間にわたって上記のように、指定の抗原を発現する標的細胞で刺激した。標的癌細胞の特異的溶解のレベルを、形質導入していないＴ細胞対象を用いた処置と比べて培養物中で生存している標的細胞の割合を比較することによって決定した。細胞死を、ｌｉｖｅ／ｄｅａｄ染色ＳＹＴＯＸ　Ｂｌｕｅの取込み、及び通常は標的細胞によって占有される正常なＳＳＣ／ＦＳＣ領域から標的細胞をシフトさせることによりモニターした（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　＃Ｓ３４８５７）。

【０６４２】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞におけるルシフェラーゼレポーター活性のｉｎ　ｖｉｔｒｏ定量

α－ＧＦＰナノボディ（ＬａＧ１７）ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びα－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲ　ＩＲＥＳ　ｅｆｆｌｕｃ発現を制御する対応する応答エレメントを発現するように操作した、選別されたＣＤ４＋及びＣＤ８＋初代ヒトＴ細胞を、ＧＦＰ＋またはＧＦＰ－Ｋ５６２細胞で２４時間刺激した（2×10^5個のＴ細胞及び2×10^5個のＫ５６２）。ｅｆｆｌｕｃの産生は、ＯＮＥ－ｇｌｏルシフェラーゼアッセイシステム（Ｐｒｏｍｅｇａ　＃Ｅ６１１０）でアッセイした。生物発光は、ＦｌｅｘＳｔａｔｉｏｎ　３（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）で測定した。

【０６４３】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞のｉｎ　ｖｉｖｏルシフェラーゼイメージング

動物試験を、ＵＣＳＦ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ　Ａｎｉｍａｌ　Ｃａｒｅ　ａｎｄ　Ｕｓｅ　Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅに承認されたプロトコル下にてＵＣＳＦ　Ｐｒｅｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ　Ｃｏｒｅで実施した。Ｔ細胞注射の１０日前に、Ｄａｕｄｉ腫瘍及び表面ＧＦＰ　Ｄａｕｄｉ腫瘍をＮＯＤ　ｓｃｉｄガンマ（ＮＳＧ）マウス（雌、８～１２週齢、Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　＃００５５５７）の左右に皮下注射した。α－ＧＦＰナノボディ（ＬａＧ１７）ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びα－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲ　ＩＲＥＳ　ｅｆｆｌｕｃ発現を制御する対応する応答エレメントを発現するように操作した、選別されたＣＤ４＋及びＣＤ８＋初代ヒトＴ細胞を、１：１のＣＤ４＋対ＣＤ８＋Ｔ細胞割当で（1×10^6個の各Ｔ細胞型）、腫瘍を有するマウスに腫瘍移植の１０日後に静脈内注射した。ルシフェ

ラーゼ発現を、１１日間にわたってモニターし、生物発光イメージングを、ＩＶＩＳ　１００（Ｘｅｎｏｇｅｎ）前臨床イメージングシステムを使用して指定の時点で行った。画像は、１５０ｍｇ／ｋｇのＤ－ルシフェリン（Ｇｏｌｄ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　＃ＬＵＣＫ－１００）の腹腔内注射の１０分後に取得した。統合した生物発光強度の定量を、ＩｍａｇｅＪ（ＮＩＨ）にて定量化した。

【０６４４】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞によるｉｎ　ｖｉｖｏでの二重抗原腫瘍標的

ＮＳＧマウスに、５×１０^{6}個のＣＤ１９　Ｋ５６２及びＧＦＰ／ＣＤ１９　Ｋ５６２腫瘍細胞を、それぞれ左側腹部及び右側腹部で皮下移植した。腫瘍移植の４日後、α－ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びα－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲ発現を調節する対応する応答エレメントで操作した１×１０^{6}個の初代ヒトＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞（２×１０^{6}個の総Ｔ細胞）、または形質導入していないＴ細胞を、マウスに静脈内注射した。腫瘍サイズは、ＵＣＳＦ　Ｐｒｅｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ　Ｃｏｒｅのスタッフによりキャリパーにより細胞注射後２０日間にわたりモニターした。カプラン・マイヤー実験では、同一のプロトコルを使用したが、単一の腫瘍が注射された。マウスは、腫瘍サイズが安楽死基準（２０００ｍｍ^{3}）に達したときに死亡したとみなされた。

【０６４５】

統計学的分析及び曲線適合

別段の記載がない限り、統計学的有意性をスチューデントのｔ検定（両側検定）により決定した。全ての統計学的分析及び曲線適合は、Ｐｒｉｓｍ　６（Ｇｒａｐｈｐａｄ）を用いて行い、ｐ値を報告した（有意差無し＝ｐ＞０．０５、＊＝ｐ≦０．０５、＊＊＝ｐ≦０．０１、＊＊＊＝ｐ≦０．００１、＊＊＊＊＝ｐ≦０．０００１）。全てのエラーバーは、平均の標準誤差または標準偏差のいずれかを表す。

【０６４６】

結果

２つの抗原ＡＮＤゲート回路の設計：ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、ＣＡＲ発現を誘導する。

【０６４７】

簡潔な２つの受容体ＡＮＤゲート回路の設計を図１０８Ｄに概説する。Ｔ細胞を、抗原Ａを認識するｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を基礎的に発現するように操作した。加えて、抗原Ｂを認識するＣＡＲのための遺伝子も、細胞内に挿入され得るが、それは、ｓｙｎＮｏｔｃｈ誘導型転写因子による活性化を必要とするプロモーターの制御下にあるだろう（ｓｙｎＮｏｔｃｈ係合は、受容体切断及び転写活性化ドメインの放出をもたらす、実施例３を参照されたい）。ゆえに、ＣＡＲ発現または活性は、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体か活性化されるまで細胞内に存在するべきではない。この一連の受容体活性化回路は、両受容体の抗原認識特性が細胞外ドメインを交換することにより容易に変化し得るために、設計において高度にモジュール式であるべきである。

【０６４８】

Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞におけるｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現を検査する－Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞活性化のための組み合わせ抗原要件

ＣＡＲの発現を制御するためにｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を使用するこの方法を検査するために、Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞の活性化に対して組み合わせ抗原制御を操作する試みがなされた。これらの実験では、２つのモデル腫瘍抗原であるＣＤ１９及びメソテリンを標的とした。Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞を、細胞内テトラサイクリン制御トランス活性化因子（ｔＴａ）ドメインを有するα－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体で操作した。α－メソテリン４－１ＢＢζ　ＣＡＲ遺伝子を、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体により活性化された対応するテトラサイクリン応答エレメント（ＴＲＥ）を伴うプロモーターの制御下で、挿入した（図１０９Ａ及び１０９Ｂ）。操作したＪｕｒｋａｔを、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで、ＣＤ１９、メソテリン、または両抗原一緒の異所的発現を伴う標的Ｋ５６２骨髄性白血病細胞と共

培養した（図１０９Ａ）。これらの操作したＪｕｒｋａｔ細胞が、α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ刺激に応答してのみα－メソテリンＣＡＲを発現するため、Ｔ細胞は、メソテリン単独に応答して活性化するはずがない。Ｔ細胞がＣＤ１９に曝露された場合、α－メソテリンＣＡＲが発現され、Ｔ細胞は活性化のためにプライムされる（図１０９Ａ及び１０９Ｂならびに図１１４Ａ）。次いで、Ｔ細胞は、メソテリンを感知し、活性化することができる。

【０６４９】

これらの細胞を検査したとき、ＣＤ１９及びメソテリンの両方を発現する腫瘍細胞によってのみ活性化が実際に観察され、これは、活性化マーカーＣＤ６９の上方制御及びＩＬ－２の分泌により測定された（図１０９Ｃ及び１０９Ｄ及び図１１４Ａ～１１４Ｂ）。いずれかの単一の抗原を発現する腫瘍細胞は活性化をもたらさなかった。二重抗原刺激の場合では、Ｊｕｒｋａｔ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞は、６時間以内に腫瘍細胞に応答してＣＡＲ発現を上方制御し、２４時間までのその活性化のピークに達することができることが観察された（図１１４Ａ及び１１４Ｂ）。Ｔ細胞活性化（ＣＤ６９を介してモニターした）は、ＣＡＲ発現開始のあと程なくして生じ、さらなる数時間の遅延を伴うことが予想される（図１１４Ｂ）。

【０６５０】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ誘導型ＣＡＲ発現の動力学をさらに特徴決定するために、ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞を、プライミング抗原ＣＤ１９のサロゲートに曝露した。α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体がその細胞外ドメイン上にｍｙｃ－タグを有するため、受容体はα－ｍｙｃ抗体でコーティングしたプレートへの細胞の曝露によっても活性化され得ることが見出された。この活性化アプローチは、プレート結合型抗原から細胞を除去することによるｓｙｎＮｏｔｃｈ活性化の迅速な停止を可能にする。α－ｍｙｃ抗体を用いた２４時間の刺激の後、Ｔ細胞を除去し、α－メソテリンＣＡＲ発現の減衰を２４時間にわたってモニターした。Ｔ細胞は、２４時間までに未刺激レベルまでＣＡＲ発現を完全に下方制御した（発現の半減期＝８時間）（図１１４Ｃ及び１１４Ｄ）。

【０６５１】

ヒト初代Ｔ細胞におけるＳｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－Ｔ細胞活性化及び腫瘍殺傷に対する組み合わせ抗原制御

Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞におけるｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートの成功を考慮し、初代Ｔ細胞において同じタイプのｓｙｎＮｏｔｃｈ推進性ＣＡＲ発現回路が複数の抗原を識別するように機能し得るかどうかを検査した。あるスペクトラムの異なるｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体が初代Ｔ細胞において十分に発現し、Ｇａｌ４応答エレメントは初代Ｔ細胞において最小基礎活性を有することがわかった。これは、ｓｙｎＮｏｔｃｈ推進性ＣＡＲ発現ＡＮＤゲートにとって理想的なシナリオである。それは、Ｔ細胞がｓｙｎＮｏｔｃｈ抗原を感知するまでは、ＣＡＲを活性化する基礎発現がないべきであるからである。

【０６５２】

このアプローチの原理証明の実証として、α－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲの発現を推進するためのα－ＧＦＰナノボディｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体（表面発現ＧＦＰを認識する）（図１１０Ａ）を使用した。このモデル設定を選択する理論的根拠は、α－ＣＤ１９　ＣＡＲが、免疫療法の分野において至適基準であり、ｉｎ　ｖｉｖｏで強力な腫瘍クリアランスを示すことである。

【０６５３】

ヒト初代ＣＤ４＋Ｔ細胞を、α－ＧＦＰナノボディｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びα－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲ発現を制御する対応する応答エレメントで操作し、次いで、ＣＤ１９単独、ＧＦＰ単独、またはＧＦＰ及びＣＤ１９を発現する、Ｋ５６２標的細胞に暴露した。ＣＤ４＋Ｔ細胞は、ｓｙｎＮｏｔｃｈリガンドであるＧＦＰを発現する細胞で刺激したときのみ、α－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲの発現を示した（図１１０Ｂ）。さらには、これらのＴ細胞は、ＧＦＰ及びＣＤ１９の両抗原をそ

の表面上に発現する標的細胞に曝露されたときにのみ活性化を示し、これはサイトカイン産生によりアッセイした（図１１０Ｂ及び１１０Ｃ）。

【０６５４】

同一の二重受容体回路を含有するヒト初代ＣＤ８＋細胞も、ＡＮＤゲート挙動を示し、ＧＦＰ及びＣＤ１９が標的細胞表面上に存在するときにのみ、標的を殺傷した（図１１０Ｄ～１１０Ｆ）。ゆえに、ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートは、ヒトにおけるＴ細胞免疫療法に必要とされる重要な細胞型において機能的である。このアプローチの多能性及びモジュール性を示すために、３つの他のｓｙｎＮｏｔｃｈ／ＣＡＲ　ＡＮＤゲート配置を検査した。全てが、ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞活性化のために組み合わせ抗原要件を示した（図１１５Ａ～１１５Ｉ）。

【０６５５】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、ｉｎ　ｖｉｖｏで腫瘍局在化ＣＡＲ発現を推進する

ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体が、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで初代Ｔ細胞においてＣＡＲ発現を確かにゲートするため、ｉｎ　ｖｉｖｏでＴ細胞がｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を介して腫瘍を標的とし、腫瘍微小環境にある時にのみＣＡＲを発現し得るかどうかを検査した。この実験のために、両側異種移植ＣＤ１９　Ｄａｕｄｉ　Ｂ細胞リンパ芽球腫瘍を、免疫無防備状態のＮＯＤ　ｓｃｉｄ　ＩＬ－２Ｒγ$^{-/-}$（ＮＳＧ）マウスへと注射した。野生型Ｄａｕｄｉ細胞（ｓｙｎＮｏｔｃｈリガンドを含有しない）を、左側腹部に皮下注射し、一方で表面ＧＦＰを発現するＤａｕｄｉ腫瘍細胞を右側腹部に注射した。移植のために腫瘍に１０日間を与えた後、α－ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体ならびにα－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲ及びＩＲＥＳ増強ホタルルシフェラーゼ（ｅｆｆｌｕｃ）レポーターの発現を制御する対応する応答エレメントを備えた初代ＣＤ４＋及びＣＤ８＋ヒトＴ細胞（図１１６Ａ及び１１６Ｂ）を注射した。ルシフェラーゼ発現を、１１日間の経過にわたってＣＡＲ発現に対するレポーターとしてモニターした（図１１１Ａ、図１１６Ｃ）。Ｔ細胞は、１日目までにＧＦＰ＋Ｄａｕｄｉ腫瘍においてＣＡＲを選択的に発現し始め、二重抗原腫瘍において１１日の期間にわたってＣＡＲの局所的発現を増加させ続けた（図１１１Ｂ及び１１１Ｃ）。標的腫瘍におけるルシフェラーゼシグナルの増加は、二重抗原標的腫瘍におけるｓｙｎＮｏｔｃｈ推進性ＣＡＲ発現及び細胞の拡大の組み合わせである可能性が高い。（図１１６Ｂ）。対照ＧＦＰ－腫瘍では、ルシフェラーゼの増加は観察されなかった。

【０６５６】

ｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現によるｉｎ　ｖｉｖｏでの高度に選択的な組み合わせ抗原腫瘍クリアランス

α－ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体がＴ細胞を腫瘍に対して標的化し、α－ＣＤ１９ＣＡＲの局所発現を制御し得ることが示された。次いで、ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞がｉｎ　ｖｉｖｏで二重抗原腫瘍を選択的に排除し得るかどうかを検査した。これらの実験のために、同様の両側腫瘍モデルをＫ５６２腫瘍細胞で構築した（図１１２Ａ及び図１１７Ａ及び１１７Ｂ）。腫瘍を移植し、移植に４日間かけた（Ｋ５６２腫瘍は、Ｄａｕｄｉ細胞と比較して、より迅速に増殖し、より大きい腫瘍を確立する）。４日目に、α－ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ－＞α－ＣＤ１９　ＣＡＲ　ＡＮＤゲート回路を有するＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を注射し、腫瘍増殖を、キャリパーにより２０日間モニターした（図１１２Ａ）。マウスの一群を形質導入していない対照Ｔ細胞で処置して、腫瘍増殖の基準を用意した。この実験では、Ｔ細胞を、全てが同じ動物内にある、二重抗原「疾患」腫瘍を単一抗原「バイスタンダー」組織から識別するために直接攻撃する。

【０６５７】

ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞は、顕著に高く再現可能な識別作用を同じ動物内に存在する２つの腫瘍に対して示した。全ての動物において、これらは、二重抗原「疾患」腫瘍（ＧＦＰ／ＣＤ１９＋）を選択的に排除し、一方で、単一抗原「バイスタンダー」腫瘍（ＣＤ１９＋単独）を乱さなかった。これらのバイスタンダー単一抗原腫瘍は、形質導入していないＴ細胞で処置した陰性対照腫瘍と同様の速度で成長した（図１１２Ｂ、

１１２Ｃ、１１７Ｂ）。ゆえに、「バイスタンダー」単一抗原腫瘍の検出可能なオフターゲット殺傷はほぼない。

【０６５８】

単一腫瘍実験を用意し、ここで、マウスに単一抗原（ＣＤ１９＋単独）または二重抗原（ＧＦＰ／ＣＤ１９＋）Ｋ５６２腫瘍のいずれかを移植した。次いで、マウスをｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞または形質導入していない対照Ｔ細胞で処置した。対照Ｔ細胞で処置したマウスは、腫瘍型にかかわらず、全て迅速に安楽死基準に達した。ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞で処置されたＧＦＰ／ＣＤ１９腫瘍を有するマウスは、全て生存し、腫瘍は、腫瘍注射の２５日目までに完全に排除された（図１１２Ｄ）。ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞で処置されたＣＤ１９単独腫瘍を有するマウスは、形質導入していないＴ細胞で処置したマウスと同じ速度で安楽死基準に達し、これは、単一抗原腫瘍のオフターゲット殺傷がないことを示す（図１１２Ｄ）。これらのｉｎ　ｖｉｖｏデータは、集合的に、ｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現が、Ｔ細胞がそれらの活性を腫瘍微小環境に限局し、複数の抗原に応答してのみ活性化及び殺傷することを可能にさせる、有効なＡＮＤゲートであることを示す。

【０６５９】

一つの懸念事項は、ＡＮＤ－ゲートＴ細胞がｓｙｎＮｏｔｃｈリガンド（ＧＦＰ）を発現する腫瘍と係合し、α－ＣＤ１９　ＣＡＲを発現することによりプライムされるようになり、次いで、別の場所に移動して、単一抗原（ＣＤ１９＋単独）バイスタンダー組織を殺傷し得るかどうかであった。これを検査するために、実験を両側腫瘍モデルで行ったが、今回は、一方にＣＤ１９＋単独細胞を有する腫瘍、及び他方にＧＦＰ＋単独細胞を有する腫瘍（すなわち２つの単一抗原腫瘍）を使用した（図１１７Ｄ）。これらのマウスでは、Ｔ細胞がＧＦＰ＋単独腫瘍によりプライムされ、その後ＣＤ１９＋単独腫瘍を殺傷する可能性があり得る。ＣＤ１９＋腫瘍の成長を、ＡＮＤゲート細胞を使用してモニターしたとき、陰性対照Ｔ細胞（形質導入していない）で処置されたときに観察された成長と同一であったことが見出された。ゆえに、ＡＮＤゲートＴ細胞のプライミング、及びその後の別の場所のバイスタンダーＣＤ１９＋細胞の殺傷のエビデンスはないように思われる。これらのＡＮＤゲートＴ細胞では、誘導されたＣＡＲ発現の減衰速度がプライミング腫瘍から外に遊走する速度より早いまたは匹敵する可能性が高いと仮説を立てた。これは、高度に局所的な二重抗原の要件を説明するだろう。

【０６６０】

図１０８．Ｔ細胞における組み合わせ抗原感知のためのｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体

（Ａ）ＣＡＲまたは腫瘍特異的ＴＣＲ　Ｔ細胞は、通常単一抗原を標的とし、それによりしばしばオフターゲット組織損傷を引き起こす。改善された治療用Ｔ細胞は、腫瘍抗原及び組織特異的抗原の両方の組み合わせを認識する多数のセンサーを必要とするだろう。これは、細胞がそれらの環境を評価し、いつ活性化させるかをより精密に決断することを可能にする。そのような治療用細胞は、標的罹患組織を正常組織から区別するよりために備えられた方がよい。（Ｂ）抗原の組み合わせを感知し、Ｔ細胞シグナル伝達及び転写を調節する新しいタイプの受容体は、精巧な細胞の判断及びより精密な治療用Ｔ細胞応答を可能にするように組み立てなければならない。（Ｃ）ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を、カスタム細胞外リガンド結合ドメイン、例えば、目的の抗原を対象とするｓｃＦｖまたはナノボディ（例えば、腫瘍または組織特異的抗原）で操作する。ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体によるリガンド認識の際、直交転写因子（例えば、ＴｅｔＲＶＰ６４またはＧａｌ４ＶＰ６４）は、カスタム遺伝子回路を制御する細胞質尾部から切断される。（Ｄ）ｓｙｎＮｏｔｃｈ

ＡＮＤゲート回路の設計であり、Ｔ細胞は活性化するために２つの抗原を感知することを必要とする。このＡＮＤゲートシグナル伝達回路は、２つの連続するステップで作動する：１）ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、Ｔ細胞が第一の抗原Ａを認識することを可能にし、２）Ｔ細胞は、第二の腫瘍抗原Ｂを対象とするＣＡＲを発現する。Ａ及びＢが存在する場合、Ｔ細胞は、活性化し、標的腫瘍を殺傷することができる。

【０６６１】

図１０９．ｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞活性化のための組み合わせ抗原要件
（Ａ）２つの受容体ＡＮＤゲート回路の操作：α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、α－メソテリンＣＡＲ発現を誘導する。（Ｂ）Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞を、α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ｔＴａ受容体及びα－メソテリンＣＡＲ発現を制御する対応する応答エレメントで操作した。Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞は、それらのｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を介して標的細胞上のＣＤ１９をまず認識して、ＣＡＲ発現を開始しなければいけない。Ｔ細胞がＣＤ１９によりプライムされて活性化された後、α－メソテリンＣＡＲは、メソテリンと結合し、Ｊｕｒｋａｔ細胞を活性化することができる。Ｔ細胞活性化の２つの正準のマーカーは、ＣＤ６９上方制御及びＩＬ－２産生である。ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＪｕｒｋａｔ　Ｔ細胞は、ＣＤ１９及びメソテリンの両方を発現する標的腫瘍細胞に曝露されたときにのみ活性化するべきである。（Ｃ）単一抗原（メソテリン単独）または二重抗原（ＣＤ１９／メソテリン）Ｋ５６２腫瘍細胞と４８時間にわたって共培養されたｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＪｕｒｋａｔ　Ｔ細胞における活性化マーカーＣＤ６９のヒストグラム。ＣＤ６９は、Ｔ細胞が二重陽性Ｋ５６２に曝露されたときにのみ発現された（３つの独立した実験の代表値）。（Ｄ）二重抗原Ｋ５６２に暴露されたときにのみｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤ－ゲートＪｕｒｋａｔによるＩＬ－２産生を示すＩＬ－２ＥＬＩＳＡ（ｎ＝３、エラーバーは平均の標準誤差である、有意性はスチューデントのｔ検定により決定、＊＊＊＊＝ｐ≦０．０００１）

【０６６２】

図１１０．ヒト初代Ｔ細胞におけるｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－治療用Ｔ細胞活性化及び腫瘍殺傷に対する組み合わせ抗原制御
（Ａ）ヒト初代ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を、α－ＧＦＰナノボディｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びα－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲの発現を制御する対応する応答エレメントで操作した。これらのＣＤ４＋またはＣＤ８＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞は、まずそれらのｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体を介して表面ＧＦＰを感知しなければならず、その後でのみ、それらはα－ＣＤ１９　ＣＡＲを発現し、プライミングされて活性化される。ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲート初代Ｔ細胞は、それらがＧＦＰとＣＤ１９の両方を感知した場合にのみ、活性化し、サイトカインを産生するまたは標的細胞を殺傷するべきである。（Ｂ）パネルＡに記載した初代ＣＤ４＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞を、ＣＤ１９単独または表面ＧＦＰ／ＣＤ１９　Ｋ５６２と共培養した。α－ＣＤ１９　ＣＡＲ　ＧＦＰ受容体発現レベルのヒストグラムは、ＧＦＰが標的細胞の表面上に存在するときにのみＣＡＲが発現されることを示す（少なくとも３つの独立した実験の代表値）。（Ｃ）ＣＤ１９単独またはＧＦＰ／ＣＤ１９　Ｋ５６２のいずれかにより活性化されたＣＤ４＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞からの上清を、Ｌｕｍｉｎｅｘを介して２５種のサイトカインの存在について分析した。サイトカインは、Ｔ細胞がＧＦＰ／ＣＤ１９　Ｔ細胞に曝露された時にのみ産生された（エラーバーは平均の標準誤差である、ｎ＝３）。（Ｄ）ＣＤ８＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲート初代Ｔ細胞を、パネルＡに記載したように操作した。ＣＤ４＋Ｔ細胞と同様に、α－ＣＤ１９　ＣＡＲ　ＧＦＰ受容体発現レベルのヒストグラムは、ＧＦＰが標的細胞の表面上に存在するときにのみＣＡＲが発現されることを示す（少なくとも３つの独立した実験の代表値）。（Ｅ）ＣＤ８＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲート初代Ｔ細胞とＣＤ１９単独またはＧＦＰ／ＣＤ１９腫瘍細胞のいずれかとの２４時間の共培養後の前方及び側方散乱フローサイトメトリープロット。Ｔ細胞は、青色ゲートの中にあり、標的Ｋ５６２は赤色ゲート内にある。ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞は、ＧＦＰ／ＣＤ１９　Ｋ５６２のみを殺傷し、それは、Ｋ５６２ゲート内で減少する細胞により示される（３つの実験の代表値）。（Ｆ）パネルＥに示す複製ＣＤ８＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲート初代Ｔ細胞の細胞傷害性データの定量（ｎ＝３、エラーバーは平均の標準誤差である、有意性はスチューデントのｔ検定により決定＊＝ｐ≦０．０５）。

【０６６３】

図１１１．ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、ｉｎ　ｖｉｖｏで腫瘍局所性ＣＡＲ発現を推進する

（Ａ）初代ヒトＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を、α－ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びα－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲ　ＩＲＥＳ　ｅｆｆｌｕｃ発現を調節する対応する応答エレメントで操作し、マウスに、Ｄａｕｄｉ腫瘍（ＣＤ１９単独）を左側腹部で、表面ＧＦＰ　Ｄａｕｄｉ（ＧＦＰ／ＣＤ１９）腫瘍を右側腹部で静脈内注射した。ルシフェラーゼ発現を、操作したＴ細胞の静脈内注射後１１日間にわたってモニターした。（Ｂ）Ｔ細胞注射の７日後の、パネルＡに記載のように処置されたマウスにおけるルシフェラーゼ発現の代表的な画像。ルシフェラーゼ発現は、ＧＦＰ／ＣＤ１９腫瘍においてのみ高く、これは、二重抗原腫瘍における局在化したＣＡＲ発現を示す（ｎ＝２マウス）。（Ｃ）左側腹部Ｄａｕｄｉ腫瘍（ＣＤ１９単独）及び右側腹部の表面ＧＦＰ　Ｄａｕｄｉ腫瘍（ＧＦＰ／ＣＤ１９）におけるルシフェラーゼレベルの統合強度の定量。ルシフェラーゼ発現は、全ての時点で、二重抗原腫瘍において高い（エラーは標準偏差である、ｎ＝２）。

【０６６４】

図１１２．ｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現によるｉｎ　ｖｉｖｏでの選択的組み合わせ抗原腫瘍殺傷

（Ａ）初代ヒトＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を、α－ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びα－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲ発現を調節する対応する応答エレメントで操作し、マウスに、ＣＤ１９　Ｋ５６２を左側腹部で、表面ＧＦＰ／ＣＤ１９　Ｋ５６２腫瘍を右側腹部で静脈内注射した。腫瘍サイズを、操作したＴ細胞または形質導入していないＴ細胞対照の静脈内注射後１６日間にわたってモニターした。（Ｂ）ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞（上）及び形質導入していない対照Ｔ細胞（下）で処置したマウスのＣＤ１９及びＧＦＰ／ＣＤ１９腫瘍体積を示すグラフ。ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞は、二重抗原腫瘍を排他的に標的とし、ＣＤ１９単独腫瘍は、形質導入していない対照Ｔ細胞で処置したマウスと同一の速度で増殖した（ｎ＝５マウス、エラーバーは平均の標準誤差である、有意性はスチューデントのｔ検定により決定する＊＊＝ｐ≦０．０１、＊＊＊＝ｐ≦０．００１）。（Ｃ）ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞で処置した個別のマウスに関する腫瘍体積測定。全てのマウスは、二重抗原腫瘍の選択的殺傷を示した。（Ｄ）ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞がＧＦＰ／ＣＤ１９腫瘍を排除し、１００％のマウスが生存していることを示すカプラン・マイヤーグラフ。ＣＤ１９単独腫瘍を有するマウスは、ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞により排除されず、腫瘍成長は制御されない。対応する腫瘍成長曲線を、パネルＤの右に提示する（ｎ＝５マウス、エラーバーは平均の標準誤差である、有意性はスチューデントのｔ検定により決定する＊＊＝ｐ≦０．０１）。

【０６６５】

図１１３．精密免疫療法のためのｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体制御及び局在化ＣＡＲ　Ｔ細胞応答。

（Ａ）Ｔ細胞を、腫瘍抗原を感知し、第二の抗原に対するＣＡＲの発現を上方制御するｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体で操作した（を産生するように遺伝子改変した）。ゆえに、これらのｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞は、腫瘍微小環境における組み合わせ抗原認識に応答してのみ活性化し、単一抗原認識により媒介されるオフターゲット毒性を防ぐ。（Ｂ）単一抗原を標的とする治療用Ｔ細胞とは異なるｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞は、組み合わせ抗原標的を単一抗原バイスタンダー組織から確実に識別することができる。ｓｙｎＮｏｔｃｈ－ＣＡＲ　Ｔ細胞による組み合わせ抗原感知は、腫瘍に対するＴ細胞の精密な標的化を助けることができ、オフターゲット毒性を防ぐ。（Ｃ）標的可能抗原空間の拡大。腫瘍特異的抗原は、腫瘍関連抗原（正常組織において発現されるが、腫瘍上により高く発現される抗原）と比較して稀である。ＣＡＲはＴ細胞を完全に活性化して標的組織の殺傷をもたらすため、致命的なオフターゲット毒性を減少させるために、単一ＣＡＲ　Ｔ細胞を腫瘍特異的抗原に標的化しなければならない（上のベン図）。ｓｙｎＮ

ｏｔｃｈ受容体は、ＣＡＲ発現をゲートし、Ｔ細胞が武装している場所を制御することができる。腫瘍特異的抗原の組み合わせを標的とするときには、腫瘍関連抗原を対象とするＣＡＲ受容体を使用することが可能であり得る。これは、身体の他の部分でＣＡＲ抗原を発現する組織へのオフターゲット損傷を減少させるはずである。

【０６６６】

図１１４．ｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞活性化のための組み合わせ抗原要件。

（Ａ）ＧＦＰに融合したα－メソテリンＣＡＲの発現を制御するα－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｊｕｒｋａｔ　Ｔ細胞を、４８時間にわたってメソテリン単独またはＣＤ１９及びメソテリン＋Ｋ５６２とインキュベートした。α－メソテリンＣＡＲ　ＧＦＰレベルのヒストグラムは、ＣＡＲが、ＪｕｒｋａｔがＣＤ１９に曝露されたときにのみ発現することを示す。（Ｂ）パネルＡ及び図２Ｂのヒストグラムから算出した正規化したα－メソテリンＣＡＲ　ＧＦＰ及びＣＤ６９レベルのプロット。ＣＡＲ及びＣＤ６９の最大発現の半減期は、それぞれ６時間及び１３時間であった。（Ｃ）ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＪｕｒｋａｔ　Ｔ細胞を、ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体の細胞外ドメイン上のｍｙｃ－タグと結合するプレート結合型α－ｍｙｃ抗体で２４時間刺激した。２４時間後、細胞をα－ｍｙｃ刺激から取り除き、ＣＡＲ発現を２４時間モニターした。（Ｄ）ｓｙｎＮｏｔｃｈ刺激の除去後のα－メソテリンＣＡＲ　ＧＦＰ発現のヒストグラム。正規化したＣＡＲをプロットし、１フェーズ減衰にあてはめ、これは、下方制御の８時間半減期を示す。

【０６６７】

図１１５．ヒト初代Ｔ細胞におけるｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現－治療用Ｔ細胞活性化及び腫瘍殺傷に対する組み合わせ抗原制御

（Ａ）ＣＤ４＋初代Ｔ細胞を、α－ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びα－メソテリン４－１ＢＢζ　ＣＡＲ　ＥＧＦＰ発現を制御する対応する応答エレメントで操作した。次いで、Ｔ細胞を、メソテリン単独、ＣＤ１９単独、またはＣＤ１９／メソテリンＫ５６２と、２４時間にわたって共培養し、ＣＤ６９上方制御及びＩＬ－２産生をアッセイした。（Ｂ）パネルＡに記載のように培養されたＣＤ４＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ初代Ｔ細胞上のα－メソテリンＣＡＲ　ＥＧＦＰレベル及びＣＤ６９レベルを示すヒストグラム。α－メソテリンＣＡＲは、ＣＤ１９が標的Ｋ５６２上にあるときにのみ発現され、Ｔ細胞は、活性化マーカーＣＤ６９を、ＣＤ１９及びメソテリンの両方が標的Ｋ５６２上にあるときにのみ発現した（３つの実験の代表値）。（Ｃ）パネルＡに記載の培養物から回収した上清からのＩＬ－２レベル。ＩＬ－２は、Ｔ細胞がＣＤ１９及びメソテリンの両方を発現する標的細胞に曝露されたときにのみ産生された（ｎ＝３、エラーバーは平均の標準誤差である、有意性はスチューデントのｔ検定により決定＊＊＊＝ｐ≦０．００１）。（Ｄ）ＣＤ８＋初代ヒトＴ細胞をパネルＡに記載のように操作した。ＣＤ８＋Ｔ細胞について、メソテリン単独、ＣＤ１９単独、またはＣＤ１９／メソテリン標的Ｋ５６２の特異的細胞傷害性を決定した。ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＣＤ８＋Ｔ細胞は、二重陽性Ｋ５６２のみを殺傷するべきである。（Ｅ）パネルＡに記載のように培養されたＣＤ８＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ初代Ｔ細胞上のα－メソテリンＣＡＲ　ＥＧＦＰレベルを示すヒストグラム。α－メソテリンＣＡＲは、ＣＤ１９が標的Ｋ５６２上にあるときにのみ発現された（３つの実験の代表値）。（Ｆ）ＣＤ１９及びメソテリンの両方の発現を伴う標的Ｋ５６２の特異的殺傷を示す複製ＣＤ８＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲート初代Ｔ細胞の細胞傷害性の定量（ｎ＝３、エラーバーは平均の標準誤差である、＊＊＊＝ｐ≦０．００１）。（Ｇ）ＣＤ４＋初代Ｔ細胞を、α－ＧＦＰナノボディｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びα－メソテリン４－１ＢＢζ　ＣＡＲ　ＥＧＦＰ発現を制御する対応する応答エレメントで操作した。次いで、Ｔ細胞をメソテリン単独、ＧＦＰ単独、またはＧＦＰ／メソテリンＫ５６２と２４時間にわたって共培養し、ＣＤ６９上方制御及びＩＬ－２産生をアッセイした。（Ｈ）パネルＧに記載のように培養されたＣＤ４＋ｓｙｎＮｏｔｃｈ初代Ｔ細胞上のα－メソテリンＣＡＲ　ＥＧＦＰレベル及びＣＤ６９レベルを示すヒストグラム。α－メソテリンＣＡＲは、ＧＦＰが標的Ｋ５６２上にあるときにのみ発

現され、Ｔ細胞は、活性化マーカーＣＤ６９を、ＧＦＰ及びメソテリンの両方が標的Ｋ５６２上にあるときにのみ発現した（３つの実験の代表値）。（Ｉ）パネルＧに記載の培養物から回収した上清からのＩＬ－２レベル。ＩＬ－２は、Ｔ細胞がＧＦＰ及びメソテリンの両方を発現する標的細胞に曝露されたときにのみ産生された（ｎ＝３、エラーバーは平均の標準誤差である、＊＊＊＊＝ｐ≦０．０００１）。

【０６６８】

図１１６．ｓｙｎＮｏｔｃｈ受容体は、ｉｎ　ｖｉｖｏで腫瘍局在化ＣＡＲ発現を推進する。

（Ａ）初代ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞におけるα－ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びα－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲ　ＩＲＥＳ　ｅｆｆｌｕｃを調節する対応する応答エレメントの発現を示す代表的なドットプロット。赤色枠で囲ったＴ細胞を選別し、ｉｎ　ｖｉｖｏ及びｉｎ　ｖｉｔｒｏ実験のために使用した。（Ｂ）ＧＦＰ－またはＧＦＰ＋Ｋ５６２を用いた２４時間にわたる曝露後のパネルＡからのｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤ　ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞におけるルシフェラーゼ活性を示す棒グラフ。ルシフェラーゼは、ＧＦＰに応答して特異的に発現された（ｎ＝３、エラーバーは平均の標準誤差である、＊＊＊＊＝ｐ≦０．０００１）。（Ｃ）腫瘍成長曲線を、図４Ｃで分析したマウスについて提供する。

【０６６９】

図１１７．ｓｙｎＮｏｔｃｈゲート使用ＣＡＲ発現によるｉｎ　ｖｉｖｏでの選択的組み合わせ抗原腫瘍殺傷

（Ａ）初代ヒトＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞におけるα－ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びα－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲを調節する対応する応答エレメントの発現を示す操作した代表的なドットプロット。Ｔ細胞の赤色で囲った四分の一区画を選別し、図１１２における実験に使用した。（Ｂ）ｉｎ　ｖｉｔｒｏ及びｉｎ　ｖｉｖｏ実験に使用したＫ５６２におけるＣＤ１９（紫）ならびにＧＦＰ及びＣＤ１９（緑）の発現を示すフローサイトメトリープロット。（Ｃ）対照の形質導入していないＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞で処置した両側ＣＤ１９（左側腹部）ならびにＧＦＰ及びＣＤ１９（右側腹部）腫瘍を有する個別のマウスの腫瘍成長曲線。データは、図５Ｂ下パネルの基となる。（Ｄ）初代ヒトＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞を、α－ＧＦＰ　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｇａｌ４ＶＰ６４受容体及びα－ＣＤ１９　４－１ＢＢζ　ＣＡＲ発現を調節する対応する応答エレメントで操作し、マウスに、ＣＤ１９　Ｋ５６２を左側腹部で、表面ＧＦＰ　Ｋ５６２腫瘍を右側腹部で静脈内注射して、Ｔ細胞がＧＦＰ＋「プライミング腫瘍」から遊走するかどうか、及びオフターゲットＣＤ１９単独腫瘍を殺傷するかどうかを検査した。腫瘍サイズを、操作したＴ細胞または形質導入していないＴ細胞対照の静脈内注射の後１６日間にわたってモニターした。（Ｅ）ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＡＮＤゲートＴ細胞（実線）または形質導入していない対照Ｔ細胞（点線）で処置したマウスのＣＤ１９腫瘍体積を示すグラフ。ＣＤ１９腫瘍は、標的とされず、これは、ＧＦＰ＋腫瘍からのプライムしたＴ細胞の遊走がないことを示す（ｎ＝５、エラーバーは平均の標準誤差である、スチューデントのｔ検定に基づいて有意差はいずれの時点での見られなかった、ｐ＞０．０５）。

【０６７０】

実施例６：ヒトＣＤ４　Ｔ細胞におけるＦｏｘｐ３のＳｙｎＮｏｔｃｈ誘導型発現

Ｆｏｘｐ３の直接細胞内染色を使用して、抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈを発現するヒトＣＤ４　Ｔ細胞におけるＦｏｘｐ３誘導を測定した。抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈを発現するＣＤ４　Ｔ細胞を、ＣＤ１９＋（ＣＤ１９陽性）Ｋ５６２細胞またはＣＤ１９－（ＣＤ１９陰性）Ｋ５６２細胞のいずれかで刺激した。Ｆｏｘｐ３は、ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ細胞において、ＣＤ１９＋Ｋ５６２細胞で刺激したときに発現した（図１１８、「ｃＮ　Ｆｏｘｐ３＋刺激Ｋ５６２」）。比較して、ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ細胞をＣＤ１９－Ｋ５６２細胞で刺激したときは、誘導は見られなかった（図１１８、「ｃＮ　Ｆｏｘｐ３＋無関係Ｋ５６２」）。形質導入していない細胞は、陰性対照として使用し

た（図１１８、「形質導入していない」）。
【０６７１】
ＣＤ１９応答性ＳｙｎＮｏｔｃｈを使用した、制御性Ｔ細胞の発達及び機能における調節経路のマスターレギュレーターであるＦｏｘｐ３の誘導は、制御性Ｔ細胞運命の局所抗原推進性誘導を実証する。
【０６７２】
実施例７：ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈを発現するＣＤ４　Ｔ細胞により制御された抗体産生
抗体発現構築物を、ヒトＴ細胞ｓｙｎＮｏｔｃｈ誘導型抗体分泌のために設計した。全体的な抗体構築物設計を示す概略図を図１１９に提示する。図１１９では、左から右に、全体構築物のドメイン設計は、ヒトＩｇＧ重鎖シグナルペプチド、Ｍｙｃタグ、ＶＨドメイン、ＣＨドメイン、フューリン切断部位、ＳＧＳＧスペーサー、Ｔ２Ａ配列、ヒトＩｇＧ軽鎖シグナルペプチド、ＨＡタグ、ＶＬドメイン及びＣＬドメインである。構築物は、以下の抗体のｓｙｎＮｏｔｃｈ誘導型分泌のために設計された：ペムブロリズマブ（抗ＰＤ－１）、トレメリムマブ（抗ＣＴＬＡ４）及び９Ｅ１０（抗ｍｙｃ）。
【０６７３】
ＳｙｎＮｏｔｃｈ誘導型抗体分泌を検査するために使用したｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイの全体スキームを図１２０に提示する。簡潔には、ＣＤ４　Ｔ細胞を、活性化されたときに、導入された抗体構築物（例えば、図１１９を参照）からの発現及び抗体のその後の分泌を推進する抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ構築物で形質導入する。抗体構築物の発現は、抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ細胞内ドメイン、この場合は、ｔＴＡ細胞内ドメインにより活性化される。アッセイでは、このような形質導入されたＴ細胞を、ＣＤ１９発現（ＣＤ１９＋；「ｓｙｎＮｏｔｃｈリガンド＋」とも称される）Ｋ５６２標的細胞または形質導入していない（ＣＤ１９－）Ｋ５６２標的細胞のいずれかと接触させた。形質導入されたＣＤ４　Ｔ細胞及びＫ５６２標的細胞を、２４、４８及び７２時間共培養してから、培養物上清を回収した。
【０６７４】
抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　ＣＤ　Ｔ細胞により分泌された抗体を細胞表面「サンドイッチＥＬＩＳＡ」フローサイトメトリーアッセイにより定量化した（図１２１を参照されたい）。簡潔には、抗体リガンドを発現する細胞（「抗体リガンド＋標的細胞」）、すなわち、ペムブロリズマブ抗体アッセイの場合にはＰＤ－１を発現する細胞を、１０分間ヒトＦｃブロッキングに供した。ブロッキングの後、ＣＤ１９＋またはＣＤ１９－標的細胞共培養物のいずれかからの５０μｌの段階希釈した上清を加え、細胞と３０分間インキュベートした。一次抗体インキュベーションの後、細胞を３回洗浄し、５０μｌの蛍光とコンジュゲートした二次抗体を加えた。本例の場合では、抗ｍｙｃ－ＡＦ６４７を二次抗体として使用し、二次インキュベーションを３０分間行った。二次抗体とのインキュベーションの後、細胞を３回洗浄し、次いで、ＢＤ　ＬＳＲ　ＩＩフローサイトメーターを用いた分析に供した。
【０６７５】
ペムブロリズマブを分泌するように改変されたＳｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞のこの分析の結果を図１２２に提示する。図１２２の上から下に、結果は以下の検査群に対応する。
【０６７６】

