(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7291396号
(P7291396)

(45)発行日　令和5年6月15日(2023.6.15)

(24)登録日　令和5年6月7日(2023.6.7)

(51)国際特許分類		FI		
C12N 15/62 (2006.01)		C12N	15/62	
C12N 15/13 (2006.01)		C12N	15/13	ZNA
C12N 15/85 (2006.01)		C12N	15/85	Z
C12N 15/86 (2006.01)		C12N	15/86	Z
C12N 15/861 (2006.01)		C12N	15/861	Z

請求項の数　33　（全197頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2019-527363(P2019-527363)
(86)(22)出願日　平成29年11月22日(2017.11.22)
(65)公表番号　特表2019-536452(P2019-536452A)
(43)公表日　令和1年12月19日(2019.12.19)
(86)国際出願番号　PCT/US2017/063137
(87)国際公開番号　WO2018/098365
(87)国際公開日　平成30年5月31日(2018.5.31)
審査請求日　令和2年11月13日(2020.11.13)
(31)優先権主張番号　62/425,407
(32)優先日　平成28年11月22日(2016.11.22)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/425,535
(32)優先日　平成28年11月22日(2016.11.22)
最終頁に続く

(73)特許権者　519032826
ティーシーアール２ セラピューティクス インク.
アメリカ合衆国 ０２１４２ マサチューセッツ州 ケンブリッジ ビニー・ストリート １００ スイート ７１０
(74)代理人　100118902
弁理士　山本 修
(74)代理人　100106208
弁理士　宮前 徹
(74)代理人　100196508
弁理士　松尾 淳一
(74)代理人　100122644
弁理士　寺地 拓己
(72)発明者　ボーエルレ，パトリック
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　融合タンパク質を用いたＴＣＲの再プログラミングのための組成物及び方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

配列を含む組み換え核酸分子であって、該組み換え核酸分子が、

（ａ）第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、

（ｉ）（１）ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、

（２）膜貫通ドメインと、

（３）ＣＤ３εまたはＣＤ３γ鎖の細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインと、

を含む、第１のＴＣＲサブユニットと、

（ｉｉ）第１の抗腫瘍抗原結合ドメインを含む第１のヒト抗体、ヒト化抗体、またはマウス抗体のドメインと

を含む、第１のＴＦＰ；及び

（ｂ）第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、

（ｉ）（１）ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、

（２）膜貫通ドメインと、

（３）ＣＤ３εまたはＣＤ３γ鎖の細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインと、

を含む、第２のＴＣＲサブユニットと、

（ｉｉ）第２の抗腫瘍抗原結合ドメインを含む第２のヒト抗体、ヒト化抗体、またはマウス抗体ドメインと

を含む、第２のＴＦＰ
をコードし、
前記第１の抗腫瘍抗原結合ドメインが前記第１のＴＦＰの前記第１のＴＣＲサブユニットのＮ末端に作動可能に連結され、前記第２の抗腫瘍抗原結合ドメインが前記第２のＴＦＰの前記第２のＴＣＲサブユニットのＮ末端に作動可能に連結され、前記第１のＴＦＰ及び前記第２のＴＦＰが、Ｔ細胞で発現される際に内因性ＴＣＲ複合体に組み込まれる、組み換え核酸分子。
【請求項２】
配列を含む組み換え核酸分子であって、該組み換え核酸分子が、
（ａ）Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、
（ｉ）（１）ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、
（２）膜貫通ドメインと、
（３）ＣＤ３εまたはＣＤ３γ鎖の細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインと、
を含む、第１のＴＣＲサブユニットと、
（ｉｉ）第１の標的に対して特異性を有する第１の抗腫瘍抗原結合ドメインと
を含む、ＴＦＰ；及び
（ｂ）第１の標的とは異なっておりかつそれから離れている第２の標的に対して特異性を有する第２の抗腫瘍抗原結合ドメイン
をコードし、
（Ａ）前記第１の抗腫瘍抗原結合ドメインが、前記第１のＴＣＲサブユニットのＮ末端に作動可能に連結された前記第２の抗腫瘍抗原結合ドメインのＮ末端に作動可能に連結されるか、または（Ｂ）前記第２の抗腫瘍抗原結合ドメインが、前記第１のＴＣＲサブユニットのＮ末端に作動可能に連結された前記第１の抗腫瘍抗原結合ドメインのＮ末端に作動可能に連結され、
前記ＴＦＰがＴ細胞で発現される際に内因性ＴＣＲ複合体に組み込まれる、組み換え核酸分子。
【請求項３】
（ａ）前記第１のＴＣＲサブユニットの細胞内シグナル伝達ドメイン、及び前記第２のＴＣＲサブユニットの細胞内シグナル伝達ドメインが、異なるＴＣＲ鎖の細胞内シグナル伝達ドメインに由来するものであるか、または
（ｂ）前記第１のＴＣＲサブユニット及び前記第２のＴＣＲサブユニットが同じものである、
請求項１に記載の組み換え核酸分子。
【請求項４】
（ａ）前記第１の抗腫瘍抗原結合ドメインが抗ＣＤ１９結合ドメインであり、前記第２の抗腫瘍抗原結合ドメインが抗ＣＤ２２結合ドメインまたは抗ＣＤ２０結合ドメインであるか、
（ｂ）前記第１の抗腫瘍抗原結合ドメインが抗メソテリン結合ドメインであり、前記第２の抗腫瘍抗原結合ドメインが抗ＭＵＣ１６結合ドメインであるか、または
（ｃ）前記第１の抗腫瘍抗原結合ドメインが抗ＣＤ１９結合ドメインであり、前記第２の抗腫瘍抗原結合ドメインが抗ＢＣＭＡ結合ドメインである、
請求項１～３のいずれか１項に記載の組み換え核酸分子。
【請求項５】
前記組み換え核酸分子がプロテアーゼ切断部位を更にコードする、請求項１～４のいずれか１項に記載の組み換え核酸分子。
【請求項６】
前記第１の抗腫瘍抗原結合ドメイン、前記第２の抗腫瘍抗原結合ドメイン、またはその両方が、
（ａ）ｓｃＦｖまたはＶＨドメインであり、または