【表１】

群	刺激	一次インキュベーション	共培養時間
1	CD19+ K562 細胞	リガンド+ K562 上清	72 時間
2	CD19- K562 細胞	形質導入していない K562 上清	72 時間
3	CD19+ K562 細胞	リガンド+ K562 上清	48 時間
4	CD19- K562 細胞	形質導入していない K562 上清	48 時間
5	CD19+ K562 細胞	リガンド+ K562 上清	24 時間
6	CD19- K562 細胞	形質導入していない K562 上清	24 時間
7	不適用	PBS	不適用

【０６７７】

ＰＤ－１発現標的細胞は、ＣＤ１９発現Ｋ５６２細胞と共培養された抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞からの上清とインキュベートされたとき（「リガンド＋Ｋ５６２上清」）、高い抗ｍｙｃ－ＡＦ６７４二次染色を示し、これは、共培養時間が増えるほどに増加した（２４時間、４８時間及び７２時間）。比較して、ＰＤ－１発現標的細胞は、形質導入していない（ＣＤ１９－）Ｋ５６２細胞と共培養された抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞からの上清とインキュベートされたとき（「形質導入していないＫ５６２上清」）、低い抗ｍｙｃ－ＡＦ６７４二次染色を示した。

【０６７８】

このデータは、抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞がＣＤ１９発現（ＣＤ１９＋）Ｋ５６２細胞により誘導されて、異種ペムブロリズマブ抗体を発現及び分泌したことを実証する。対応して、抗ＣＤ１９　ｓｙｎＮｏｔｃｈ　Ｔ細胞は、形質導入していないＫ５６２細胞と共培養されたときには、ペムブロリズマブを分泌するように誘導されなかった。図１３９は、代替発現構築物、ＵＡＳ＿Ｐｒｅｍｂｒｏ＿ＩＲＥＳ＿ｍＣ＿ｐＧＫ＿ｔＢＦＰで、ペムブロリズマブを分泌するように改変されたＳｙｎＮｏｔｃｈ　ＣＤ４　Ｔ細胞の同様の分析の結果を提示する。図１４０は、図１３８の構築物を使用してペムブロリズマブを分泌するように改変されたＳｙｎＮｏｔｃｈ　Ｅ６－１　Ｊｕｒｋａｔ細胞の同様の分析の結果を提示する。図１４１は、図１３９の代替構築物を使用してペムブロリズマブを分泌するように改変されたＳｙｎＮｏｔｃｈ　Ｅ６－１　Ｊｕｒｋａｔ細胞の同様の分析の結果を提示する。図１４２及び図１４３は、ＵＡＳ＿トレメリムマブ＿ｐＧＫ＿ｍＣ発現構築物でトレメリムマブ（抗ＣＬＴＡ４）を分泌するように改変された、それぞれＳｙｎＮｏｔｃｈ　ＣＤ４　Ｔ細胞及びＥ６－１　Ｊｕｒｋａｔ細胞の同様の分析の結果を提示する。図１３９～１４３に提示するデータの各行は、上の表１に提示した群に概して対応する。

【０６７９】

従って、ＳｙｎＮｏｔｃｈを使用して、ヒトＣＤ４　Ｔ細胞において異種抗体の産生を誘導することができ、この場合、抗体は、ＳｙｎＮｏｔｃｈ細胞が対応する抗原（例えば、ＣＤ１９）によって刺激された場合にのみ産生される。このように、一実施形態では、ＳｙｎＮｏｔｃｈシステムを使用して、特定の標的抗原の認識に応答して治療用抗体の局所産生を指示することができる。

【０６８０】

実施例８：アダプター分子を用いた分割ＳｙｎＮｏｔｃｈ調節

分割ＳｙｎＮｏｔｃｈシグナル伝達システムを構築し、これは、ＧＦＰの異なるエピトープと結合する２つの異なる抗ＧＦＰナノボディを有し、一方のナノボディ（「ＬａＧ２」）は、「アンカー細胞」上で発現され、他方のナノボディ（「ＬａＧ１７」）は、ＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体の一部分として「受信側細胞」上で発現され、ＧＦＰは可溶性アダプターとして機能する（図１２３を参照されたい）。ＬａＧ１７ナノボディＳｙｎＮｏｔｃｈ受容体を、活性化の際に、ＴＲＥ発現構築物からｍＣｈｅｒｒｙレポーターの発現を誘

導するｔＴａ細胞内ドメインを有するように操作した。従って、設計した分割ＳｙｎＮｏｔｃｈシステムでは、可溶性アダプター分子（すなわち、ＧＦＰ）を加えることは、アンカー細胞の存在下でのみ受信側細胞においてＳｙｎＮｏｔｃｈシグナル伝達を誘導する。

【０６８１】

記載した分割ＳｙｎＮｏｔｃｈシステムの構成要素を、共培養にてそれらの対応する細胞において発現した。具体的には、表面結合ＬａＧ２抗ＧＦＰナノボディはＬ９２９細胞（すなわち、「アンカー細胞」）において発現され、細胞外ＬａＧ１７抗ＧＦＰナノボディ及び細胞内ｔＴａを有するＳｙｎＮｏｔｃｈは、ＴＲＥ／ｍＣｈｅｒｒｙ発現レポーターカセットを有する「受信側細胞」において発現された。負の対照として、受信側細胞を、表面結合ＬａＧ２を発現しないＬ９２９細胞（すなわち、「アンカー」）と共培養した。ＧＦＰを、共培養培地に、段階濃度（０ｎＭ、０．１ｎＭ、１ｎＭ、１０ｎＭ及び１０００ｎＭ）で加え、ｍＣｈｅｒｒｙ発現を、受信側細胞活性化の指標として、フローサイトメトリーにより定量化した。

【０６８２】

受信側細胞活性化は、ＬａＧ２発現アンカー細胞の存在下でのみ観察され、ｍＣｈｅｒｒｙ発現は、ＧＦＰ「アダプター」用量依存性であった（図１２４を参照されたい）。０ｎＭで精製ＧＦＰを受信側細胞に加え、ＬａＧ２を発現するＬ９２９アンカー細胞と共培養し、受信側細胞は「オフ」のままであった（すなわち、ｍＣｈｅｒｒｙ発現は、Ｌ９２９陰性対照細胞と共培養された受信側細胞のそれと本質的に同一であり、２つのピークは重なった）。漸増濃度の精製可溶性ＧＦＰで、活性化（ｍＣｈｅｒｒｙ発現により示される）がＬａＧ２を発現するＬ９２９アンカー細胞と共インキュベートされた受信側細胞において観察された（０．１ｎＭ、１ｎＭ、１０ｎＭ及び１０００ｍＭ　ＧＦＰで右端が最大である）。漸増濃度のＧＦＰの存在下であっても、Ｌ９２９陰性対照細胞と共インキュベートされた受信側細胞は、活性化されず「オフ」のままであった（０．１ｎＭ、１ｎＭ、１０ｎＭ及び１０００ｍＭＧＦＰで左端が最大である）。

【０６８３】

従って、受信側細胞活性化は、パートナーとなるアンカー細胞及び十分な濃度の可溶性ＧＦＰアダプター分子の両方の存在に依存した。ゆえに、受信側細胞活性化は、アンカー細胞の局所存在を通して空間的にも、及び十分な濃度のアダプター分子の存在を調節することにより条件的にも制御することができる。

【０６８４】

分割ＳｙｎＮｏｔｃｈシグナル伝達パラダイムを使用して、３細胞システムを実証し、ここで、受信側細胞活性化は、該システムの細胞により産生される可溶性アダプターにより調節される。

【０６８５】

３細胞分割ＳｙｎＮｏｔｃｈシグナル伝達システムの概略図を、図１２５に提示する。簡潔には、図１２３に上記の２細胞分割ＳｙｎＮｏｔｃｈシステムを活用したが、第三の細胞をシステムに加え、これはＧＦＰを構成的に分泌する。「送信側細胞」と称する、可溶性ＧＦＰは、構成的に活性なＥ１ａプロモーターの制御下で発現カセットから発現される。０．５：０．２５：０．２５の送信側細胞対受信側細胞対アンカー細胞の比率、受信側細胞と表面ＬａＧ２抗ＧＦＰナノボディを発現するアンカー細胞の、ＧＦＰを分泌する送信側細胞の存在下での共インキュベーションを使用して、受信側細胞の活性化（ｍＣｈｅｒｒｙ発現の増加により示される）が見られた（図１２６、中央パネル「オン」を参照されたい）。比較して、同じ比率の細胞を使用するが、アンカー細胞を、ＬａＧ２を発現しない陰性対照Ｌ９２９細胞と置き換えたとき、受信側細胞活性化は見られなかった（図１２６を参照されたい、上パネル、「オフ」）。さらに、ほとんどＧＦＰを発現しない送信側細胞を含有するように比率を変更した（送信側細胞対受信側細胞対アンカー細胞の比率は、０．０１：０．４９５：０．４９５）場合も、受信側細胞は活性化されなかった（図１２６、下パネル「オフ」を参照されたい）。

【０６８６】

従って、受信側細胞活性化は、パートナーとなるアンカー細胞及びＧＦＰ発現送信細胞の両方の存在に依存した。ゆえに、受信側細胞活性化は、アンカー細胞の局所存在を通して空間的にも、及びアダプター分子発現細胞の存在を調節することにより条件的にも制御することができる。さらなるレベルの制御が、送信側細胞内でアダプター分子の発現を調節することにより利用可能であり、例えば、送信側細胞におけるアダプター分子の発現中の調節可能プロモーターの使用による。

【０６８７】

３細胞分割ＳｙｎＮｏｔｃｈシグナル伝達システムは、ｓｙｎＮｏｔｃｈシグナル伝達の多入力制御を可能にする。加えて、送信側細胞からの拡散性アダプターの発現及び分泌を制御することにより、ＳｙｎＮｏｔｃｈ活性化は、必ずしも隣接する細胞間接触に依存せず、拡散性分泌アダプターの半径に基づいて、空間的に調整され得る。

【０６８８】

分割ＳｙｎＮｏｔｃｈシグナル伝達パラダイムを使用して、受信側細胞活性化の阻害が該システムの細胞により産生された可溶性アダプターにより調節される３細胞システムをさらに実証した。

【０６８９】

３細胞分割ＳｙｎＮｏｔｃｈ抑制性シグナル伝達システムの概略図を、図１２７に提示する。図１２３に上記の２分割ＳｙｎＮｏｔｃｈシステムの受信側細胞を使用した。表面発現ＧＦＰ細胞を、「送信側細胞」として使用し、これは表面発現ＧＰＦがＳｙｎＮｏｔｃｈを発現した受信側細胞のＬａＧ１７抗ＧＦＰナノボディ部分に結合する際に、「受信側細胞」を活性化させる。上と同様に、受信側細胞の活性化は、ＴＲＥ／ｍＣｈｅｒｒｙレポーターカセットからの発現を測定することにより定量化できる。このシステムの第三の細胞は、「抑制性細胞」と称され、送信側細胞の表面発現ＧＦＰと受信側細胞のＬａＧ１７の結合に対する競合阻害因子として作用する、可溶性ＬａＧ１６－ＬａＧ２抗ＧＦＰナノボディを構成的に発現する。ゆえに、送信側細胞と受信側細胞の共培養物への抑制性細胞の導入は、送信側細胞と受信側細胞間の結合を競合的に阻害し、受信側細胞の活性化を阻害し、これはｍＣｈｅｒｒｙ発現の減少により測定することができる。

【０６９０】

受信側細胞単独の対照培養、すなわち、送信側または抑制性細胞を含有しなかった受信側細胞の培養は、受信側細胞の活性化をもたらさなかった（図１２８、上パネル「オフ」を参照されたい）。受信側細胞の活性化は、競合阻害因子を発現しない親Ｌ９２９細胞株の送信側細胞、受信側細胞及び陰性対照抑制性細胞を含有する共培養物においてみられた（送信側細胞対受信側細胞対陰性対照抑制性細胞の比率は、０．２５：０．２５：０．５）（図１２８、中央パネル「オン」を参照されたい）。競合阻害因子を発現する（ｓＬａＧ１６－ＬａＧ２発現Ｌ９２９細胞）送信側細胞、受信側細胞及び抑制性細胞の共培養物において同じ細胞比（０．２５：０．２５：０．５）を使用するとき、受信側細胞活性化の阻害が観察され、これはｍＣｈｅｒｒｙ発現の低減により示された（図１２８、下パネル「オフ」を参照されたい）。

【０６９１】

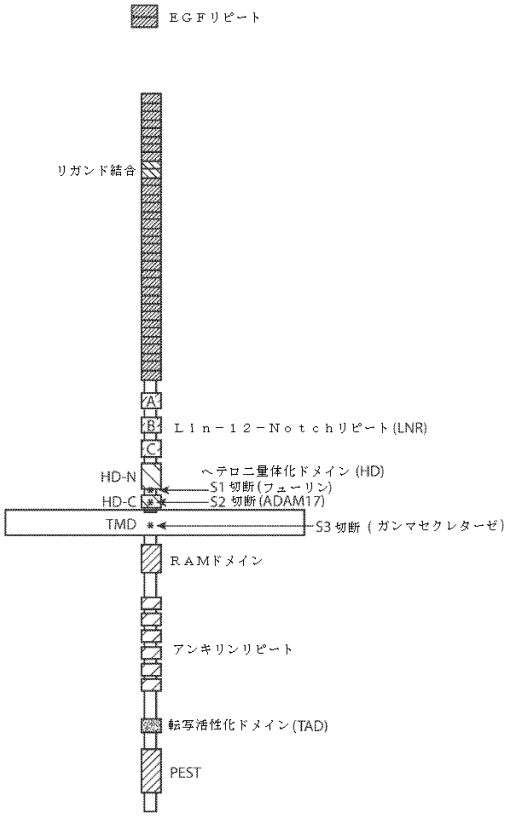
従って、受信側細胞のＳｙｎＮｏｔｃｈの、送信側細胞の表面ＧＦＰへの結合に依存する受信側細胞活性化は、抑制性細胞から発現された可溶性競合阻害因子の発現により阻害された。ゆえに、ポジティブ及びネガティブシグナル伝達の両方を有する３細胞調節システムを使用して、ＳｙｎＮｏｔｃｈを発現する受信側細胞活性化を両方制御することができる。それゆえ、空間的及び条件的受信側細胞調節は、ポジティブシグナルのみに限られず、ネガティブシグナル及びそれらの組み合わせを使用して制御することができる。

【０６９２】

本発明をその特定の実施形態を参照して説明してきたが、本発明の真の精神及び範囲から逸脱することなく、様々な変更がなされてよく、等価物が置換されてよいことは、当業者によって理解されるべきである。さらに、特定の状況、材料、物質の組成、プロセス、プロセスの１つまたは複数のステップを、本発明の目的、精神及び範囲に適合させるため

に、多くの修正を行ってよい。そのような修正は全て、本明細書に添付の特許請求の範囲に含まれるものとする。

【図１】



【図２Ａ－１】



【図２Ａ－２】



【図２Ｂ－１】

ハツカネズミ(*Mus musculus*) Notch-1
GenBank NP_032740
2531 aa

灰色背景テキスト – EGF リピート
枠付きテキスト – LNR A B 及び C
破線枠付きテキスト – S1 切断
点線枠付きテキスト – S2 切断
白抜き＆枠付きテキスト – S3 切断



【図２Ｃ】

線虫(*Caenorhabditis elegans*) Lin-12
GenBank NP_499007.1
1429 aa

灰色背景テキスト – EGF リピート
枠付きテキスト – LNR A B 及び C
破線枠付きテキスト – S1 切断
点線枠付きテキスト – S2 切断
白抜き＆枠付きテキスト – S3 切断



【図２Ｄ－１】

キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*) Notch
GenBank NP_476859.2
2703 aa
灰色背景テキスト－EGF リピート
枠付きテキスト－LNR A B 及び C
破線枠付きテキスト－S1 切断
点線枠付きテキスト－S2 切断
白抜き＆枠付きテキスト－S3 切断

```
   1 mgsqrsrrrs rapntwicfw inkmhavasl paslpllllt lafanlpntv rgrdtalvaa
  61 sctsvgcqng gtcvtqingk tycacdshyv gdycehrnpc nsmrcqnggt cqvrfngrp
 121 gisckpclgf deslcelavp nachvtcin ggtcqlktle eytcacangy tgercetkhl
 181 casspcrnga tcralaysss ftcscppgft gdtcsydiee cqsnpckygg tcvnthgsyq
 241 cmcptgytgk dcdikykpcs pspcqnggic rsngisyeck cpkgfegknc eqnyddclgh
 301 icqngtcrid gisdytcrcp pnftgrfcqd dvdecaqrdh pvcqnqatct ntngsyscic
 361 vngwagldcs nntddckqaa cfygatcidg vgsfycqctk gktglichld dactsnpcha
 421 daicddspin gsyacscatg ykgvdcsedi decdqgspce gscldldgtf rcvcmpgfty
 481 tgprctdnin ecesnpcqne gscldldgtf rcvcmpgfty tqeididec qsrpclndgt
 541 cndkingfkc scaigfdgar cqiniddcqs qpcrnrgich dslaqyscec ppgytgtsce
 601 inlndcdsnp chgkciddv nsfkclcppg ytgyicqkqi necesnpcqf dqhcsdrvgs
 661 yycgcqaqts gkncevnvne chsnpcnnga tcidginsyk cqcvpqftgq hceknvdeci
 721 sgpcannqvc idgynqykce cprgfydahc lsdvdecasn pcvneqrced ginefichcp
 781 pgytgkrcel didecssnpc qhgqtcydki nafsdqcmpg ytggkcetni ddvdnpcqn
 841 gqtcidkvng ykcvckvpft grdceskmdp casnrcknea kctpsnfld fsctcklgyt
 901 grycdedide csiaspcrng asclnvpdsy rclctkgyeg rdcalntddc asfpcqngt
 961 cidgidqysc icvdgfdgkh cetdinecls qpcqnqatcs qyvnsytctc plqfsginCq
1021 tndedctess clnggscidg ingyncscla gysgancqyk lnkcdnpci ngatchqnn
1081 eytchcpsgf tgkqcseyvd wcgqspceng atcsqmkhgf sckcsagwtg klcdvqtisc
1141 qdaadckgls lrqlcnngtc kdygnshvcy csqgyaqsyc qkeidecqsq pcqnggtcrd
```

【図２Ｄ－２】

```
1201 ligayecqcr qgfqgqncel nddcapnpc qnggtchdrv nmfscscppg tmgiiceink
1261 ddckpqachn ngscidrvgg fecvcpgftv garcegdine clsnpcsnag tldcvqlvnn
1321 ychcncrpghm grhcehvvdf caqspccnng ncniqsghh cicnngfygk ncelsgpdss
1381 pnpcvpdncv vasgfvcrcp egmqlhei dsidtldecs qnpcaqnaac edllqdyecl
1441 cpskwkgkrc dlydanypgw ngqsgsgndr yaaqlegara mcdkrqctek qqqricsdlq
1501 ntvacnfdgn dcslginpwa nctaneCwnk lkngkcneec nnaachydgh dcerklkscd
1561 slfdayccgkh vqddfcdvgc nnaecswdgl dcqhtqspv laegamsvvm lmveafrei
1621 qaqfirnmsh mlrttvrlkk dalqnddifin wkdnvrvpei edtdfarkhn[K]lytqqvhqt
1681 gtqiyleidn rkctecrtha veaaeflaat aakhqlrndf qihsvrgikh pgdedngepp
1741 anvkyvitgi ilvialiaff gmvlstgrkr ahgvtwfpeg frapdavmsr rrrdhggem
1801 rnlnkqvamq sqgvgqpgah wsddesdmpl pkrqrsdpvs gvglqnnggy asdhtmvsey
1861 eeadqrvwsq ahtdvvdvra imtppahqdg gkhdvdargp cgitpimaaa vrgggldtge
1921 diennedsta qvasdlaqg aeinatmdkt getshlaar faradaakrl ldagadancq
1981 dntgrtplha avaadamgvf qillrnratn lnarmhdgtt plllaarlai egmvedlita
2041 dadinaadns gkralhwaaa vnuteavnil lmhhanrdaq ddkdetplfi aareqsyeac
2101 kalldhdfanr eiddhmdrlp rdvaserlhh divrlldehv pspqmlsmt pqamigapgp
2161 gqqpqdiitq ptvisagngg nngngnasgk qsnqrakqka akkakliegs pdnqldatgs
2221 irrkasskkt saaskkaanl ngrnpgqitg gvsgvpgvpp tnsaaqaaaa aaaavaamsh
2281 eleqspvvgvg mqqnlpspyd tssmyshama aplangnpnt gakqppsyed cikNaqsmqs
2341 lqqngldmik ldnyaysmgs pfqqellngq glgmngngqr ngvgpgvipg glcgmvglsg
2401 agngnsheqg lsppysnqsp phsvqsslal lmhhanrdaq ddkdetplfi aareqsyeac
2461 atqqkqfqgs nlnslldgan gggvvqqggg ggggvqqpqq nspvslqiis ptqsdmqiml
2521 apqqsskNsa imqtispqqq qqqqqqqqqq hqqqqqqqqq qqqqqqqqlq qiefgsaqld
2581 ingfcgspds fhsgqmnpps iqssmsgssp stnmlspssq lnqqqalyqyl tpssqnsggh
2641 tpqhlvqtld syptpspesp qhwsssprs nsdwsegvqs paannlyisg ghqankgsea
2701 iyi
```

【図２Ｅ－１】

ウシ(*Bos taurus*)
Notch 受容体
GenBank DAA24217

```
   1 mtpvccprrp qpcahgalpr stphsitdss raepiesflv lspalelrll iavvggdtpi
  61 gdvwagkas gggdteglls egskegeaat cpqapgraewh appstcdss tprpeavpps
 121 ipcrspgwga cggrpgpgal epaimgsvps qqrppgdldrs redhgppgpl psphggasla
 181 pappacrgw qpplwpgaa aarvpghrtt cspaalcpcc rclywarfs sncnsrslpg
 241 qdalgpglwv psatqagtrq pvtgstlsgg hatfpqlqgm alpepejegp pttsaqgcgp
 301 svraafpgrc qlgavgafhp rgsaaqkrea wlvpepllgf pssaslrgdp qghvpprlkk
 361 prqvvakygp gsgvagaepf pvgsagdqaw gwagghappt pdgpsatvaar epagqlpdcg
 421 qafagqgqcga pnpclsapck ngqtchtter eglvdyvcgc rlgfsgplcl tprdhaclas
 481 pclngtcdil illteykclc tpgwsgktcq qadpcasnpc anggqclpfe aayichcppg
 541 fhgptcrqdv necsqspglc hhggtclnev gsyrcvccpt htgphcelpv vpcspqcqm
 601 ggtcrrpgdt thecaclpgf tgqnceenid dcpqnsckng qacvdgvnty ncrcppewtg
 661 qyctedvdec qimnacqng gtcinthggy ncvcvngwtg edcseniddc asasqfgqat
 721 chdrvasfyc eqphqrtgll chindacisn pcnegencdt npvngkaict cpsgytgpac
 781 sqdvdecslg aupcnaykc intlgsfccq clqgytgpcc eidvnecvsn pcqndatcid
 841 qigafqqicm pgyeglhcev ntdecasspc lqnqgridki nefvceeptg ftghlcqvdv
 901 decastpckn gaicddgpnt ytcvcteqyt qphcevdida cdpdpchygs ckdgvafttc
 961 lcpgytghh csninecns qpcrhggtcq drdnaylcfc lkgttgpncs inldacssnp
1021 cdsgtcidki dgyecacepg ytgsmcnini decadspchn ggtcedging ftcrcppegyh
1081 dptclsevne cssncihga cdsingykc dcdpcwsgan cdvnrdeces npcingtctk
1141 dmtsgyvcac regfsgpncq tnineCasnp clngtcidd vagykcncll pytgateevv
1201 lapcapgpcr nggecresed yesfscacpa gwggqtceid inecvkspcr agascgntng
1261 syrchcqagy tgrncetdid dcrppnchng gsctdginka fcdclpafgg afceedinec
1321 asspcrngan cidcvdsytc tcptgfsgih cenntpdcte sscfngtcv dqinsftcic
1381 ppgftgsycq hdvnecdsrp clhggtchds ygtytctcpq gytglncqti vnvcdspck
1441 ndgrcwqtna lyrcechsgw tglycdvpsv scevaarqdg vnvchlcrng glcmnagrth
1501 rchcqagytg syceeqvdec spspcqngat ctdypggysc ecvegyhgvn cseevnecls
1561 qpcrngtci dltntykcsc prgtqgvhce invddcnppi qpvsrgpkcf nngtcvdgvg
1621 gyscscppgf vgercegdvn ecdsnpcdar gtqncvqhvn afhcecragh tgrccesvln
1681 gckdrpckng gscavasnta rgfickcpag fegatcenda rscgslrcln ggtclagprs
1741 ptclclgpft gpecqfpass pcygngncyn qgvceptaes pfyrcrcpak fnglichild
1801 ysfqggvgld ipppgieetc elpgcreeag nkvcslqcns hacgwddgdc sldfddpwgn
1861 ctqslqcwky fsngrcdsqc nsagclfdgf dcqraqgqcn plydqyckdh frdghcdqgc
1921 geadadcmdv nvrgpdgftp lmiascsggg letgnseeee dapavlsdfi yggaslhngt
1981 drtgetalhl aarysrsdaa krlleasada nicdnmggrtp lhaavsadaq gvfqillrnr
2041 atddaarnhd gttplllaar lavegmledl inshadvnav ddlqksalhw aaavnnveaa
2101 vvlikngank dmqnnkeetp lfiaaregsy etakvlldhf anrditdmnd riprdlqeer
2161 mhhdivrlld eyslvrsppl hgatlggtpt lspplcspng ylgnlkppmg gkkarkpstk
2221 glacggkepk dlkarrkksq dckgclldsg svmspvrdsle sphgylsdva arpllpsgfq
2281 pspsvplnhl pgmpethlgv shsvaakpe mavlsggsrl afeggppris hlpvasstst
2341 ligsggsggs gavnftvgga aqingqcewi srlqnglvpn qynplrgqvt pgtlstqaag
2401 lqhgtvgplh apalsgvmty qalpstrlas qphlvpgqln lqmgppsmpp qpnlqpnlgv
2461 ssaasghlgr sflggelsga dmqplqpgnl aahtvlpqdg qvlptslpst lapptmappm
2521 ttaqflppps qhsyssgpvd ntpshqlqvp ehpflppspe spdqwssssp hsnlsdwseg
2581 lsspptsvps qiahvpeafk
```

【図２Ｅ－２】

【図２Ｆ－１】

ニワトリ(*Gallus gallus*)
Notch 受容体
Genbank NP_001025466

```
   1 mgrrlapllc lillpalaar glrcsgpsgt clnggrceva ngteacvcsg afvggrcqdp
  61 spcistpckn agtcyvvdhg glvdyacscp lgfsgpictp plaaaclanp cnggtccdii
 121 titeykcrcp pgwsgkscqq adpcasnpca ngggclpfes syicgcppgf hgptcrqdvn
 181 ecsgnpglcr hggtchneig sytcacrath tgphcelpyv pcspspcqng gtcrptgdtt
 241 hecaclpgfa gpnceenvdd cpgnnckngg acvdgvntyn crcppewtgq yctedvdecq
 301 lmpnacqnag tchnsiggyn cvcvngwtge dcsdniddca saacfqgatc hdrvasfyce
 361 cphgrtglic hindacisnp cnegsncdin pvngkaictc prgytgpacs qdvdecalga
 421 npcehagkcl nflgafecqc lqgytgprce idvnecisnp cqndatcldq lqefqcicmp
 481 gyegvycein tdecasspcl hngrcvdgin efleqcpkgf sghlcqydvd ecastpckng
 541 akcldgpnty tcvctegytg thcevdidec dpdpchigic kdgvatftcl cqpgytghhc
 601 etninechsq pcrhggtcqd rdnyylclcl kgttgpncei nlddcasnpc ddgtcldkid
 661 gyecacepgy tgsmcnvnid ecagspchng gtcedgiagf tcrcpegynd ptclsevnec
 721 nsnpcihgac rdglngykcd capgwsgtuc dinnnecesn pcvngqtckd mtsgyvtccr
 781 egfsgphcqt ninecasnpc lnggtciddv agykcncpqp ytgatcevvi apcatspckn
 841 sgvckesedy esfscvcptg wqpgtceidi necvkspcnh gascqntngs yrclcqpgyt
 901 grncesdidd crpnpchngg sctdgvnaaf cdclpgfqga fceedineca tnpcqnganc
 961 tdcvdsytct cptgfnghhc enntpdctas scfngtctvd ginsftclcp pgftgsycqy
1021 dvnecdsrpc lnggtcqdgy gtykctcpdg ytgkncqnlv rwcdsepckn ggkcwqtntq
1081 ythccrsgwt gfncdvisvs cevaaqktgi dvtllcqhgg icvdeedkhy chcqaqytgs
1141 ycedevdecs pnpcqngatc tdylggfsck cvagyhgsnc seeineclsq pcqnggtcid
1201 itntykcscp rqtgyrhcei nvddchppld pasrspkcfn ngtcvdqvgg ytctcppgfv
1261 gercegdvne clsnpcdprg tqncvqrvnd fhcecraght grrcesvlng crgkpcrngg
1321 vcavasntar gfrlcrparf egatcendar tcgslrclng gtcisgprsp tclclgsftg
1381 pscqfpsssp cvgsnpcyng gtcepteesp fyrclcpakf ngllchildv sftgaagrdi
1441 ppqdleeace lpecgedgcn kvcnlqcnnh acqwdggdcs lnfndpwkhc tqslqcwkyf
1501 sdghcddsqcn ssqcifdgfd cqltegqcnp lydqyckdhf sdghcddgcn saeccwdgld
1561 caehvperla agtlvlvvll ppddlrnnsf hflrdvshvi htnvvfhrda qggqmifpyy
1621 greeelrkhp ikrsavgwat tsllpdtngg rqrreldpmd ihgsivylei dnrqcvgsss
1681 qcfqsatdva aflgalaslg slnipykiea vksetveppl psqihlmyva aaafvllffv
1741 gcgvllsrkr rrqhgqlwfp egfkvseaak kkrreplged svglkplkna sdgalmddhq
```

【図２Ｆ－２】

```
1741 sqlypmyvvv aalvllafig vgvlvsrkrr rehgqlwfpe gfkvtesakk krreplgeds
1801 vqlkpiknas dgtlmddnqn ewgdeetldt kkfrfeegam ipdtddqtdh rqwtqqhlda
1861 adlrissmap tpqqeldad cmdvnvrgpd gftplmiasc sggqleigns eeeddapavi
1921 sdfiyqgasl hcqtdctget alhlaarysr sdaakillea sadaniqdnm grtplhaavs
1981 adagvfqil innratdlda rmhdgttpli laarlavegm iedlinchad vnavddlgks
2041 alhwaaavnn veaavvlikn gankdmqnnk eetplfiaar egsyetakvl ldhfanrdit
2101 dhmdlprdi aqermhhdiv rlldeynlvr spplhsgplg sptlspplcs pssyignlkp
2161 avqgkkarkp sikglscuqk dskdlkarrk ksqdgkqcll dnsvlspvd slesphgyls
2221 nhlpgmpdah msinhlmaeg kqemalggsg rnafeavppr rmafeavppr
2281 ishipvssps tamshapmnf svggaagrsg qcdwlsrlqs gmvqnqyqam rggmgpgthq
2341 gaqnlqhgmm ssihngipst slsqmmsyqa mpstrlasqp hllgnqqmqq mqqpqmqqp
2401 qmqpqpqmqq pqqqpcqpq pqqhhpqgsn asqhmqgnfl qtelsqpdmq pvssamavth
2461 illpqdsqil pcslpssiaq pmttqfltp psqhsysspl qtnpshqlqv pahpfltpsp
2521 espdqwssss phsnvsdwse gisspptsmq sqmqhipeaf k
```

【図２Ｇ－１】

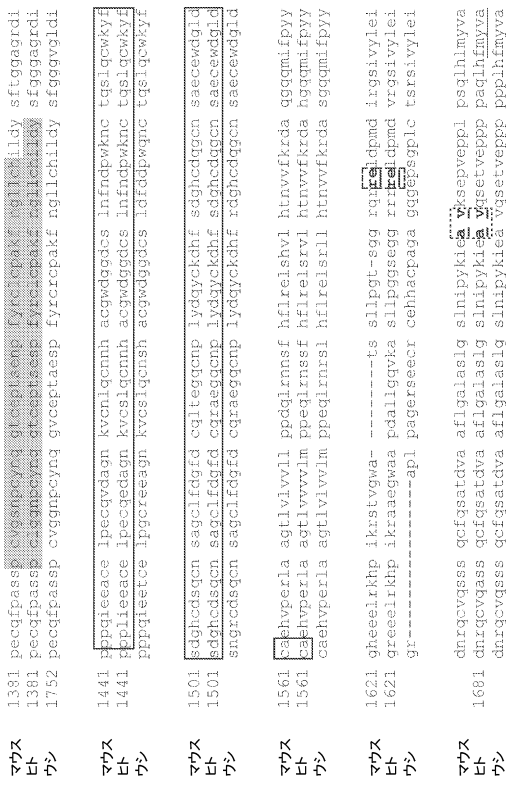
ラット(*Rattus norvegicus*) Notch 受容体
GenBank CAA40667

```
   1 mprllapllc lllpalaar glrcsgpsgt clnggrceva ngteacvcsg afvggrcqdp
  61 spcistpckn agtcyvvdhg glvdyacscp lgfsgpictp plaaaclanp cnggtccdii
 121 titeykcrcp pgwsgkscqq adpcasnpca ngggclpfes syicgcppgf hgptcrqdvn
 181 ecsgnpglcr hggtchneig sytcacrath tgphcelpyv pcspspcqng gtcrptgdtt
 241 hecaclpgfa gpnceenvdd cpgnnckngg acvdgvntyn crcppewtgq yctedvdecq
 301 lmpnacqnag tchnsiggyn cvcvngwtge dcsdniddca saacfqgatc hdrvasfyce
 361 cphgrtglic hindacisnp cnegsncdin pvngkaictc prgytgpacs qdvdecalga
 421 npcehagkcl nflgafecqc lqgytgprce idvnecisnp cqndatcldq lqefqcicmp
 481 gyegvycein tdecasspcl hngrcvdgin efleqcpkgf sghlcqydvd ecastpckng
 541 akcldgpnty tcvctegytg thcevdidec dpdpchigic kdgvatftcl cqpgytghhc
 601 etninechsq pcrhggtcqd rdnyylclcl kgttgpncei nlddcasnpc ddgtcldkid
 661 gyecacepgy tgsmcnvnid ecagspchng gtcedgiagf tcrcpegynd ptclsevnec
 721 nsnpcihgac rdglngykcd capgwsgtuc dinnnecesn pcvngqtckd mtsgyvtccr
 781 egfsgphcqt ninecasnpc lnggtciddv agykcncpqp ytgatcevvi apcatspckn
 841 sgvckesedy esfscvcptg wqpgtceidi necvkspcnh gascqntngs yrclcqpgyt
 901 grncesdidd crpnpchngg sctdgvnaaf cdclpgfqga fceedineca tnpcqnganc
 961 tdcvdsytct cptgfnghhc enntpdctas scfngtctvd ginsftclcp pgftgsycqy
1021 dvnecdsrpc lnggtcqdgy gtykctcpdg ytgkncqnlv rwcdsepckn ggkcwqtntq
1081 ythccrsgwt gfncdvisvs cevaaqktgi dvtllcqhgg icvdeedkhy chcqaqytgs
1141 ycedevdecs pnpcqngatc tdylggfsck cvagyhgsnc seeineclsq pcqnggtcid
1201 itntykcscp rqtgyrhcei nvddchppld pasrspkcfn ngtcvdqvgg ytctcppgfv
1261 gercegdvne clsnpcdprg tqncvqrvnd fhcecraght grrcesvlng crgkpcrngg
1321 vcavasntar gfrlcrparf egatcendar tcgslrclng gtcisgprsp tclclgsftg
1381 pscqfpsssp cvgsnpcyng gtcepteesp fyrclcpakf ngllchildv sftgaagrdi
1441 ppqdleeace lpecgedgcn kvcnlqcnnh acqwdggdcs lnfndpwkhc tqslqcwkyf
1501 sdghcddsqcn ssqcifdgfd cqltegqcnp lydqyckdhf sdghcddgcn saeccwdgld
1561 caehvperla agtlvlvvll ppddlrnnsf hflrdvshvi htnvvfhrda qggqmifpyy
1621 greeelrkhp ikrsavgwat tsllpdtngg rqrreldpmd ihgsivylei dnrqcvgsss
1681 qcfqsatdva aflgalaslg slnipykiea vksetveppl psqihlmyva aaafvllffv
1741 gcgvllsrkr rrqhgqlwfp egfkvseaak kkrreplged svglkplkna sdgalmddhq
```

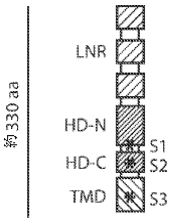
【図２Ｇ－２】

```
1801 newgdedlet kkfrfeegvv lpdlddqtdh rqwtqqhlda adlrvsamap tppgqevdad
1861 cmdvnvrgpd gftplmiasc sggglsetgn eeeedapavi sdfiyqgasl hnqtdrtget
1921 alhlaarysr sdaakrillea sadanidgnm grtplhaavs adagqvfqil innratdlda
1981 rmhdgttpli laarlavegm ledlinshad vnavddlgks alhwaaavnn vdaavvlikn
2041 gankdmqnnk eetplflaar egsyetakvl ldhfanrdit dhmdlprdi aqermhhdiv
2101 rlldeynlvr spqlhgtalg grptlsptic spngylgnlk satqgkkark gstkglacss
2161 kcaxdlkarr khsqdqkgcl ldsesmlgpv dslespglip sgfqqspplp sgfqqspsmp
2221 lshlpgmpdt hlgishlnva akpemaalag gslafeppp prlshlpvas sastvlslng
2281 tgamnftvga paslngqcew lprlqnqnvp sqynplrpgy tpyglslcqa glqhqmmgpi
2341 hssistntls pilyggipnt rlatqphlvq tqqvpqpqnq iqppqlqpps qphlsvssaa
2401 nghlgrsfls gepsqadvqp lgpsslpvht ilpqeseglp tslpssmvpp mttqfltpp
2461 sqhsyssspv datpshqlqv pehpfltpsp espdqwssss rhsnlsdwse gisspptsmp
2521 sqihlpeaf k
```

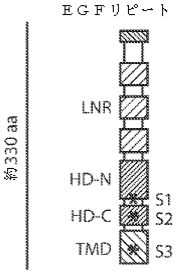
【図３】



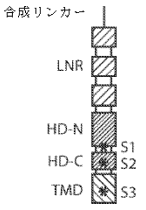
【図４Ａ】



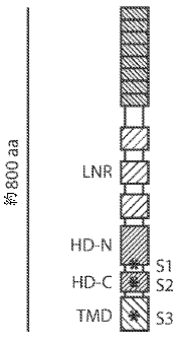
【図４Ｂ】



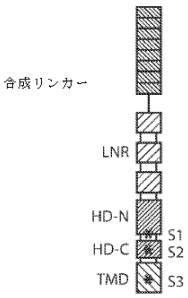
【図４Ｃ】



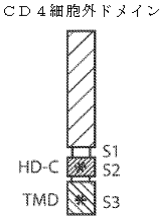
【図４Ｄ】



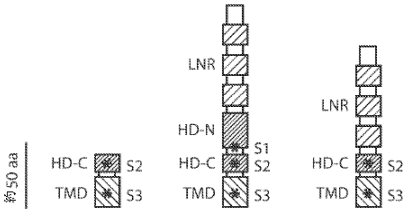
【図４Ｅ】



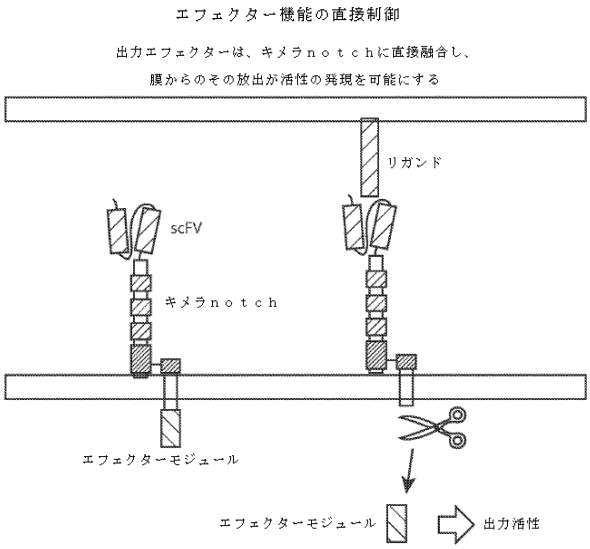
【図４Ｆ】



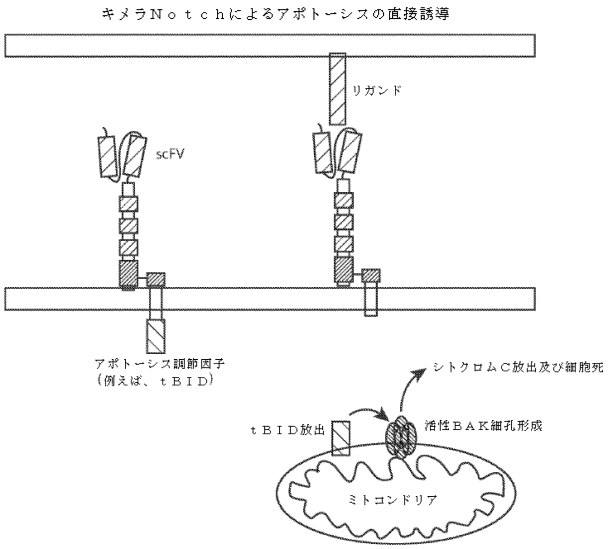
【図４Ｇ】



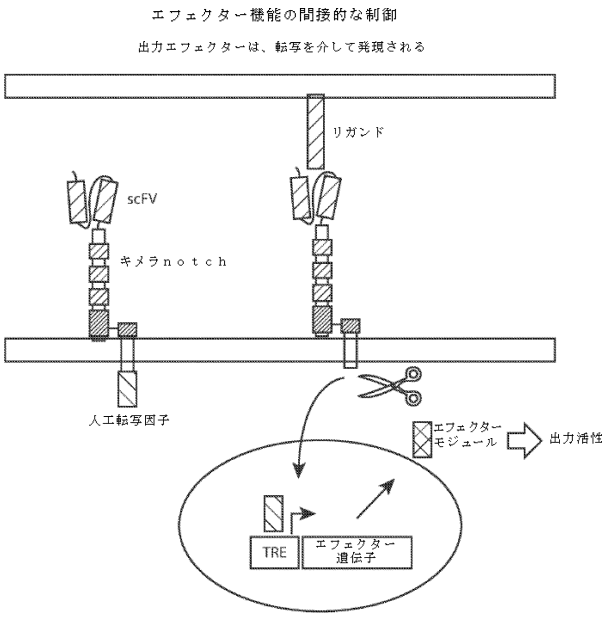
【図５】


エフェクター機能の直接制御
出力エフェクターは、キメラｎｏｔｃｈに直接融合し、
膜からのその放出が活性の発現を可能にする
リガンド
scFV
キメラｎｏｔｃｈ
エフェクターモジュール
エフェクターモジュール
出力活性

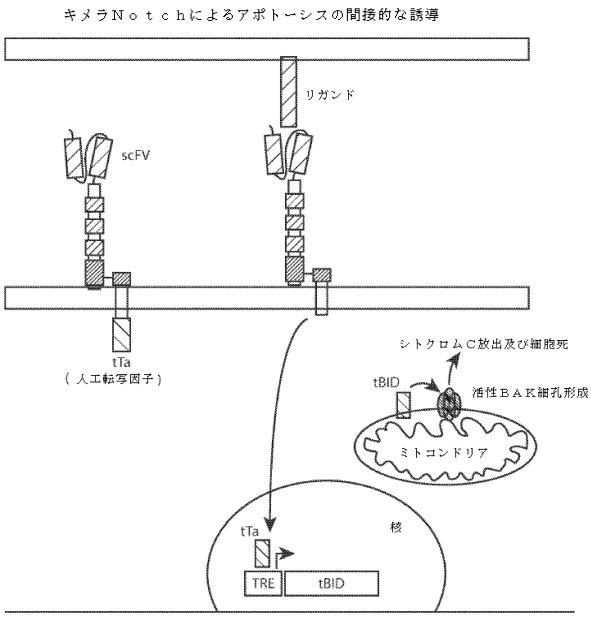
【図６】


キメラＮｏｔｃｈによるアポトーシスの直接誘導
リガンド
scFV
アポトーシス調節因子
（例えば、ｔＢＩＤ）
シトクロムＣ放出及び細胞死
ｔＢＩＤ放出
活性ＢＡＫ細孔形成
ミトコンドリア

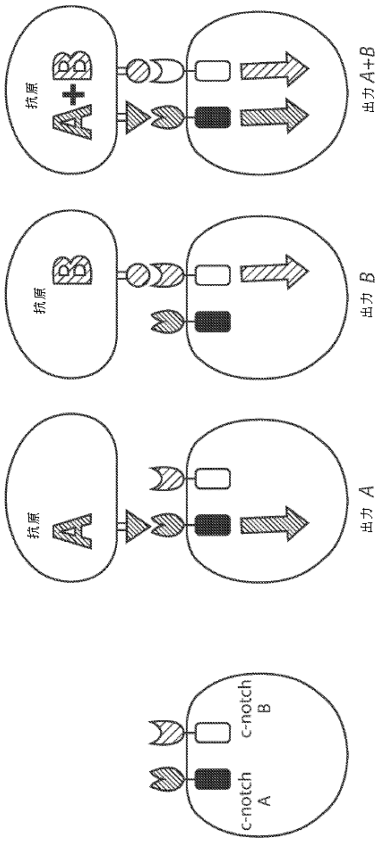
【図７】


エフェクター機能の間接的な制御
出力エフェクターは、転写を介して発現される
リガンド
scFV
キメラｎｏｔｃｈ
人工転写因子
エフェクター
モジュール
出力活性
TRE
エフェクター
遺伝子

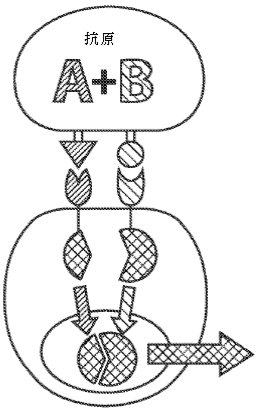
【図８】


キメラＮｏｔｃｈによるアポトーシスの間接的な誘導
リガンド
scFV
tTa
（人工転写因子）
シトクロムＣ放出及び細胞死
tBID
活性ＢＡＫ細孔形成
ミトコンドリア
核
tTa
TRE
tBID

【図９Ａ】

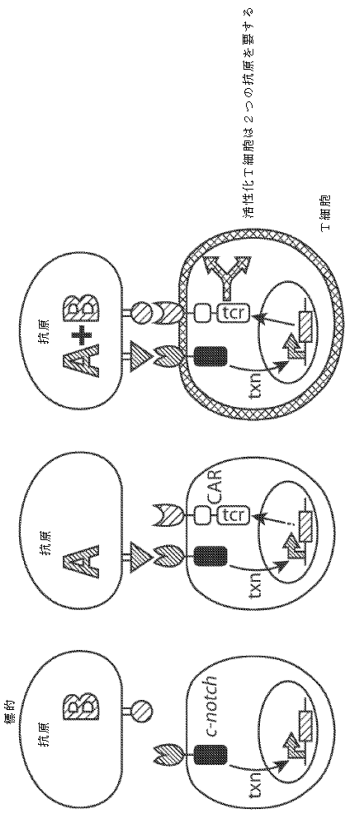


【図９Ｂ】

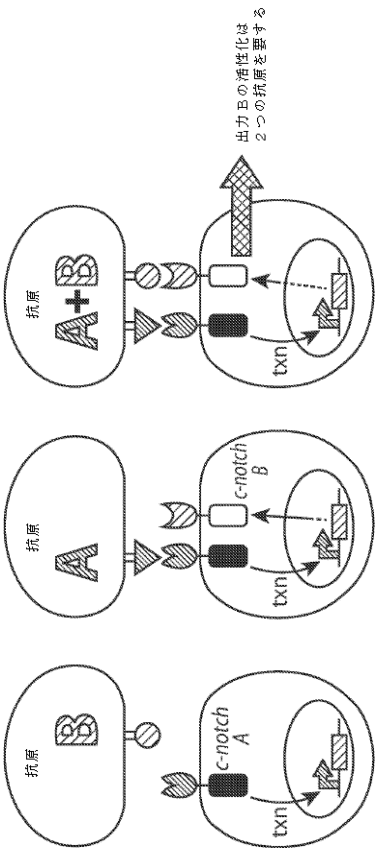


出力の活性化は２つの抗原を要する
分割活性（例えば、分割ｔｘｎ因子）

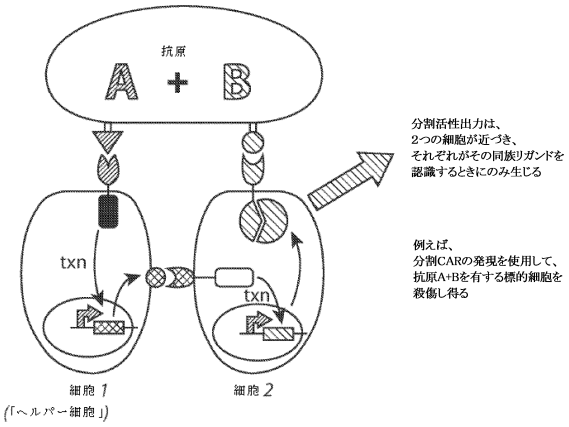
【図１０】



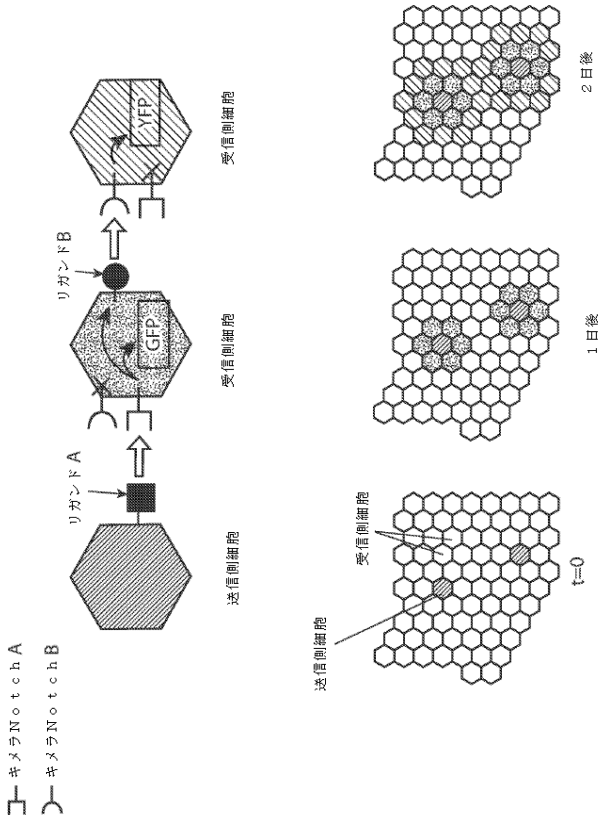
【図１１】



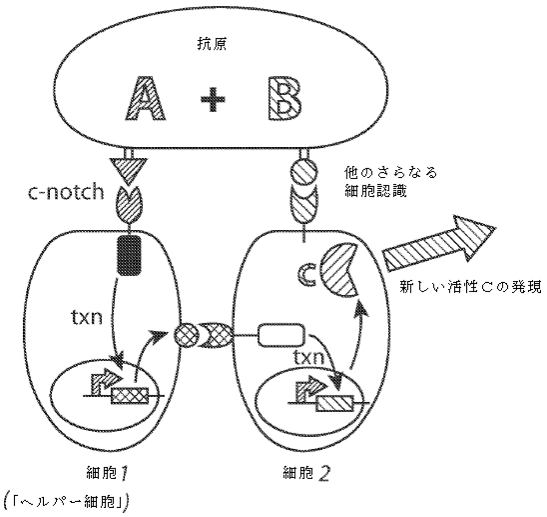
【図１２】



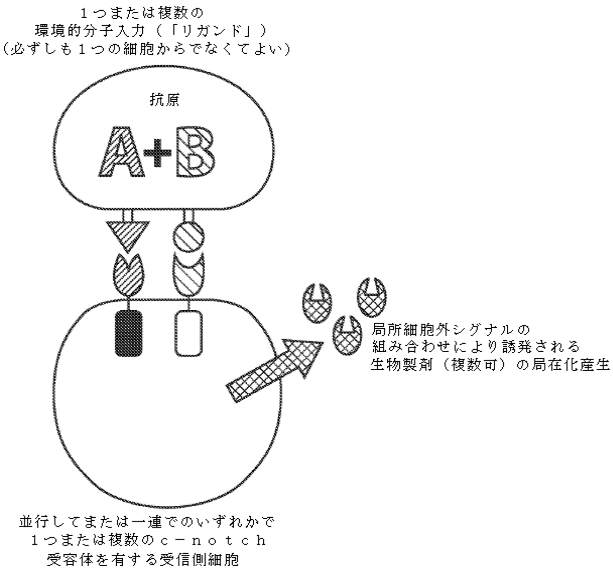
【図１３】



【図１４】



【図１５】



【図１６Ａ】

Notch受容体ポリペプチド（「Notch調節領域」）

白抜きテキスト - Lin Notch リピート(A-C)
太字 **テキスト** - ヘテロ二量体ドメイン(N 及び C)
白抜き&下線付き テキスト - S1 切断
白抜き&点線下線付き テキスト - S2 切断
太字&下線付き **テキスト** - S3 切断
枠付き テキスト - 膜貫通

ILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNF
NDPWKNCTQSLQCWKYFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKD
HFSDGHCDQGCNSAECEWDGLDCAEHVPERL**AAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRE**
LSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQR
RELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKS
EPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCG**VLLS**RKRRRQLCIQKL

【図１６Ｂ】

EGFリピートを有するNotch受容体ポリペプチド（「Notch調節領域」）

PCVGSNPCYNQGTCEPTSENPFYRCLCPAKFNGLLCHILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEA
CELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDG
HCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDG
LDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIF
PYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCV
QSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLL
LFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKL

【図１６Ｃ】

CD16A キメラ Notch tTA

破線枠付き テキスト – CD16A 細胞外ドメイン (AAH36723.1, aa37-242)
灰色背景 テキスト – Notch 調節領域
点線枠付き テキスト – tTA

MWQLLLPTALLLLVSAGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQGAYSPEDNST
QWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPRW
VFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRG
LFGSKNVSSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEACELPECQ
VDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDGHCDSQC
NSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLDCAEH
VPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYGH
EEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQ
CFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVG
CGVLLSRKRRRQLCIQKLMSRLDKSKVINSALELLNEVGIEGLTTRKLAQKLGVEQPTLY
WHVKNKRALLDALAIEMLDRHHTHFCPLEGESWQDFLRNNAKSFRCALLSHRDGAKV
HLGTRPTEKQYETLENQLAFLCQQGFSLENALYALSAVGHFTLGCVLEDQEHQVAKEE
RETPTTDSMPPLLRQAIELFDHQGAEPAFLFGLELIICGLEKQLKCESGGPADALDDFDL
DMLPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDMLPG*

【図１７Ａ】

CD19キメラNotch tTA

下線付き テキスト – シグナル配列
太字下線付き **テキスト** – HAタグ
破線枠付き テキスト – CD19 細胞外ドメイン(NP_001171569, aa20-91)
灰色背景の テキスト – Notch 調節領域
点線枠付き テキスト – tTA

METDTLLLWVLLLWVPGSTGD**YPYDVPDYA**GAQPAPRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLK
GTSDGPTQQLTWSRESPLKPFLKLSLGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQP
GPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSP
KLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNQSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVSRGP
LSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMETGLLLPRATAQDAGKYYCHRGNLTM
SFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEACELPECQVDAGNKV
CNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDGHCDSQCNSAGCLFD
GFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLDCAEHVPERLAAGT
LVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYGHEEELRKHPIK
RSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQCFQSATDVA
AFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKR
RRQLCIQKLMSRLDKSKVINSALELLNEVGIEGLTTRKLAQKLGVEQPTLYWHVKNKRA
LLDALAIEMLDRHHTHFCPLEGESWQDFLRNNAKSFRCALLSHRDGAKVHLGTRPTEK
QYETLENQLAFLCQQGFSLENALYALSAVGHFTLGCVLEDQEHQVAKEERETPTTDSM
PPLLRQAIELFDHQGAEPAFLFGLELIICGLEKQLKCESGGPADALDDFDLDMLPADALD
DFDLDMLPADALDDFDLDMLPG*

【図１７Ｂ】

抗CD19 scFVキメラNotch tTA

下線付き テキスト –シグナル配列
太字下線付き **テキスト** – Mycタグ
破線枠付き テキスト –抗CD19 scFV
灰色背景の テキスト – Notch 調節領域
点線枠付き テキスト – tTA

MALPVTALLLPLALLLHAARP**EQKLISEEDL**DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDIS
KYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQ
QGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTV
SGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMN
SLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS**DYKDDDDK**GSQVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGY
SFTGYTMNWVKQSHGKSLEWIGLITPYNGASSYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLS
LTSEDSAVYFCARGGYDGRGFDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSGGGSDIELTQS
PAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPGRFSGS
GSGNSYSLTISSVEAEDDATYYCQQWSKHPLTYGAGTKLEIKAS**PCVGSNPCYNQGTC**
EPTSENPFYRCLCPAKFNGLLCHILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEACELPECQVDAGNKV
CNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDGHCDSQCNSAGCLFD
GFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLDCAEHVPERLAAGT
LVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYGHEEELRKHPIK
RSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQCFQSATDVA
AFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKR
RRQLCIQKLMSRLDKSKVINSALELLNEVGIEGLTTRKLAQKLGVEQPTLYWHVKNKRA
LLDALAIEMLDRHHTHFCPLEGESWQDFLRNNAKSFRCALLSHRDGAKVHLGTRPTEK
QYETLENQLAFLCQQGFSLENALYALSAVGHFTLGCVLEDQEHQVAKEERETPTTDSM
PPLLRQAIELFDHQGAEPAFLFGLELIICGLEKQLKCESGGPADALDDFDLDMLPADALD
DFDLDMLPADALDDFDLDMLPG*

【図１７Ｃ】

抗CD19 scFv EGF リピートキメラNotch tTA

下線付き テキスト –シグナル配列
太字下線付き **テキスト** – Mycタグ
破線枠付き テキスト – 抗CD19 scFV
白抜き&下線付き テキスト – NotchからのEGFリピート
灰色背景の テキスト – Notch 調節領域
点線枠付き テキスト – tTA

MALPVTALLLPLALLLHAARP**EQKLISEEDL**DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDIS
KYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQ
QGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTV
SGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMN
SLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS**PCVGSNPCYNQGTCEPTSEN**
PFYRCLCPAKFNGLLCHILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCN
NHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQL
TEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLDCAEHVPERLAAGTLVLVVLL
PPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYGHEEELRKHPIKRSTVGW
ATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQCFQSATDVAAFLGALA
SLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQ
KLMSRLDKSKVINSALELLNEVGIEGLTTRKLAQKLGVEQPTLYWHVKNKRALLDALAIE
MLDRHHTHFCPLEGESWQDFLRNNAKSFRCALLSHRDGAKVHLGTRPTEKQYETLEN
QLAFLCQQGFSLENALYALSAVGHFTLGCVLEDQEHQVAKEERETPTTDSMPPLLRQAI
ELFDHQGAEPAFLFGLELIICGLEKQLKCESGGPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDML
PADALDDFDLDMLPG*

【図１８】

抗メソテリン scFv EGF リピートキメラNotch tTA

下線付き テキスト – シグナル配列
太字下線付き **テキスト** – Flagタグ
破線枠付き テキスト – 抗メソテリンscFv
白抜き&下線付き テキスト – NotchからのEGFリピート
灰色背景の テキスト – Notch調節領域
点線枠付き テキスト – tTA

MALPVTALLLPLALLLHAARP**DYKDDDDK**GSQVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGY
SFTGYTMNWVKQSHGKSLEWIGLITPYNGASSYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLS
LTSEDSAVYFCARGGYDGRGFDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSGGGSDIELTQS
PAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPGRFSGS
GSGNSYSLTISSVEAEDDATYYCQQWSKHPLTYGAGTKLEIKAS**PCVGSNPCYNQGTC**
EPTSENPFYRCLCPAKFNGLLCHILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEACELPECQVDAGNKV
CNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDGHCDSQCNSAGCLFD
GFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLDCAEHVPERLAAGT
LVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYGHEEELRKHPIK
RSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQCFQSATDVA
AFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKR
RRQLCIQKLMSRLDKSKVINSALELLNEVGIEGLTTRKLAQKLGVEQPTLYWHVKNKRA
LLDALAIEMLDRHHTHFCPLEGESWQDFLRNNAKSFRCALLSHRDGAKVHLGTRPTEK
QYETLENQLAFLCQQGFSLENALYALSAVGHFTLGCVLEDQEHQVAKEERETPTTDSM
PPLLRQAIELFDHQGAEPAFLFGLELIICGLEKQLKCESGGPADALDDFDLDMLPADALD
DFDLDMLPADALDDFDLDMLPG*

【図１９Ａ】

抗myc scFv キメラNotch tTA

下線付き テキスト – シグナル配列
太字下線付き **テキスト** – Flagタグ
破線枠付き テキスト – 抗Myc scFv
灰色背景の テキスト – Notch 調節領域
点線枠付き テキスト – tTA

MALPVTALLLPLALLLHAARP**DYKDDDDK**GSQVQLQQQVQLQESGGDLVKPGGSLKLS
CAASGFTFSHYGMSWVRQTPDKRLEWVATIGSRGTYTHYPDSVKGRFTISRDNDKNA
LYLQMNSLKSEDTAMYYCARRSEFYYYGNTYYYSAMDYWGQGASVTVSSGGGGSGG
GGSGGGGSDIVLTQSPAFLAVSLGQRATISCRASESVDNYGFSFMNWFQQKPGQPPK
LLIYAISNRGSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPVEEDDPAMYFCQQTKEVPWTFGGGTK
LEIKLDYSFTGGAGRDIPPPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCS
LNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYC
KDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFL
RELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGR
QRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAV
KSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKLMSRLDKSKVIN
SALELLNEVGIEGLTTRKLAQKLGVEQPTLYWHVKNKRALLDALAIEMLDRHHTHFCPL
EGESWQDFLRNNAKSFRCALLSHRDGAKVHLGTRPTEKQYETLENQLAFLCQQGFSL
ENALYALSAVGHFTLGCVLEDQEHQVAKEERETPTTDSMPPLLRQAIELFDHQGAEPA
FLFGLELIICGLEKQLKCESGGPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDMLPADALDDFDLD
MLPG*

【図１９Ｂ】

Mycタグ キメラNotch tTA

下線付き　テキスト　－シグナル配列
太字下線付き **テキスト**　－Mycタグ
破線枠付き　テキスト　－抗Myc scFv
灰色背景の　テキスト　－Notch 調節領域
点線枠付き　テキスト　－tTA

MALPVTALLLPLALLLHAARP**EQKLISEEDL**GSQVQLQQQVQLQESGGDLVKPGGSLKL
SCAASGFTFSHYGMSWVRQTPDKRLEWVATIGSRGTYTHYPDSVKGRFTISRDNDKN
ALYLQMNSLKSEDTAMYYCARRSEFYYYGNTYYYSAMDYWGQGASVTVSSGGGGSG
GGGSGGGGSDIVLTQSPAFLAVSLGQRATISCRASESVDNYGFSFMNWFQQKPGQPP
KLLIYAISNRGSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPVEEDDPAMYFCQQTKEVPWTFGGGT
KLEIKILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDC
SLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQY
CKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHF
LRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGG
RQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEA
VKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKLMSRLDKSKVI
NSALELLNEVGIEGLTTRKLAQKLGVEQPTLYWHVKNKRALLDALAIEMLDRHHTHFCP
LEGESWQDFLRNNAKSFRCALLSHRDGAKVHLGTRPTEKQYETLENQLAFLCQQGFS
LENALYALSAVGHFTLGCVLEDQEHQVAKEERETPTTDSMPPLLRQAIELFDHQGAEPA
FLFGLELIICGLEKQLKCESGGPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDMLPADALDDFDLD
MLPG*

【図２０Ａ】

抗GFPナノボディ(LaG 9) キメラ Notch tTA

*Nature Methods 11,1253–1260 (2014) の補足情報に由来するナノボディペプチド配列

下線付き　テキスト　－シグナル配列
太字下線付き **テキスト**　－Mycタグ
破線枠付き　テキスト　－LaG 9 ナノボディ
灰色背景の　テキスト　－Notch 調節領域
点線枠付き　テキスト　－tTA

MALPVTALLLPLALLLHAARP**EQKLISEEDL**MADVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASG
RTFSTSAMGWFRQAPGKEREFVARITWSAGYTAYSDSVKGRFTISRDKAKNTVYLQM
NSLKPEDTAVYYCASRSAGYSSSLTRREDYAYWGQGTQVTVSILDYSFTGGAGRDIPP
PQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCW
KYFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAE
CEWDGLDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQ
GQQMIFPYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEI
DNRQCVQSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYV
AAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKLMSRLDKSKVINSALELLNEVGIEGLTTRKL
AQKLGVEQPTLYWHVKNKRALLDALAIEMLDRHHTHFCPLEGESWQDFLRNNAKSFR
CALLSHRDGAKVHLGTRPTEKQYETLENQLAFLCQQGFSLENALYALSAVGHFTLGCV
LEDQEHQVAKEERETPTTDSMPPLLRQAIELFDHQGAEPAFLFGLELIICGLEKQLKCES
GGPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDMLPG*

【図２０Ｂ】

抗GFPナノボディ (LaG 50) キメラ Notch tTA

*Nature Methods 11,1253–1260 (2014) の補足情報に由来するナノボディペプチド配列

下線付き　テキスト　－シグナル配列
太字下線付き **テキスト**　－Mycタグ
破線枠付き　テキスト　－LaG 50 ナノボディ
灰色背景の　テキスト　－Notch 調節領域
点線枠付き　テキスト　－tTA

MALPVTALLLPLALLLHAARP**EQKLISEEDL**MADVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASG
RTISMAAMSWFRQAPGKEREFVAGISRSAGSAVHADSVKGRFTISRDNTKNTLYLQMN
SLKAEDTAVYYCAVRTSGFFGSIPRTGTAFDYWGQGTQVTVSSLDYSFTGGAGRDIPPP
QIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWK
YFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAEC
EWDGLDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQG
QQMIFPYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEID
NRQCVQSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVA
AAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKLMSRLDKSKVINSALELLNEVGIEGLTTRKLA
QKLGVEQPTLYWHVKNKRALLDALAIEMLDRHHTHFCPLEGESWQDFLRNNAKSFRC
ALLSHRDGAKVHLGTRPTEKQYETLENQLAFLCQQGFSLENALYALSAVGHFTLGCVL
EDQEHQVAKEERETPTTDSMPPLLRQAIELFDHQGAEPAFLFGLELIICGLEKQLKCES
GGPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDMLPG*

【図２０Ｃ】

抗GFPナノボディ (LaG 18)キメラ Notch tTA

*Nature Methods 11,1253–1260 (2014) の補足情報に由来するナノボディペプチド配列

下線付き　テキスト　－シグナル配列
太字下線付き **テキスト**　－Mycタグ
破線枠付き　テキスト　－LaG 18 ナノボディ
灰色背景の　テキスト　－Notch 調節領域
点線枠付き　テキスト　－tTA

MALPVTALLLPLALLLHAARP**EQKLISEEDL**MAQVQLVESGGGLVQTGGSLKLSCTASV
RTLSYYHVGWFRQAPGKEREFVAGIHRSGESTFYADSVKGRFTISRDNAKNTVHLQMN
SLKPEDTAVYYCAQRVRGFFGPLRSTPSWYDYWGQGTQVTVSSLDYSFTGGAGRDIP
PPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQC
WKYFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNS
AECEWDGLDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRD
AQGQQMIFPYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIV
LEIDNRQCVQSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLM
YVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKLMSRLDKSKVINSALELLNEVGIEGLTTR
KLAQKLGVEQPTLYWHVKNKRALLDALAIEMLDRHHTHFCPLEGESWQDFLRNNAKSF
RCALLSHRDGAKVHLGTRPTEKQYETLENQLAFLCQQGFSLENALYALSAVGHFTLGC
VLEDQEHQVAKEERETPTTDSMPPLLRQAIELFDHQGAEPAFLFGLELIICGLEKQLKCE
SGGPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDMLPG*

【図２０Ｄ】

抗GFPナノボディ (LaG 16/LaG 2)キメラ Notch tTA

*Nature Methods 11,1253–1260 (2014) の補足情報に由来するナノボディペプチド配列

下線付き　テキスト　－シグナル配列
太字下線付き **テキスト**　－Mycタグ
破線枠付き　テキスト　－LaG 16 3xG4S LaG2 ナノボディ
灰色背景の　テキスト　－Notch 調節領域
点線枠付き　テキスト　－tTA

MALPVTALLLPLALLLHAARP**EQKLISEEDL**MAQVQLVESGGRLVQAGDSLRLSCAASG
RTFSTSAMAWFRQAPGREREFVAAITWTVGNTILGDSVKGRFTISRDRAKNTVDLQMDI
NLEPEDTAVYYCSARSRGYVLSVLRSVDSYDYWGQGTQVTVSGGGGSGGGGSGGG
GSMAQVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSNYAMGWFRQAPGKEREFVAAIS
WTGVSTYYADSVKGRFTISRDNDKNTVYVQMNSLIPEDTAIYYCAAVRARSFSDTYSRV
NEYDYWGQGTQVTVILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNN
HACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQLT
EGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLDCAEHVPERLAAGTLVLVVLL
PPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYGHEEELRKHPIKRSTVGW
ATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQCFQSATDVAAFLGALA
SLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQ
KLMSRLDKSKVINSALELLNEVGIEGLTTRKLAQKLGVEQPTLYWHVKNKRALLDALAIE
MLDRHHTHFCPLEGESWQDFLRNNAKSFRCALLSHRDGAKVHLGTRPTEKQYETLEN
QLAFLCQQGFSLENALYALSAVGHFTLGCVLEDQEHQVAKEERETPTTDSMPPLLRQAI
ELFDHQGAEPAFLFGLELIICGLEKQLKCESGGPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDML
PADALDDFDLDMLPG*

【図２１】

PD-1 細胞外ドメイン EGF リピートキメラ Notch

下線付き　テキスト　－シグナル配列
太字下線付き **テキスト**　－Mycタグ
破線枠付き　テキスト　－PD-1 細胞外ドメイン(NP_005009.2)
白抜き&下線付き テキスト　－NotchからのEGFリピート
灰色背景の　テキスト　－Notch 調節領域
点線枠付き　テキスト　－tTA

MALPVTALLLPLALLLHAARPMQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPPT
FSPALLVVTEGDATFTCSFSNTSESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAFPEDRSQPGQDCR
FRVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPT
AHPSPSPRPAGQFQEQKLISEEDLPCVGSNPCYNQGTCEPTSENPFYRCLCPAKFNGL
LCHILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEACELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCS
LNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDGHCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYC
KDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFL
RELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIFPYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGR
QRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAV
KSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKLMSRLDKSKVIN
SALELLNEVGIEGLTTRKLAQKLGVEQPTLYWHVKNKRALLDALAIEMLDRHHTHFCPL
EGESWQDFLRNNAKSFRCALLSHRDGAKVHLGTRPTEKQYETLENQLAFLCQQGFSL
ENALYALSAVGHFTLGCVLEDQEHQVAKEERETPTTDSMPPLLRQAIELFDHQGAEPA
FLFGLELIICGLEKQLKCESGGPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDMLPADALDDFDLD
MLPG*

【図２２】

抗CD19 scFV キメラNotch Gal4VP64

下線付き　テキスト　－シグナル配列
太字下線付き **テキスト**　－Mycタグ
破線枠付き　テキスト　－抗CD19 scFV
灰色背景の　テキスト　－Notch 調節領域
点線枠付き　テキスト　－Gal4 VP64

MALPVTALLLPLALLLHAARP**EQKLISEEDL**DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDIS
KYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQ
QGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTV
SGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMN
SLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSSILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEA
CELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDG
HCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDG
LDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIF
PYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCV
QSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVL
LFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKLMKLLSSIEQACDICRLKKLKCSKEKPKCAKCLKNNW
ECRYSPKTKRSPLTRAHLTEVESRLERLEQLFLLIFPREDLDMILKMDSLQDIKALLTGLF
VQDNVNKDAVTDRLASVETDMPLTLRQHRISATSSSEESSNKGQRQLTVSAAAGSGG
GSGGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGS
*

【図２３】

抗CD19 scFV キメラNotchジップ(-) Gal4 DNA 結合ドメイン

下線付き テキスト – シグナル配列
太字下線付き **テキスト** – Mycタグ
破線枠付き テキスト – 抗CD19 scFV
灰色背景の テキスト – Notch 調節領域
点線枠付き テキスト – ジップ(-) Gal4 DNA 結合ドメイン

MALPVTALLLPLALLLHAARP**EQKLISEEDL**DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDIS
KYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQ
QGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTV
SGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMN
SLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS**I**LDYSFTGGAGRDIPPPQIEEA
CELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDG
HCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDG
LDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQMIF
PYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCV
QSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVL
LFFVGCGVLLSRKRRRQLCIL**1**EIRAAFLRQRNTALRTEVAELEQEVQRLENEVSQYET
RYGPLGGGKGGSGGSGGSMKLLSSIEQACDICRLKKLKCSKEKPKCAKCLKNNWECR
YSPKTKRSPLTRAHLTEVESRLERLEQLFLLIFPREDLDMILKMDSLQDIKALLTGLFVQD
NVNKDAVTDRLASVETDMPLTLRQHRISATSSSEESSNKGQRQLTVSAA*

【図２４】

抗メソテリンscFvキメラNotch NLS VP64ジップ(+)

下線付き テキスト – シグナル配列
太字下線付き **テキスト** – Flagタグ
破線枠付き テキスト – 抗メソテリンscFv
白抜き&下線付き テキスト – EGFリピート
灰色背景の テキスト – Notch 調節領域
点線枠付き テキスト – NLS VP64ジップ(+)

MALPVTALLLPLALLLHAARP**DYKDDDDK**GSQVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGY
SFTGYTMNWVKQSHGKSLEWIGLITPYNGASSYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLS
LTSEDSAVYFCARGGYDGRGFDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSSGGGSDIELTQS
PAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPGRFSGS
GSGNSYSLTISSVEAEDDATYYCQQWSKHPLTYGAGTKLEIKAS**PCVGSNPCYNQGTC**
EPTSENPFYRCLCPAKFNGLLCHILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEACELPECQVDAGNKV
CNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDGHCDSQCNSAGCLFD
GFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDGLDCAEHVPERLAAGT
LVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQMIFPYYGHEEELRKHPIK
RSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCVQSSSQCFQSATDVA
AFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKR
RRQLCIL**2**KKKRKVDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDDFDLDMLGSDALDD
FDLDMLGSGGSGGSGGSLEIEAAFLERENTALETRVAELRQRVQRLRNRVSQYRTRY
GPLGGGK*

【図２５】

抗CD19 scFvキメラNotch FLPeリコンビナーゼ

下線付き テキスト – シグナル配列
太字下線付き **テキスト** – Mycタグ
破線枠付き テキスト – 抗CD19 scFV
灰色背景の テキスト – Notch調節領域
点線枠付き テキスト – FLPe

MALPVTALLLPLALLLHAARP**EQKLISEEDL**DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDIS
KYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQ
QGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTV
SGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMN
SLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS**I**LDYSFTGGAGRDIPPPQIEEA
CELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDG
HCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDG
LDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQMIF
PYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCV
QSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVL
LFFVGCGVLLSRKRRRMSQFDILCKTPPKVLVRQFVERFERPSGEKIASCAAELTYLCW
MITHNGTAIKRATFMSYNTIISNSLSFDIVNKSLQFKYKTQKATILEASLKKLIPAWEFTIIP
YNGQKHQSDITDIVSSLQLQFESSEEADKGNSHSKKMLKALLSEGESIWEITEKILNSFE
YTSRFTKTKTLYQFLFLATFINCGRFSDIKNVDPKSFKLVQNKYLGVIIQCLVTETKTSVS
RHIYFFSARGRIDPLVYLDEFLRNSEPVLKRVNRTGNSSSNKQEYQLLKDNLVRSYNKA
LKKNAPYPIFAIKNGPKSHIGRHLMTSFLSMKGLTELTNVVGNWSDKRASAVARTTYTH
QITAIPDHYFALVSRYYAYDPISKEMIALKDETNPIEEWQHIEQLKGSAEGSIRYPAWNGII
SQEVLDYLSSYINRRIGPVEQKLISEEDL*

【図２６】

抗CD19 scFV キメラNotch NLS Creリコンビナーゼ

下線付き テキスト – シグナル配列
太字下線付き **テキスト** – Mycタグ
破線枠付き テキスト – 抗CD19 scFV
灰色背景の テキスト – Notch 調節領域
点線枠付き テキスト – NLS Cre

MALPVTALLLPLALLLHAARP**EQKLISEEDL**DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDIS
KYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQ
QGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTV
SGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMN
SLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS**I**LDYSFTGGAGRDIPPPQIEEA
CELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDG
HCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDG
LDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQMIF
PYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCV
QSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVL
LFFVGCGVLLSRKRRRMVPKKKRKVSNLLTVHQNLPALPVDATSDEVRKNLMDMFRD
RQAFSEHTWKMLLSVCRSWAAWCKLNNRKWFPAEPEDVRDYLLYLQARGLAVKTIQQ
HLGQLNMLHRRSGLPRPSDSNAVSLVMRRIRKENVDAGERAKQALAFERTDFDQVRS
LMENSDRCQDIRNLAFLGIAYNTLLRIAEIARIRVKDISRTDGGRMLIHIGRTKTLVSTAGV
EKALSLGVTKLVERWISVSGVADDPNNYLFCRVRKNGVAAPSATSQLSTRALEGIFEAT
HRLIYGAKDDSGQRYLAWSGHSARVGAARDMARAGVSIPEIMQAGGWTNVNIVMNYI
RNLDSETGAMVRLLEDGD*

【図２７】

抗CD19 scFv キメラ Notch MyoD RFP

下線付き テキスト – シグナル配列
太字下線付き **テキスト** – Mycタグ
破線枠付き テキスト – 抗CD19 scFV
灰色背景の テキスト – Notch調節領域
点線枠付き テキスト – MyoD RFP

MALPVTALLLPLALLLHAARP**EQKLISEEDL**DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDIS
KYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQ
QGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTV
SGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMN
SLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS**I**LDYSFTGGAGRDIPPPQIEEA
CELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDG
HCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDG
LDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQMIF
PYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCV
QSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVL
LFFVGCGVLLSRKRRRMELLSPPLRDIDLTGPDGSLCSFETADDFYDDPCFDSPDLRFF
EDLDPRLVHMGALLKPEEHAHFPTAVHPGPGAREDEHVRAPSGHHQAGRCLLWACKA
CKRKTTNADRRKAATMRERRRLSKVNEAFETLKRCTSSNPNQRLPKVEILRNAIRYIEG
LQALLRDQDAAPPGAAAFYAPGPLPPGRGSEHYSGDSDASSPRSNCSDGMMDYSGP
PSGPRRQNGYDTAYYSEAARESRPGKSAAVSSLDCLSSIVERISTDSPAAPALLLADAP
PESPPGPPEGASLSDTEQGTQTPSPDAAPQCPAGSNPNAIYQVLGGGSGGGSGGGS
MVSKGEELIKENMHMKLYMEGTVNNHHFKCTSEGEGKPYEGTQTMRIKVVEGGPLPF
AFDILATSFMYGSRTFINHTQGIPDFFKQSFPEGFTWERVTTYEDGGVLTATQDTSLQD
GCLIYNVKIRGVNFPSNGPVMQKKTLGWEANTEMLYPADGGLEGRTDMALKLVGGGH
LICNFKTTYRSKKPAKNLKMPGVYYVDHRLERIKEADKETYVEQHEVAVARYCDLPSKL
GHKLNGMDELYK*

【図２８】

抗CD19 scFV キメラNotch Tbet

下線付き　テキスト – シグナル配列
太字下線付き　**テキスト** – Mycタグ
破線枠付き　テキスト – 抗CD19 scFV
灰色背景の　テキスト – Notch 調節領域
点線枠付き　テキスト – Tbx21 aka Tbet (BC039739)

MALPVTALLLPLALLLHAARP**EQKLISEEDL**DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDIS
KYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQ
QGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTV
SGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMN
SLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSSILDYSFTGGAGRDIPPPQIEEA
CELPECQVDAGNKVCNLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNCTQSLQCWKYFSDG
HCDSQCNSAGCLFDGFDCQLTEGQCNPLYDQYCKDHFSDGHCDQGCNSAECEWDG
LDCAEHVPERLAAGTLVLVVLLPPDQLRNNSFHFLRELSHVLHTNVVFKRDAQGQQMIF
PYYGHEEELRKHPIKRSTVGWATSSLLPGTSGGRQRRELDPMDIRGSIVYLEIDNRQCV
QSSSQCFQSATDVAAFLGALASLGSLNIPYKIEAVKSEPVEPPLPSQLHLMYVAAAAFVL
LFFVGCGVLLSRKRRRMGIVEPGCGDMLTGTEPMPGSDEGRAPGADPQHRYFYPEP
GAQDADERRGGGSLGSPYPGGALVPAPPSRFLGAYAYPPRPQAAGFPGAGESFPPP
ADAEGYQPGEGYAAPDPRAGLYPGPREDYALPAGLEVSGKLRVALNNHLLWSKFNQH
QTEMIITKQGRRMFPFLSFTVAGLEPTSHYRMFVDVVLVDQHHWRYQSGKWVQCGKA
EGSMPGNRLYVHPDSPNTGAHWMRQEVSFGKLKLTNNKGASNNVTQMIVLQSLHKY
QPRLHIVEVNDGEPEAACNASNTHIFTFQETQFIAVTAYQNAEITQLKIDNNPFAKGFRE
NFESMYTSVDTSIPSPPGPNCQFLGGDHYSPLLPNQYPVPSRFYPDLPGQAKDVVPQA
YWLGAPRDHSYEAEFRAVSMKPAFLPSAPGPTMSYYRGQEVLAPGAGWPVAPQYPP
KMGPASWFRPMRTLPMEPGPGGSEGRGPEDQGPPLVWTEIAPIRPESSDSGLGEGD
SKRRRVSPYPSSGDSSSPAGAPSPFDKEAEGQFYNYFPN*

【図２９】

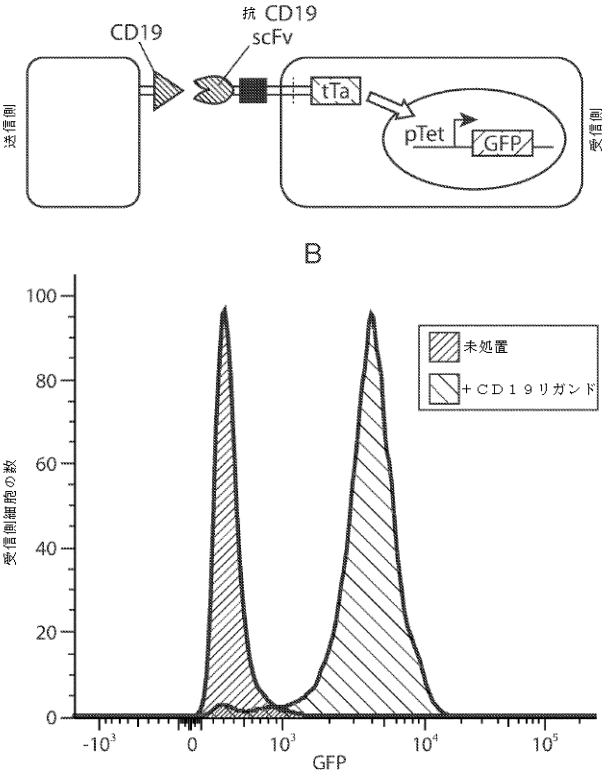
CD4 Notch 最小調節領域ドメイン tTA

下線付き　テキスト – シグナル配列
破線枠付き　テキスト – ホモサピエンスCD4 細胞外ドメイン
灰色背景の　テキスト – 最小Notch 調節領域
点線枠付き　テキスト – tTA

MNRGVPFRHLLLVLQLALLPAATQG**KKVVLGKKGDTVELTCTASQKKSIQFHWKNSNQI**
KILGNQGSFLTKGPSKLNDRADSRRSLWDQGNFPLIIKNLKIEDSDTYICEVEDQKEEVQ
LLVFGLTANSDTHLLQGQSLTLTLESPPGSSPSVQCRSPRGKNIQGGKTLSVSQLELQD
SGTWTCTVLQNQKKVEFKIDIVVLAFQKASSIVYKKEGEQVEFSFPLAFTVEKLTGSGEL
WWQAERASSSKSWITFDLKNKEVSVKRVTQDPKLQMGKKLPLHLTLPQALPQYAGSG
NLTLALEAKTGKLHQEVNLVVMRATQLQKNLTCEVWGPTSPKLMLSLKLENKEAKVSK
REKAVWVLNPEAGMWQCLLSDSGQVLLESNIKVLPTWSTPVQPMIPYKIEAVKSEPVE
PPLPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGCGVLLSRKRRRQLCIQKLMSRLDKSKVINSALELLN
EVGIEGLTTRKLAQKLGVEQPTLYWHVKNKRALLDALAIEMLDRHHTHFCPLEGESWQ
DFLRNNAKSFRCALLSHRDGAKVHLGTRPTEKQYETLENQLAFLCQQGFSLENALYAL
SAVGHFTLGCVLEDQEHQVAKEERETPTTDSMPPLLRQAIELFDHQGAEPAFLFGLELII
CGLEKQLKCESGGPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDMLPADALDDFDLDMLPG*

【図３０】

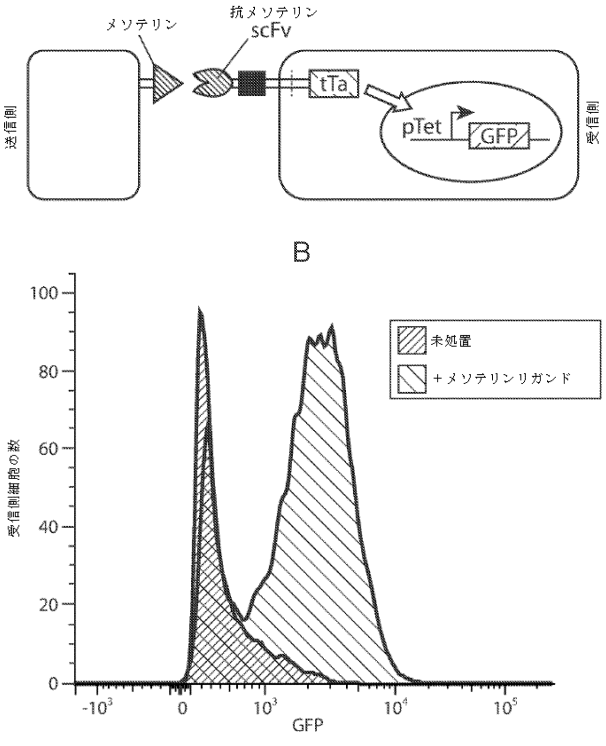
抗ＣＤ１９／ｔＴＡキメラＮｏｔｃｈを用いた転写の活性化



【図３１】

A

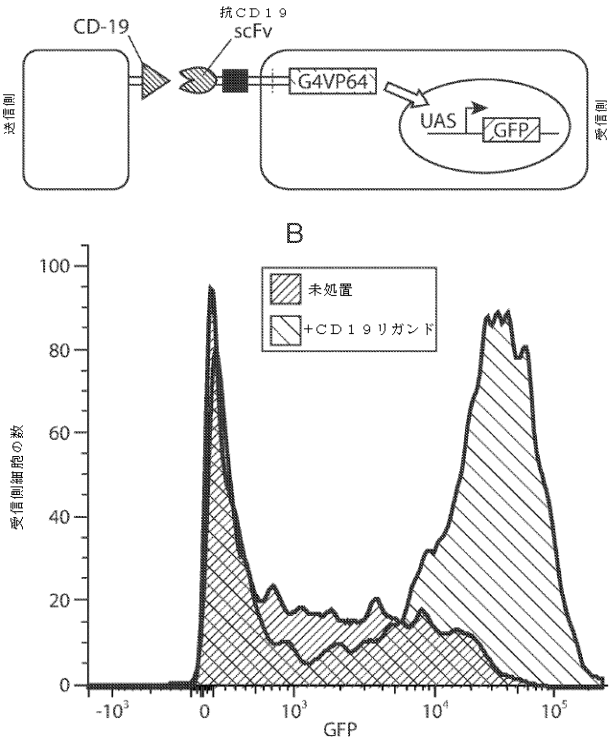
抗メソテリン／ｔＴＡキメラＮｏｔｃｈを用いた転写の活性化



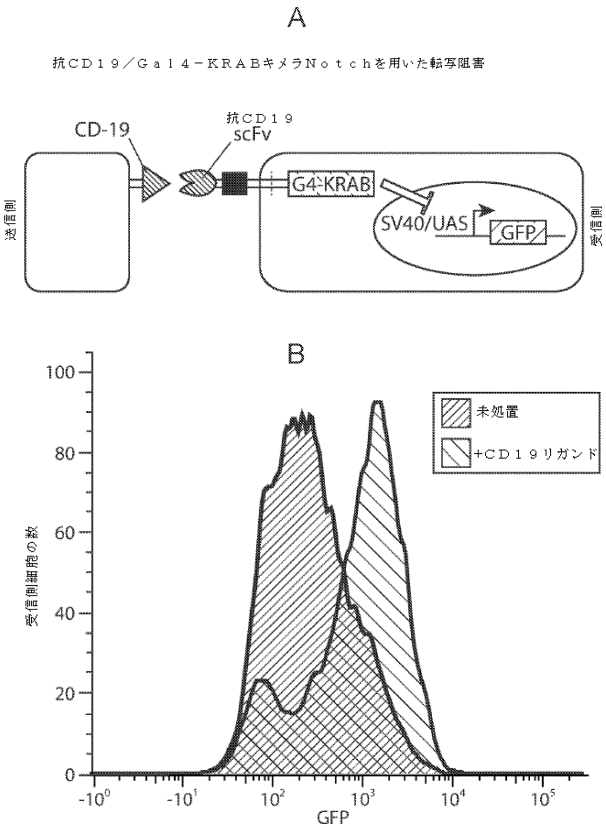
【図３２】

A

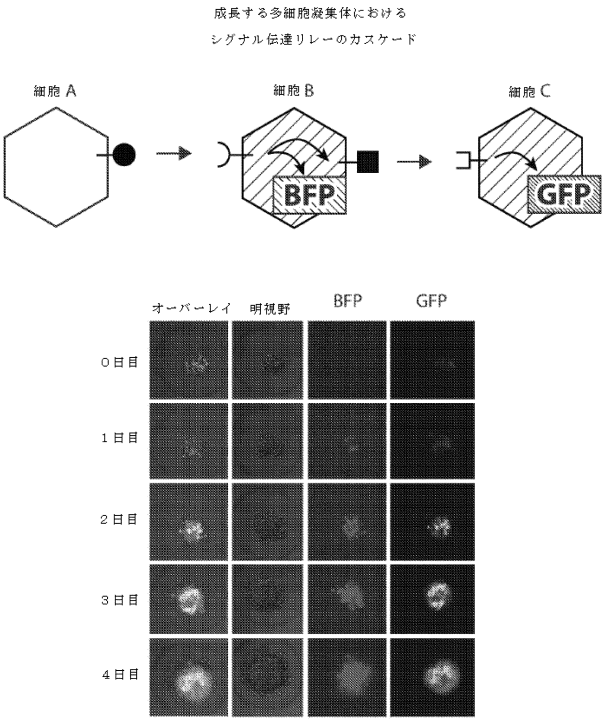
抗ＣＤ１９／ＧＡＬ４キメラＮｏｔｃｈを用いた転写の活性化



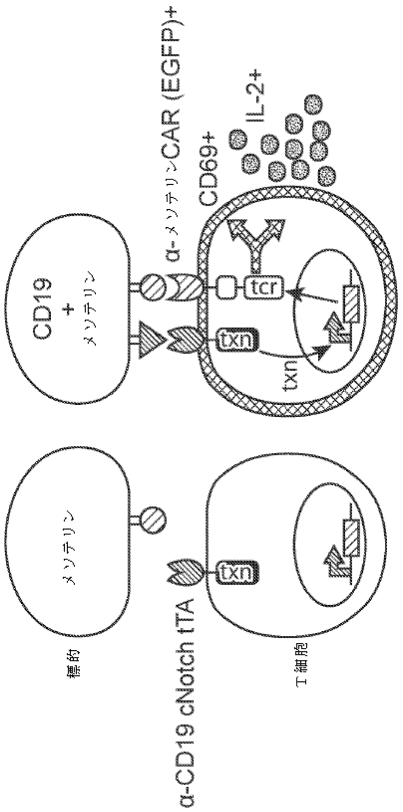
【図３３】



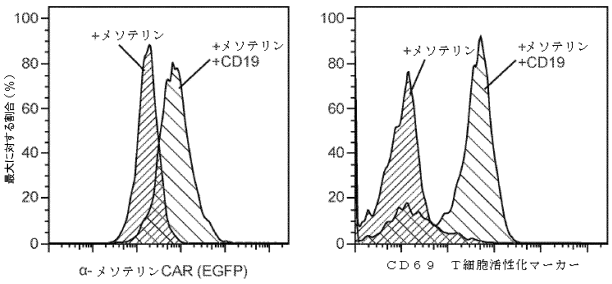
【図３４】



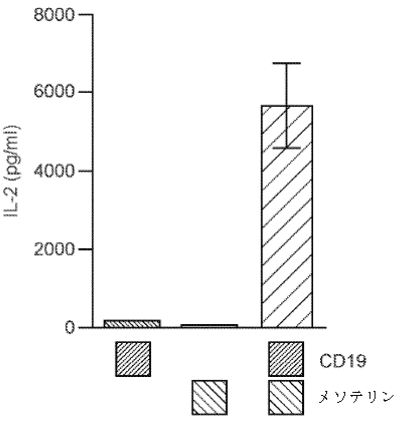
【図３５Ａ】



【図３５Ｂ】



【図３５Ｃ】



【図３６】

ストレプトコッカス・ピオゲネス（*Streptococcus pyogenes*）Cas9

```
MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDDYKVPSKKLKGLGNTDRHGIKKNLIGALLFDSGETAEATRLK
RTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHE
KYPTIYHLRKKLADSTDKVDLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQLVQTYNQL
FEENPINASRVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAE
DAKLQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDATLLSDILRVNSEITKAPLSASMIKRY
DEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELL
AKLNREDLLRKQRTFDNGSIPYQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL
ARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTV
YNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVED
RFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQ
LKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSG
QGDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRER
MKRIEEGIKELGSQILKEYPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQS
FLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSE
LDKVGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVRVITLKSKLVSDFRKDFQFYKV
REINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYS
NIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGF
SKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIME
RSSFEKDPIDFLEAKGYKEVRKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNF
LYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDK
PIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQL
GGD
```

【図３７】

NP_036270

アポトーシス拮抗転写因子(AATF)

ホモ サピエンス

```
   1 magpqplalq leglnprps eadpeadpee ataavridrf degedgegdf lvvgsirkla
  61 sallddtdkr ycgkttsrka wnedhweqtl pgssdeeisd eeggsdedse glgleeyded
 121 dlgaaeeqec qdhreskksr shsaktpgfs vqsisdfekf tkgmddlgss eeedeesqm
 181 eegddaedsq geseedragd rnseddgyvm tfssrkveee vekgravkng ialwdqlieg
 241 riklqkallt tnqlpqpqvf plfkdkgqpe fssalknshk alkallrsiv glqeelifqy
 301 pdryivdgt kpnagseeis seddelveek kqgrrrvpak rklemedyps fmakrfadft
 361 vyrnrtlqkw hdktklasgk lqkgfgafer siltqidhil mdkerllrrt qtkrsvyrvl
 421 gkpepaaqpv peslpgepei lpqapanahl kdldeeifdd ddfyhqllre liexktssld
 481 pndqvangrq wlaiqklrsk ihkkvdrkas kgrklirfnv skllsfmapi ehtrmnddar
 541 telyrslfgq lhppdeghgd
```

【図３８】

NP_037507

基礎転写の活性化因子１

ホモ サピエンス

```
   1 meaeeesekaa teqeplegte qtldeeeeqe eseeaacgsk krvvpgtvvl ghippxfrpl
  61 hvrnilsayg evgrvtfgae drfvrrkkka aaaqqgkkrs ytkdytqgwv efrdkriakr
 121 vaashntpm qarrzspfry dlwnikyhr ftwahlsehl afeerqvrrqr lraevagakr
 181 etcdfylqsve rqgrflaadg dparpdgswt faqrpteqel rarkaarpgg rerarlatag
 241 dkarsnkgll arifgappps esmegpslvr ds
```

【図３９】

NP_001107648

脂肪細胞エンハンサー結合タンパク質２

ホモ サピエンス

```
   1 maaaitdmad leelsrlspl pggspgsaar graeppeeee eeeeeeeeae aevaalln
  61 ggsggggggg gggvgggeae tnsepspesa sqagededee eddeeeedes ssggggeees
 121 saeslvgssg gssesdetrsi srqaasssgg dgdgkegiee pkgprgsqgg qqqgsssssv
 181 vsggdegyg tgggqsaars ggrrgslems sdgeplsrmd sedsiastim dvdstlssgr
 241 stpammngqg stssskniaa yncgvdqcqa cfnspdlad hirsihvdgq rgyvfvclwk
 301 gckvyntpst sqswiqrhmi thsqdkpfkc vvqqcnasfa sqqglarnvp thfsqqnssk
 361 vsqpkakee spskqgmnkr rklknkrrrs lprphdffda qtldairhra icfnlsahie
 421 slqkghsvvf hstvakrke dsgkklilih wmpedilpdv wvneserhql ktkvvhlskl
 481 pkdtalildp nlyrtmpgkr lkrtlirkvf nlylskq
```

【図４０】

サイクリックAMP依存性転写因子ATF-1
NP_005162
ホモ サピエンス

```
  1 medshkstts etapqpgsav qgahishiaq qvsslsesee sqdssdsigs sqkahgilar
 61 rpsyrkilkd lssedtrgrk gdgensgvsa avtsmsvptp iyqtssgqyi aiapngalql
121 aspgtdgvqg lqtltmtnsg stqqqttilq yaqtsdgqqi lvpsnqvvvq tasqdmqtyq
181 irttpsatsl pqtvvmtspv tltsqttktd dpqlkreirl mknreaarec rrkkkeyvkc
241 lenrvavlen qnktlieelk tlkdlysnks v
```

【図４１】

転写調節タンパク質BACH1
NP_001177
ホモ サピエンス

```
  1 mslsensvfa yessvhstnv llslndqrkk dvlcdvtifv eqqrfrahrs vlaacssyfh
 61 srivgqadge lnitlpeevt vkgfepliqf aytaklilsk envdevckcv eflsvhniee
121 scfqflkfkf ldstadqqec prkkcfsshc qktdlklsll dqrdletdev eeflenknvq
181 tpqcklrryq gnakaspplq dsasqtyesm clekdaalal pslcpkyrkf qkafgtdrvr
241 tgessvkdih asvqpnerse neclggvpec rdlqvmlkcd esklamepee tkkdpasqcp
301 teksevtpfp hnssidphgl yslsllhtyd qygdlnfagm qnttvltekp lsgtdvqekt
361 fgesqdlplk sdlgtredss vassdrssve revaehlakg fwsdicstdt pcqmqlspav
421 akdgseqisq krsecpwlgi risespepqq rtfttlssvn cpfistlste gcssnleign
481 ddyvsepqge pcpyacvisl gddsetdteg dsescsareq ecevklpfna qriislsrnd
541 fqsllkmhkl tpeqldcihd irrrsknria aqrcrkrkld ciqnleseie klqsekesll
601 kerdhilstl qetkqnltql cqkvckeaal sqeqiqilak ysaadcplsf lisekdkstp
661 dgelalpsif slsdrppavl ppcargnsep gyargqesqq mstatseqag paeqcrqsgg
721 isdfcqqmtd kcttde
```

【図４２】

クラスE塩基性ヘリックス ループ ヘリックスタンパク質４１
NP_110389
ホモ サピエンス

```
  1 mdegiphlqe rqllehrdfi gldysslymc kpkrsmkrdd tkdtyklphr liekkrrdri
 61 neciaqlkdl lpehlklttl ghlekavvle ltlkhlkalt alteqqhqki ialqngersl
121 kspiqsdlda fhsgfqtcak evlqylsrfe swtpreprcv qlinhlhava tqflptpqll
181 tqqvplskgt gapsaagsaa apcleragqk leplaycvpv iqrtqpsael aaendtdtds
241 gyggeaearp drekgkgaga srvtikqepp gedspapkrm kldsrgggsg ggpgggaaaa
301 aaallgpdpa aaaallrpda allsslvafg ggggapfpqp aaaaapfclp fcflspsaaa
361 ayvqpfldks glekylypaa aaapfpllyp gipapaaaaa aaaaaaaaaa afpclssvls
421 pppekagaaa atllphevap lgaphpqhph grthlpfagp repgnpessa qedpsqpgke
481 ap
```

【図４３】

ブロモドメイン含有タンパク質２アイソフォーム２
NP_001186384
ホモ サピエンス

```
  1 mlqnvtphnk lpgegnagll glgpeaaapg krirkpslly egfesptmas vpalqltpan
 61 ppppevsnpk kpgrvtnqlq ylhkvvmkal wkhqfawpfr qpvdavklgl pdyhkiikqp
121 mdmgtikrrl ennyywaase cmqdfntmft ncyiynkptd divlmaqtle kiflqkvasm
181 pqeeqelvvt ipknshkkga klaalqgsvt sahqvpavss vshtalytpp peipttvlni
241 phpsvisspl lkslhsagpp llavtaappa qplakkkqvk rkadtttptp tailapqspa
301 sppgslepka arlppmrres grpikpprkd lpdsqqqhqs skkgklseql khcngilkel
361 lskkhaayaw pfykpvdasa lglhdyhdii khpmdlstvk rkmenrdyrd aqefaadvrl
421 mfsncykynp pdhdvvamar klqdvfefry akmpdeplep qplpvstamp pglakssses
481 sseesssess seeeeeedee deeeeesess dseeerahrl aelqeqlrav heqlaalsqg
541 piskpkrkre kkekkkkrka ekhrgragad eddkgprapr ppqpkkskka sgsgggsaal
601 gpsgfgpsgg sgtklqagvq wrdlgllqpp llgfkrfscl slpssqdyrl pkkatktapp
661 alptgydsee eeesrpmsyd ekrqlsldin klpgeklgrv vhiiqareps lrdsnpeeie
721 idfetlkpst lreleryvls clrkkprkpy tikkpvqktk eelalekkre lekrlqdvsg
781 qlnstkkppk kanektesss aqqvavsrls asssssdsss sssssssdt sdsdsg
```

【図４４】

CCAAT/エンハンサー結合タンパク質ゼータ
NP_005751
ホモ サピエンス

```
   1 maavkeplef hakrpwrpee avedpdeede dntseaengf sleevlrlgg tkqdylmlat
  61 ldeneevidg gkkgaiddlq qgeleafiqn lnlakytkas lveedepaek ensskkevki
 121 pkinnkntae sqrtsvnkvk nknrpephsd engsttpkvk kdkqnifeff erqtlllrpg
 181 gkwydleysn eyslkpqpqd vvskyktlaq klyqheinlf ksktnsqkga sstwmkaivs
 241 sgtlqdrmaa milliqddav htlqfvetlv nlvkkkgskq qclmaldtfk ellitdllpd
 301 nrklrifsqr pfdkleqlss gnkdsrdrrl ilwyfehqlk hlvaefvqvl etlshdtlvt
 361 tktraltvah ellcnkpeee kallvqvvnk lgdpqnriat kashlletll ckhpnmkqvv
 421 sgeverllfr snisskaqyy aicflnqmal sheeselank litvyfcffr tcvkkkdves
 481 kmlsalltgv nraypysqtg ddkvreqidt lfkvlhivnf ntsvqalmll fqvmnsqqti
 541 sdryytalyr kmldpglmtc skqamflnlv ykslkadivl rrvkafvkrl lqvtcqqmpp
 601 ficgalylvs eilkakpglr sqlddhpesd deenfidand dedmekftda dketeivkkl
 661 eteetvpetd vetkkpevas wvhfdnlkqg kqlnkydpfs rnplfcgaen tslwelkkls
 721 vhfhpsvalf aktilqgnyi qysqdplqdf tlmrfldrfv yrnpkphkgk entdsvvmqp
 781 krkhfikdir hlpvnskefl akeesqipvd evffhryykk vavkekqkrd adeesiedvd
 841 deefeelidt feddncfssg kddmdfagnv kkrtkgakdn tldedsegsd delgnlddde
 901 vslgsmddee faevdedggt fmdvlddese svpelevhsk vstkkskrkg tddfdfagsf
 961 qqprkkkrnl ndsslfvsae efghlldenm gskfdniqmn amankdnasl kqlrweaerd
1021 dwlhnrdaks iikkkkhfkk krikttqktk kqrk
```

【図４５】

クロモドメイン ヘリカーゼ ＤＮＡ結合タンパク質１
NP_001261
ホモ サピエンス

```
   1 mnghsdeesv rnssgessqs dddsgsasgs gsgsssgsss dgssqsgsss dsdsgsesgs
  61 qsesesdtsr enkvqakppk vdgaefwkss psilavqrsa ilkkqqqqqq qqqhqassns
 121 gseedssssse dsdddsssevk rkkhkdedwq msgsgspsqs gsdseseeer ekssddetes
 181 dyepknkvks rkpqnrsksk ngkkilgqkk rqidsseedd deedydndkr ssrrqatvnv
 241 sykedeemkt dsddllevcg edvpqpeeee fetierfmdc rigrkgatga tttiyavead
 301 gdpnagfekn kepgeiqyli kwkgwshihn tweteetlkq qnvrgmkkld nykkkdqetk
 361 rwlknasped veyyncqqel tddlhkqyqi veriiahsnq ksaagypdyy ckwqglpyse
 421 cswedgalis kkfqacidey fsrnqskttp fkdckvlkqr prfvalkkqp syigghegle
 481 lrdyqlngln wlahswckgn sciladem gl gktiqtisfl nylfhehqly gpfllvvpls
 541 tltswqreiq twasqmnavv ylgdinsrnm irthewthhq tkrlkfnill ttyeillkdk
 601 aflgglnwaf igvdeahrlk nddsllyktl idfksnhrll itgtplqnsl kelwslihfi
 661 mpekfsswed feeehgkgre ygyaslhkel epfllrrvkk dvekslpakv eqilrmemsa
 721 lqkqyykwil trnykalskg skgstsgfln immelkkccn hcylikppdn nefynkqeal
 781 qhlirssgkl illdkllirl rergnrvlif sqmvrmldil aeylkyrqfp fqrldgsikg
 841 elrkqaldhf naegsedfcf llstragglg inlasadtvv ifdsdwnpqn dlqaqarahr
 901 igqkkqvniy rlvtkgsvee dilerakkkm vldhlviqrm dttgktvlht gsapssstpf
 961 nkeelsailk fgaeelfkep egeeqepqem dideilkrae thenepgplt vgdellsqfk
1021 vanfsnmded dieleperns knweeiiped qrrrleeeer qkeleeiyml prmrncakqi
1081 sfngseqrrs rsrrysqsds dsiseqkrpk krgrprtipr enikgfsdae irrfiksykk
1141 fggplerlda iardaelvdk setdlrrlge lvhngcikal kdsssgtert ggrlgkvkgp
1201 tfrisgvqvn aklvisheee liplhksips dpeerkqyti pchtkaahfd idwgkeddsn
1261 lligiyeygy gswemikmdp dlslthkilp ddpdkkpqak qlqtradyli kllsrdlakk
1321 ealsgagssk rrkarakknk amksikvkee iksdssplps eksdedddkl sesksdgrer
1381 skkssvsdap vhitasgepv piseeseeld qktfsicker mrpvkaalkq ldrpekglse
1441 reqlehtrqc likigdhite clkeytnpeq ikqwrknlwi fvskftefda rklhklykha
1501 ikkrqesqqn sdqnsnlnph virnpdverl kentnhddss rdsyssdrhl tqyhdhhkdr
1561 hqgdsykksd srkrpyssfs ngkdhrdwdh ykqdsryysd rekhrklddh rsrdhrsnle
1621 gslkdrshsd hrshsdhrlh sdhrsseyt hhkssrdyry hsdwqmdhra sssgprspld
1681 qrspygsrsp fehsvehkst pehtwssrkt
```

【図４６Ａ】

死誘導因子オブリテレータ１アイソフォームｃ
NP_149072
ホモ サピエンス

```
   1 mddkgdpsne eapkaikpts kefrktwgfr rttiakrega gdaeadplep pppqqqlgls
  61 lrrsgrqpkr terveqflti arrrgrrsmp vsledsgept scpatdaeta segsvesase
 121 trsgpqsast avkerpasse kvkggddhdd tsdsdsdqlt lkelqnrlrr kreqepterp
 181 lkgiqsrlrk krreegpaet vgseasdtve gvlpskqepe ndqgvvsqag kddreskleg
 241 kaaqdikdee pgdlgrpkpe cegydpnaly cicrqphnnr fmiccdrcee wfhgdcvgis
 301 eargrllern qedyicpnct ilqvqdeths etadqqeakw rpgdadqtdc tsigtieqks
 361 sedqgikgri ekaanpsgkk klkifqpvie apgaskciqp qcchvaqpds vycsndcilk
 421 haaatmkfls sqkeqkpkpk ekmkmkpekp slpkcgaqag ikissvhkrp apekkettvk
 481 kavvvparse algkeaaces stpswasdhn ynavkpekta apspsllyks tkedrrseek
 541 aaamaaskkt appgsavgkq paprnlvpkk ssfanvaaat paikkppsgf kqtipkrpwl
 601 satpssgasa arqagpapaa ataaskkfpq saalvgavrk pvvpsvpmas papgrlgams
 661 aapsqpnsqi rqnirrslke ilwkrvndsd dlimtenevg kialhiekem fnlfqvtdnr
 721 ykskyrsimf nlkdpknqgl fhrvlreeis laklvrlkpe elvskelstw kerparsvme
 781 srtklhnesk ktaprqeaip dledsppvsd seeqqesara vpekstapll dvfssmlkdt
 841 tsqhrahlfd lnckictgqv psaedepapk kqklsasvkk edlkskhdss apdpapdsad
 901 evmpeavpev asepglesas hpnvdrtyfp qppqdqhpep spledlspcp ascgsgvvtt
 961 vtvsgrdprt apsssctava saasrpdsth mvearqdvpk pvltsvmvpk silakpsssp
1021 dprylsvpps pnistsesrs ppegdttlfl srlstiwkgf inmqsvakfv tkaypvsgcf
1081 dylsedlpdt ihiggriapk tvwdyvgklk ssvskelcli rfhpateeee vayislysyf
1141 ssrqrfgvva nnnrhvkdly liplsaqdpv psklipfegp glesprpnii lglvicqkik
1201 rpansgeldk mdekrtrlqp eeadvpaypk vatvpqsekk pskyplcsad aavsttppqs
1261 pppppplpep pvlkvlsslk paapspataa ttaaaastaa sstassaskt asplehilqt
1321 lfqkkksfdp sareppgsta glpqepktta edqvpappll dpivqqfgqf skdkaleeee
1381 ddrpydpeee ydperafdtq lvergrrhev erapeaaaae reevaydped etileeakvt
1441 vddlpnrmca dvrrnsverp aepvagaatp slveqqkmle elnkqieeqk rqleeqeeal
1501 rqqraavgvs mahfsvsdal mspppkssip kaelfqqeqq sadkpaslpp asqasnhrdp
1561 rqarrlatet qegegeplsr lsarqaqgal perdasrggl vgqapmpvpe ekepasspwa
1621 sgekppagse qdgwkaepge gtrpatvgds sarparrvll ptppcgalqp qfplqhdger
1681 dpftcpgfas qdkalgsaqy edprnlhsag rssspagete gdrepqarpg egtaplpppg
1741 qkvgqsqppf qgqrepgpha lgmsglhgpn fpgprqpapp fpeeniasnd gprgppparf
1801 gaqkqpipsl fsgqhgpppy gdsrgpspsy lqqprgvaps qfeerkdphg ekrefqdapy
```

【図４６Ｂ】

```
1861 nevtgapaqf egteqapflg srggapfqfg gqrrpllsql kgprggppps qfgggrgppp
1921 ghfvgprgph psqfetargp hpnqfegprg qapnfmpgpr qiqpqqfedq rvhsppрftn
1981 qrapaplqfg glrgsapfse kneqtpsrfh fqgqapqvmk pgprpllelp shppqhrkdr
2041 weeagppsal sssapgqgpe adgqwasadf regkgheyrn qtfegrqrer fdvgpkekpl
2101 eepdaqgras edrrrererg rnwsrerdwd rprewdrhrd kdssrdwdrn rersanrdre
2161 readrgkewd rsrersrnre rerdrrrdrd rsrsrerdrd kardrergrd rkdrskskes
2221 ardpkpeasr asdagtasqa
```

【図４７】

タンパク質Ｄｒ１、転写の下方制御因子
NP_001929

```
  1 masssgnddd ltipraaink miketlpnvr vandarelvv ncctefihli sseaneicnk
 61 sekktispeh viqaleslgf gsyisevkev lqecktvalk rrkassrlen lgipeeellr
121 qqqelfakar qqqaelaqqe wlqmqqaaqq aqlaaasasa snqagssqde eddddi
```

【図４８】

初期増殖応答タンパク質１
NP_001955
ホモ サピエンス

```
  1 maaakaemql msplqisdpf gsfphsptmd nypkleemml lsngapqflg aagapegsgs
 61 nsssssggg gggggsnss sssstfnpqa dtgeqpyehl taesfpdisl nnekvlvets
121 ypsqttrlpp itytgrfsle papnsgntlw peplfslvsg lvsmtnppas sssapspaas
181 sasasqsppl scavpsndss piysaaptfp tpntdifpep qsqafpgsag talqypppay
241 paakggfqvp mipdylfpqq qgdlglgtpd qkpfqglesr tqqpsltpls tikafatqsg
301 sqdlkalnts yqsqlikpsr mrkypnrpsk tppherpyac pvescdrrfs rsdeltrhir
361 ihtgqkpfqc ricmrnfsrs dhltthirth tgekpfacdi cgrkfarsde rkrhtkihlr
421 qkdkkadksv vassatssls sypspvatsy pspvttsyps pattsypspv ptsfsspgss
481 typspvhsqf pspsvattys svppafpaqv ssfpssavtn sfsastglsd mtatfsprti
541 eic
```

【図４９】

ETS 関連転写因子Elf-2
NP_973728
ホモ サピエンス

```
  1 mtsavvdsgg tilelssngv enqeesekvs eypavivepv psarleqgya aqvlvyddet
 61 ymmqdvaeeq evetenvetv easvhssnah ctdktieaae allhmesptc lrdsrspefi
121 haamrpdvit etvvevstee sepmdtspip tspdshepmk kkkvgrkpkt qqspisngsp
181 elgikkkpre gkgnttylwe flldllqdkn tcpryikwtq rekgifklvd skavsklwgk
241 hknkpdmnye tmgralryyy qrgilakveg qrlvyqfkdm pknivviddd ksetcnedla
301 gttdeksler vslsaesllk aassvrsgkn sspincsrae kqvarvvnit spghdassrs
361 ptttasvsat aaprtvrvam qvpvvmtslg qkistvavqs vnagaplits tspttatspk
421 vviqtiptvm pastengdki tmqpakiiti patqlaqcql qtksnltgsg sinivgtpla
481 vraltpvsia hgtpvmrlsm ptqqasgqtp prvisavikg pevkseavak kqehdvktlq
541 lveekpadgn ktvthvvvvs apsaialpvt mkteglvtce k
```

【図５０】

エストロゲン受容体
NP_001116212
ホモ サピエンス

```
  1 mtmtlhtkas gmallhqiqg neleplnrpq lkiplerplg evyldsskpa vynypeqaay
 61 efnaaaaana qvyggtglpy gpgseaaafg snglggfppl nsvspsplml lhpppqlspf
121 lqphgqqvpy ylenepsgyt vreagppafy rpnsdnrrqg grerlastnd kgsmamesak
181 etrycavcnd yasgyhygvw scegckaffk rsiqghndym cpatnqctid knrrkscqac
241 rlrkcyevgm mkggirkdrr ggrmlkhkrq rddgegrgev gsagdmraan lwpsplmikr
301 skknslalsl tadqmvsall daeppilyse ydptrpfsea smmglltnla drelvhminw
361 akrvpgfvdl tlhdqvhlle cawleilmig lvwrsmehpg kllfapnlll drnqgkcveg
421 mveifdmlla tssrfrmmnl qgeefvclks iillnsgvyt flsstlksle ekdhihrvld
481 kitdtlihlm akagltlqqq hqrlaqllli lshirhmsnk gmehlysmkc knvvplydll
541 lemldahrlh aptsrggasv eetdqshlat agstsshslq kyyitgeaeg fpatv
```

【図５１】

ジンクフィンガー及びBTBドメイン含有タンパク質7A
NP_056982
ホモ サピエンス

```
  1 maggvdgpig ipfpdhssdi lsglneqrtq gllcdvvilv egrefpthrs vlaacsqyfk
 61 klftsgavvd qqnvyeidfv saealtalmd faytatltvs tanvgdilsa arlleipavs
121 hvcadlldrq ilaadaqada gqldlvdqid qrnllrakey leffqsnpmn slppaaaaaa
181 asfpwsafga sdddldatke avaaavaava agdcngldfy gpgppaerpp tgdgdegdsn
241 pglwperded aptgglfppp vappaatqng hygrggeeea aslseaapep gdspgflsga
301 aegedgdgpd vdglaastll qqmmssvqra gaaaqdsdee sraddkqvmd yylkyfsgah
361 dgdvypawsq kvekkiraka fqkcpicekv iqgagklprh irthtgekpy ecnickvrft
421 rqdklkvhmr khtgekpylc qqcgaafahn ydlknhmrvh tglrpyqcds ccktfvrsdh
481 lhrhlkkdgc ngvpsrrgrk prvrggapdp spgatatpga paqpsspdar rngqekhfkd
541 edededvasp dglgrlnvag aggggdsggg pgaatdgnft agla
```

【図５２】

four and a half LIMドメインタンパク質1
NP_001153174
ホモ サピエンス

```
  1 maekfdchyc rdplqgkkyv qkdghhcclk cfdkfcantc vecrkpigad skevhyknrf
 61 whdtcfrcak clhplanetf vakdnkilcn kcttredspk ckgcfkaiva gdqnveykgt
121 vwhkdcftcs nckqvigtgs ffpkgedfyc vtchetkfak hcvkcnkait sggityqdqp
181 whadcfvcvt cskklaqqrf tavedqyycv dcyknfvakk cagcknpitg krtvsrvshp
241 vskarkppvc hgkrlpltlf psanlrgrhp ggertcpswv vvlyrknrsl aaprgpglvk
301 apvwwpmkdn pgtttastak nap
```

【図５３】

フォークヘッドボックスタンパク質P3
NP_054728
ホモ サピエンス

```
  1 mpnprpgkps apslalgpsp gaspswraap kasdllgarg pggtfqgrdl rggahassss
 61 lnpmppsqlq lptlplvmva psgarlgplp hlqallqdrp hfmhqlstvd ahartpvlqv
121 hplespamis ltppttatgv fslkarpglp pginvaslew vsrepallct fpnpsaprkd
181 stlsavpqss ypllangvck wpqcekvfee pedflkhcqa dhlldekgra qcllqremvq
241 sleqglvlek eklsamqahl agkmaltkas svassdkgsc civaaqsqgp vvpawsgpre
301 apdslfavrr hlwgshgnst fpeflhnmdy fkfhnmrppf tyatlirwai leapekqrtl
361 neiyhwftrm faffrnhpat wknairhnls lhkcfvrves ekgavwtvde lefrkkrsqr
421 psrcsnptpg p
```

【図５４】

GA結合タンパク質アルファ鎖
NP_001184226
ホモ サピエンス

```
  1 mtkreaeeli eieidgteka ecteesiveq tyapaecvsq aidinepign lkklleprlq
 61 csldaheicl qdiqldpers lfdqgvktdg tvqlsvqvis yqqiepklni leivkpadtv
121 evvidpdahh aeseahlvee aqvitldgtk hittisdets eqvtrwaaal egyrkeqerl
181 gipydpiqws tdqvlhwvvw vmkefsmtdi dlttlnisgr elcslngedf fqrvprgeil
241 wshlellrky vlasqeqqmn eivtidqpvq iipasvqsat pttikvinss akaakvqrap
301 risgedrssp gnztgnngqi qlwqfllell tdkdardcis wvgdegefkl nqpelvaqkw
361 gqrknkptmn yeklsralry yydgdmickv qgkrfvykfv cdlktligys aaelnrlvte
421 ceqkklakmq lhgiaqpvta valataslqt ekdn
```

【図５５】

肝白血病因子
NP_002117
ホモ サピエンス

```
   1 mekmsrplpl nptfipppyy vlrsllenpl kiplhhedaf skdkdkekkl ddensptvp
  61 qsaflgptlw dktlpydgdt fqleymdlee flsengipps psqhdnsphp pglqpassaa
 121 psvmdlssra saplhpgips pncmqspirp gqllpanrnt pspidpdtiq vpvgyepdpa
 181 dlalssipgq emfdpnkrkf seeelkpgpm ikkarkvfip ddlkddkywa rrrknmaak
 241 rsrdarrlke nqiaiasfl ekensalrqe vadlrkelgk cknllakyea rhgpl
```

【図５６】

ホメオドメイン単独タンパク質
NP_001138932
ホモ サピエンス

```
   1 mnifllgcyrr rleeragtms aetasgpted qveileynfn kvdkhpdstt lcliaaeagl
  61 seeetqgsdl isrskiwhpe sspqreqyph dslpciafdy fsllrpqcke nv
```

【図５７】

DNA結合タンパク質インヒビターID-1
NP_002156
ホモ サピエンス

```
   1 mkvasgstat aaagpscalk agktasqage vvrclseqsv aiszcaggag arlpaldeg
  61 qvnvllydmn gcysrlkelv ptlpqnrkvs kveilqhvid yirdlqieln sesevgtpgg
 121 rglpvrapls tingeisait aeaacvpadd rllcr
```

【図５８】

DNA結合タンパク質インヒビターID-2
NP_002157
ホモ サピエンス

```
   1 mkafspvrsv rknsldshsl gisrsktpvd dpmellynnn dcyekikelv psipgnkkvs
  61 kmeilqhvid yildlqiaid shptivslhh qrpgqnqasr tplttlntdi silslqasef
 121 pseimsndsk alcg
```

【図５９】

インターフェロン制御因子１
NP_002189
ホモ サピエンス

```
  1 mpitrmrmrp wlemqinsnq ipgliwinke emifqipwkh aakhgwdink daclfrswai
 61 htgrykagek epdpktwkan frcamnslpd ieevkdqsrn kgssavrvyr mlppltknqr
121 kerkskssrd akskakrksc gdsspdtfsd glssstlpdd hssytvpgym qdleveqalt
181 palspcavss tlpdwhipve vvpdstsdly nfqvspmpst seattdedee gklpedimkl
241 leqsewqptn vdgkgyllne pgvqptsvyg dfsckeepei dspggdigls lqrvftdlkn
301 mdatwldsll tpvrlpsiqa ipcap
```

【図６０】

クルッペル様因子１２
NP_009180
ホモ サピエンス

```
  1 mnihmkrkti knintfenrm lmldgmpavr vktelleseq gspnvhnypd meavplllnn
 61 vkgeppedsl svdhfqtqte pvdlsinkar tsptavsssp vsmtasassp sststsssss
121 srlassptvi tsvssassss tvltpgplva sasgvggqqf lhiihpvpps spmnlqsnkl
181 shvhripvvv qsvpvvytav rspgnvnnti vvplledgrg hgkaqmdprg lsprasksds
241 ddddlpnvtl dsvnetgsta lsiaravqev hpspvsrvrg nrmnnqkfpc sispfsiest
301 rrqrrsespd srkrrihrcd fegcnkvytk sshlkahrrt htgekpykct wegctwkfar
361 sdeltrhyrk htgvkpfkca dcdrsfsrsd hlalhrrrhm lv
```

【図６１】

LIMドメイン結合タンパク質１
NP_001106878
ホモ サピエンス

```
  1 msvgcacpgc ssksfklysp keppngnafp pfhpgtmldr dvgptpmypp tylepgigrh
 61 tpygnqtdyr ifelnkrlqn wteecdnlww daftteffed damltitfcl edgpkrytig
121 rtlipryfrs ifeggately yvlkhpkeaf hsnfvsldcd qgsmvtqhgk pmftqvcveg
181 rlylefmfdd mmriktwhfs irqhrelipr silamhaqdp qmldqlskni trcglsnstl
241 nylrlcvile pmqelmsrhk tyslsprdcl ktclfqkwqr mvappaeptr qqpskrrkrk
301 msggstmssg ggntnnsnsk kkspastfal ssqvpdvmvv geptlmggef gdederlitr
361 lentqfdaan giddedsfnn spalganspw nskppssqes ksenptsqas q
```

【図６２】

LIM/ ホメオボックスタンパク質 Lhx1
NP_005559
ホモ サピエンス

```
  1 mvhcagckrp ildrfllnvl drawhvkcvq cceckcnlte kcfsregkly ckndffrcfg
 61 tkcagcaqgi spsdlvrrar skvfhlncft cmmcnkqlst geelyiiden kfvckedyls
121 nssvakensl hsattgsdps lspdsqdpsq ddakdsesan vsdkeagsne nddgnlgakr
181 rgprttikak qletlkaafa atpkptrhir eqlaqetgln mrviqvwfqn rrskerrmkq
241 lsalgarrha ffrsprrmrp lvdrlepgel ipngpfsfyg dygseyygpg gnydffpqgp
301 pssqaqtpvd lpfvpssgps gtplgglehp lpghhpssea qrftdilahp pgdspspeps
361 lpgplhsmsa evfgpsppfs slsvnqgasy gnhlshppem neaavw
```

【図６３】

ジンクフィンガー転写因子 E2S-VP64
AAZ80416
合成

```
  1 maqaalepge kpyacpecgk sfstsgslvr hqrthtgekp ykcpecgksf srndaltehq
 61 rthtgekpyk cpecgksfss kkhlaehqrt htgekpyacp ecgksfstsg elvrhqrtht
121 gekpykcpec gksfsrsdkl vrhqrthtge kpykcpecgk sfsrsdhlte hqrthtgkkt
181 sgqaggaspk kkrkvgrada lddfdldmlg sdalddfdld mlgsdalddf dldmlgsdal
241 ddfdldmlin ypydvpdyas
```

【図６４】

GAL4 DNA 結合ドメイン
AAF20318
合成

```
  1 mkllssieqa cdicrlkklk cskekpkcak clknnwecry spktkrsplt rahltevesr
 61 lerleqlfll ifpredldmi lkmdslqdik alltglfvqd nvnkdavtdr lasvetdmpl
121 tlrqhrisat ssseessnkg qrqltvs
```

【図６５】

シグナル伝達兼転写活性化因子３
NP_644805
ホモ サピエンス

```
  1 maqwnqlqql dtryleqlhq lysdsfpmel rqflapwies qdwayaaske shatlvfhnl
 61 lqeidqqysr flqesnvlyq hnlrrikqfl qsrylekpme iarivarclw eesrllqtaa
121 taaqgggqan hptaavvtek qqmleqhlqd vrkrvqdleq kmkvvenlqd dfdfnyktlk
181 sqgdmqdlng nnqsvtrqkm qqleqmltal dqmrrsivse laqllsamey vqktltdeel
241 adwkrrqqia ciggppnicl drlenwitsl aesqlqtrqq ikkleelqqk vsykgdpivq
301 hrpmleeriv elfrnlmksa fvverqpcmp mhpdrplvik tgvqfttkvr llvkfpelny
361 qlkikvcidk dsqdvaalrg srkfnilgtn tkvmnmeesn nqslsaefkh ltlreqrcgn
421 ggrancdasl ivteelhlit fetevyhqgl kidlethslp vvvisnicqm pnawasilwy
481 nmltnnpknv nfftkppigt wdqvaevlsw qfssttkrql sieqlttlae kllgpgvnys
541 gcqitwakfc kenmagkgfs fwvwldniid lvkkyilalw negyimgfis kererailst
601 kppgtfllrf sesskeggvt ftwvekdisg ktqiqsvepy tkqqlnnmsf aeiimgykim
661 datnilvspl vylypdipke eafgkycrpe sqehpeadpg saapylktkf icvtpttcsn
721 tidlpmsprt ldslmqfgnn gegaepsagg qfesltfdme ltsecatspm
```