（ｂ）抗体またはその断片を含まず、かつ細胞の表面上に発現される受容体またはポリペプチドに結合するリガンドである、
請求項１～５のいずれか１項に記載の組み換え核酸分子。
【請求項７】
前記第１のＴＣＲサブユニットの膜貫通ドメインがＴＣＲ膜貫通ドメインであり、前記第１のＴＣＲサブユニットのＴＣＲ細胞外ドメイン、ＴＣＲ膜貫通ドメイン、及びＴＣＲ細胞内ドメインが、１つのＴＣＲ鎖に由来する、請求項１～６のいずれか１項に記載の組み換え核酸分子。
【請求項８】
前記第２のＴＣＲサブユニットの膜貫通ドメインがＴＣＲ膜貫通ドメインであり、前記第２のＴＣＲサブユニットのＴＣＲ細胞外ドメイン、ＴＣＲ膜貫通ドメイン、及びＴＣＲ細胞内ドメインが、１つのＴＣＲ鎖に由来する、請求項１または３～７のいずれか１項に記載の組み換え核酸分子。
【請求項９】
（ｉ）前記第１のＴＦＰの第１のＴＣＲサブユニット及び前記第１の抗腫瘍抗原結合ドメインが第１のリンカー配列によって作動可能に連結され、（ｉｉ）前記第２のＴＦＰの第２のＴＣＲサブユニット及び前記第２の抗腫瘍抗原結合ドメインが第２のリンカー配列によって作動可能に連結され、または（ｉｉｉ）前記第１のＴＦＰの第１のＴＣＲサブユニット及び前記第１の抗腫瘍抗原結合ドメインが第１のリンカー配列によって作動可能に連結され、かつ前記第２のＴＦＰの第２のＴＣＲサブユニット及び前記第２の抗腫瘍抗原結合ドメインが第２のリンカー配列によって作動可能に連結される、請求項１に記載の組み換え核酸分子。
【請求項１０】
前記第１のリンカー配列または前記第２のリンカー配列が$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝１～４である、請求項９に記載の組み換え核酸分子。
【請求項１１】
前記ＴＦＰの第１のＴＣＲサブユニット及び前記第１の抗腫瘍抗原結合ドメインが第１のリンカー配列によって作動可能に連結され、及び（ｉ）前記ＴＦＰの第１のＴＣＲサブユニット及び前記第２の抗腫瘍抗原結合ドメインが第２のリンカー配列によって作動可能に連結され、または（ｉｉ）前記第１の抗腫瘍抗原結合ドメイン及び前記第２の抗腫瘍抗原結合ドメインが第２のリンカー配列によって作動可能に連結される、請求項２に記載の組み換え核酸分子。
【請求項１２】
前記第１のリンカー配列または前記第２のリンカー配列が$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝１～４である、請求項１１に記載の組み換え核酸分子。
【請求項１３】
（ｉ）それぞれ配列番号２６、配列番号２８、及び配列番号３０の、抗ＣＤ１９軽鎖結合ドメインの軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２、及びＬＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列、及び（ｉｉ）それぞれ配列番号３２、配列番号３４、及び配列番号３６の、抗ＣＤ１９重鎖結合ドメインの重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、及びＨＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列をコードする、請求項１または２に記載の組み換え核酸分子。
【請求項１４】
前記組み換え核酸分子が抗ＣＤ１９軽鎖可変領域及び抗ＣＤ１９重鎖可変領域をコードし、前記軽鎖可変領域が、配列番号３８の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する配列を含み、前記重鎖可変領域が、配列番号４０の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する配列を含む、請求項１または２に記載の組み換え核酸分子。
【請求項１５】
（ｉ）それぞれ配列番号４２、配列番号４４、及び配列番号４６の、抗ＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインの軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２、及びＬＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列

、及び（ｉｉ）それぞれ配列番号４８、配列番号５０、及び配列番号５２の、抗ＢＣＭＡ重鎖結合ドメインの重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、及びＨＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列をコードする、請求項１または２に記載の組み換え核酸分子。

【請求項１６】

前記組み換え核酸分子が抗ＢＣＭＡ軽鎖可変領域及び抗ＢＣＭＡ重鎖可変領域をコードし、前記軽鎖可変領域が、配列番号５６の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する配列を含み、前記重鎖可変領域が、配列番号５４の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する配列を含む、請求項１または２に記載の組み換え核酸分子。

【請求項１７】

（ｉ）それぞれ配列番号５７、配列番号５８、及び配列番号５９の、抗ＣＤ２２軽鎖結合ドメインの軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２、及びＬＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列、及び（ｉｉ）それぞれ配列番号６０、配列番号６１、及び配列番号６２の、抗ＣＤ２２重鎖結合ドメインの重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、及びＨＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列をコードする、請求項１または２に記載の組み換え核酸分子。

【請求項１８】

前記組み換え核酸分子が抗ＣＤ２２軽鎖可変領域及び抗ＣＤ２２重鎖可変領域をコードし、前記軽鎖可変領域が、配列番号６３の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する配列を含み、前記重鎖可変領域が、配列番号６４の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する配列を含む、請求項１または２に記載の組み換え核酸分子。

【請求項１９】

前記膜貫通ドメインが、ＴＣＲα鎖、ＴＣＲβ鎖、ＴＣＲζ鎖、ＣＤ３εＴＣＲサブユニット、ＣＤ３γＴＣＲサブユニット、ＣＤ３δＴＣＲサブユニット、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ２８、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４、またはその機能性断片からなる群から選択される、請求項１または２に記載の組み換え核酸分子。

【請求項２０】

共刺激ドメインをコードする配列を更に含む、請求項１または２に記載の組み換え核酸分子。

【請求項２１】

前記共刺激ドメインが、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）、ならびに４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）からなる群から選択されるタンパク質から得られる機能的シグナル伝達ドメインである、請求項２０に記載の組み換え核酸分子。

【請求項２２】

リーダー配列を更にコードする、請求項１または２に記載の組み換え核酸分子。

【請求項２３】

プロモーターを更に含む、請求項１または２に記載の組み換え核酸分子。

【請求項２４】

前記組み換え核酸が、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’－デオキシ、２’－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾、ロックド核酸（ＬＮＡ）、エチレン核酸（ＥＮＡ）、ペプチド核酸（ＰＮＡ）、１’，５’－アンヒドロヘキシトール核酸（ＨＮＡ）、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、及び２’－フルオロＮ３－Ｐ５’－ホスホロアミダイトからなる群から選択されるヌクレオチド類似体を含む、請求項１または２に記載の組み換え核酸分子。

【請求項２５】
請求項１～２４のいずれか１項に記載の組み換え核酸分子を含むベクター。
【請求項２６】
ＤＮＡ、ＲＮＡ、プラスミド、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクター、ラウス肉腫ウイルス（ＲＳＶ）ベクター、またはレトロウイルスベクターからなる群から選択される、請求項２５に記載のベクター。
【請求項２７】
請求項１～２４のいずれか１項に記載の組み換え核酸分子、または請求項２５または２６に記載のベクターを含む、ヒトＴ細胞。
【請求項２８】
ＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞である、請求項２７に記載のヒトＴ細胞。
【請求項２９】
（ａ）請求項２７または２８に記載のヒトＴ細胞と、
（ｂ）薬学的に許容可能な賦形剤と
を含む医薬組成物。
【請求項３０】
腫瘍関連抗原の発現を伴う疾患を処置するための薬剤の調製における、請求項１～２４のいずれか１項に記載の組み換え核酸分子、請求項２５または２６に記載のベクター、請求項２７または２８に記載のヒトＴ細胞、または請求項２９記載の医薬組成物の使用。
【請求項３１】
ＣＤ１９、ＢＣＭＡ、またはＣＤ２２発現を伴う疾患を処置するための薬剤の調製における、請求項１～２４のいずれか１項に記載の組み換え核酸分子、請求項２５または２６に記載のベクター、請求項２７または２８に記載のヒトＴ細胞、または請求項２９に記載の医薬組成物の使用であって、前記疾患が、増殖性疾患、がん、悪性腫瘍、脊髄形成異常、骨髄異形成症候群、前白血病、ＣＤ１９の発現を伴う非がん関連適応症、ＢＣＭＡの発現を伴う非がん関連適応症、及びＣＤ２２の発現を伴う非がん関連適応症からなる群から選択される、使用。
【請求項３２】
疾患を処置するための薬剤の調製における、請求項１～２４のいずれか１項に記載の組み換え核酸分子、請求項２５または２６に記載のベクター、請求項２７または２８に記載のヒトＴ細胞、または請求項２９に記載の医薬組成物の使用であって、前記疾患が、中皮腫、乳頭状漿液性卵巣腺癌、明細胞急性リンパ性白血病（Ｔ－ＡＬＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、Ｂ細胞慢性リンパ性白血病、Ｂ細胞前リンパ性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、毛様細胞性白血病、小細胞型濾胞性リンパ腫、大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、脊髄形成異常、骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽細胞リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、前白血病、卵巣癌、卵巣ミュラー管混合癌、子宮内膜粘液性卵巣癌、膵腺癌、膵管腺癌、子宮体部漿液性癌、肺腺癌、肝外胆管癌、胃腺癌、食道腺癌、結腸直腸腺癌、乳腺癌、腎癌、結腸癌、胃癌、自己免疫疾患、及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるがんである、使用。
【請求項３３】
疾患を処置するための薬剤の調製における、請求項１～２４のいずれか１項に記載の組み換え核酸分子、請求項２５または２６に記載のベクター、請求項２７または２８に記載のヒトＴ細胞、または請求項２９に記載の医薬組成物の使用であって、前記疾患が、ユーイング肉腫、神経膠腫、神経芽細胞腫、多発性骨髄腫、黒色腫、白血病、卵巣癌、膀胱癌、乳癌、肺癌、肝細胞癌、結腸癌、腎癌、及び前立腺癌からなる群から選択されるがんである、使用。
【発明の詳細な説明】

【技術分野】
【０００１】
相互参照
本出願は、２０１６年１１月２２日に出願された米国特許仮出願第６２／４２５，４０７号、２０１６年１１月２２日に出願された米国特許仮出願第６２／４２５，５３５号、２０１６年１１月２３日に出願された米国特許仮出願第６２／４２５，６９７号、及び２０１６年１１月２３日に出願された米国特許仮出願第６２／４２５，８８４号の利益を主張するものであり、当該仮出願のそれぞれは、その全体が参照により本明細書に援用される。
【背景技術】
【０００２】
血液悪性腫瘍または末期の固形腫瘍を有するほとんどの患者は、標準治療では治癒不可能である。更に、従来の治療選択肢は、多くの場合、重大な副作用がある。がん性細胞を拒絶するために患者の免疫系を関わらせる試み、すなわち、がん免疫療法と総称される方法が多くなされてきた。しかしながら、いくつかの障害が、その臨床効果の達成をかなり困難にしている。何百ものいわゆる腫瘍抗原が特定されているが、これらは、多くの場合、自己由来であるため、がん免疫療法が健康な組織に向かう可能性があり、または免疫原性に乏しい。更に、がん細胞は、複数の機構を用いて、自分自身を見えなくしたり、がん免疫療法による免疫攻撃の開始及び伝播に敵対したりする。
【０００３】
遺伝子操作されたＴ細胞をがん細胞の適切な細胞表面分子に向け直すことに依拠する、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）改変自己Ｔ細胞治療を用いた最近の発展は、がんを治療するために免疫系の力を利用することにおいて有望な結果を示している。例えば、Ｂ細胞成熟抗原（ＢＣＭＡ）特異的ＣＡＲＴ細胞を用いた進行中の試験による臨床結果は、一部の多発性骨髄腫患者において、部分寛解を示した（このような試験の１つはｃｌｉｎｉｃａｌｔｒｉａｌｓ．ｇｏｖから識別番号ＮＣＴ０２２１５９６７で見出すことができる）。代替的な方法は、自己Ｔ細胞を遺伝子操作するために、腫瘍関連ペプチド抗原に対して選ばれたＴ細胞受容体（ＴＣＲ）アルファ鎖及びベータ鎖の使用である。これらのＴＣＲ鎖は、完全なＴＣＲ複合体を形成し、第二の特異性を定義するＴＣＲをＴ細胞にもたらす。滑膜肉腫患者では、ＮＹ－ＥＳＯ－１－特異的ＴＣＲアルファ鎖及びベータ鎖を発現する組み換え自己Ｔ細胞を用いることにより、有望な結果が得られた。末期の固形腫瘍を有するほとんどの患者は、標準治療では治癒不可能である。更に、従来の治療選択肢は、多くの場合、重大な副作用がある。がん性細胞を拒絶するために患者の免疫系を関わらせる試み、すなわち、がん免疫療法と総称される方法が多くなされてきた。しかしながら、いくつかの障害が、その臨床効果の達成をかなり困難にしている。何百ものいわゆる腫瘍抗原が特定されているが、これらは、多くの場合、自己由来であるため、がん免疫療法が健康な組織に向かう可能性があり、または免疫原性に乏しい。更に、がん細胞は、複数の機構を用いて、自分自身を見えなくしたり、がん免疫療法による免疫攻撃の開始及び伝播に敵対したりする。
【０００４】
ＮＫＧ２Ｄは、自己腫瘍細胞及びウイルス感染細胞の表面に提示されている様々な細胞ストレス誘導性リガンドに結合すると、免疫監視に関与する活性化共刺激受容体として機能する。ＮＫＧ２Ｄは、活性化したキラー（ＮＫ）細胞に対して、刺激と共刺激の両方による自然免疫応答をもたらし、細胞傷害活性を導く。ＮＫＧ２Ｄは、Ｔ細胞活性化を増幅することによって、ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞媒介性適応免疫応答において、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）の共刺激受容体として機能し、パーフォリンを介したリガンド発現腫瘍細胞の排除を促進する。ＮＫＧ２Ｄシグナル伝達は、最終的にはＴＮＦ－アルファの発現に至るカルシウム流入に関与する。ＮＫＧ２Ｄは、ＮＫ細胞を介した骨髄移植片拒絶反応に関与しており、ＮＫ細胞の分化及び生存において制御的役割を果たすと思われる。ＮＫＧ２Ｄは、ＭＨＣクラスＩ関連糖タンパク質の様々なサブファミリーに属するリガンドに結合し、これら

には、ＭＩＣＡ、ＭＩＣＢ、ＲＡＥＴ１Ｅ、ＲＡＥＴ１Ｇ、ＵＬＢＰ１、ＵＬＢＰ２、ＵＬＢＰ３（ＵＬＢＰ２＞ＵＬＢＰ１＞ＵＬＢＰ３）及びＵＬＢＰ４が挙げられる。

【０００５】

ＲＯＲ１は、悪性Ｂ細胞（Ｂ－ＣＬＬ）及びマントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ）の細胞表面上に発現する。また、ＲＯＲ１は、バーキットリンパ腫、腎細胞癌、結腸癌及び乳癌の細胞株を含む、特定の他のがん細胞株にも発現することが報告されている。