【図６６】

Myc
NP_002458
ホモ サピエンス

```
  1 mdffrvvenq qppatmplnv sftnrnydld ydsvqpyfyc deeenfyqqq qqselqppap
 61 sediwkkfel lptpplspsr rsglcspsyv avtpfslrgd ndggggsfst adqlemvtel
121 lggdmvnqsf icdpddetfi kniiiqdcmw sgfsaaaklv seklasyqaa rkdsgspnpa
181 rghsvcstss lylqdlsaaa secidpsvvf pyplndsssp kscasqdssa fspssdslls
241 stesspqqsp eplvlheetp pttssdseee qedeeeidvv svekrqapgk rsesgspsag
301 ghskpphspl vlkrchvsth qhnyaappst rkdypaakrv kldsvrvlrq isnnrkctsp
361 rssdteenvk rrthnvlerq rrnelkrsff alrdqipele nnekapkvvi lkkatayils
421 vqaeeqklis eedllrkrre qlkhkleqlr nsca
```

【図６７】

ASCL1
GenBank NP_004307
ホモ サピエンス

```
  1 messakmesg gagqqpqpqp qqpflppaac ffataaaaaa aaaaaaaqsa qqqqqqqqqq
 61 qqapqlrpaa dgqpsggghk sapkqvkrqr ssspelmrck rrlnfsgfgy slpqqqpaav
121 arrnerernr vklvnlgfat lrehvpngaa nkkmskvetl rsaveyiral qqlldehdav
181 saafqaqvls ptispnysnd lnsmaqspvs syssdegsyd plspeeqell dftnwf
```

【図６８】

CDX2
GenBank NP_001256
ホモ サピエンス

```
  1 myvsylldkd vsmypssvrh sgglnlapqn fvsppqypdy qgyhvaaaaa aaanldsaqs
 61 pgpswpaayg aplredwngy apggaaaaan avahglnggs paaamgyssp adyhphhhph
121 hhphhpaaap scasgllqtl npgppgpaat aaaeqlspgg qrrnlcewmr kpaqqslgsq
181 vktrtkdkyr vvytdhqrle lekefhysry itirrkaela atlglserqv kiwfqnrrak
241 erkinkkklq qqqqqqppqp pppppqppqp qpgplrsvpe plspvsslqa svsqsvpgvl
301 gptggvlnpt vtq
```

【図６９】

CREB1
GenBank NP_604391
ホモ サピエンス

```
  1 mtmesgaenq qsgdaavtea enqqmtvqaq pqiatlaqvs mpaahatssa ptvtlvqlpn
 61 gqtvqvhgvi qaaqpsviqs pqvqtvqssc kdlkrlfsgt qistiaesed sqesvdsvtd
121 sqkrreilsr rpsyrkilnd lssdapgvpr ieeekseeet sapaittvtv ptpiyqtssg
181 qyiaitqgga iqlanngtdg vqglqtltmt naaatqpgtt ilqvaqttdg qqilvpsnqv
241 vvqaasgdvq tyqirtapts tiapgvvmas spalptqpae eaarkrevrl mknreaarec
301 rrkkkeyvkc lenrvavlen qnktlieelk alkdlychks d
```

【図７０】

CTNNB1
GenBank NP_001091680
ホモ サピエンス

```
  1 matqadlmel dmamepdrka avshwqqqsy ldsgihsgat ttapslsgkg npeeedvdts
 61 qvlyeweqgf sqsftqeqva didgqyamtr aqrvraamfp etldegmqip stqfdaahpt
121 nvqrlaepsq mlkhavvnli nyqddaelat raipeltkll ndedqvvvnk aavmvhqlsk
181 keasrhaimr spqmvsaivr tmqntndvet arctagtlhn lshhreglla ifksggipal
241 vkmlgspvds vlfyaittlh nlllhqegak mavrlagglq kmvallnktn vkflaittdc
301 lqilaygnqe skliilasgg pqalvnimrt ytyekllwtt srvlkvlsvc ssnkpaivea
361 ggmqalglhl tdpsqrlvqn clwtlrnlsd aatkqegmeg llqtlvqllg sddinvvtca
421 agilsnltcn nyknkmmvcq vggiealvrt vlragdredi tepaicalrh ltsrhqeaem
481 aqnavrlhyg lpvvvkllhp pshwplikat vglirnlalc panhaplreq gaiprlvqll
541 vrahqdtqrr tsmggtqqqf vegvrmeeiv egctgalhil ardvhnrivi rglntiplfv
601 qllyspieni qrvaagvlce laqdkeaaea ieaegatapl tellhsrneg vatyaaavlf
661 rmsedkpqdy kkrlsvelts slfrtepmaw netadlgldi gaqgeplgyr qddpsyrsfh
721 sggygqdalg mdpmmehemg ghhpgadypv dglpdlghaq dlmdglppgd snqlawfdtd
781 l
```

【図７１】

EOMES
GenBank NP_005433
ホモ サピエンス

```
   1 mqlgeqllvs svnlpgahfy plesargggg gsaqhlpsaa pspqkiddik askkfsgsls
  61 ceavsgepaa asagspaaml sdtdqgdafa saaavakpgp pdgrkgspcg eeelpsaaaa
 121 aaaaaaaaaa tarysmdsls serylqspq pqgsslaapc slfpyqaaag aphgpvypap
 181 ngarypygsm lppggrpaav cppgraqfgp gagagsgagg ssgggggpgt ygygqgaply
 241 gpypgaaaag scggiggigv pgsgfrahvy icnrplwlkf hrhqtemiit kqgrmfpfl
 301 sfninglnpt ahynvfvevv ladpnhwrfq ggkwvtcgka dnnmqgnkny vhpespntgs
 361 hwmrqeisfg kiklnnnkga nnnntqmlvl gslhkyqprl hivevtedgv edlnepskfq
 421 tftfsetcqfi avtayqntdi tqlkidhnpf akgfrdnyds shqivpggry gvqsffpepf
 481 vntlpqaryy ngertvpqtn gllspvqgee vanppqrwlv tpvqqpgtnk ldissysesy
 541 tsstlpygi ksiplqtsha lgyypdptfp amagwqgrgs yqrkmaaqlp wtsrtsptvf
 601 sedqlskekv keeigsswie tppsikslds ndsgvvteac krrrlspsns snenspsikc
 661 edinaeeysk dtskgmgyyy afyttp
```

【図７２】

Fos
GenBank NP_005243
ホモ サピエンス

```
   1 mmfsgfnady eassrcssa spagdslsyy hspadsfssm gspvnaqdfc tdlavssanf
  61 iptvtaists pdlqwlvqpa ivssvapsqt raphpfqvpa psagaysrag vvktmtggra
 121 qsigrqgkve qlspeeeekr rirrernkma aakcnrrre ltdtlqaetd qledeksalq
 181 teianilkek eklefiiaah rpackipddl gfpeemsvas ldlqgglpev atpeseaft
 241 lplingdepk psvepvksis smelktepfd dflfpasrp sgsetarsvp dmdlsgsfya
 301 adweplhsgs lgmgpmatel eplctpvvtc tpsctaytss fvftypeads fpscaaahrk
 361 gssspgpssd slsspllal
```

【図７３】

GATA3
GenBank NP_001002295
ホモ サピエンス

```
   1 mevtadqprw vahhhpavln ggapdthhpg lshsymdaaq yplpeevdvl fnidgqgnhv
  61 ppyygnsvra tvgryppthn gsqvcrppll hgslpwldgg kalgshhtas pwnlspfskt
 121 slhhgspgpl svypaasss lsgghasphl ftfpptppkd vspdpslstp gsqgsarqde
 181 keclkyqvpl psmkiessfn srgsntalgg asstthpit typpyvpeys sgifppssll
 241 ggsptgfgck srpkarssse grecvncgat stplwrrdgt ghylcnacgl yhkmngqnrp
 301 likpkrrlsa arragtscan cqttttilwr rnangdpvcn acglyykihn inrpltmkke
 361 gigtrnrkms skskkckkvn gsledfpkns sfnpaalsrh mssishispf shsshmlttp
 421 tpmhppssls fgphhpssmv tamg
```

【図７４】

HOXA1
GenBank NP_005513
ホモ サピエンス

```
   1 mdnarmnsfl eypissgds qtcsarayps dhrittfqsc avsansccgqd drflvgrqvq
  61 igspkhhhhh hhhhqpary qtsgnlgvsy shscqpsyyg sgnfsapysp yalnqeadvs
 121 ggyrqcapav ysgnissgmv qhhhhhqqya ggavgspqyi hhsyygqehqs lalatynnsl
 181 splhashgea crspasetss paqtfdwmkv krnppktgkv geyqylgqpn avrtnfttkg
 241 ltelekefhf nkyltrarrv eiaaslqlne tqvkiwfqnr rmkqkkreke gllpispatp
 301 pgndekaees seksssspcv pspgsstsdt ittsh
```

【図７５】

IRF7
GenBank NP_004022
ホモ サピエンス

```
  1 mpvperpaag pdsprpgtrr aaprvlfgew llgeissgcy eglqwldear tcfrvpwkhf
 61 arkdlseada rifkawavar grwppssrgg gpppeaetae ragwktnfrc alrstrrfvm
121 lrdnsgdpad phkvyalsre lcwregpgtd qteaeapaav pppqggppgp flahthaglq
181 apgplpapag dkgdillqav qqscladhll taswgadpvp tkapgegqeg lpltgacagg
241 pglpagelyg wavettpspg pqpaalttge aaapesphqa epylspspsa ctavqepspg
301 aldvtimykg rtvlqkvvgh psctflygpp dpavratdpq qvafpspael pdqkglryte
361 ellrhvapgl hlelrgpqlw arrmgkckvy wevggppgsa spstpacllp rncdtpifdf
421 rvffqelvef rarqrrgspr ytiylgfgqd lsagrpkeks lvlvklepwl crvhlegtqr
481 egvssldsss lslclssans lyddiecflm eleqpa
```

【図７６】

JUN
GenBank NP_002219 XP_002342128 XP_002345384 XP_002346430
ホモ サピエンス

```
  1 mtakmettfy ddalnasflp sesgpygysn pkilkqsmtl nladpvgslk phlraknsdl
 61 ltspdvgllk laspelerli iqssnghitt tptptqflcp knvtdeqegf aegfvralae
121 lhsqntlpsv tsaaqpvnga gmvapavasv aggsgsggfs aslhseppvy anlsnfnpga
181 lssgggapsy gaaglafpaq pqqqqqpphh lpqqmpvqhp rlqalkeepq tvpempgetp
241 plspidmesq erikaerkrm rnriaaskcr krkleriarl eekvktlkaq nselastanm
301 lreqvaqlkq kvmnhvnsgc qlmltqqlqt f
```

【図７７】

MEF2D
GenBank NP_005911
ホモ サピエンス

```
  1 mgrkkiqiqr itdernrqvt ftkrkfglmk kayelsvlcd ceialiifnh snklfqyast
 61 dmdkvllkyt eynephesrt nadiietlrk kgfnqcdspe pdgedsleqs plledkyrra
121 seeldglfrr ygstvpapnf ampvtvpvsn qsslqfsnps gslvtpslvt ssltdprlls
181 pqqpalqrns vspglpqrpa sagamlggdl nsangacpsp vgngyvsara spgllpvang
241 nslnkvipak sppppthstq lgapsrkpdl rvitsqagkg lmhhltedhl dlnnaqrlqv
301 sqsthslttp vvsvatpsll sqglpfssmp tayntdyqlt saelsslpaf sspgglslgn
361 vtawqqpqqp qqpqqpqppq qqppqpqqpq pqqpqqpqqp pqqqshlvpv slsnlipgsp
421 lphvgaaltv tthphisiks epvspsrers pappppavfp aarpepgdql sspaggsyet
481 gdrddgrgdf gptlgllrpa pepeaegsav krmrldtwtl k
```

【図７８】

NEUROD1
GenBank NP_002491

```
  1 mtksysesgl mgepqpqgpp swtdeclssq deeheadkke ddleamnaee dslrnggeee
 61 dededleeee eeeeedddqk pkrrgpkkkk mtkarlerfk lrrmkanare rnrmhglnaa
121 ldnlrkvvpc ysktqklski etlrlaknyi walseilrsg kspdlvsfvq tlckglsqpt
181 tnlvagclql nprtflpeqn qdmpphlpta sasfpvhpys yqspglpspp ygtmdsshvf
241 hvkppphays aalepffesp ltdctspsfd gplspplsin gnfsfkheps aefeknyaft
301 mhypaatlag aqshgsifsg taaprceipi dnimsfdshs hhervmsaql naifhd
```

【図７９】

NFAT
GenBank AAC50869
ホモ サピエンス

```
   1 mtqledqefd feflfdfngr degaaaaape hygyaasnvs palplptahs tlpapchnlq
  61 wdsvlapgag ptawaslrlq esprvaelts lsdedsgkgs qppspgpgap sssfsstvss
 121 leaeayaafp glqgvpkqla qiseakdlqa rkafnckycn keylslgalk mhirshtlpc
 181 vcgtcgkafs rpwllqghvr thtgekpfsc phcgrafadr snlrahlqth sdvkkvqcqa
 241 cartfsrmel lkkhqesgcs qcpr
```

【図８０】

NF$_K$B
AAF35232
ホモ サピエンス

```
   1 maeddpylgr peqmfhldps lthtifnpev fqpqmalptd qpvlqileqp kqrqfrfryv
  61 cegpshqglp gasseknkks ypqvkicnyv qpakvivqlv tngkniiha hslvgkhced
 121 gictvtaqpk dmvvqfanlg ilhvtkkkvf etlearmtea cirgvnpqll vhpdlaylqa
 181 egqqdrqlqd rekelirqaa lqqtkemdls vvrlmftafl pdsigsfrrr lepvvsdaiy
 241 dskapnasnl kivrmdrtag cvtggeeiyi lcdkvqkddi qirfyeeeen ggvwegfgdf
 301 sptdvhrqfa ivfktckykd initkpasvf vqlrrksdle tsepkpflyy peikdkeevq
 361 rkrqaklmqnf sdsfgpqsga gaqqqgmfgs qqqqgtqtst qpqysfphyg fptyggtifh
 421 pgttksnagm kngtmdtesk kdpegcdksd dkntvnlfgk vietteqdge pseatvgnge
 481 vtityatgtk eesagvqdnl flekamqlak ihanaifdya vtgdvkmlla vqrnltavqd
 541 enydsvihla iihlhsqlvr dllevtsgii sddinmrnd lyqcpihlav itkqedvved
 601 llraqadisl idrlqnsvlh laakeghdkv lsillkhkka alldhpnqd glnaihlamm
 661 snslpclill vaagadvnaq eqksgrtalh lavehdnisl agcllegda hvdsttydgt
 721 tphliaagrg srllaillka agadpivenf eplydlddsw enaqedegvv pgttplamat
 781 swqvfdling kpvepeftsd dllagqdmkq laedvklqly klleipdpdk nwatlaqklg
 841 iqllnnafrl spapstlmds nyevsggtvr elvealrqmq yteaievlqa asppvkttsq
 901 ahslplspas trqqldelrd sdsvcdsgve tsfrkisfte sitsgaslit lnkmphdygq
 961 eggleqkl
```

【図８１】

SNAI1
GenBank NP_005976
ホモ サピエンス

```
   1 mprsflvrkp sdpnrkpnys elqdsnpeft fqqpydqahl laalppeil nptaslpmli
  61 wdsvlapgag ptawaslrlq esprvaelts lsdedsgkgs qppspgpgap sssfsstvss
 121 leaeayaafp glqgvpkqla qiseakdlqa rkafnckycn keylslgalk mhirshtlpc
 181 vcgtcgkafs rpwllqghvr thtgekpfsc phcgrafadr snlrahlqth sdvkkvqcqa
 241 cartfsrmel lkkhqesgcs qcpr
```

【図８２】

STAT1
GenBank
ホモ サピエンス

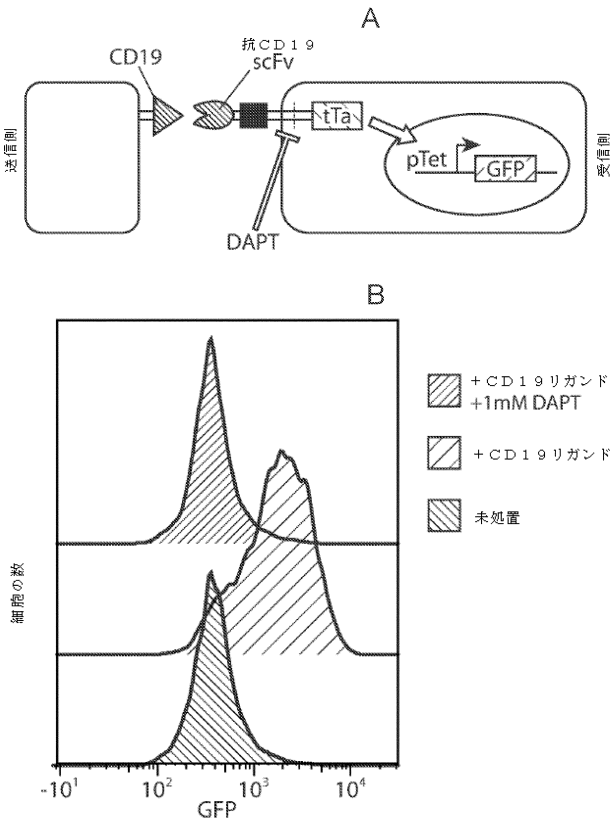
```
   1 msqwyelqql dskfleqvhq lydqsfpmei rqylaqwlek qdwehaandv sfatirfhdl
  61 lsqidpsysr fqlennflfq hnirksknrl qdnfqedpiq msmaiysclk eezkilenaq
 121 rfnqagsgni qstvmldkqk eldskvrnvk dkvmciehei ksleqlqdey dfkcktlqnr
 181 ehetngvaks dqkpqqilik kmylmldnkr kevvhkilel lnvteltqna lindelvewk
 241 rqqqsaciqg ppnacldqiq nwftivaesl qqvrqqlkkl eelegkytye hdpitknkqv
 301 lwdrtfslfq qliqssfvve rqpcmptmpq rplvlktgvq ftvklrlivk lqelnynlkv
 361 kvifdkdvne rntvkgfrkf nilghthtkvm nmeestngsl aaeirhlqik eqknaqtrtn
 421 egplivteel hslsfetqlc qpglvidlet tslvvvvisn vsqlpsgwas ilwynmlvae
 481 prnlsffltp pgarwaqlse vlswqfssvt krqlnvdqln mlgekligpn aspdqlipwt
 541 rfckenindk nfpfwlwles ilellkkhll plwndqcimg fiskerral lkdqqptfll
 601 lrfsessreq aitftwverq qnqgepdfha vepytkkkels avtfpdiirn ykvmaaenip
 661 enplkylypn idkdhafgky ysrpkeapep meldqpkgtg yiktelisvs evhpsrlqtt
 721 dnlipmspee fdevsrivgs vefdsmmntv
```

【図８３】

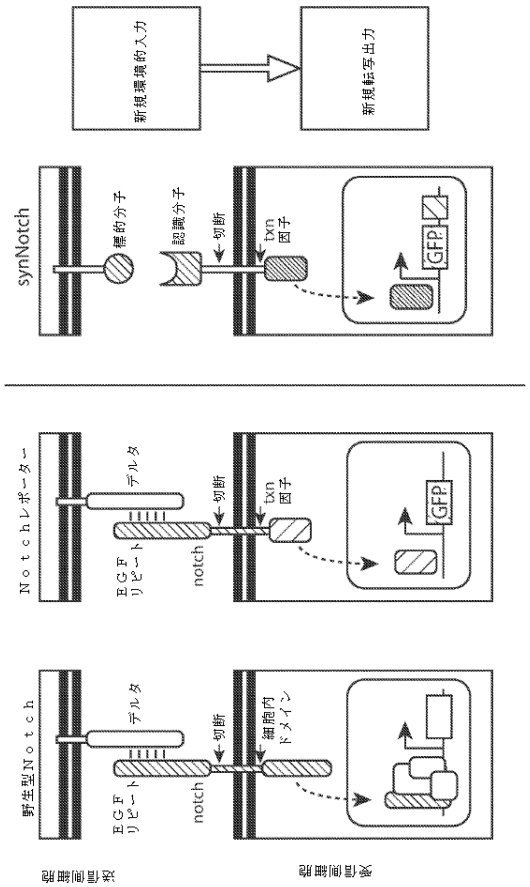
TEAD1
GenBank NP_068780 XP_933107 XP_945859
ホモ サピエンス

```
   1 mepsesvgse spaenmerms dsadkpidnd aegvvspdie qsfqealaiy ppcqrrkiil
  61 sdegkmygrn eliaryiklr tqkttrlrkgv sshiqvlarr ksrdfnsiik dqtakdkalq
 121 hmaamssaqi vsatahnkl qlpqipipff pqapqafwpgm iqtqqpgssq dvkpfvqqay
 181 piqpavtapi pgfepasapa psvpawqqrs igttkirlve fsafleqqrd pdsynkhifv
 241 highanhsys dplesvdir qiydkfpekk gglkelfqkg pqnafflvkf wadlncniqd
 301 dagafvgvts qyessennttv tcsatkvcssfg kqvvekvete yarfengtfv yrinrspmce
 361 ymnfihkik hipekymmns vienftillv vtnrdtqetl icmacvfevs nsehgaphi
 421 yrlvkd
```

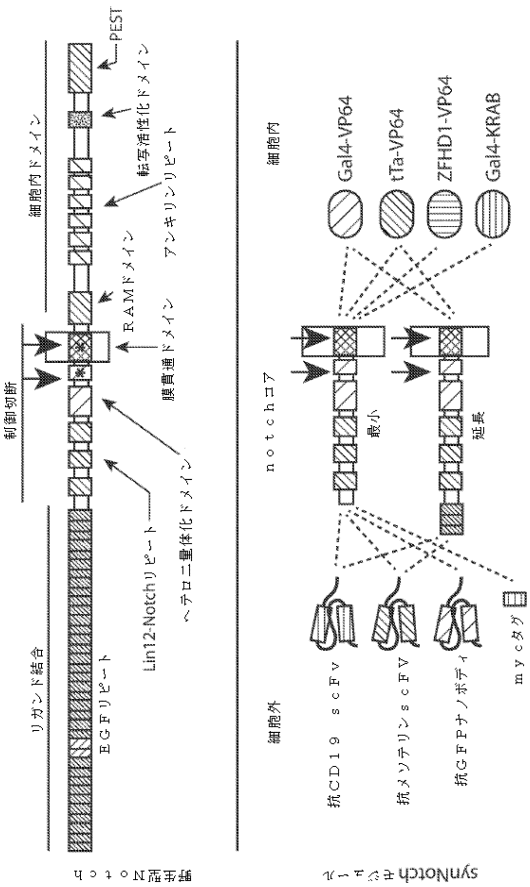
【図８４】



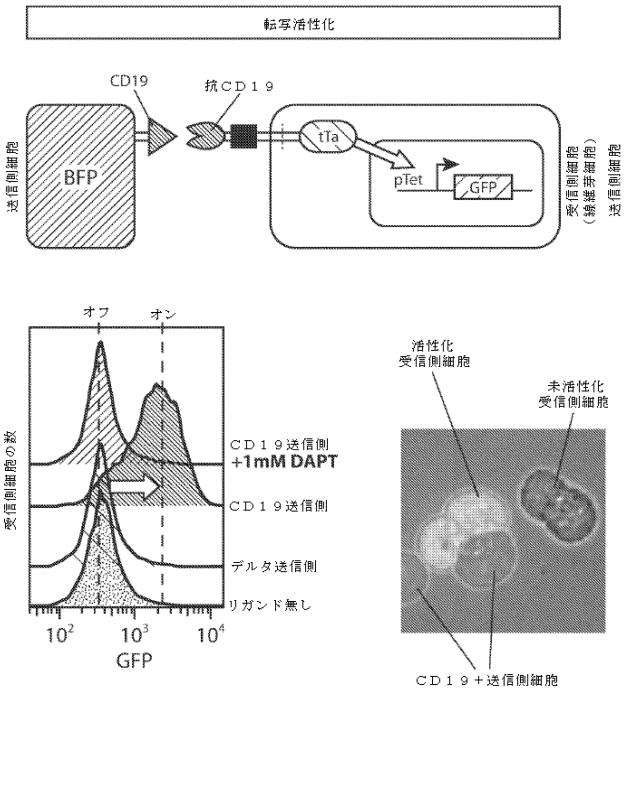
【図８５Ａ】



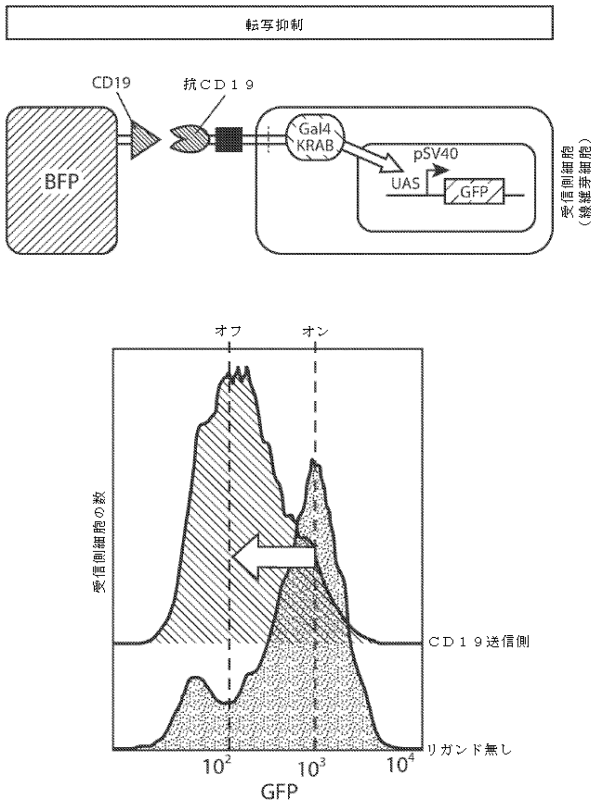
【図８５Ｂ】



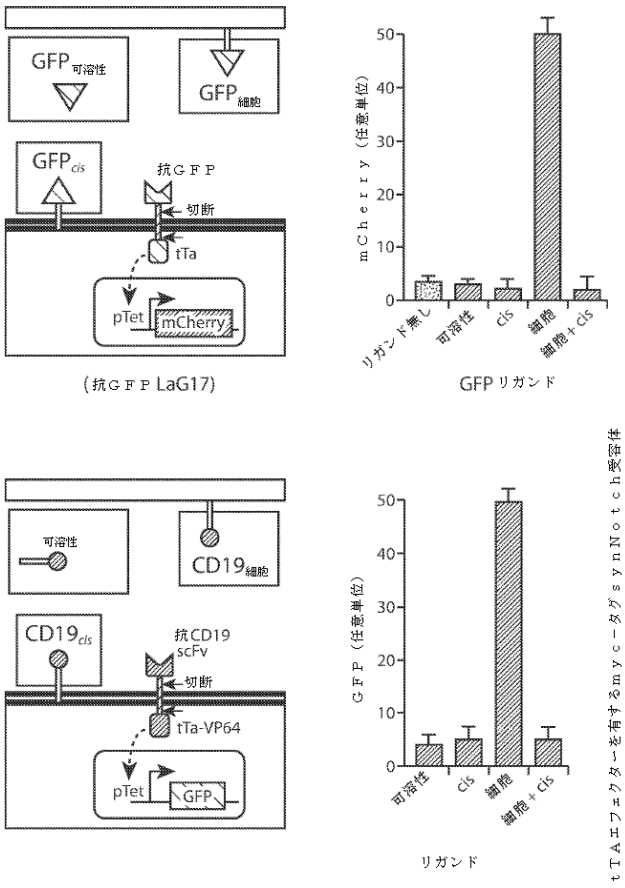
【図８６Ａ】



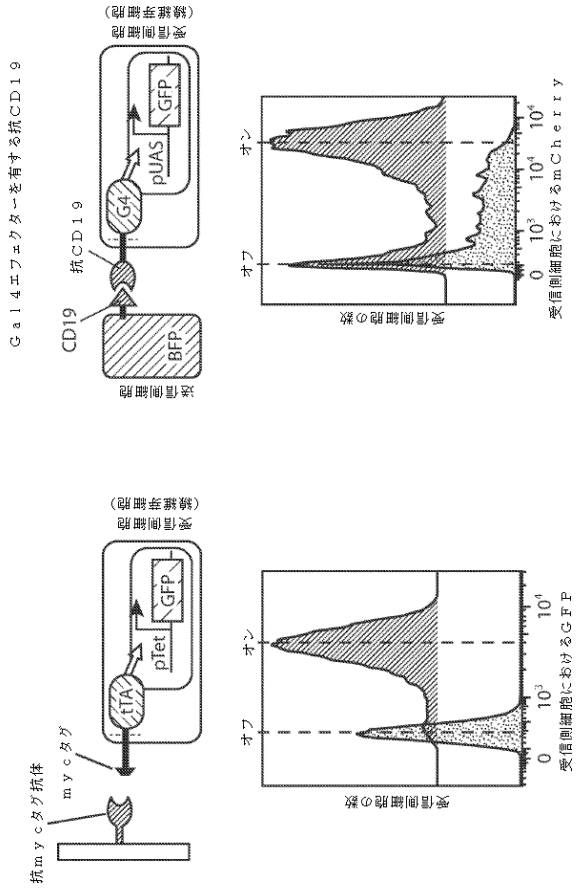
【図８６Ｂ】



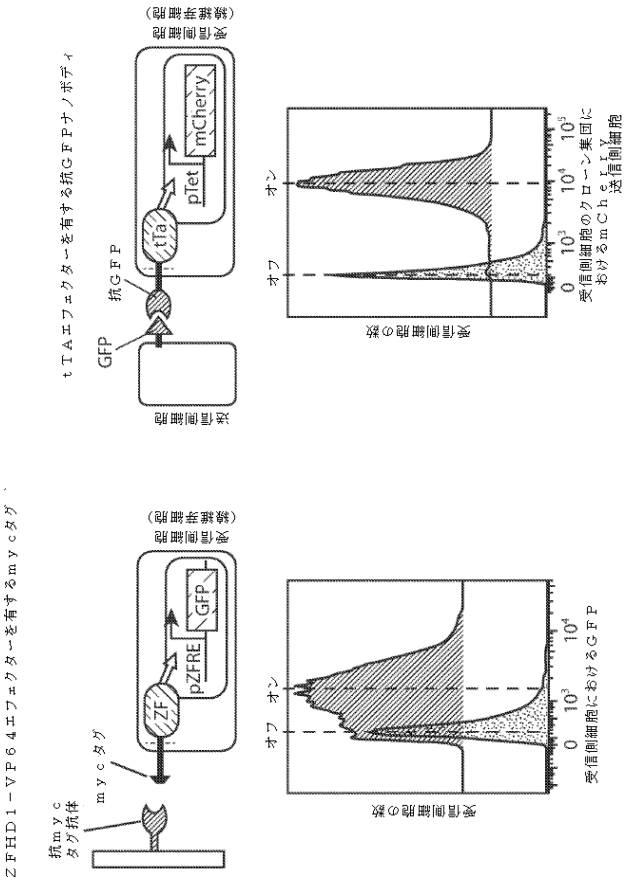
【図８６Ｃ】



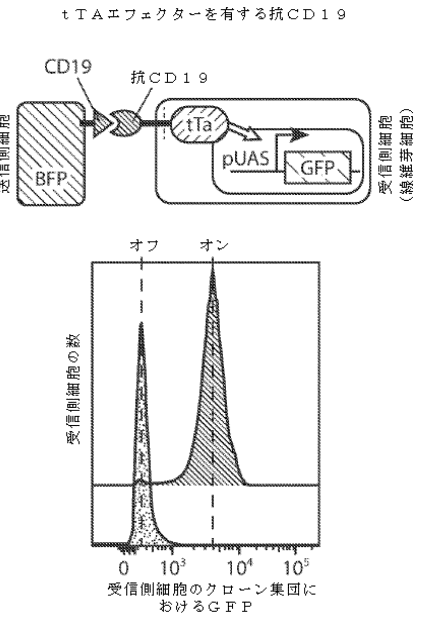
【図８７Ａ－１】



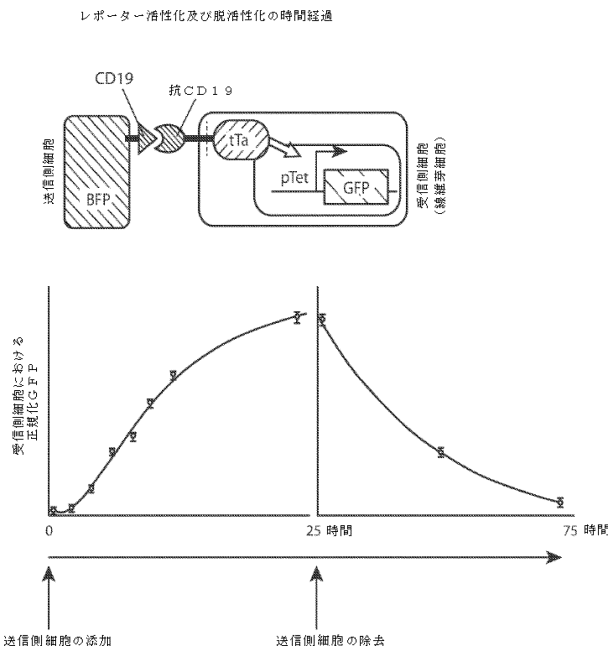
【図８７Ａ－２】



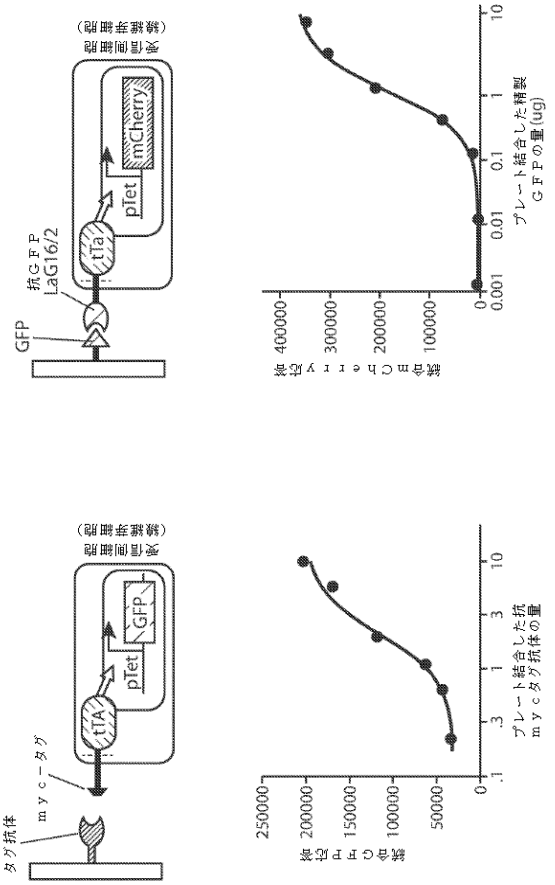
【図８７Ａ－３】



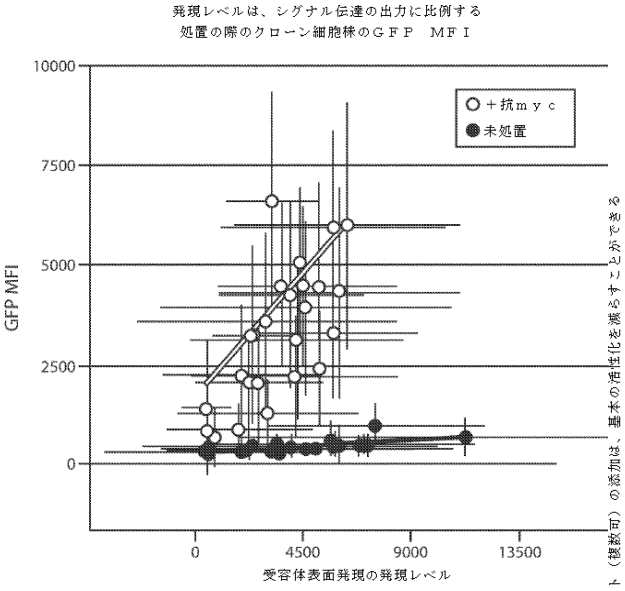
【図８７Ｂ】



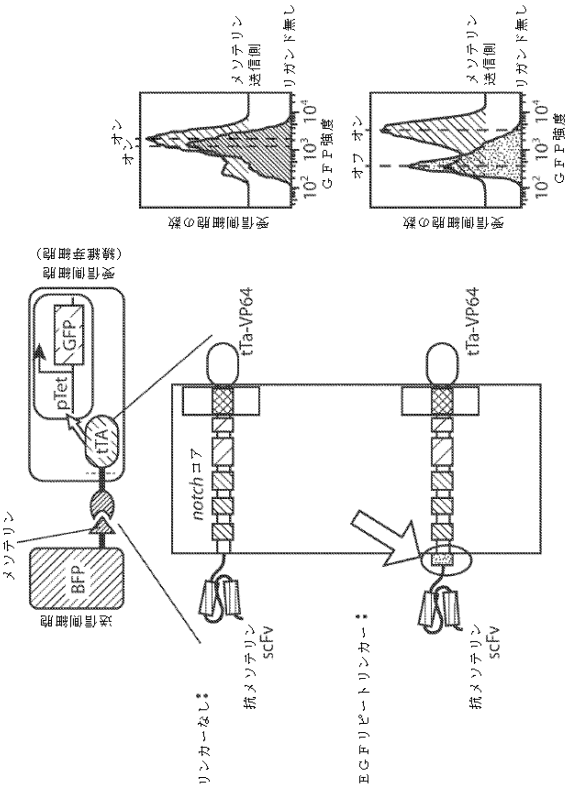
【図８７Ｃ】



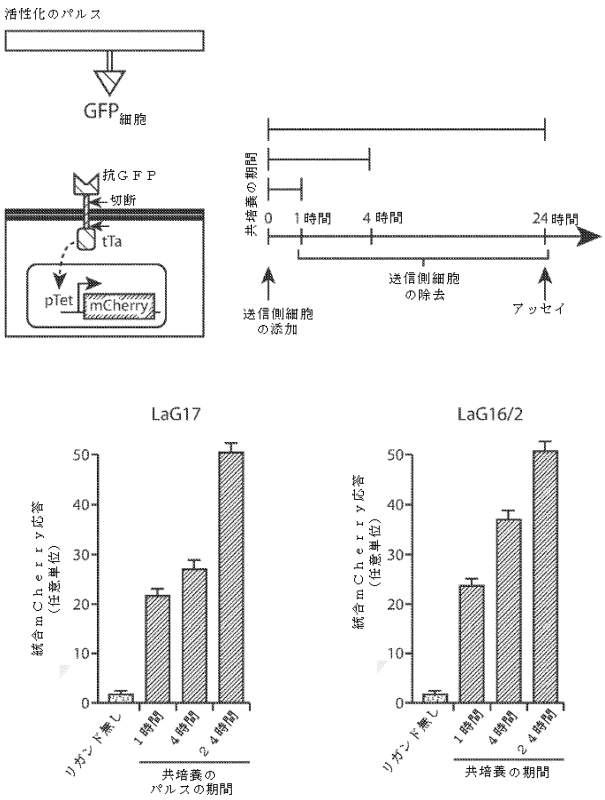
【図８７Ｄ】



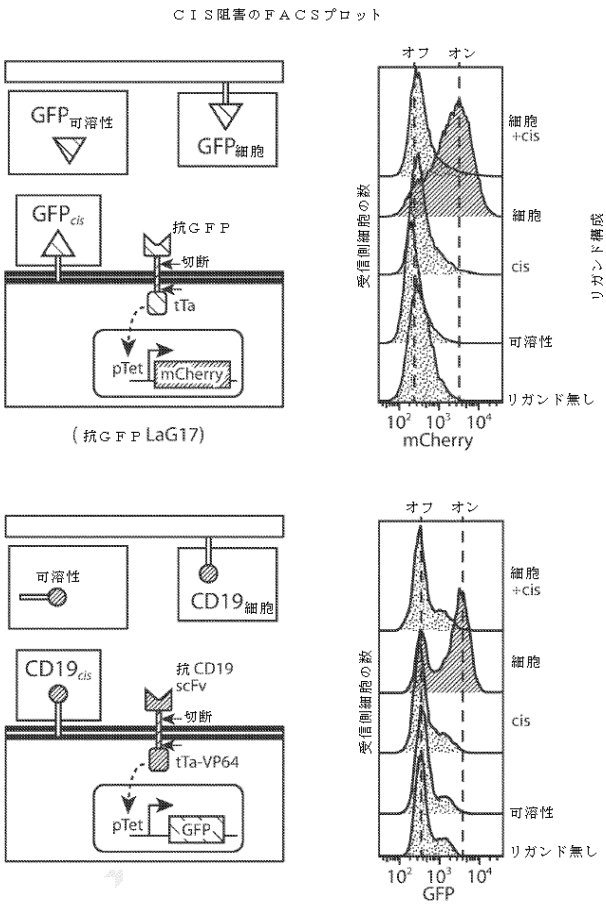
【図８８Ａ】



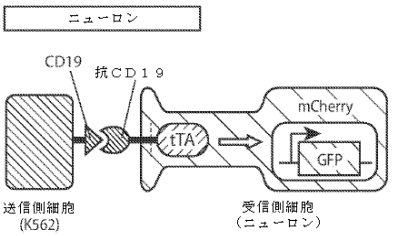
【図８８Ｂ】



【図８８Ｃ】

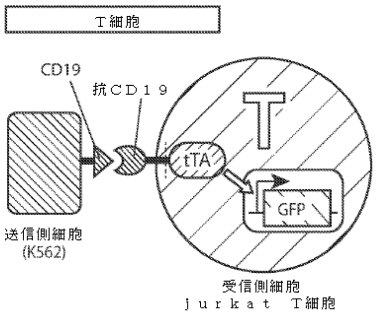


【図８９Ａ】

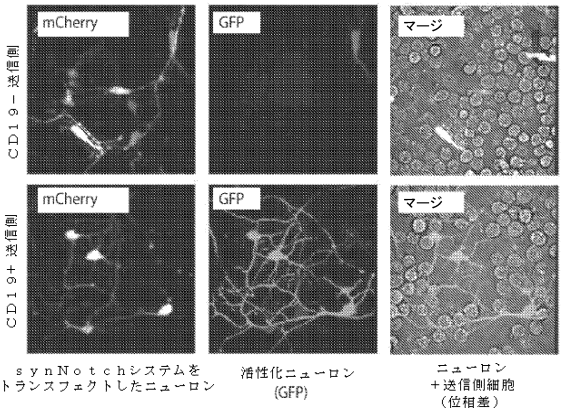


Ｅ１８ラット海馬ニューロンと ＣＤ19+またはＣＤ19−Ｋ５６２細胞と を共播種（３日間）

【図８９Ｂ】



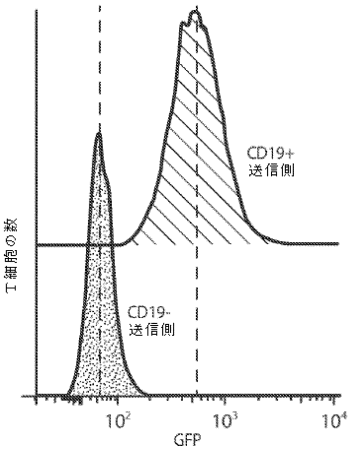
ＪｕｒｋａｔＴ細胞と ＣＤ１９＋またはＣＤ１９−Ｋ５６２細胞と
を共培養(24時間)