【０００６】

ＣＤ１６は、低親和性Ｆｃ受容体であり、ナチュラルキラー細胞、好中球多形核白血球、単球及びマクロファージの表面上にみられる分化分子クラスターである。Ｆｃ受容体ＦｃγＲＩＩＩａ（ＣＤ１６ａ）及びＦｃγＲＩＩＩｂ（ＣＤ１６ｂ）として特定されている。これらの受容体は、ＩｇＧ抗体のＦｃ部分に結合し、次いで、ＮＫ細胞を活性化し、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害をもたらす。

【０００７】

組み換えＴ細胞を用いた患者の治療を成功させるには、ＣＡＲまたは第２のＴＣＲを発現する遺伝子改変Ｔ細胞がｉｎ　ｖｉｔｒｏ／ｅｘ　ｖｉｖｏでそれぞれの標的細胞を認識及び破壊する能力に加えて、Ｔ細胞が強力な活性化、増殖、経時的な持続性を有することができ、再発性疾患の場合には、「記憶」反応が可能であることを要する。ＣＡＲＴ細胞の高くて扱いやすい臨床効果は、現在、メソテリン陽性Ｂ細胞悪性腫瘍、及びＨＬＡ－Ａ２を発現するＮＹ－ＥＳＯ－１－ペプチド発現滑膜肉腫患者に限られている。遺伝子操作されたＴ細胞を様々なヒト悪性腫瘍に対してより広く作用するように改良する明確な必要性がある。本明細書に記載されるのは、既存の方法の限界を克服することが見込まれる、細胞表面抗原に特異的な結合ドメインと、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマ及びＣＤ３デルタなどのＴＣＲサブユニットとの新規融合タンパク質、ならびにＴＣＲアルファ鎖及びＴＣＲベータ鎖との新規融合タンパク質である。本明細書に記載されるのは、ＣＡＲよりも標的細胞を効果的に殺傷するが、炎症促進性サイトカインを同等または少ないレベルで放出する、新規融合タンパク質である。炎症促進性サイトカイン値の上昇が養子ＣＡＲ－Ｔ療法の用量制限毒性と関連することから、これらの融合タンパク質及びその使用方法は、ＣＡＲと比較して、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）の利点を示す。

【発明の概要】

【０００８】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＴＣＲアルファ及びＴＣＲベータからなる群から選択される細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、抗体またはその断片に結合することができる結合リガンドまたはその断片とを含み、ＴＣＲサブユニット及び結合リガンドは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【０００９】

いくつかの実施形態において、結合リガンドは、抗体のＦｃドメインに結合することができる。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、ＩｇＧ１抗体に選択的に結合することができる。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、ＩｇＧ１抗体に特異的に結合することができる。いくつかの実施形態において、抗体またはその断片は、細胞表面抗原に結合する。いくつかの実施形態において、抗体またはその断片は、腫瘍細胞の表面上の細胞表面抗原に結合する。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、単量体、二量体、三量体、四量体、五量体、六量体、七量体、八量体、九量体または十量体を含む。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、抗体またはその断片を含まない。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片を含む。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、ＣＤ１６結合ポリペプチドを含む。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、ヒトまたはヒト化である。いくつかの実

施形態において、単離された核酸分子は、結合リガンドによって結合され得る抗体またはその断片をコードする核酸配列を更に含む。いくつかの実施形態において、抗体またはその断片は、細胞から分泌され得る。

【００１０】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＴＣＲアルファ及びＴＣＲベータからなる群から選択される細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、細胞の表面上に発現される受容体またはポリペプチドに結合するリガンドまたはその断片を含む、抗原ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット及び抗原ドメインは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００１１】

いくつかの実施形態において、抗原ドメインは、リガンドを含む。いくつかの実施形態において、リガンドは、細胞の受容体に結合する。いくつかの実施形態において、リガンドは、細胞の表面上に発現されるポリペプチドに結合する。いくつかの実施形態において、細胞の表面上に発現される受容体またはポリペプチドは、ストレス応答受容体またはポリペプチドを含む。いくつかの実施形態において、細胞の表面上に発現される受容体またはポリペプチドは、ＭＨＣクラスＩ関連糖タンパク質である。いくつかの実施形態において、ＭＨＣクラスＩ関連糖タンパク質は、ＭＩＣＡ、ＭＩＣＢ、ＲＡＥＴ１Ｅ、ＲＡＥＴ１Ｇ、ＵＬＢＰ１、ＵＬＢＰ２、ＵＬＢＰ３、ＵＬＢＰ４及びこれらの組み合わせからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、抗原ドメインは、単量体、二量体、三量体、四量体、五量体、六量体、七量体、八量体、九量体または十量体を含む。いくつかの実施形態において、抗原ドメインは、リガンドまたはその断片の単量体または二量体を含む。いくつかの実施形態において、リガンドまたはその断片は、単量体、二量体、三量体、四量体、五量体、六量体、七量体、八量体、九量体または十量体である。いくつかの実施形態において、リガンドまたはその断片は、単量体または二量体である。いくつかの実施形態において、抗原ドメインは、抗体またはその断片を含まない。いくつかの実施形態において、抗原ドメインは、可変領域を含まない。いくつかの実施形態において、抗原ドメインは、ＣＤＲを含まない。いくつかの実施形態において、リガンドまたはその断片は、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片である。いくつかの実施形態において、ＴＣＲサブユニットは、第１のＴＣＲサブユニット及び第２のＴＣＲサブユニットを含み、抗原ドメインは、第１の抗原ドメイン及び第２の抗原ドメインを含み、第１のＴＣＲサブユニットは、第１の抗原ドメインに作動可能に連結され、第２のＴＣＲサブユニットは、第２の抗原ドメインに作動可能に連結される。いくつかの実施形態において、抗原ドメインは、ヒトまたはヒト化である。

【００１２】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３イプシロンの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片を含む、結合リガンドとを含み、ＴＣＲサブユニット及び結合リガンドは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００１３】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３ガンマの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、

ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片を含む、結合リガンドとを含み、ＴＣＲサブユニット及び結合リガンドは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００１４】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片を含む、結合リガンドとを含み、ＴＣＲサブユニット及び結合リガンドは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００１５】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＴＣＲアルファの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片を含む、結合リガンドとを含み、ＴＣＲサブユニット及び結合リガンドは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００１６】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＴＣＲベータの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片を含む、結合リガンドとを含み、ＴＣＲサブユニット及び結合リガンドは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００１７】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲサブユニットと、抗体またはその断片に結合することができる結合リガンドとを含む、単離された組み換え核酸分子である。

【００１８】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲサブユニットと、ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片を含む結合リガンドとを含む、単離された組み換え核酸分子である。

【００１９】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３イプシロンの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、抗受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）結合ドメインである抗原結合ドメインを含む、ヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット及び抗体ドメインは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００２０】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３ガンマの細胞内シグナル伝達ドメイン

に由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、抗受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）結合ドメインである抗原結合ドメインを含む、ヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット及び抗体ドメインは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００２１】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、抗受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）結合ドメインである抗原結合ドメインを含む、ヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット及び抗体ドメインは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００２２】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＴＣＲアルファの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、抗受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）結合ドメインである抗原結合ドメインを含む、ヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット及び抗体ドメインは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００２３】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＴＣＲベータの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、抗受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）結合ドメインである抗原結合ドメインを含む、ヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット及び抗体ドメインは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００２４】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲサブユニットと、抗ＲＯＲ１結合ドメインである抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、単離された組み換え核酸分子である。

【００２５】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３イプシロンの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片であるリガンドを含む、抗原ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット及び抗原ドメインは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００２６】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３ガンマの細胞内シグナル伝達ドメイン

に由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片であるリガンドを含む、抗原ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット及び抗原ドメインは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００２７】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片であるリガンドを含む、抗原ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット及び抗原ドメインは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００２８】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＴＣＲアルファの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片であるリガンドを含む、抗原ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット及び抗原ドメインは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００２９】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＴＣＲベータの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片であるリガンドを含む、抗原ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット及び抗原ドメインは、作動可能に連結され、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００３０】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲサブユニットと、抗原ドメインとを含む、単離された組み換え核酸分子である。

【００３１】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲサブユニットと、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片であるリガンドを含む抗原ドメインとを含む、単離された組み換え核酸分子である。

【００３２】

いくつかの実施形態において、ＴＣＲサブユニット及び抗原ドメインは、作動可能に連結される。いくつかの実施形態において、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる。いくつかの実施形態において、抗原ドメインは、ヒトまたはヒト化である。いくつかの実施形態において、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片は、細胞の受容体に結合する。いくつかの実施形態において、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片は、細胞の表面上に発現されるポリペプチドに結合する。いくつかの実施形態において、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片は、ストレス応答受容体またはポリペプチドに結

合する。いくつかの実施形態において、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片は、ＭＨＣクラスＩ関連糖タンパク質に結合する。いくつかの実施形態において、ＭＨＣクラスＩ関連糖タンパク質は、ＭＩＣＡ、ＭＩＣＢ、ＲＡＥＴ１Ｅ、ＲＡＥＴ１Ｇ、ＵＬＢＰ１、ＵＬＢＰ２、ＵＬＢＰ３、ＵＬＢＰ４及びこれらの組み合わせからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、抗原ドメインは、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片の単量体、二量体、三量体、四量体、五量体、六量体、七量体、八量体、九量体または十量体を含む。いくつかの実施形態において、抗原ドメインは、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片の単量体または二量体を含む。いくつかの実施形態において、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片は、単量体、二量体、三量体、四量体、五量体、六量体、七量体、八量体、九量体または十量体である。いくつかの実施形態において、ナチュラルキラーグループ２Ｄ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンドまたはその断片は、単量体または二量体である。いくつかの実施形態において、抗原ドメインは、抗体またはその断片を含まない。いくつかの実施形態において、抗原ドメインは、可変領域を含まない。いくつかの実施形態において、抗原ドメインは、ＣＤＲを含まない。いくつかの実施形態において、ＴＣＲサブユニットは、第１のＴＣＲサブユニット及び第２のＴＣＲサブユニットを含み、抗原ドメインは、第１の抗原ドメイン及び第２の抗原ドメインを含み、第１のＴＣＲサブユニットは、第１の抗原ドメインに作動可能に連結され、第２のＴＣＲサブユニットは、第２の抗原ドメインに作動可能に連結される。いくつかの実施形態において、コードされたリガンドは、リンカー配列によって、ＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。

【００３３】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換え核酸分子であって、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３イプシロンの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第１のＴＦＰ；及び第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分を含むＴＣＲサブユニットと、第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第２のＴＦＰをコードし、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第１の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰ及び第２のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００３４】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換え核酸分子であって、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３ガンマの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第１のＴＦＰ；及び第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分を含むＴＣＲサブユニットと、第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第２のＴＦＰをコードし、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第１の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰ及び第２のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００３５】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換え核酸分子であって、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞

外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第１のＴＦＰ；及び第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分を含むＴＣＲサブユニットと、第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第２のＴＦＰをコードし、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第１の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰ及び第２のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００３６】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換え核酸分子であって、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＴＣＲアルファの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第１のＴＦＰ；及び第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分を含むＴＣＲサブユニットと、第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第２のＴＦＰをコードし、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第１の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰ及び第２のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００３７】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換え核酸分子であって、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＴＣＲベータの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第１のＴＦＰ；及び第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分を含むＴＣＲサブユニットと、第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第２のＴＦＰをコードし、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第１の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰ及び第２のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【００３８】

いくつかの実施形態において、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニットは、ＴＣＲアルファ、ＴＣＲベータ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマ及びＣＤ３デルタからなる群から選択される細胞内シグナル伝達ドメインまたはその機能性断片に由来する刺激ドメインを含む、ＴＣＲ細胞内ドメインを更に含む。

【００３９】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３イプシロンの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメイン及び第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット、第１の抗体ドメイン及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子で

ある。
【００４０】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３ガンマの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメイン及び第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット、第１の抗体ドメイン及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。
【００４１】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメイン及び第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット、第１の抗体ドメイン及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。
【００４２】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＴＣＲアルファの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメイン及び第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット、第１の抗体ドメイン及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。
【００４３】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された組み換え核酸分子であって、ＴＦＰは、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＴＣＲベータの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメイン及び第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含み、ＴＣＲサブユニット、第１の抗体ドメイン及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。
【００４４】
いくつかの実施形態において、第１の抗原結合ドメインまたは第２の抗原結合ドメインは、抗ＣＤ１９結合ドメインである。いくつかの実施形態において、第１の抗原結合ドメインまたは第２の抗原結合ドメインは、抗Ｂ細胞成熟抗原（ＢＣＭＡ）結合ドメインであり、いくつかの実施形態において、第１の抗原結合ドメインまたは第２の抗原結合ドメインは、抗ＣＤ２２結合ドメインである。
【００４５】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換え核酸分子であって、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）サブユニット、抗ＣＤ１９結合ドメインである第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメインを含む、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）と、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）サブユニット、抗ＢＣＭＡ結合ドメインである第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメ

インを含む、第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）とをコードする、単離された組み換え核酸分子である。

【００４６】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換え核酸分子であって、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）サブユニット、抗ＣＤ１９結合ドメインである第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメインを含む、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）と、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）サブユニット、抗ＣＤ２２結合ドメインである第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインを含む、第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）とをコードする、単離された組み換え核酸分子である。