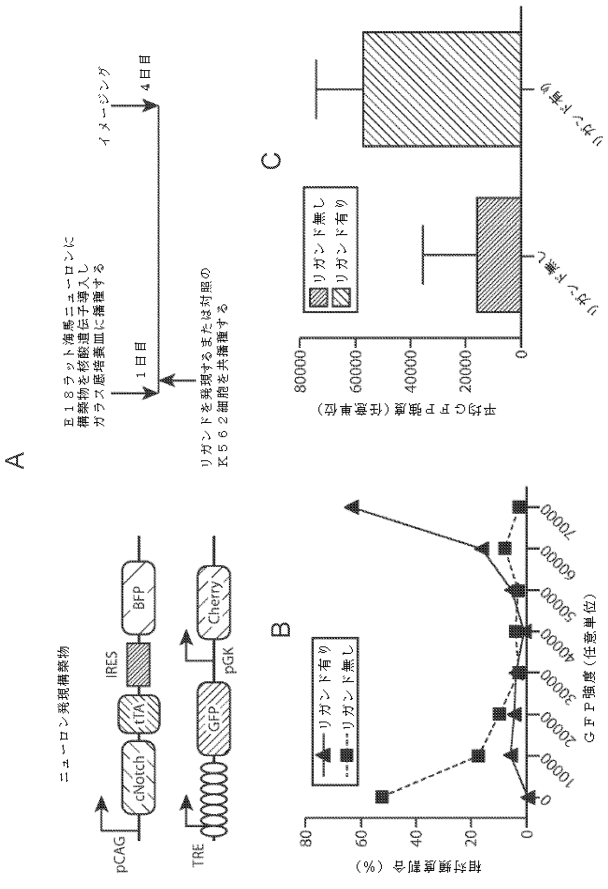
ｓｙｎＮｏｔｃｈシステムを
トランスフェクトしたニューロン

活性化ニューロン
(GFP)