【００４７】

いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第１の抗体ドメインが作動可能に連結され、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第２の抗体ドメインが作動可能に連結される。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰ、第２のＴＦＰ、またはその両方は、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる。いくつかの実施形態において、コードされた第１の抗原結合ドメインは、第１のリンカー配列によって、第１のＴＦＰのＴＣＲ細胞外ドメインに接続されるか、コードされた第２の抗原結合ドメインは、第２のリンカー配列によって、第２のＴＦＰのＴＣＲ細胞外ドメインに接続されるか、または第１の抗原結合ドメインは、第１のリンカー配列によって、第１のＴＦＰのＴＣＲ細胞外ドメインに接続され、かつコードされた第２の抗原結合ドメインは、第２のリンカー配列によって、第２のＴＦＰのＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、第１のリンカー配列及び第２のリンカー配列は、（Ｇ４Ｓ）ｎを含み、ｎ＝１～４である。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、またはその両方は、ＴＣＲ細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、またはその両方は、ＴＣＲ膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、またはその両方は、ＴＣＲ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、またはその両方は、（ｉ）ＴＣＲ細胞外ドメインと、（ｉｉ）ＴＣＲ膜貫通ドメインと、（ｉｉｉ）ＴＣＲ細胞内ドメインとを含み、（ｉ）、（ｉｉ）及び（ｉｉｉ）のうちの少なくとも２つは、同じＴＣＲサブユニットに由来する。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、またはその両方は、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマもしくはＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメインから選択される刺激ドメイン、またはそれに対して少なくとも１つの修飾を有するアミノ酸配列を含む、ＴＣＲ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、またはその両方は、４－１ＢＢの機能的シグナル伝達ドメイン及び／またはＣＤ３ゼータの機能的シグナル伝達ドメインから選択される刺激ドメイン、またはそれに対して少なくとも１つの修飾を有するアミノ酸配列を含む、細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第１のヒトもしくはヒト化抗体ドメイン、第２のヒトもしくはヒト化抗体ドメイン、またはその両方は、抗体断片を含む。いくつかの実施形態において、第１のヒトもしくはヒト化抗体ドメイン、第２のヒトもしくはヒト化抗体ドメイン、またはその両方は、ｓｃＦｖまたはＶＨドメインを含む。

【００４８】

いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、（ｉ）配列番号２５、配列番号２７及び配列番号２９に対してそれぞれ７０～１００％の配列同一性を有する、抗ＣＤ１９軽鎖結合ドメインの軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列、及び／または（ｉｉ）配列番号３１、配列番号３３及び配列番号３５に対してそれぞれ７０～１００％の配列同一性を有する、抗ＣＤ１９重鎖結合ドメインの重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列をコードする。いくつかの

実施形態において、単離された核酸分子は、軽鎖可変領域をコードし、軽鎖可変領域は、配列番号４９の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列、または配列番号４９の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、重鎖可変領域をコードし、重鎖可変領域は、配列番号５１の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列、または配列番号５１の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、（ｉ）配列番号３７、配列番号３９及び配列番号４１に対してそれぞれ７０～１００％の配列同一性を有する、抗ＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインの軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列、及び／または（ｉｉ）配列番号４３、配列番号４５及び配列番号４７に対してそれぞれ７０～１００％の配列同一性を有する、抗ＢＣＭＡ重鎖結合ドメインの重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列をコードする。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、軽鎖可変領域をコードし、軽鎖可変領域は、配列番号５３の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列、または配列番号５３の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、重鎖可変領域をコードし、重鎖可変領域は、配列番号５５の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列、または配列番号５５の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ２２抗原結合ドメインは、本明細書に記載される可変領域または本明細書に記載される１つ以上のＣＤＲを含む。

【００４９】

いくつかの実施形態において、コードされた第１のＴＦＰ、コードされた第２のＴＦＰ、またはその両方は、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、その機能性断片、及びその少なくとも１つから２０以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその部分を含む、ＴＣＲサブユニットの細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態において、コードされた第１のＴＦＰ及びコードされた第２のＴＦＰは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、その機能性断片、及びその少なくとも１つから２０以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む、膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、コードされた第１のＴＦＰ及びコードされた第２のＴＦＰは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＴＣＲゼータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ２８、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４、その機能性断片、及びその少なくとも１つから２０以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む、膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、ＴＣＲサブユニット及び結合リガンドは、作動可能に連結される。いくつかの実施形態において、ＴＣＲサブユニット及び抗体ドメインは、作動可能に連結される。いくつかの実施形態において、ＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、リンカー配列によって、ＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、コードされた抗原結合ドメインは、リンカー配列によって、ＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、リンカー配列は、（Ｇ４Ｓ）ｎを含み、ｎ＝１～４である。いくつかの実施形態において、ＴＣＲサブユニットは、ＴＣＲ細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態において、ＴＣＲサブユニットは、ＴＣＲ膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、ＴＣＲサブユニットは、ＴＣＲ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態におい

て、ＴＣＲサブユニットは、（ｉ）ＴＣＲ細胞外ドメインと、（ｉｉ）ＴＣＲ膜貫通ドメインと、（ｉｉｉ）ＴＣＲ細胞内ドメインとを含み、（ｉ）、（ｉｉ）及び（ｉｉｉ）のうちの少なくとも２つは、同じＴＣＲサブユニットに由来する。いくつかの実施形態において、ＴＣＲサブユニットは、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメインから選択される刺激ドメイン、またはそれに対して少なくとも１つの修飾を有するアミノ酸配列を含む、ＴＣＲ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、ＴＣＲサブユニットは、４－１ＢＢの機能的シグナル伝達ドメイン及び／またはＣＤ３ゼータの機能的シグナル伝達ドメインから選択される刺激ドメイン、またはそれに対して少なくとも１つの修飾を有するアミノ酸配列を含む、細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、ＣＤ１６結合抗体または抗体断片を含む。いくつかの実施形態において、ヒトまたはヒト化抗体ドメインは、抗体断片を含む。いくつかの実施形態において、ヒトまたはヒト化抗体ドメインは、ｓｃＦｖまたはＶＨドメインを含む。

【００５０】

いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、本明細書で提供されるＮＫＧ２Ｄリガンドに対して７０～１００％の配列同一性を有するＮＫＧ２Ｄアミノ酸配列をコードする。

【００５１】

いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、本明細書で提供されるＣＤ１６ポリペプチドに対して約７０～約１００％の配列同一性を有するＣＤ１６アミノ酸配列をコードする。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、（ｉ）本明細書で提供される抗ＲＯＲ１軽鎖結合ドメインの軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３に対してそれぞれ７０～１００％の配列同一性を有する、抗ＲＯＲ１軽鎖結合ドメインの軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列、及び／または（ｉｉ）本明細書で提供される抗ＲＯＲ１重鎖結合ドメインの重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３に対してそれぞれ７０～１００％の配列同一性を有する、抗ＲＯＲ１重鎖結合ドメインの重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列をコードする。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、軽鎖可変領域をコードし、軽鎖可変領域は、本明細書で提供される軽鎖可変領域の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列、または本明細書で提供される軽鎖可変領域の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、重鎖可変領域をコードし、重鎖可変領域は、本明細書で提供される重鎖可変領域の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列、または本明細書で提供される重鎖可変領域の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【００５２】

いくつかの実施形態において、ＴＦＰは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、その機能性断片、及びその少なくとも１つから２０以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその部分を含む、ＴＣＲサブユニットの細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態において、コードされたＴＦＰは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、その機能性断片、及びその少なくとも１つから２０以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む、膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、コードされたＴＦＰは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＴＣＲゼータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ２８、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、Ｃ

Ｄ１３７、ＣＤ１５４、その機能性断片、及びその少なくとも１つから２０以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む、膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、共刺激ドメインをコードする配列を更に含む。いくつかの実施形態において、共刺激ドメインは、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）及び４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ならびにそれに対して少なくとも１つから２０以下の修飾を有するそのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質から得られる機能的シグナル伝達ドメインである。いくつかの実施形態において、それに対する少なくとも１つから２０以下の修飾は、細胞シグナル伝達を媒介するアミノ酸の修飾、またはＴＦＰへのリガンド結合に応答してリン酸化されるアミノ酸の修飾を含む。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、細胞内シグナル伝達ドメインをコードする配列を更に含み、いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、リーダー配列を更に含む。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、プロテアーゼ切断部位を更に含む。いくつかの実施形態において、それに対する少なくとも１つから２０以下の修飾は、細胞シグナル伝達を媒介するアミノ酸の修飾、または第１のＴＦＰ、第２のＴＦＰ、もしくはその両方へのリガンド結合に応答してリン酸化されるアミノ酸の修飾を含む。

【００５３】

いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、ｍＲＮＡである。

【００５４】

いくつかの実施形態において、ＴＦＰは、ＣＤ３ゼータＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、ＴＣＲゼータ鎖、Ｆｃイプシロン受容体１鎖、Ｆｃイプシロン受容体２鎖、Ｆｃガンマ受容体１鎖、Ｆｃガンマ受容体２ａ鎖、Ｆｃガンマ受容体２ｂ１鎖、Ｆｃガンマ受容体２ｂ２鎖、Ｆｃガンマ受容体３ａ鎖、Ｆｃガンマ受容体３ｂ鎖、Ｆｃベータ受容体１鎖、ＴＹＲＯＢＰ（ＤＡＰ１２）、ＣＤ５、ＣＤ１６ａ、ＣＤ１６ｂ、ＣＤ２２、ＣＤ２３、ＣＤ３２、ＣＤ６４、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ８９、ＣＤ２７８、ＣＤ６６ｄ、その機能性断片、及びそれに対して少なくとも１つから２０以下の修飾を有するそのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の免疫受容体チロシン活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）またはその部分を含む、ＴＣＲサブユニットのＩＴＡＭを含む。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰ、第２のＴＦＰ、またはその両方は、ＣＤ３ゼータＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、ＴＣＲゼータ鎖、Ｆｃイプシロン受容体１鎖、Ｆｃイプシロン受容体２鎖、Ｆｃガンマ受容体１鎖、Ｆｃガンマ受容体２ａ鎖、Ｆｃガンマ受容体２ｂ１鎖、Ｆｃガンマ受容体２ｂ２鎖、Ｆｃガンマ受容体３ａ鎖、Ｆｃガンマ受容体３ｂ鎖、Ｆｃベータ受容体１鎖、ＴＹＲＯＢＰ（ＤＡＰ１２）、ＣＤ５、ＣＤ１６ａ、ＣＤ１６ｂ、ＣＤ２２、ＣＤ２３、ＣＤ３２、ＣＤ６４、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ８９、ＣＤ２７８、ＣＤ６６ｄ、その機能性断片、及びそれに対して少なくとも１つから２０以下の修飾を有するそのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の免疫受容体チロシン活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）またはその部分を含む、ＴＣＲサブユニットのＩＴＡＭを含む。いくつかの実施形態において、当該ＩＴＡＭが、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、またはＣＤ３イプシロンのＩＴＡＭの代わりに使用される。いくつかの実施形態において、ＩＴＡＭは、ＣＤ３ゼータＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタＴＣＲサブユニットからなる群から選択され、ＣＤ３ゼータＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタＴＣＲサブユニットからなる群から選択される異なるＩＴＡＭの代わりに使用される。

【００５５】

いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、リーダー配列を更に含む。

【００５６】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される核酸分子によってコードされた、単離されたポリペプチドである。いくつかの実施形態において、単離されたポリペプチドは、第１の核酸分子によってコードされた第１のポリペプチドと、第２の核酸分子によってコードされた第２のポリペプチドとを含む。

【００５７】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトもしくはヒト化ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む、単離された組み換えＴＦＰ分子である。

【００５８】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子であって、ヒトもしくはヒト化ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、単離された組み換えＴＦＰ分子である。

【００５９】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子であって、ヒトもしくはヒト化ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体に機能的に統合することができる、単離された組み換えＴＦＰ分子である。

【００６０】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトまたはヒト化抗受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む、単離された組み換えＴＦＰ分子である。

【００６１】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、単離された組み換えＴＦＰ分子である。

【００６２】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体に機能的に統合することができる、単離された組み換えＴＦＰ分子である。

【００６３】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＮＫＧ２Ｄポリペプチドまたはその断片、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む、単離された組み換えＴＦＰ分子である。

【００６４】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子であって、ヒトＮＫＧ２Ｄポリペプチドまたはその断片、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、単離された組み換えＴＦＰ分子である。

【００６５】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子であって、ヒトＮＫＧ２Ｄポリペプチドまたはその断片、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体に

機能的に統合することができる、単離された組み換えＴＦＰ分子である。
【００６６】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子とを含む、単離された組み換えＴＦＰ分子である。
【００６７】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子とを含み、第１のＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、単離された組み換えＴＦＰ分子である。
【００６８】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子とを含み、第１のＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体に機能的に統合することができる、単離された組み換えＴＦＰ分子である。いくつかの実施形態において、単離された組み換えＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメインを含む抗体または抗体断片、ヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む。
【００６９】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ２２結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子とを含む、単離された組み換えＴＦＰ分子である。
【００７０】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えの第１のＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ヒト化抗ＣＤ２２結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含み、第１のＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、単離された組み換えの第１のＴＦＰ分子である。
【００７１】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えの第１のＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ヒト化抗ＣＤ２２結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含み、第１のＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体に機能的に統合することができる、単離された組み換えの第１のＴＦＰ分子である。
【００７２】
いくつかの実施形態において、単離されたＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＲＯＲ１結合ドメインを含む抗体または抗体断片、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、抗ＲＯＲ１結合ドメインは、ｓｃＦｖまたはＶＨドメインである。いくつかの実施形態において、抗ＲＯＲ１結合ドメインは、本明細書で提供される抗ＲＯＲ１軽鎖のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性

を有する重鎖、その機能性断片、またはその少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＲＯＲ１結合ドメインは、本明細書で提供される抗ＲＯＲ１重鎖のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する軽鎖、その機能性断片、またはその少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、単離されたＴＦＰ分子は、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、その機能性断片、及びその少なくとも１つから２０以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその部分を含む、ＴＣＲ細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態において、ＴＣＲ細胞外ドメインは、リンカー配列によって、作動可能に接続される。いくつかの実施形態において、リンカー領域は、（Ｇ４Ｓ）ｎを含み、ｎ＝１～４である。いくつかの実施形態において、単離されたＴＦＰ分子は、共刺激ドメインをコードする配列を更に含む。いくつかの実施形態において、単離されたＴＦＰ分子は、細胞内シグナル伝達ドメインをコードする配列を更に含む。いくつかの実施形態において、単離されたＴＦＰ分子は、リーダー配列を更に含む。