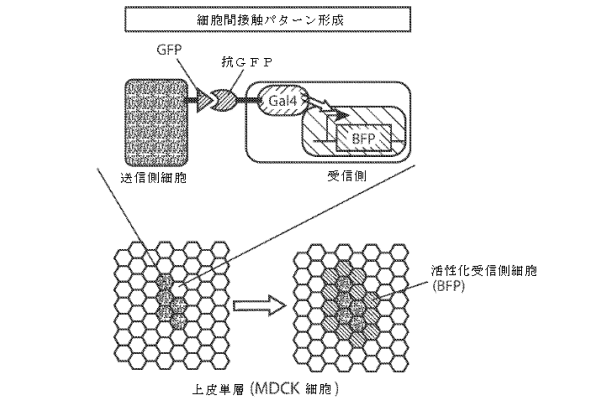
ニューロン
＋送信側細胞
（位相差）

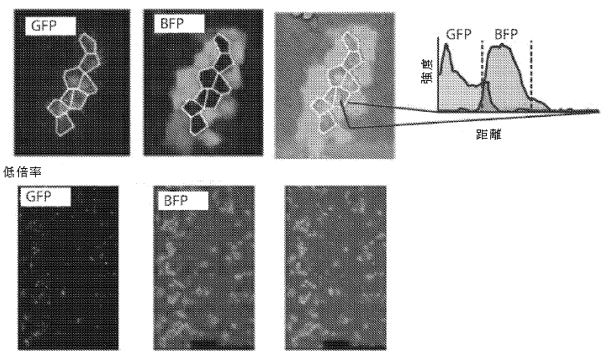


【図９０】

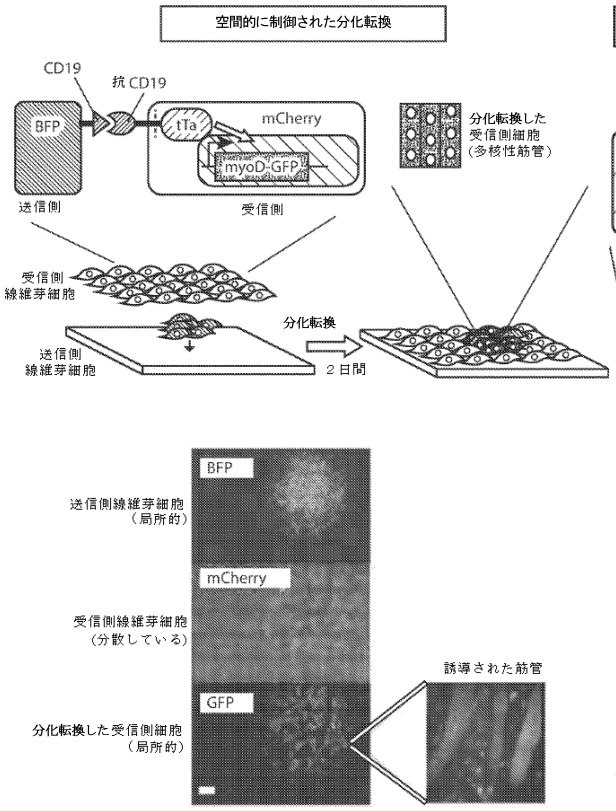


【図９１Ａ】

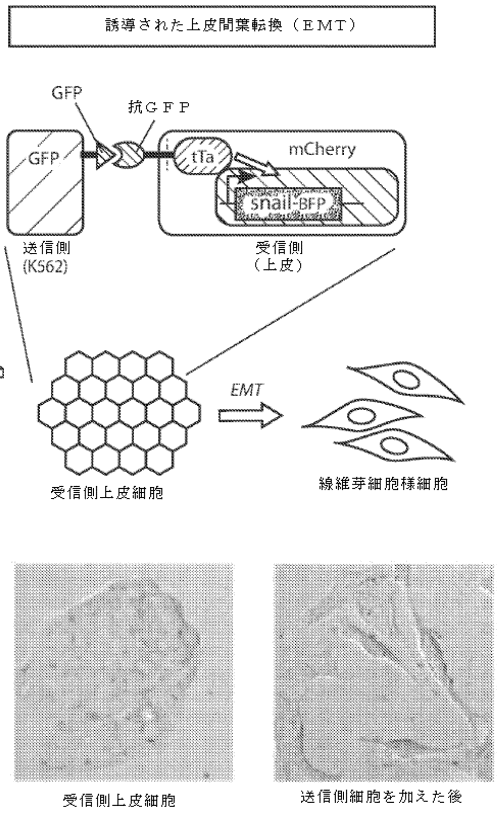




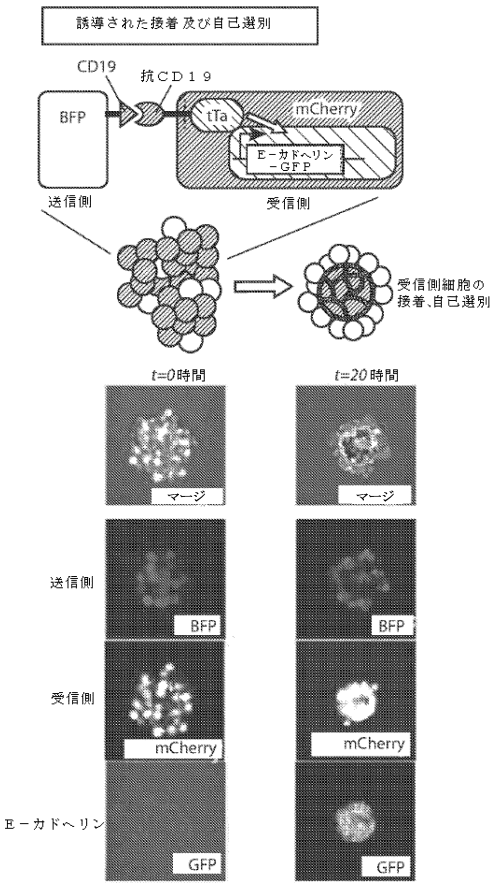
【図９１Ｂ】



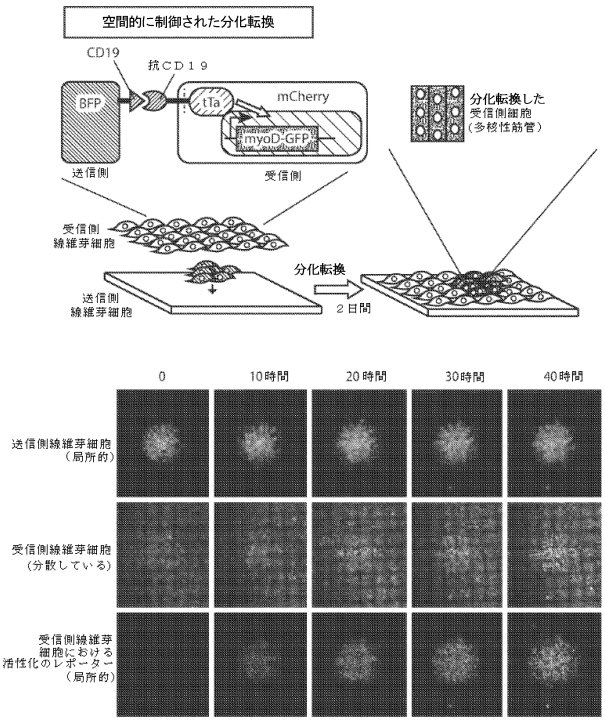
【図９１Ｃ】



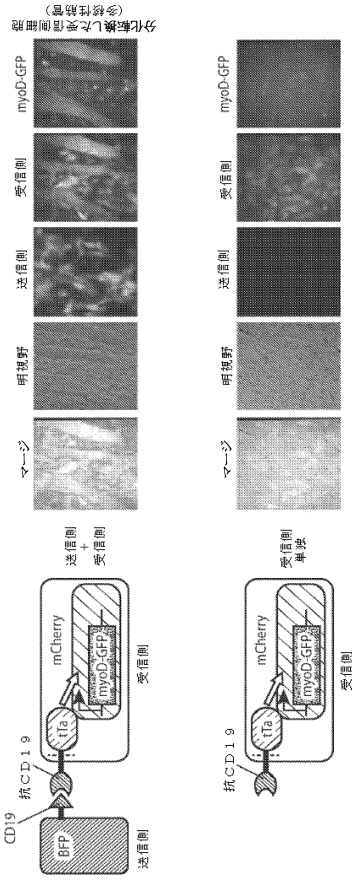
【図９１Ｄ】



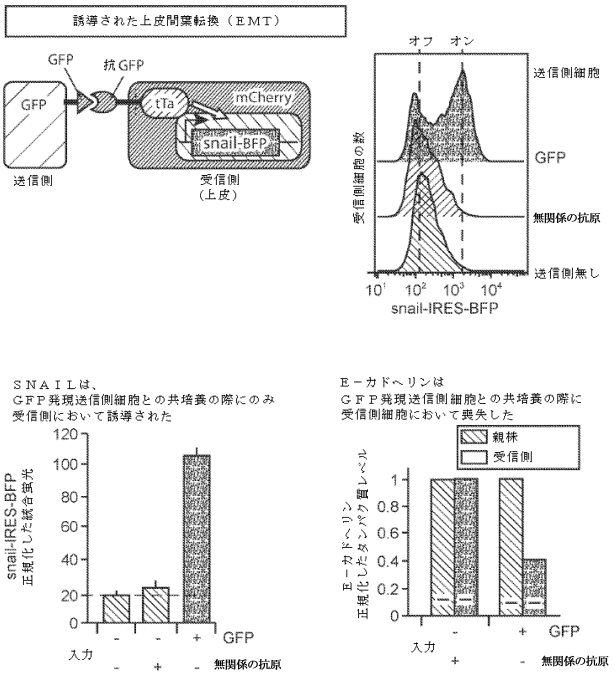
【図９２Ａ－１】



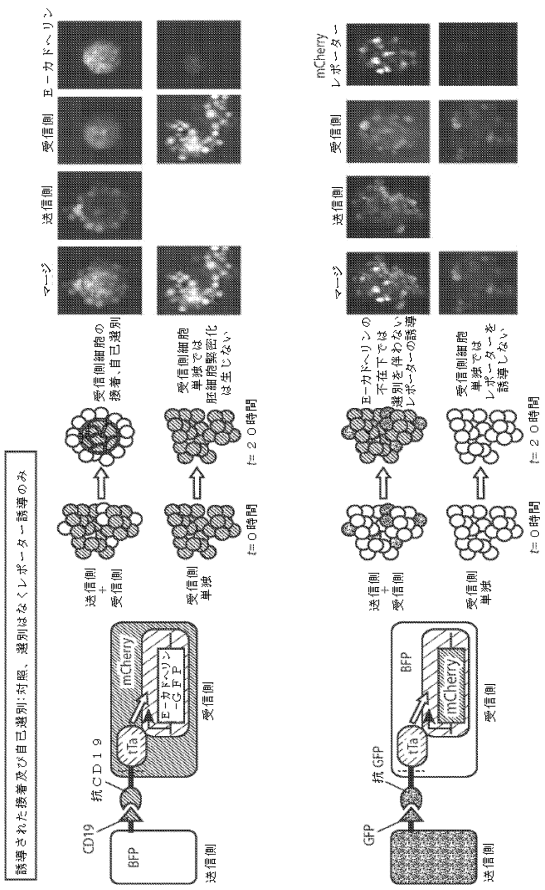
【図９２Ａ－２】



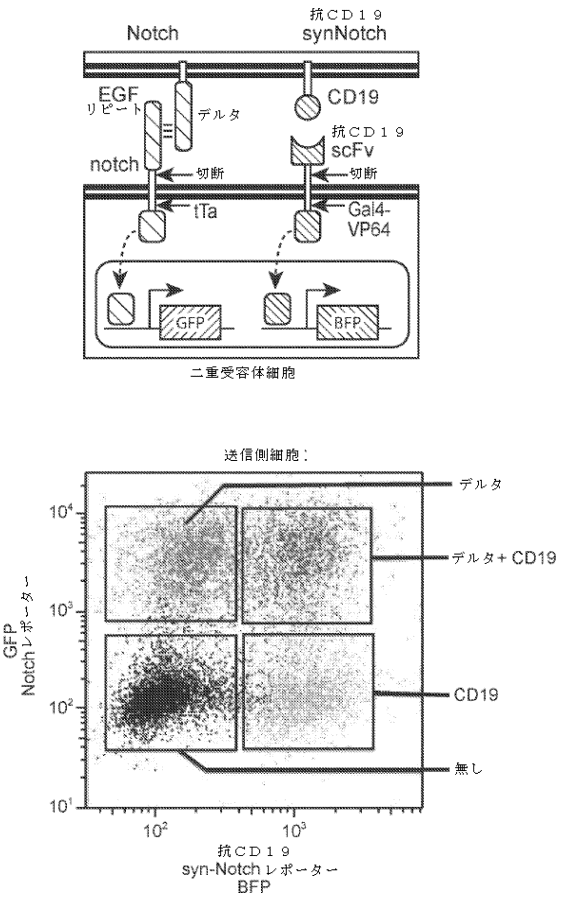
【図９２Ｂ】



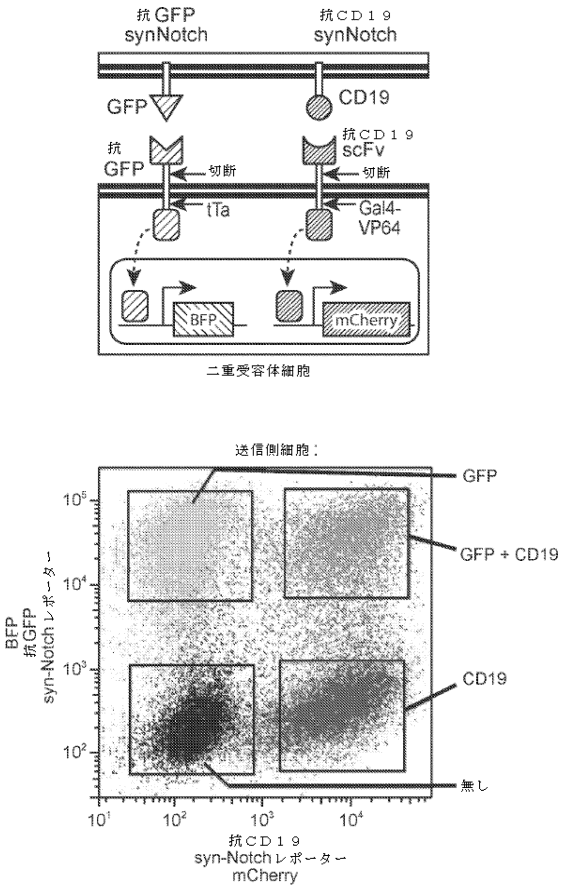
【図９２Ｃ】



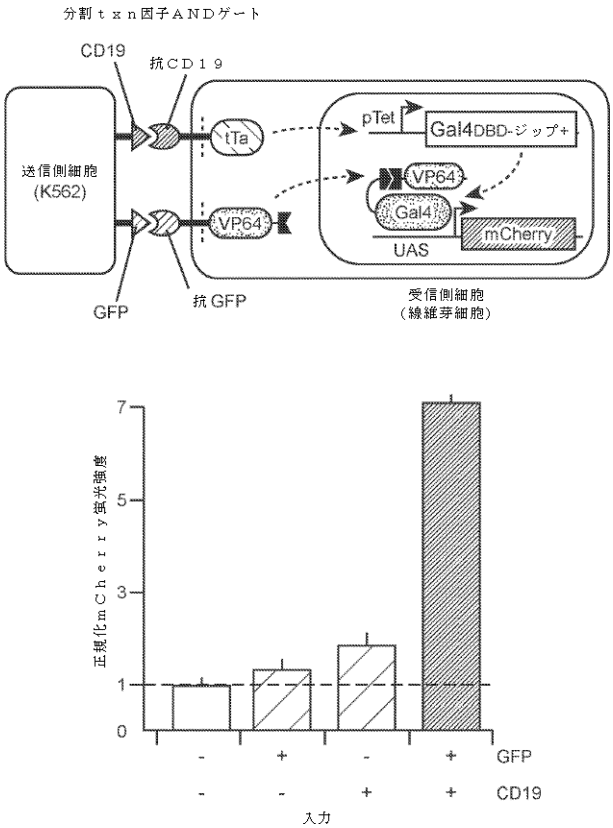
【図９３Ａ】



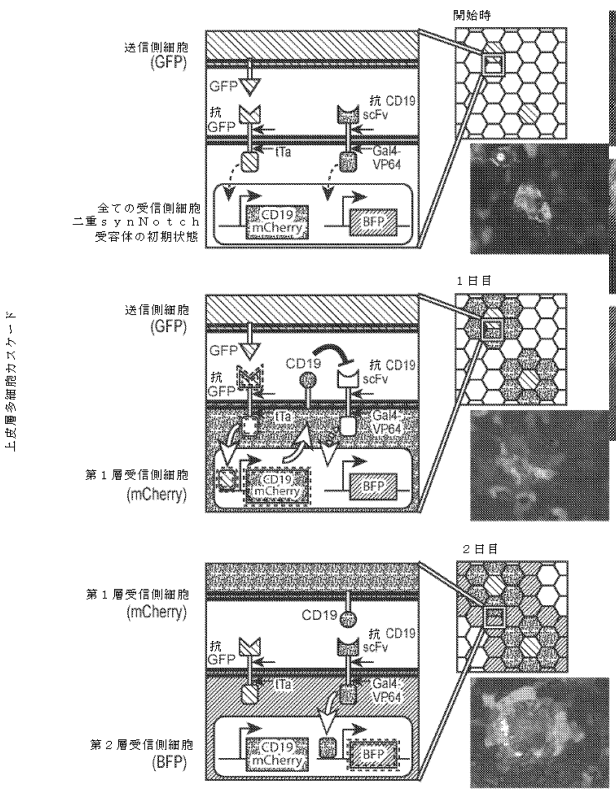
【図９３Ｂ】



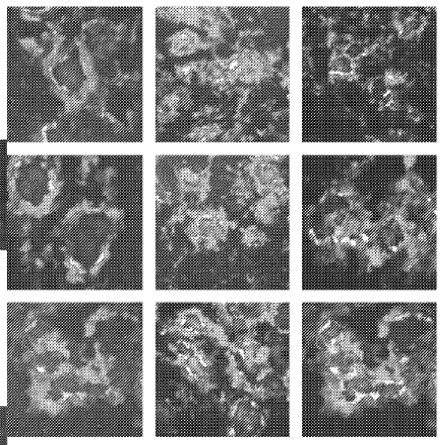
【図９３Ｃ】



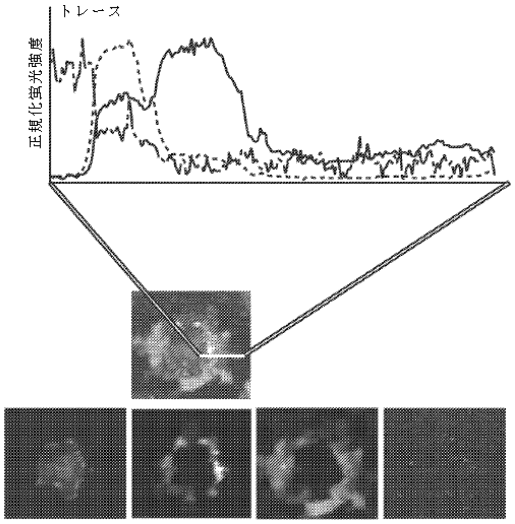
【図９４Ａ】



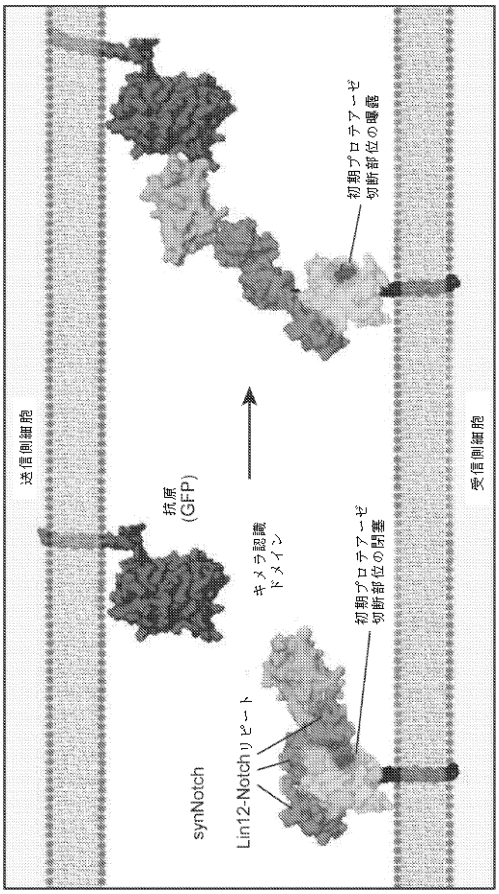
【図９４Ｂ】



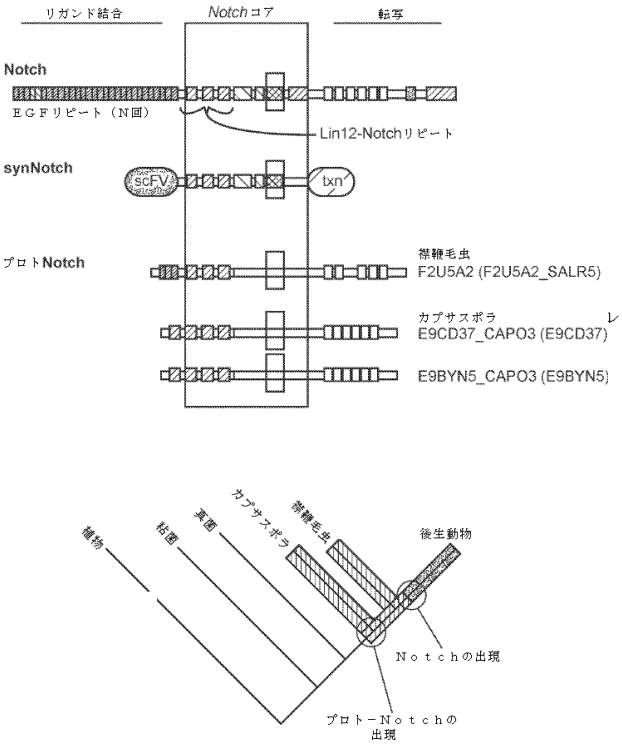
【図９４Ｃ】



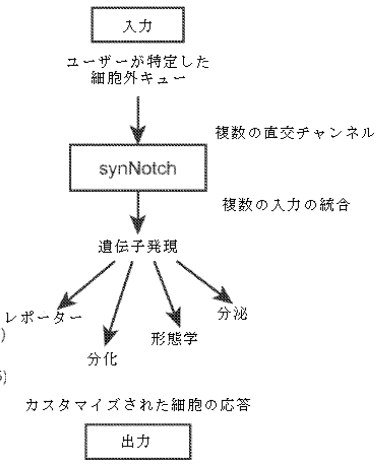
【図９５Ａ】



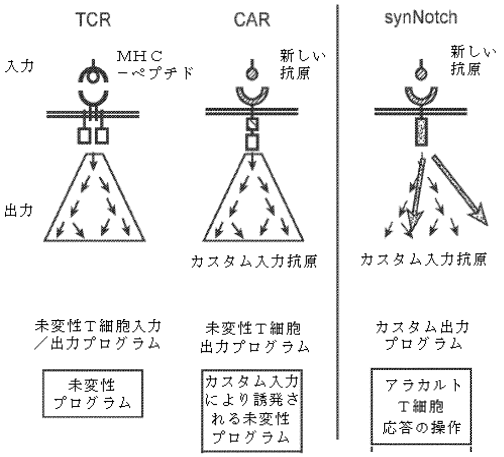
【図９５Ｂ】



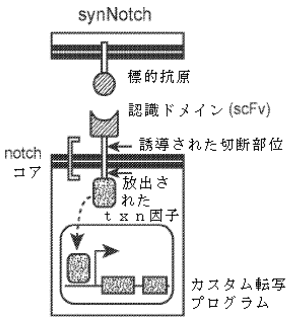
【図９５Ｃ】



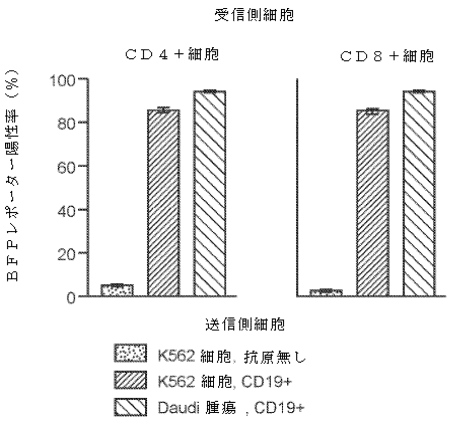
【図９６Ａ】



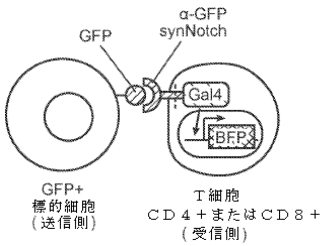
【図９６Ｂ】



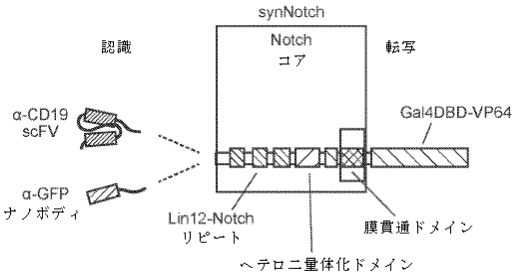
【図９７Ｃ】



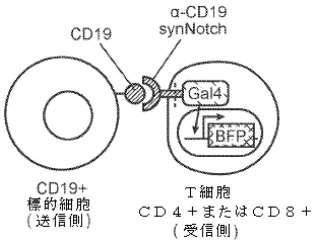
【図９７Ｄ】



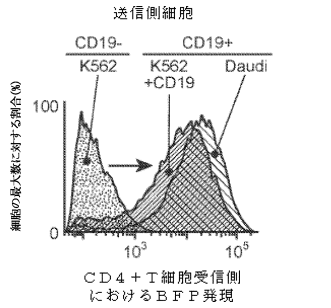
【図９６Ｃ】



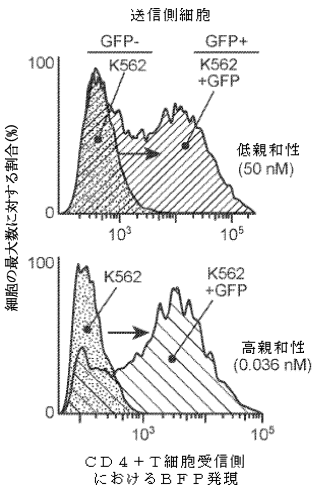
【図９７Ａ】



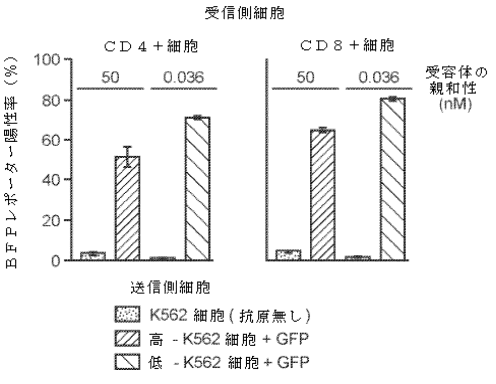
【図９７Ｂ】



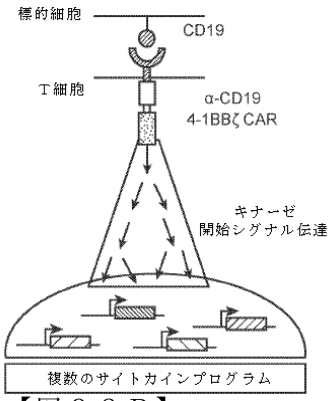
【図９７Ｅ】



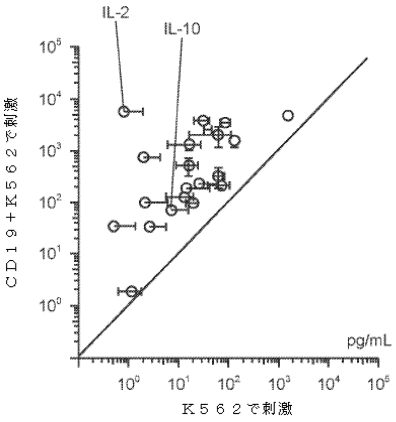
【図９７Ｆ】



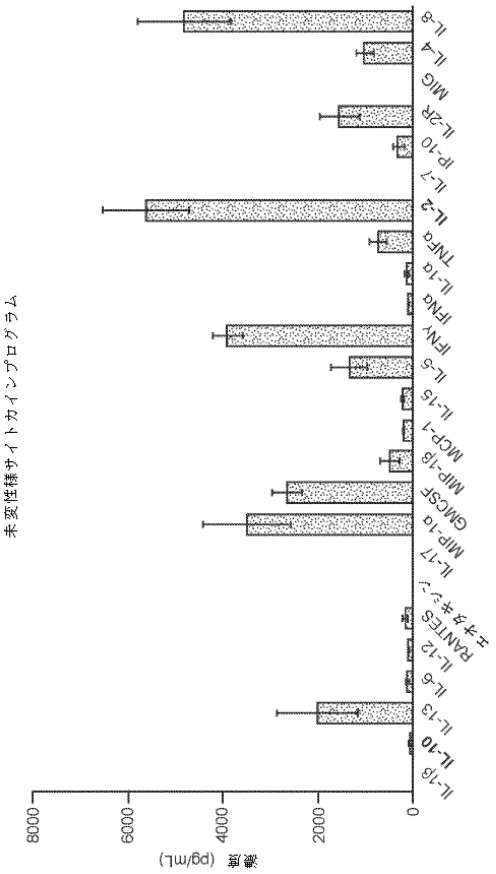
【図９８Ａ】



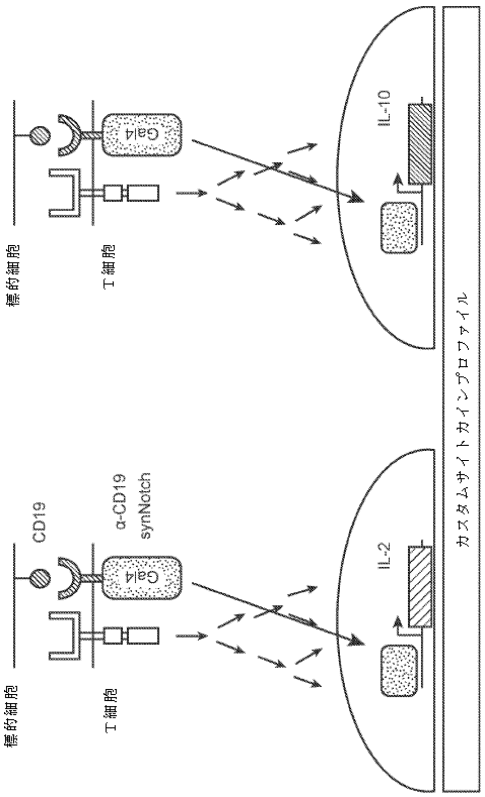
【図９８Ｂ】



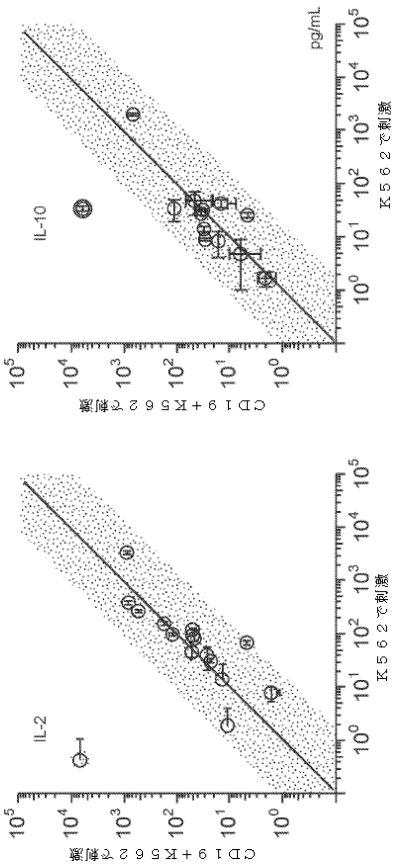
【図９８Ｃ】



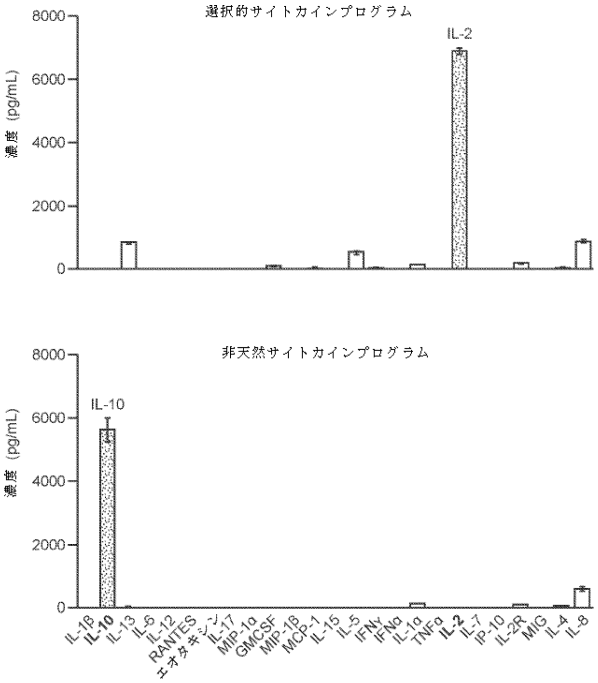
【図９８Ｄ】



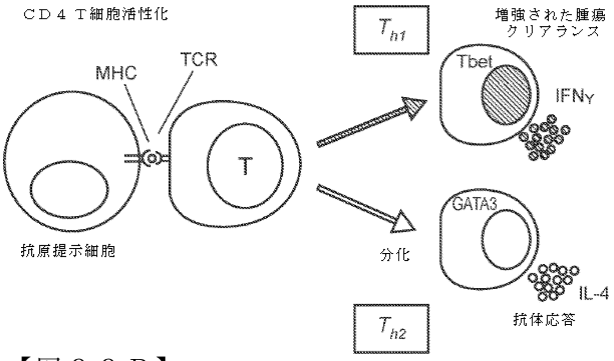
【図９８Ｅ】



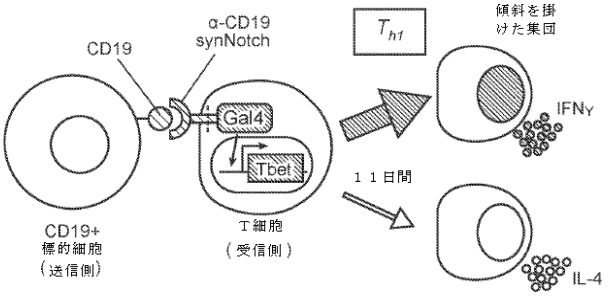
【図９８Ｆ】



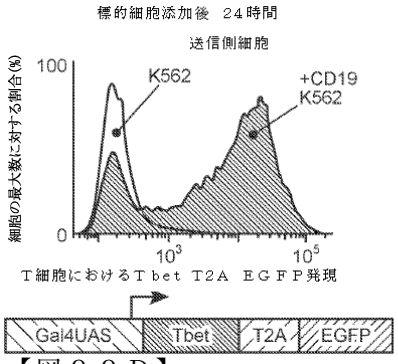
【図９９Ａ】



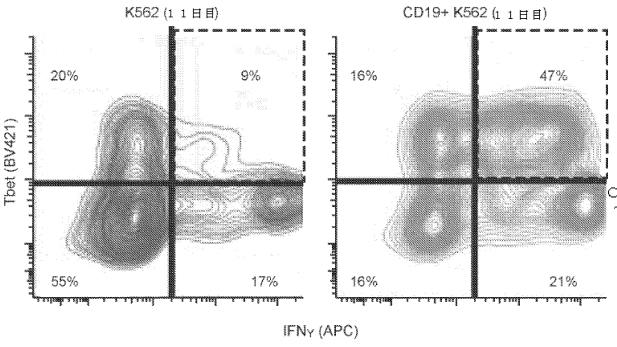
【図９９Ｂ】



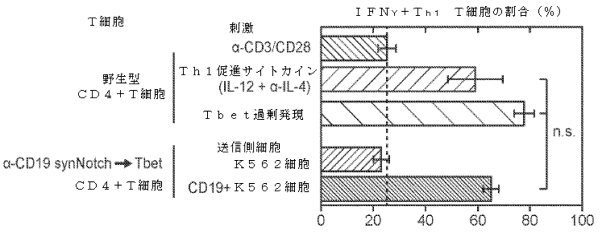
【図９９Ｃ】



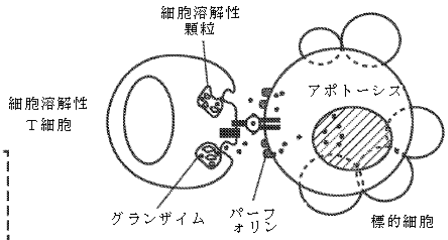
【図９９Ｄ】



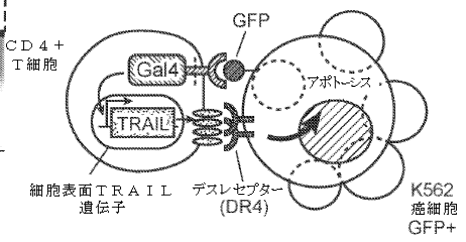
【図９９Ｅ】



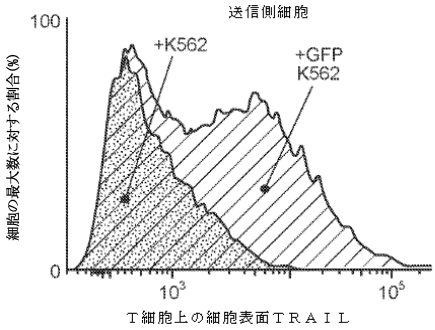
【図１００Ａ】



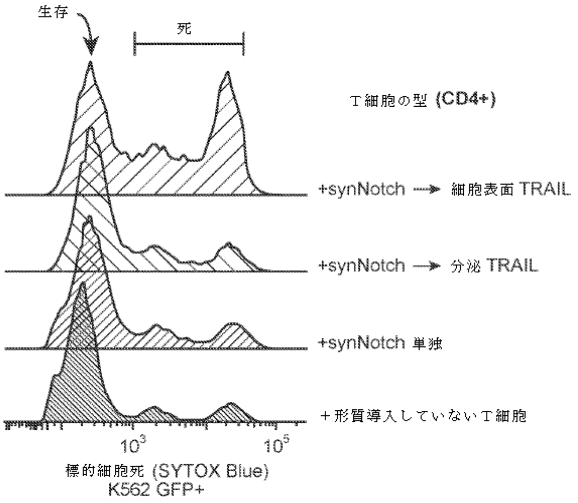
【図１００Ｂ】



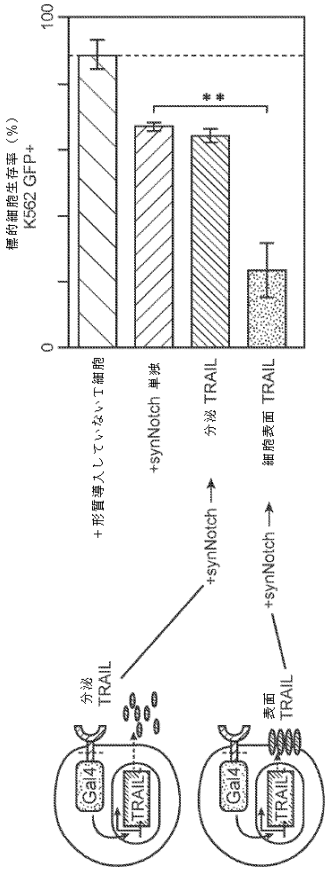
【図１００Ｃ】



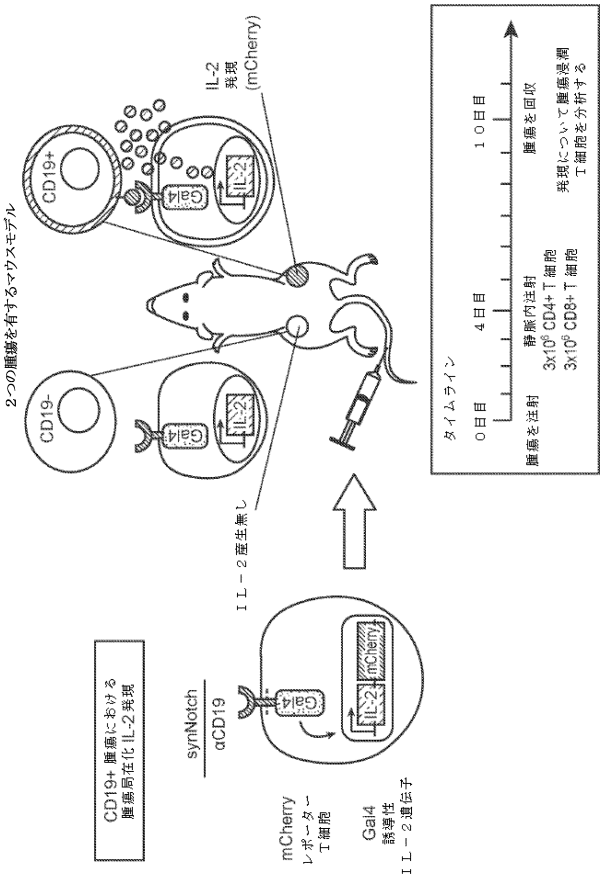
【図１００Ｄ】



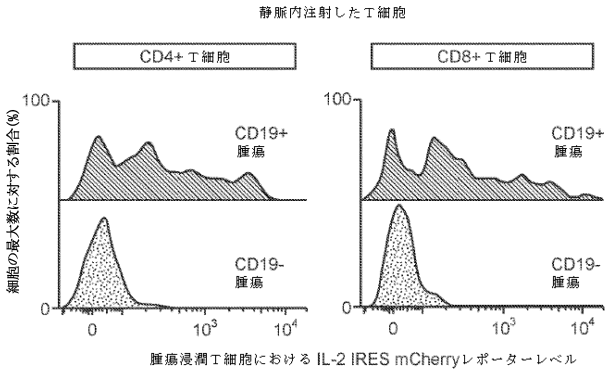
【図１００Ｅ】



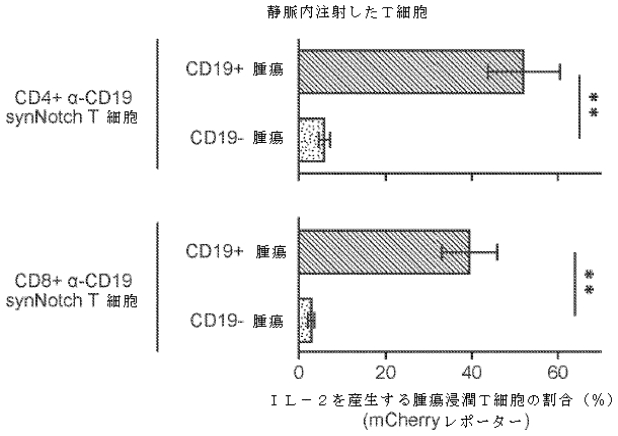
【図１０１Ａ】



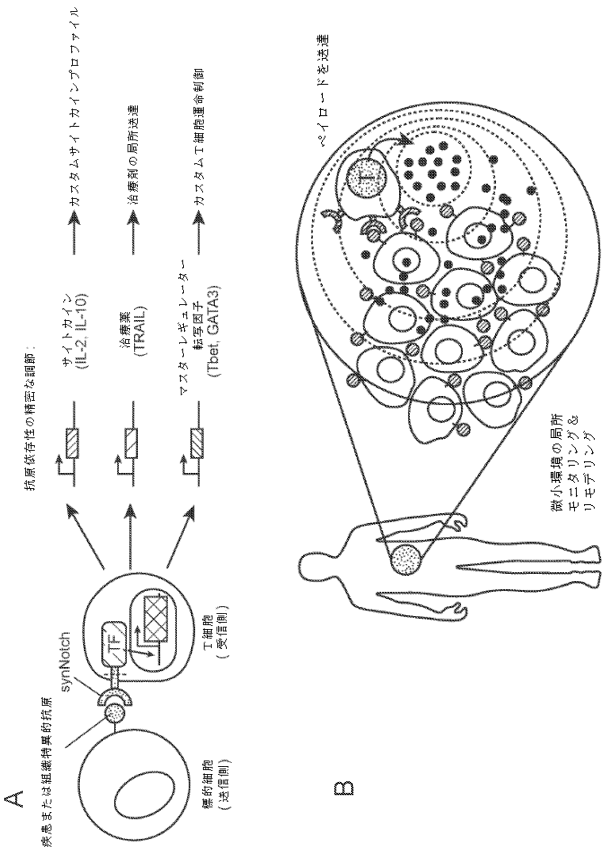
【図１０１Ｂ】



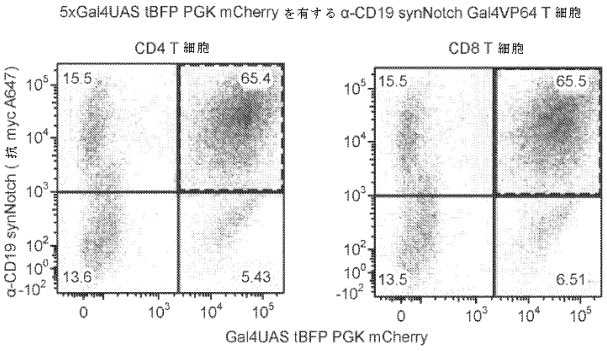
【図１０１Ｃ】



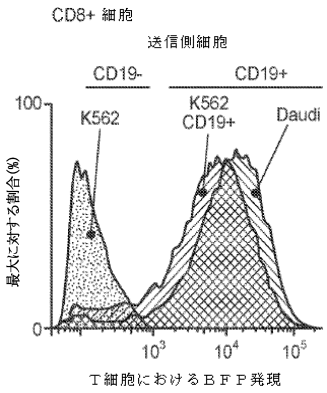
【図１０２】



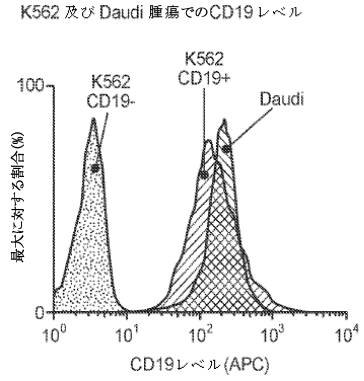
【図１０３Ａ】



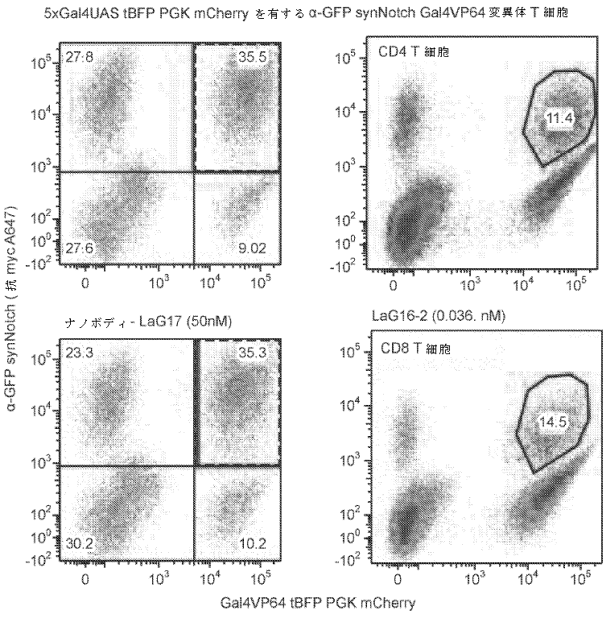
【図１０３Ｂ】



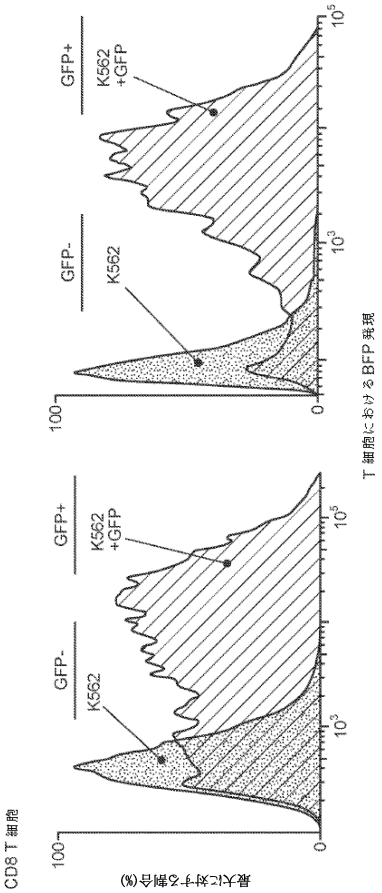
【図１０３Ｃ】



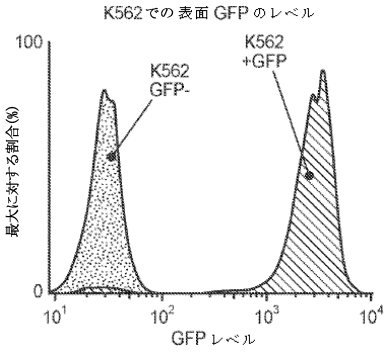
【図１０３Ｄ】



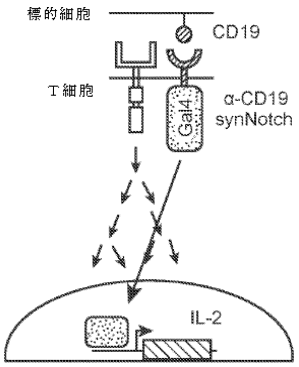
【図１０３Ｅ】



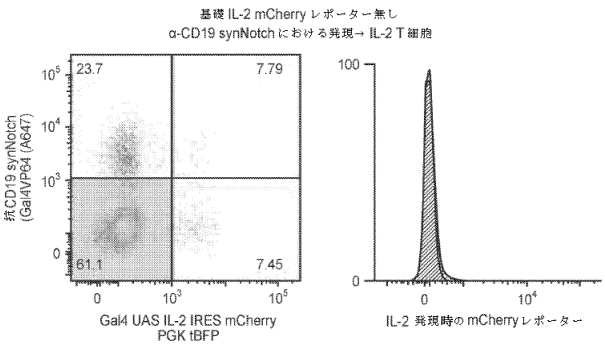
【図１０３Ｆ】



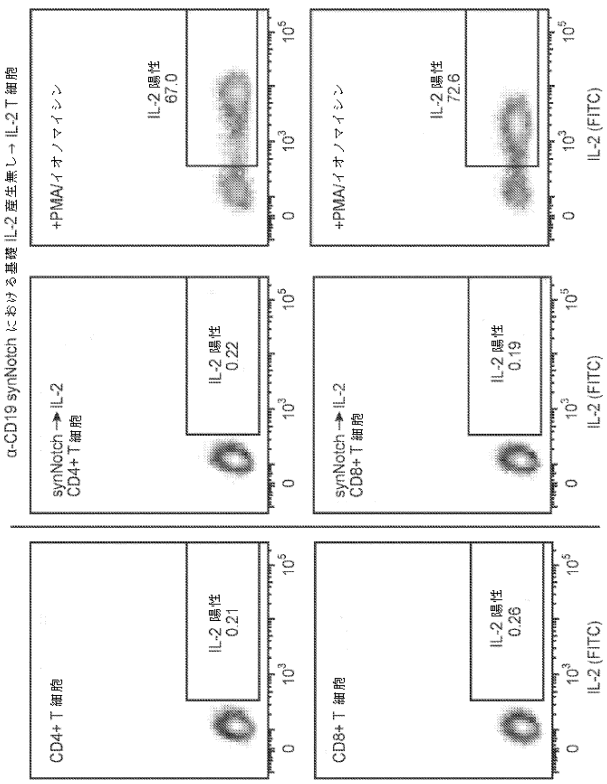
【図１０４Ａ】



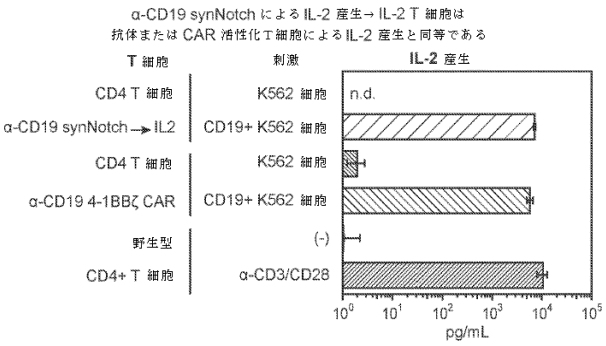
【図１０４Ｂ】



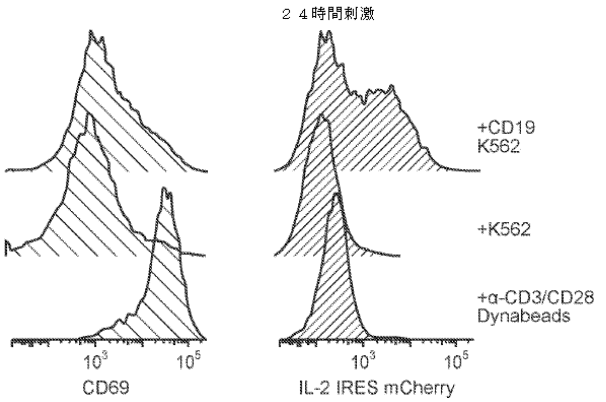
【図１０４Ｃ】



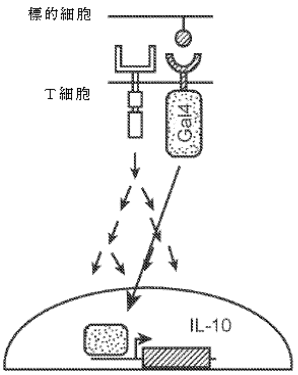
【図１０４Ｄ】



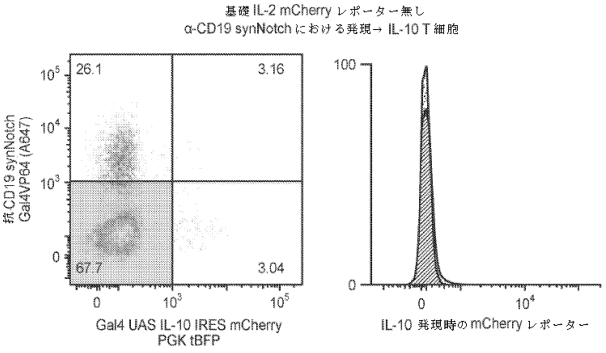
【図１０４Ｅ】



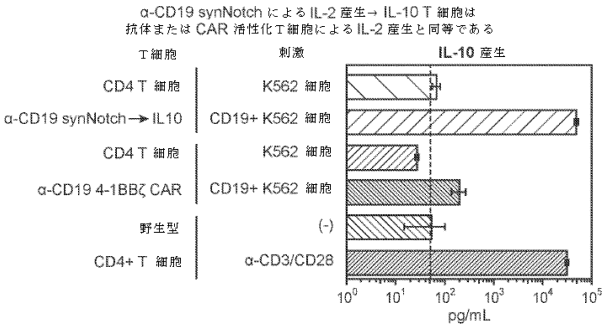
【図１０４Ｆ】



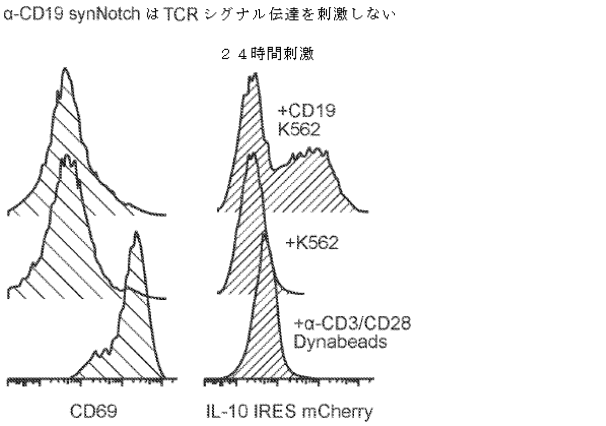
【図１０４Ｇ】



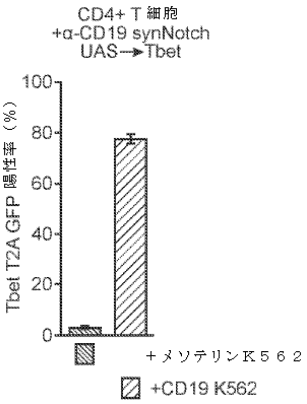
【図１０４Ｈ】



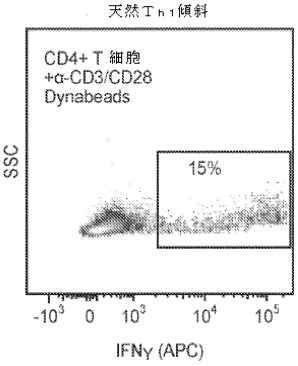
【図１０４Ｉ】



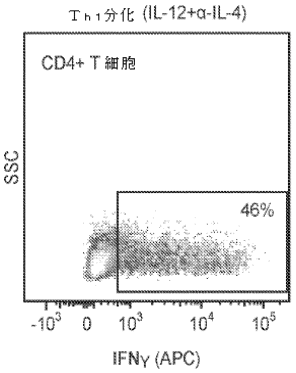
【図１０５Ａ】



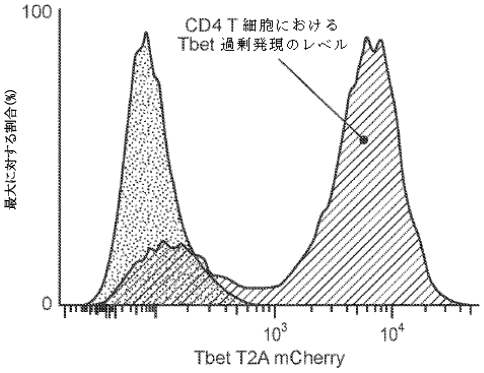
【図１０５Ｂ】



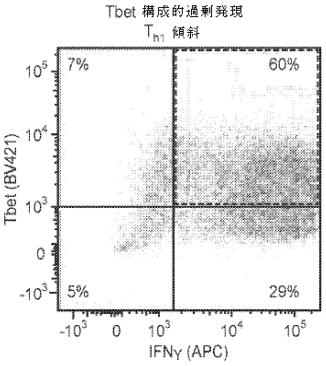
【図１０５Ｃ】



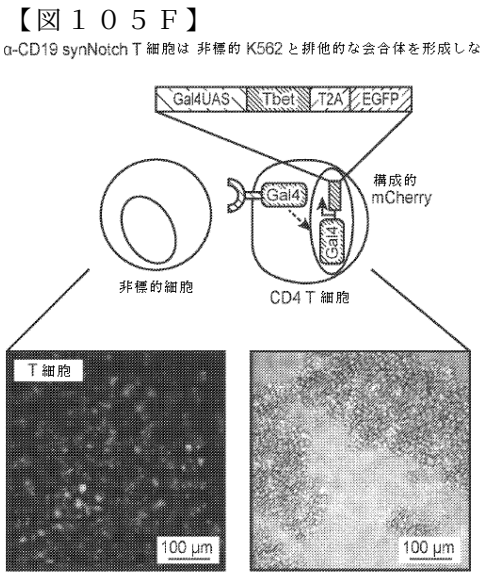
【図１０５Ｄ】



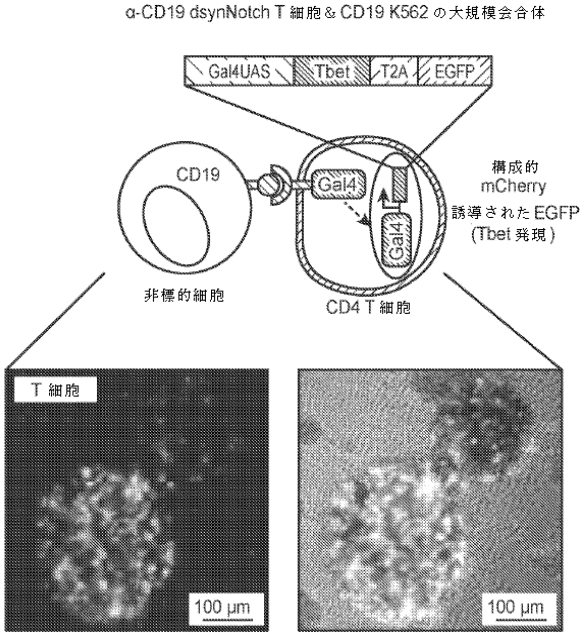
【図１０５Ｅ】



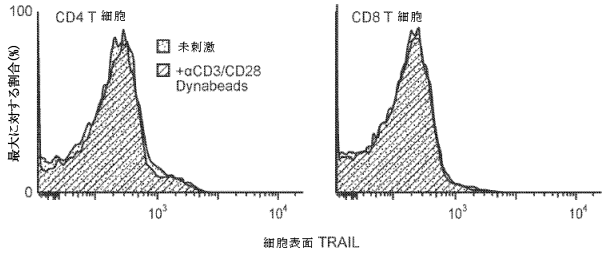
【図１０５Ｆ】



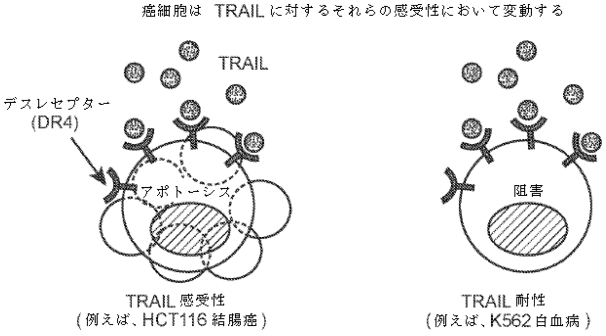
【図１０５Ｇ】



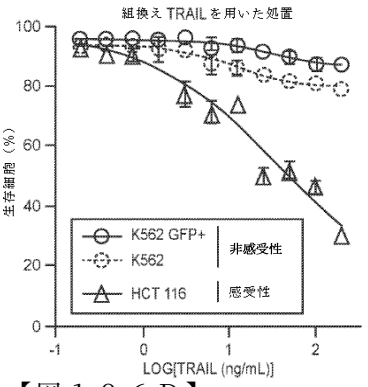
【図１０６Ａ】



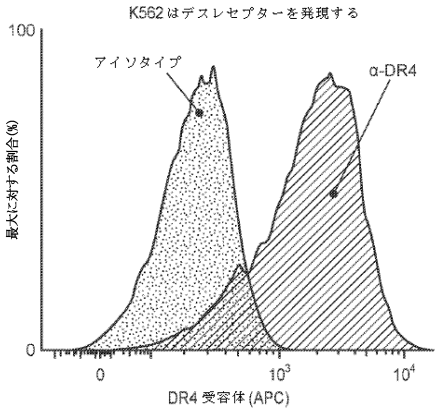
【図１０６Ｂ】



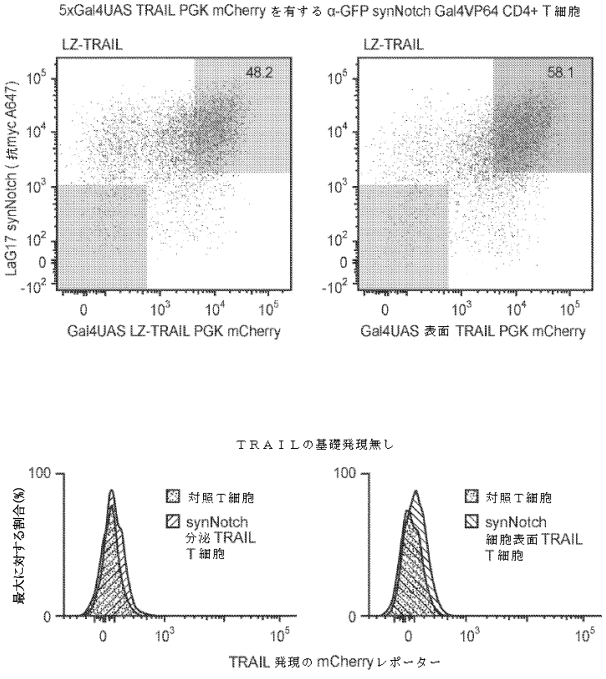
【図１０６Ｃ】



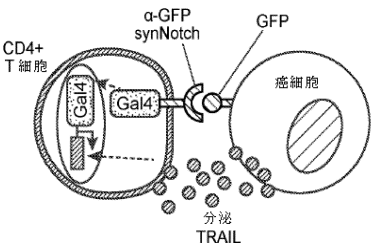
【図１０６Ｄ】



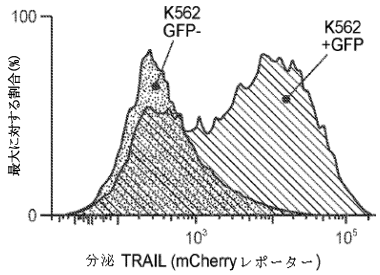
【図１０６Ｅ】



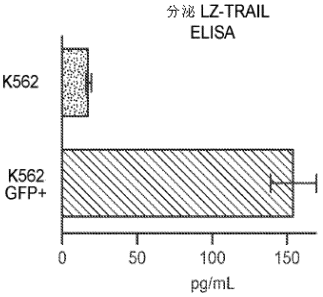
【図１０６Ｆ】



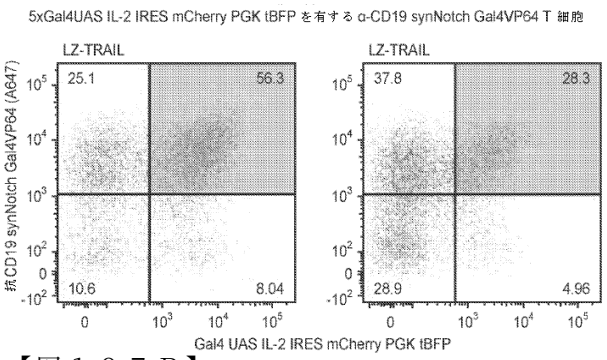
【図１０６Ｇ】



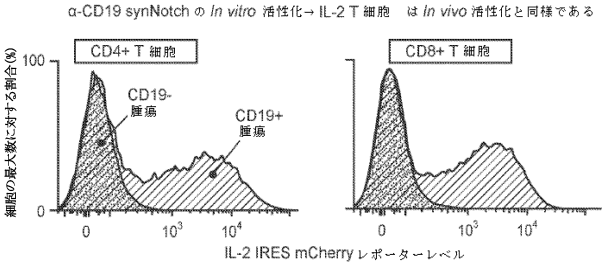
【図１０６Ｈ】



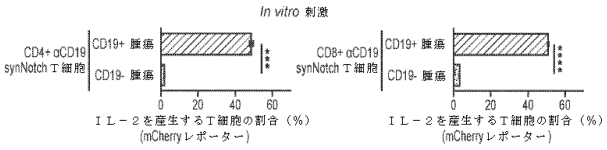
【図１０７Ａ】



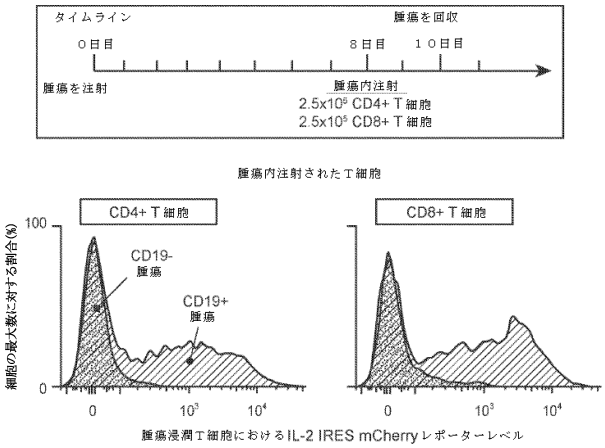
【図１０７Ｂ】



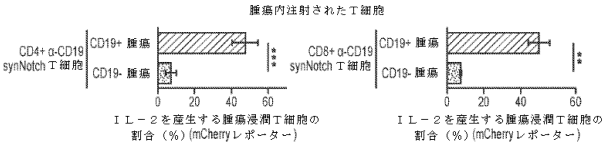
【図１０７Ｃ】



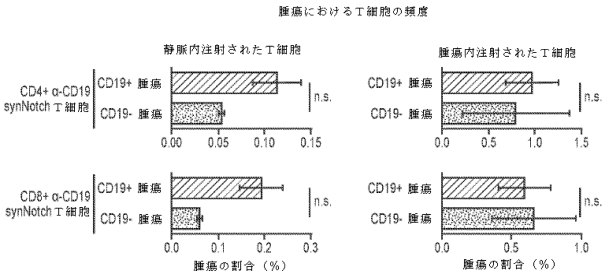
【図１０７Ｄ－１】



【図１０７Ｄ－２】

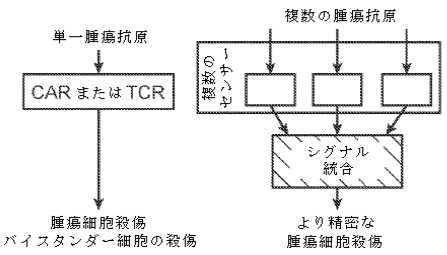


【図１０７Ｅ】

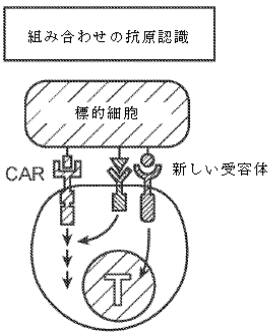


【図１０８Ａ】

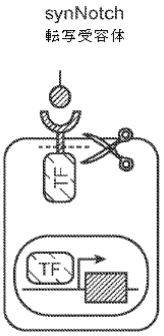
治療用Ｔ細胞による腫瘍認識特異性の改善



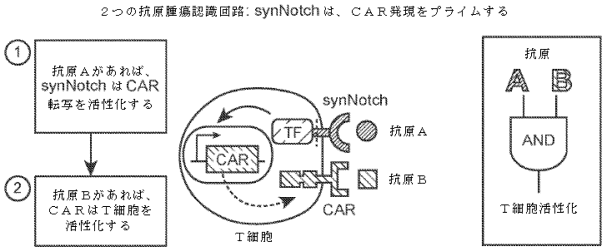
【図１０８Ｂ】



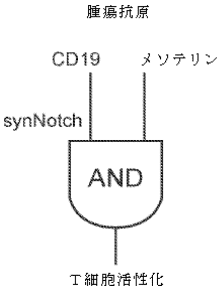
【図１０８Ｃ】



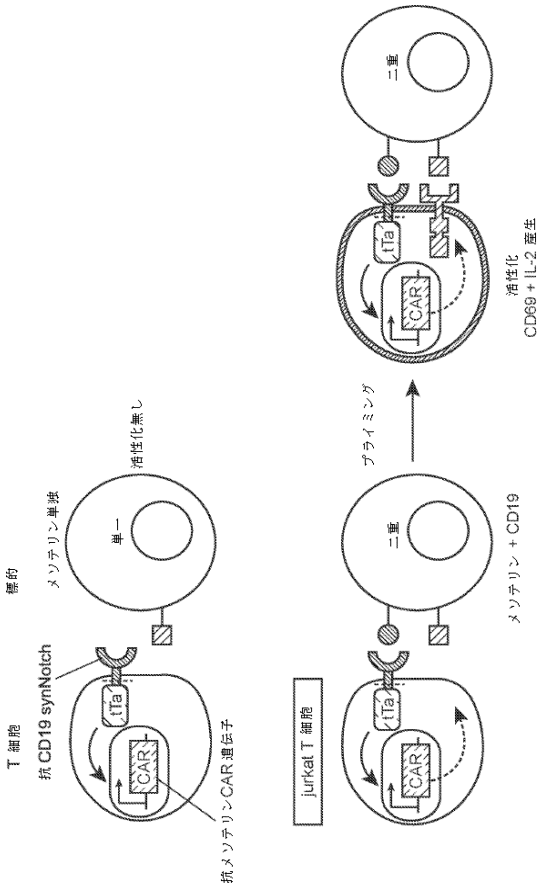
【図１０８Ｄ】



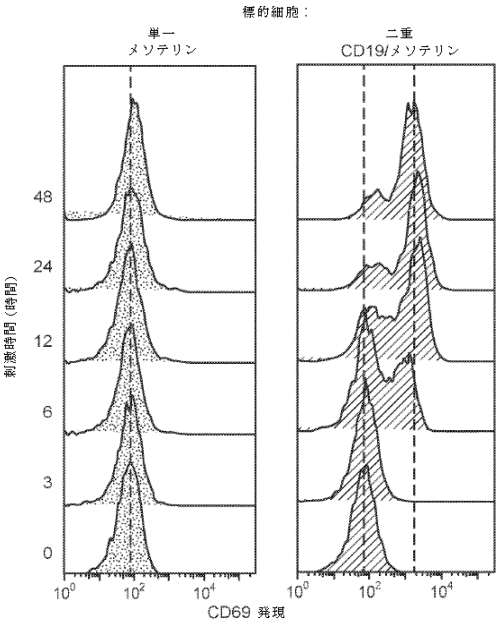
【図１０９Ａ】



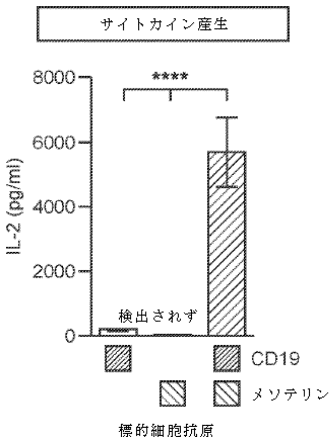
【図１０９Ｂ】



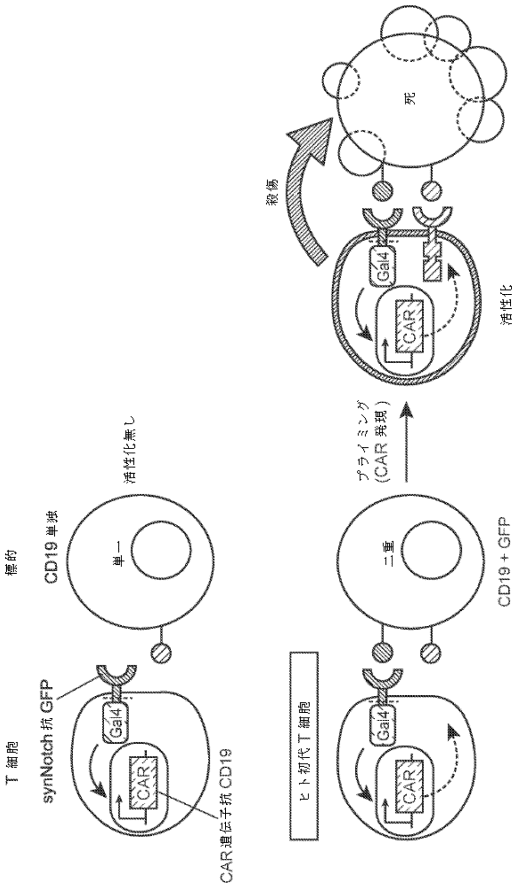
【図１０９Ｃ】



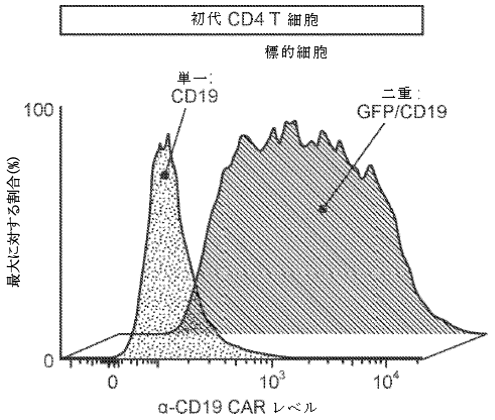
【図１０９Ｄ】



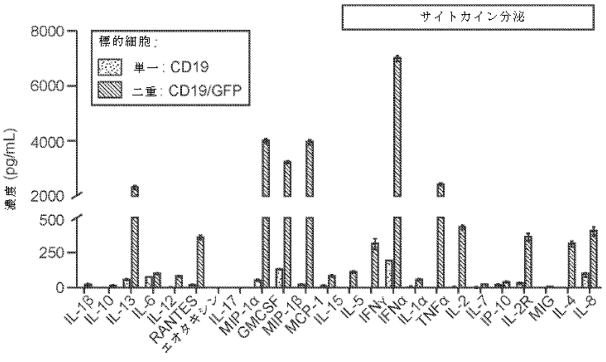
【図１１０Ａ】



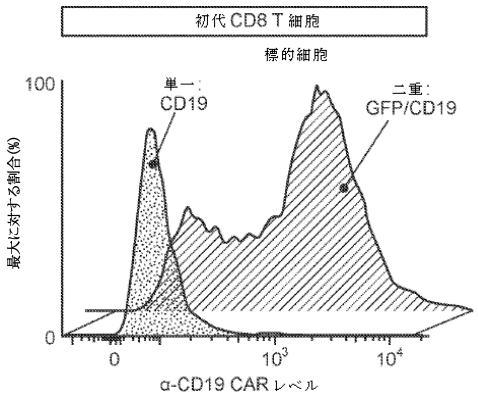
【図１１０Ｂ】



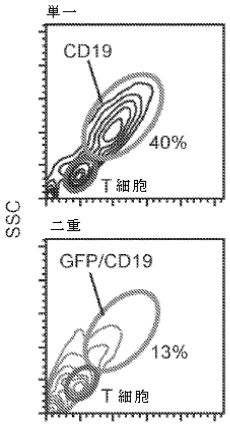
【図１１０Ｃ】



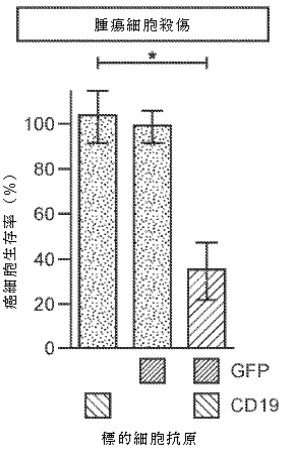
【図１１０Ｄ】



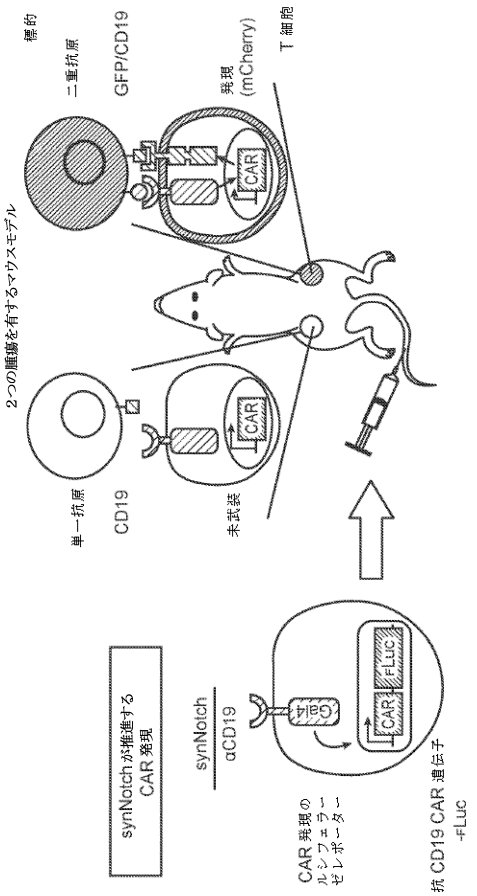
【図１１０Ｅ】



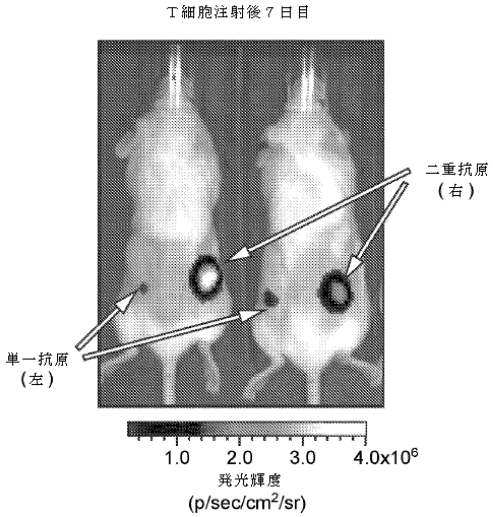
【図１１０Ｆ】



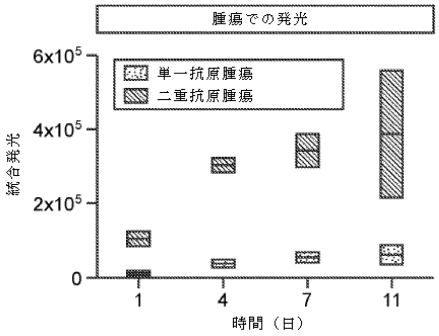
【図１１１Ａ】



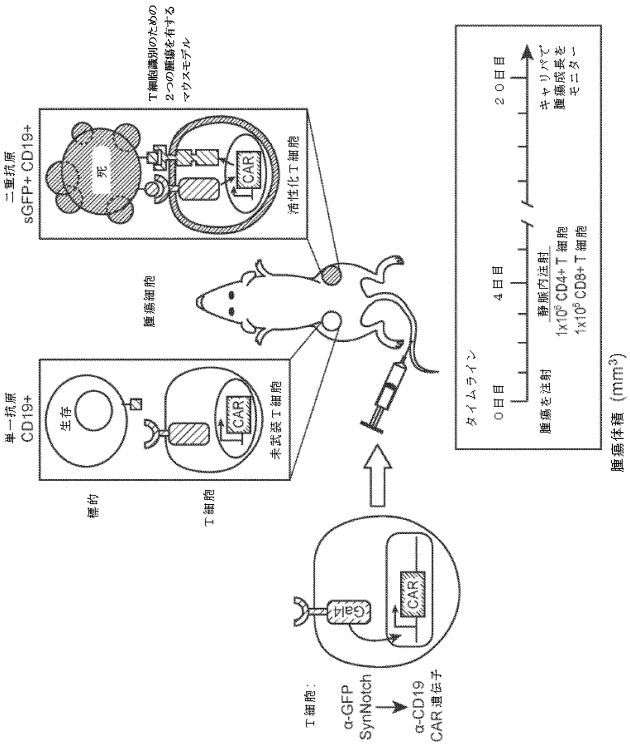
【図１１１Ｂ】



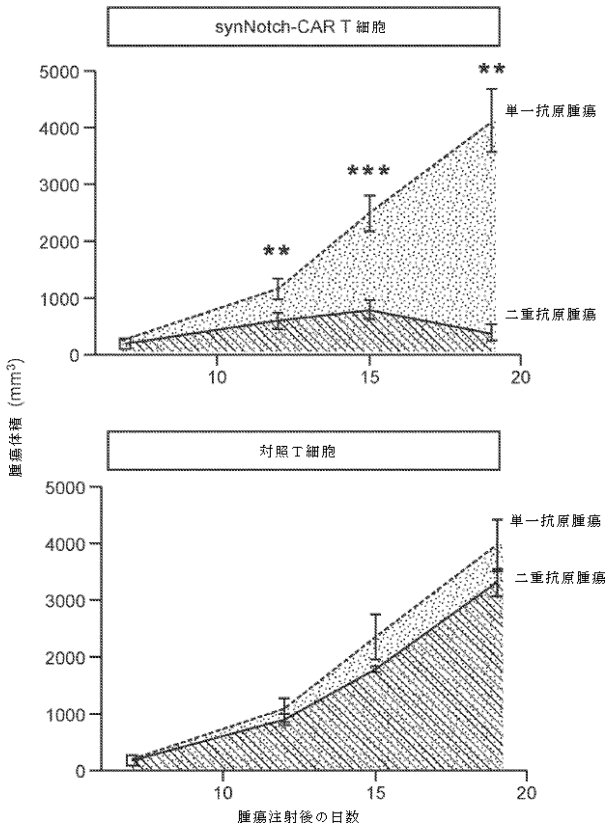
【図１１１Ｃ】



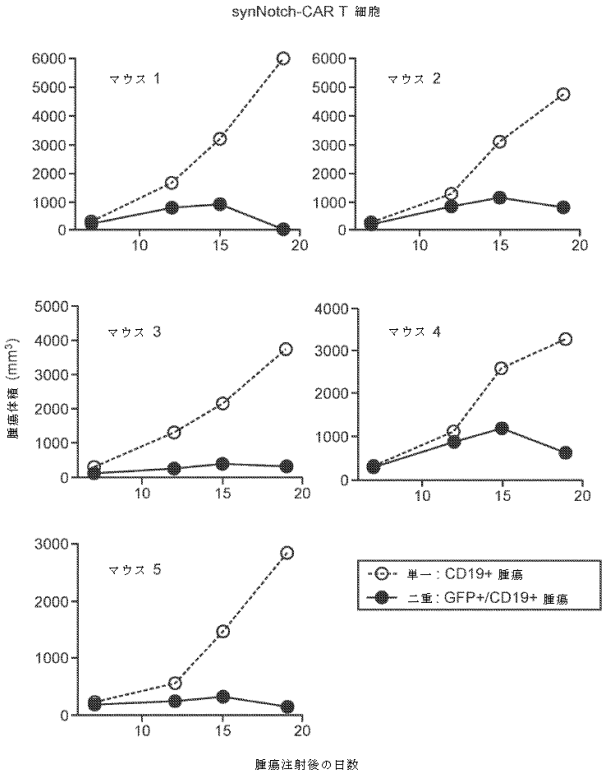
【図１１２Ａ】



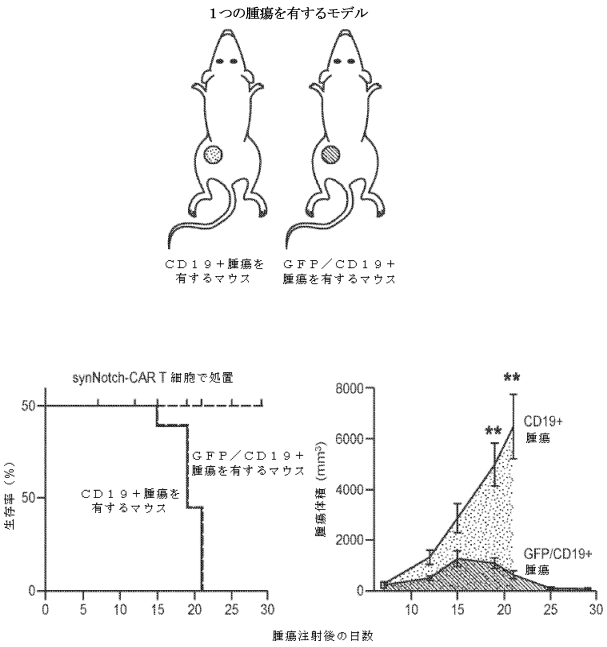
【図１１２Ｂ】



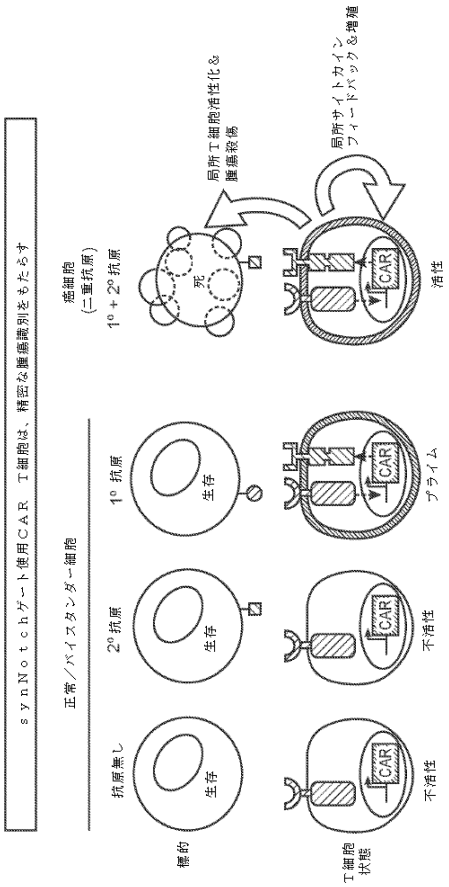
【図１１２Ｃ】



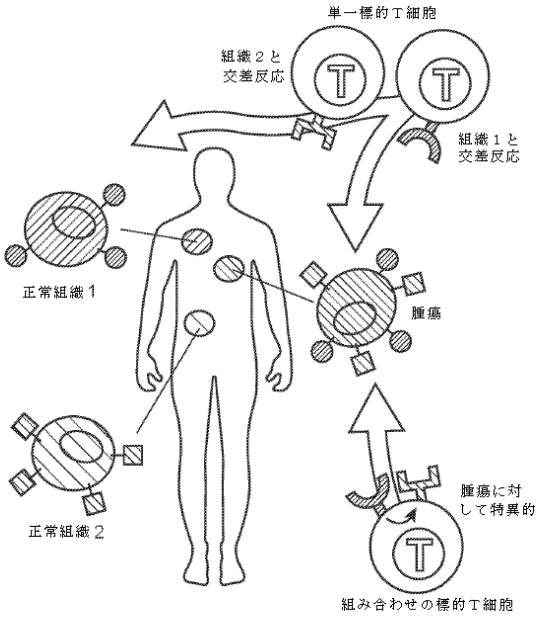
【図１１２Ｄ】



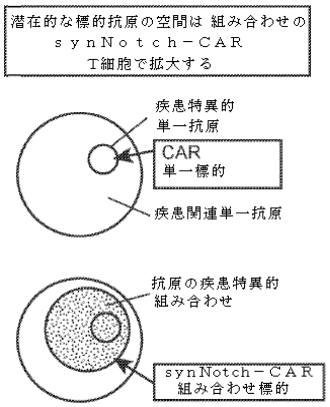
【図１１３Ａ】



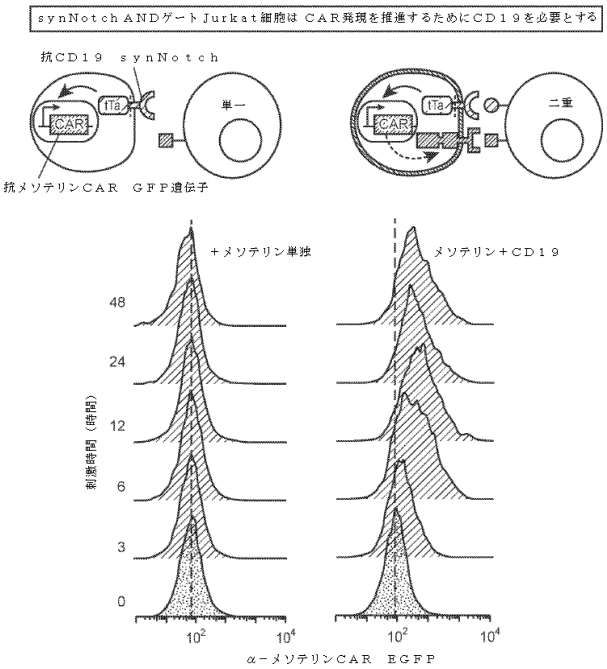
【図１１３Ｂ】



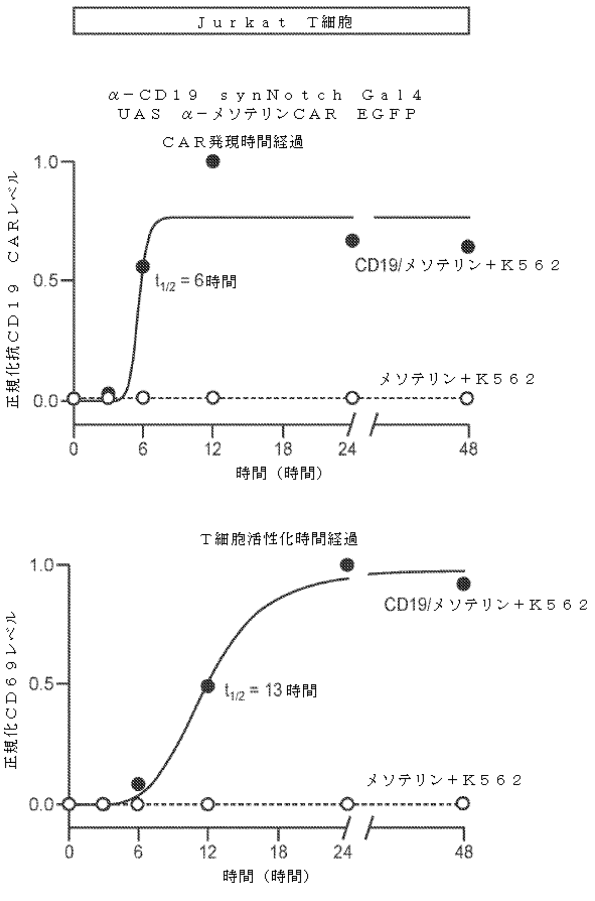
【図１１３Ｃ】



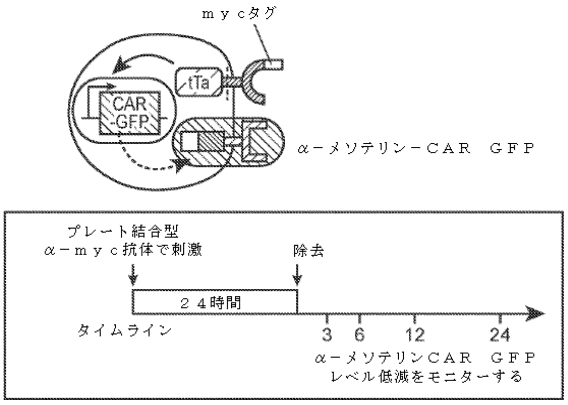
【図１１４Ａ】



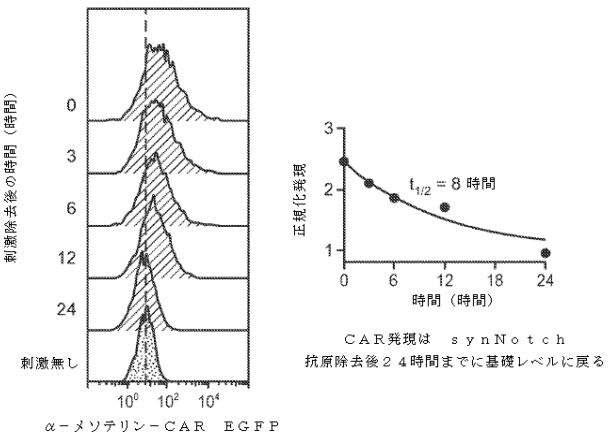
【図１１４Ｂ】



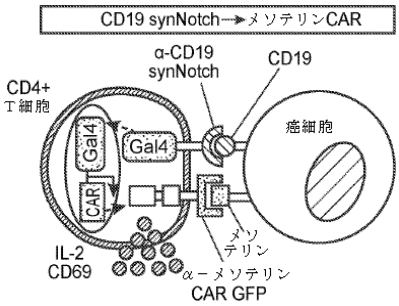
【図１１４Ｃ】



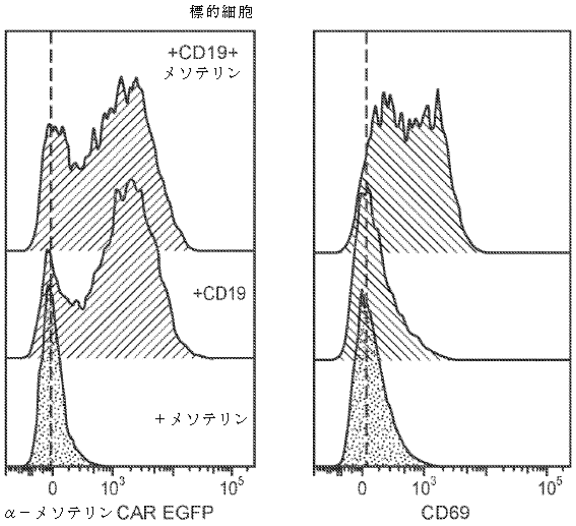
【図１１４Ｄ】



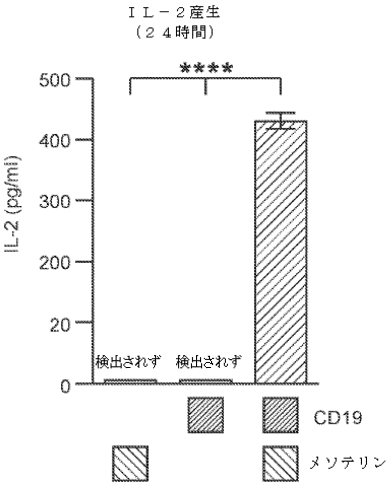
【図１１５Ａ】



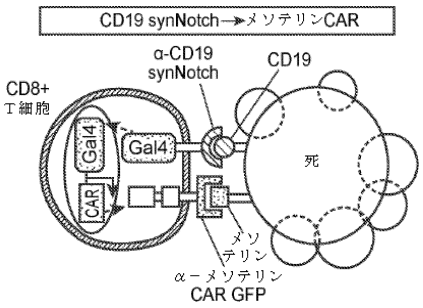
【図１１５Ｂ】



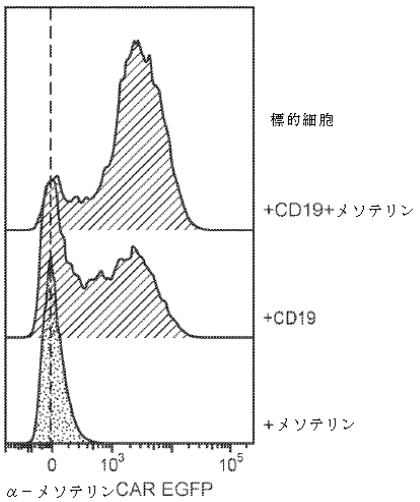
【図１１５Ｃ】



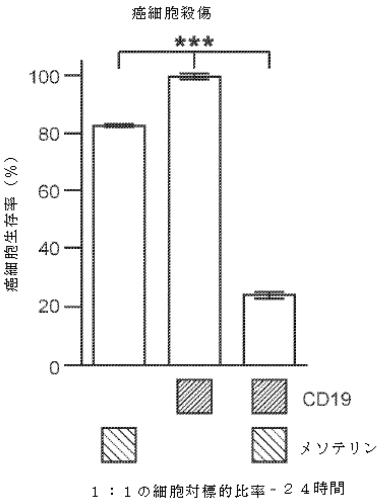
【図１１５Ｄ】



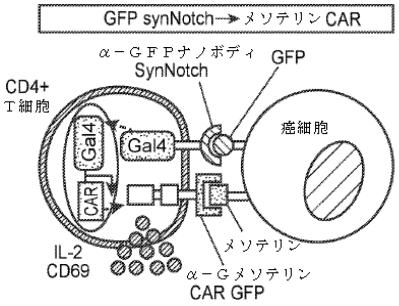
【図１１５Ｅ】



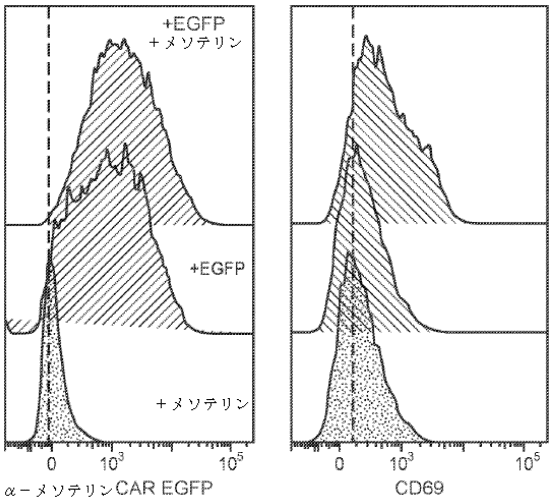
【図１１５Ｆ】



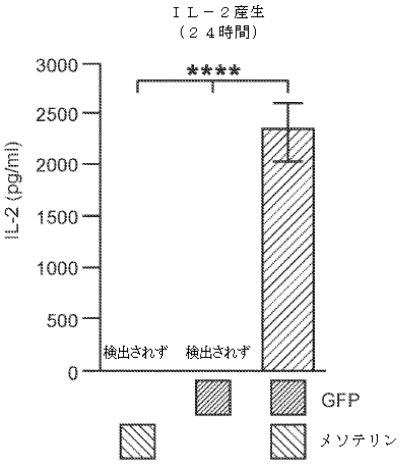
【図１１５Ｇ】



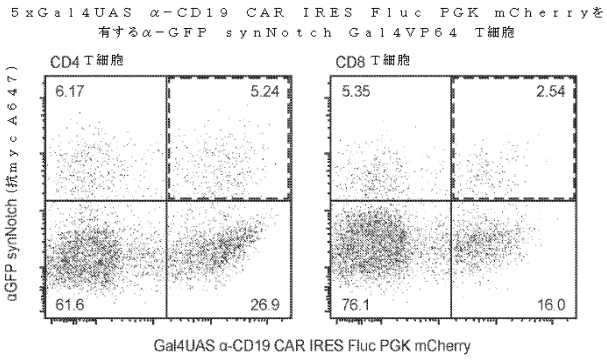
【図１１５Ｈ】



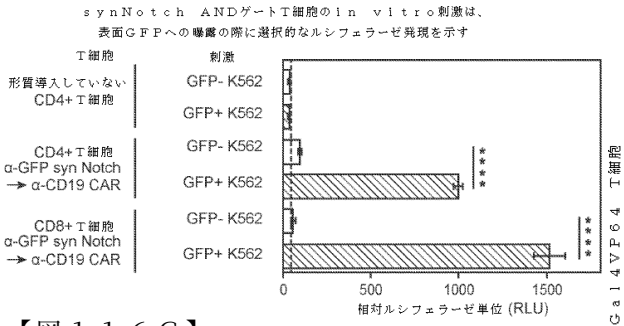
【図１１５Ｉ】



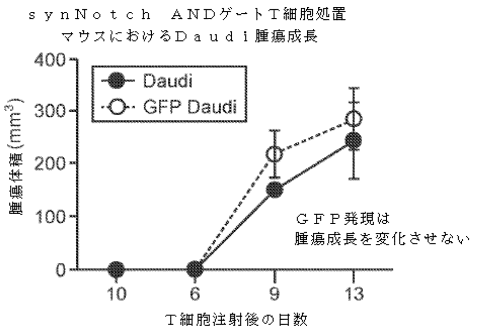
【図１１６Ａ】



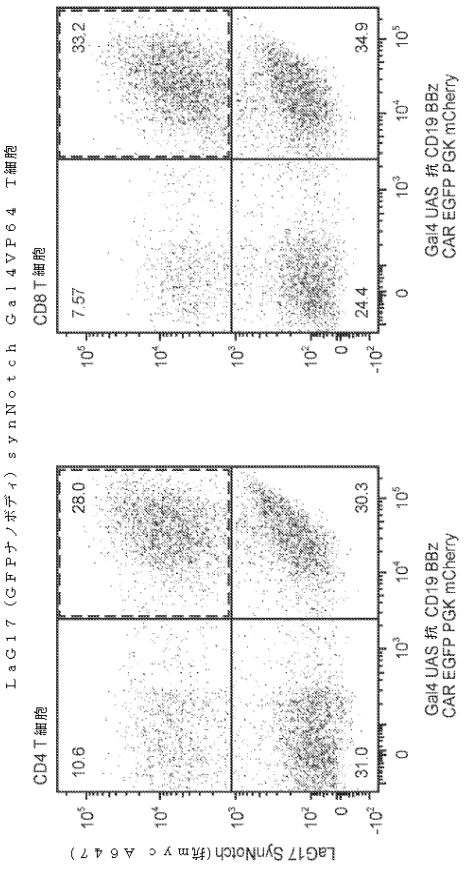
【図１１６Ｂ】



【図１１６Ｃ】

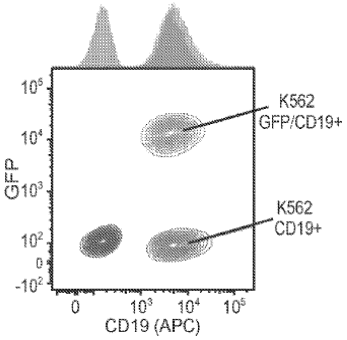


【図１１７Ａ】



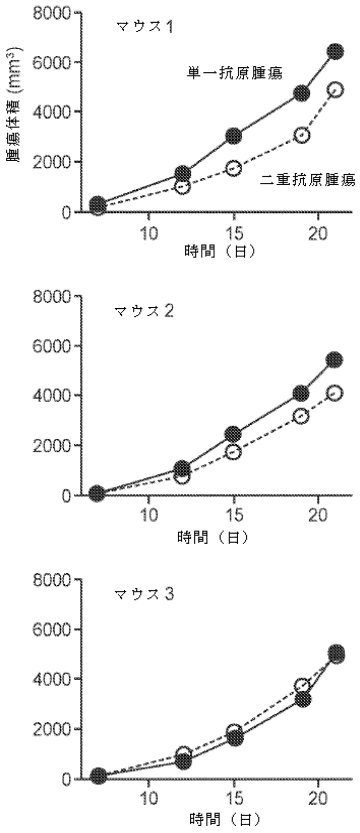
【図１１７Ｂ】

異種移植に使用したＫ５６２癌細胞株での
ＣＤ１９及びＧＦＰの発現レベル

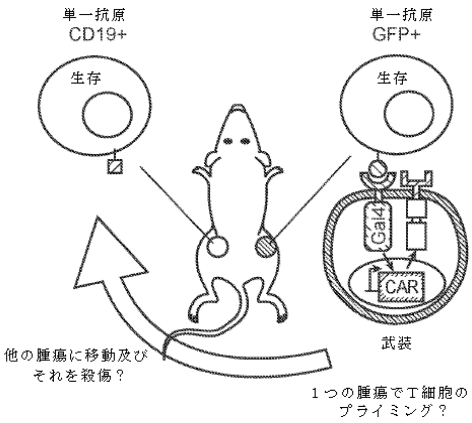


【図１１７Ｃ】

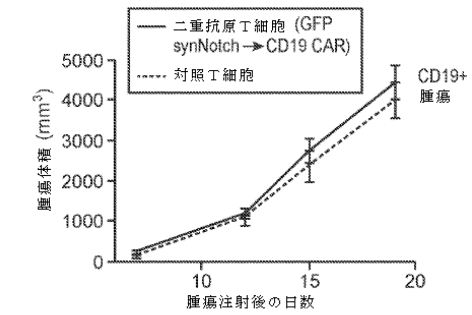
対照T細胞で処置した
２つの腫瘍を有するマウスモデルからの
個別のマウスデータ



【図１１７Ｄ】

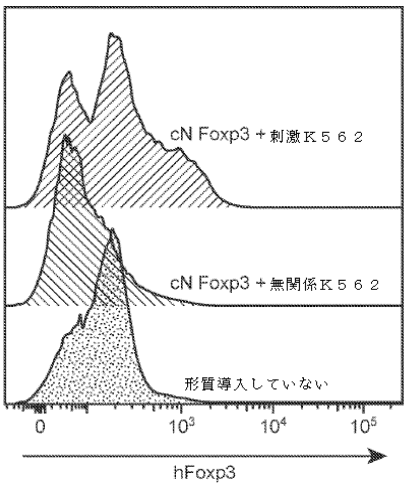


【図１１７Ｅ】

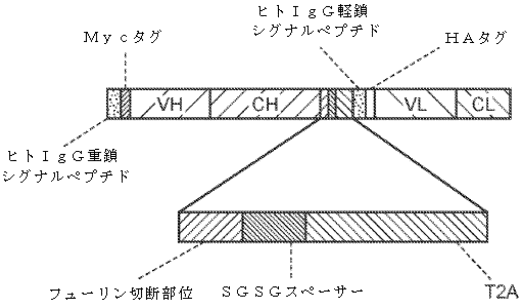


ＧＦＰ＋（単一抗原）腫瘍の存在は、ＣＤ１９＋（単一抗原）
腫瘍を殺傷するようにＴ細胞をプライムすることはない

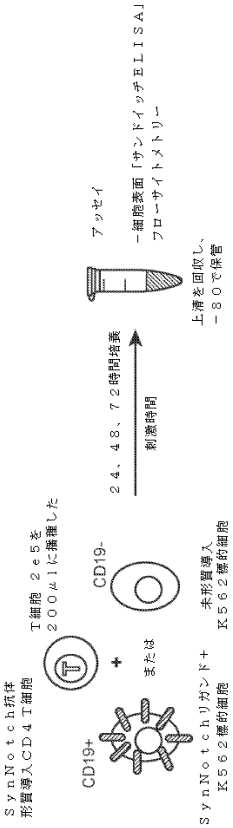
【図１１８】



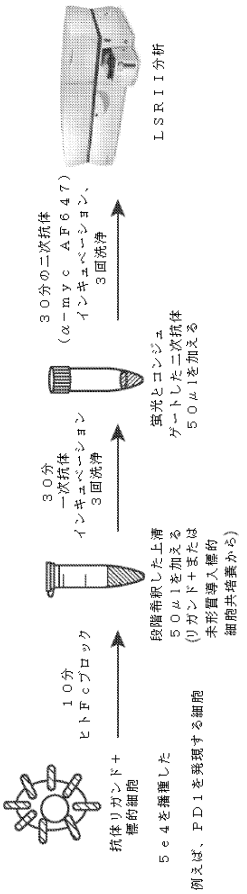
【図１１９】



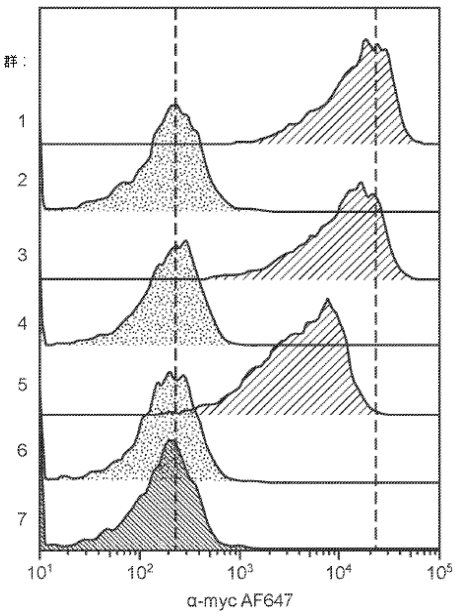
【図１２０】



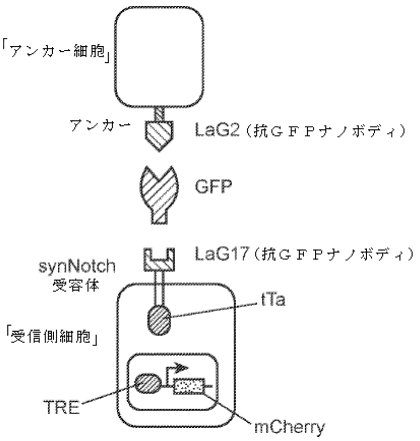
【図１２１】



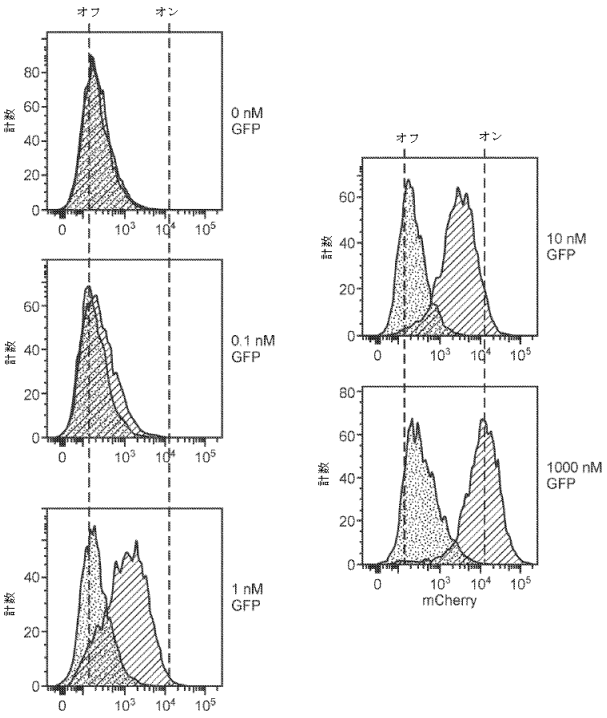
【図１２２】



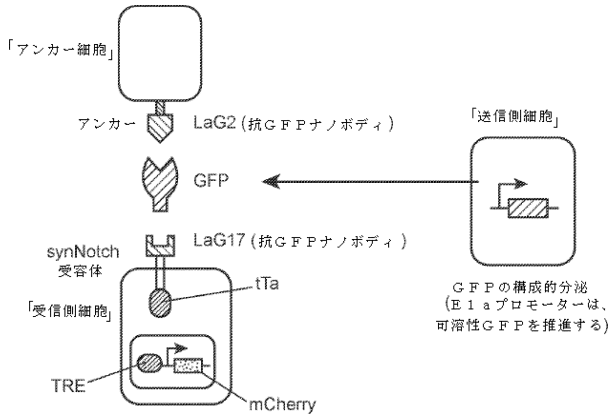
【図１２３】



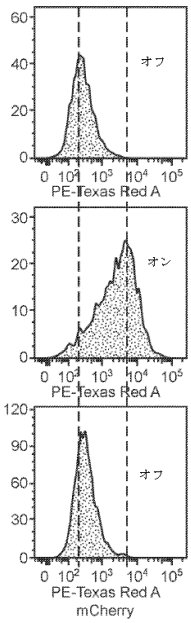
【図１２４】



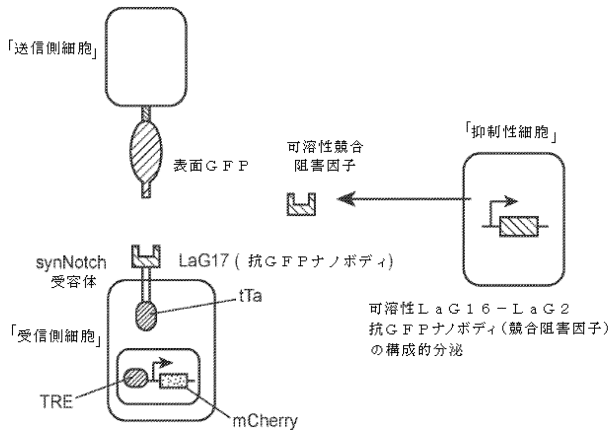
【図１２５】



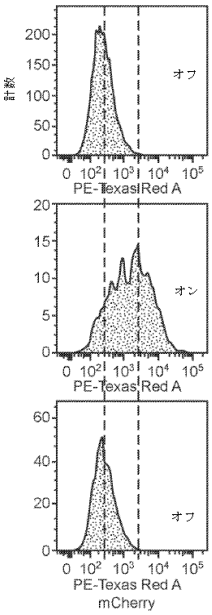
【図１２６】



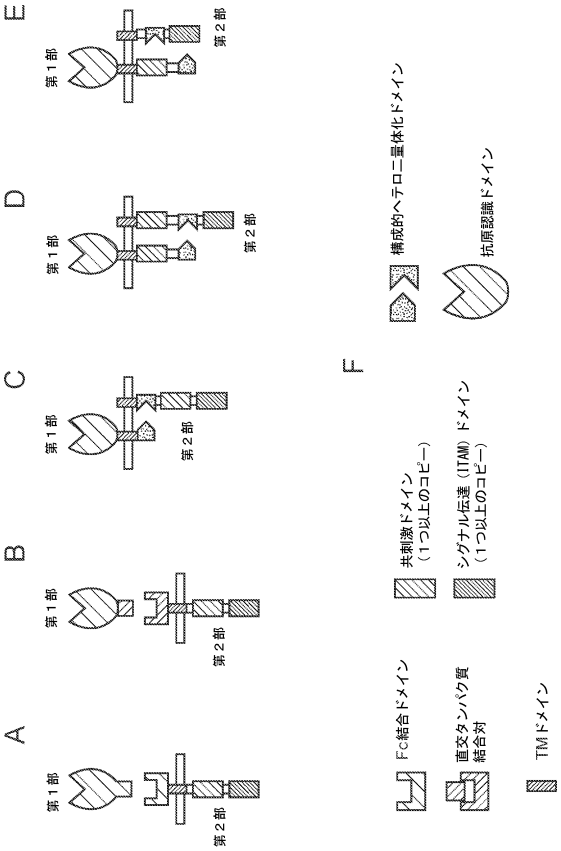
【図１２７】



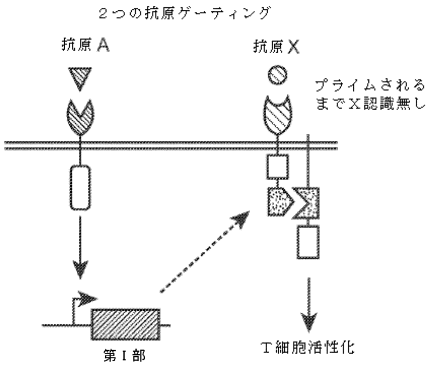
【図１２８】



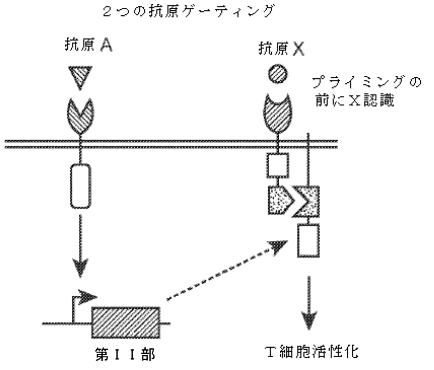
【図１２９】



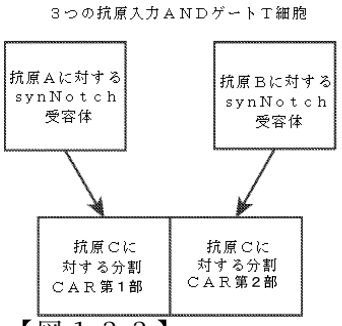
【図１３０】



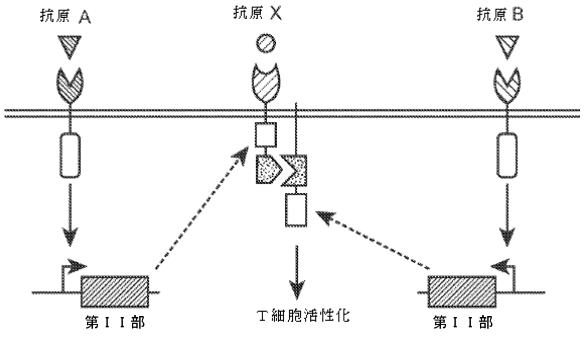
【図１３１】



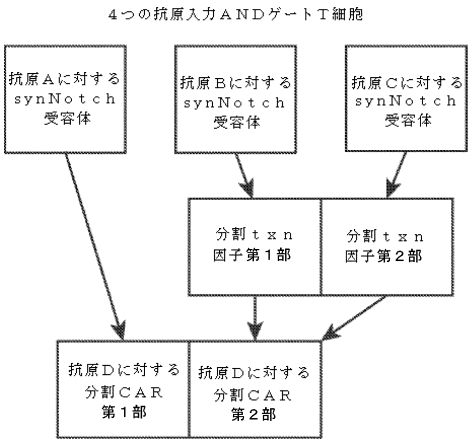
【図１３２】



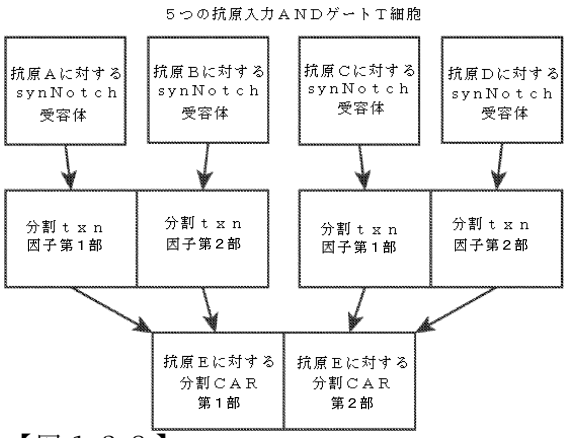
【図１３３】



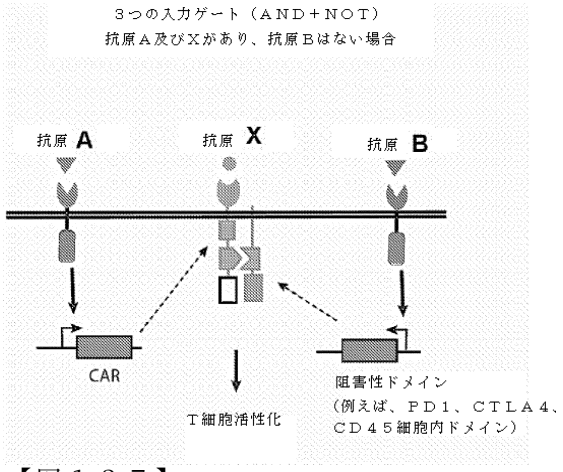
【図１３４】



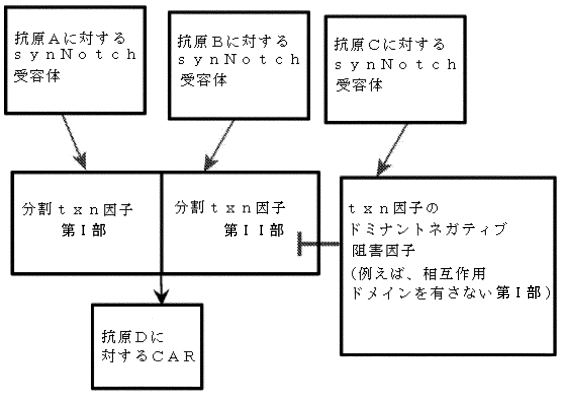
【図１３５】



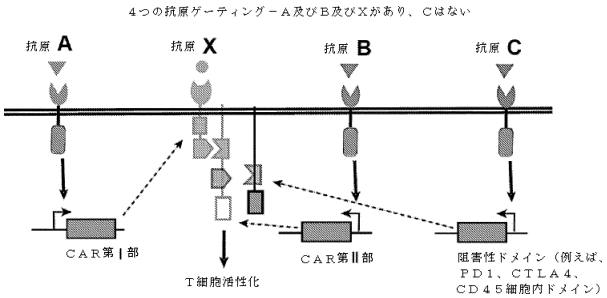
【図１３６】



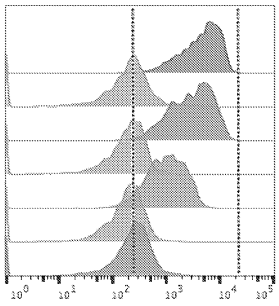
【図１３７】



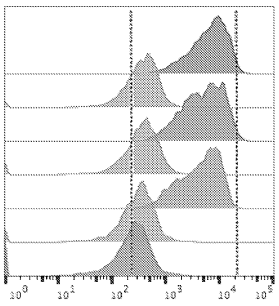
【図１３８】



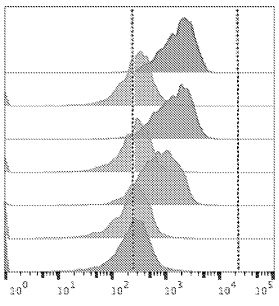
【図１３９】



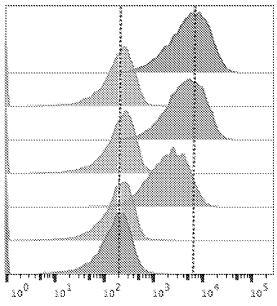
【図１４０】



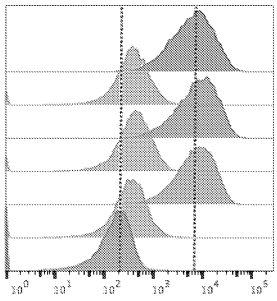
【図１４１】



【図１４２】



【図１４３】



【配列表】

0006784687000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI		
C07K	*14/705*	*(2006.01)*	C07K	14/705	
C07K	*14/435*	*(2006.01)*	C07K	14/435	
C12N	*9/16*	*(2006.01)*	C12N	9/16	Z
C12N	*9/00*	*(2006.01)*	C12N	9/00	
C07K	*16/00*	*(2006.01)*	C07K	16/00	
C12N	*1/15*	*(2006.01)*	C12N	1/15	
C12N	*1/19*	*(2006.01)*	C12N	1/19	
C12N	*1/21*	*(2006.01)*	C12N	1/21	
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/10	
C12N	*5/0783*	*(2010.01)*	C12N	5/0783	

(31)優先権主張番号 62/269,758
(32)優先日 平成27年12月18日(2015.12.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一
(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
(74)代理人 100205707
弁理士 小寺 秀紀
(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
(74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘
(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
(72)発明者 リム ウェンデル エイ.
アメリカ合衆国 ９４１５８ カリフォルニア州 サンフランシスコ シックスティーンス ストリート ６００
(72)発明者 モルサト レオナルド
アメリカ合衆国 ９４１５８ カリフォルニア州 サンフランシスコ シックスティーンス ストリート ６００
(72)発明者 ロイボール コレ ティー.
アメリカ合衆国 ９４１５８ カリフォルニア州 サンフランシスコ シックスティーンス ストリート ６００

審査官 上村 直子

(56)参考文献 特表２０００－５１１０４３（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２００５／０４５０２８（WO，Ａ１）
ACS Synthetic Biology, ２０１４年, Vol.3, No.12, p.892-902

Cell, １９９８年, Vol.93, No.4, p.649-660

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
Ｃ１２Ｎ　１５／００－１５／９０
Ｃ０７Ｋ　１／００－１９／００
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）
ＷＰＩＤＳ／ＷＰＩＸ（ＳＴＮ）