【００７３】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載されるＴＦＰをコードする配列を含む、核酸である。いくつかの実施形態において、単離された組み換えＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメインを含む抗体または抗体断片、ヒト化抗ＣＤ２２結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、単離されたＴＦＰ分子は、抗ＣＤ１９結合ドメイン、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、抗ＣＤ２２結合ドメインまたはこれらの組み合わせを更に含み、ｓｃＦｖまたはＶＨドメインである。

【００７４】

いくつかの実施形態において、抗ＣＤ１９結合ドメインは、配列番号５１のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する重鎖、その機能性断片、またはその少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ１９結合ドメインは、配列番号４９のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する軽鎖、その機能性断片、またはその少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５５のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する重鎖、その機能性断片、またはその少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５３のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する軽鎖、その機能性断片、またはその少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列を含む。

【００７５】

いくつかの実施形態において、抗ＣＤ２２結合ドメインは、本明細書に記載される可変領域または本明細書に記載される１つ以上のＣＤＲを含む。いくつかの実施形態において、単離された組み換えＴＦＰ分子は、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、その機能性断片、及びその少なくとも１つから２０以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその部分を含む、ＴＣＲ細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ１９結合ドメインは、第１のリンカー配列によって、第１のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続され、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、第２のリンカー配列によって、第１のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ１９結合ドメインは、第１のリンカー配列によって、第１のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続され、抗ＣＤ２２結合ドメインは、第２のリンカー配列によって、第１のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、第１のリンカー配列及び第２のリンカー配列は、（Ｇ４Ｓ）ｎを含み、ｎ＝１～４である。いくつかの実施形態において、単

離された組み換えＴＦＰ分子は、共刺激ドメインを更に含む。いくつかの実施形態において、単離された組み換えＴＦＰ分子は、細胞内シグナル伝達ドメインを更に含む。いくつかの実施形態において、単離された組み換えＴＦＰ分子は、リーダー配列を更に含む。

【００７６】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された組み換えＴＦＰをコードする配列を含む、核酸である。

【００７７】

いくつかの実施形態において、核酸は、第１のＴＦＰ分子をコードする第１の核酸と、第２のＴＦＰ分子をコードする第２の核酸とを含む。いくつかの実施形態において、核酸は、ＤＮＡ及びＲＮＡからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、核酸は、ｍＲＮＡである。いくつかの実施形態において、核酸は、プロモーターを更に含む。いくつかの実施形態において、核酸は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写された核酸である。いくつかの実施形態において、核酸は、ポリ（Ａ）テールをコードする配列を更に含む。いくつかの実施形態において、核酸は、３’ＵＴＲ配列を更に含む。いくつかの実施形態において、核酸は、プロテアーゼ切断部位をコードする配列を更に含む。

【００７８】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載されるＴＦＰをコードする核酸分子を含む、ベクターである。

【００７９】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された組み換えＴＦＰ分子をコードする核酸分子を含む、ベクターである。

【００８０】

いくつかの実施形態において、ベクターは、ａ）第１のＴＦＰをコードする第１の核酸分子を含む第１のベクターと、ｂ）第２のＴＦＰをコードする第２の核酸分子を含む第２のベクターとを含む。

【００８１】

いくつかの実施形態において、ベクターは、ＤＮＡ、ＲＮＡ、プラスミド、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクター、ラウス肉腫ウイルス（ＲＳＶ）ベクターまたはレトロウイルスベクターからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、ベクターは、プロモーターを更に含む。いくつかの実施形態において、ベクターは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写されたベクターである。いくつかの実施形態において、ベクター中の核酸分子は、ポリ（Ａ）テールを更にコードする。いくつかの実施形態において、ベクター中の核酸分子は、３’ＵＴＲを更にコードする。いくつかの実施形態において、ベクター中の核酸分子は、プロテアーゼ切断部位を更にコードする。

【００８２】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、または本明細書に記載されるベクターを含む、細胞である。

【００８３】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載される単離された組み換えＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、または本明細書に記載されるベクターを含む、細胞である。

【００８４】

いくつかの実施形態において、細胞は、ヒトＴ細胞である。いくつかの実施形態において、Ｔ細胞は、ＣＤ８$^{+}$またはＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞である。いくつかの実施形態において、細胞は、抑制分子の少なくとも一部分を含む第１のポリペプチドを、細胞内シグナル伝達ドメインに由来する正のシグナルを備える第２のポリペプチドに会合して含む抑制分子をコードする核酸を更に含む。いくつかの実施形態において、抑制分子は、ＰＤ１の少なくとも一部分を含む第１のポリペプチドと、共刺激ドメイン及び一次シグナル伝達ドメインを

含む第２のポリペプチドとを含む。
【００８５】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、少なくとも２つのＴＦＰ分子を含む、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞であって、ＴＦＰ分子は、ヒトもしくはヒト化ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞である。
【００８６】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトもしくはヒト化ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含むＴＦＰ分子と、少なくとも１つの内因性ＴＣＲサブユニットまたは内因性ＴＣＲ複合体とを含む、タンパク質複合体である。
【００８７】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、少なくとも２つのＴＦＰ分子を含む、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞であって、ＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞である。
【００８８】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトまたはヒト化抗受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含むＴＦＰ分子と、少なくとも１つの内因性ＴＣＲサブユニットまたは内因性ＴＣＲ複合体とを含む、タンパク質複合体である。
【００８９】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、少なくとも２つのＴＦＰ分子を含む、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞であって、ＴＦＰ分子は、ヒトＮＫＧ２Ｄポリペプチドまたはその断片、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞である。
【００９０】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＮＫＧ２Ｄポリペプチドまたはその断片、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含むＴＦＰ分子と、少なくとも１つの内因性ＴＣＲサブユニットまたは内因性ＴＣＲ複合体とを含む、タンパク質複合体である。
【００９１】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子を含む、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞であって、単離された組み換えＴＦＰ分子は、ａ）ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ｂ）ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子とを含み、ＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞である。

【００９２】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子を含む、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞であって、単離された組み換えＴＦＰ分子は、ａ）ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ｂ）ヒトまたはヒト化抗ＣＤ２２結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子とを含み、ＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞である。
【００９３】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトまたはヒト化ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子と、少なくとも１つの内因性ＴＣＲサブユニットまたは内因性ＴＣＲ複合体とを含む、タンパク質複合体である。
【００９４】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトまたはヒト化ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ２２結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子と、少なくとも１つの内因性ＴＣＲサブユニットまたは内因性ＴＣＲ複合体とを含む、タンパク質複合体である。
【００９５】
いくつかの実施形態において、ＴＣＲは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタＴＣＲサブユニットからなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその部分を含む。いくつかの実施形態において、ＮＫＧ２Ｄリガンドまたはその断片は、リンカー配列によって、ＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片は、リンカー配列によって、ＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、抗ＲＯＲ１結合ドメインは、リンカー配列によって、ＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、リンカー領域は、（Ｇ４Ｓ）ｎを含み、ｎ＝１～４である。
【００９６】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された核酸分子によってコードされたＴＦＰと、少なくとも１つの内因性ＴＣＲサブユニットまたは内因性ＴＣＲ複合体とを含む、タンパク質複合体である。
【００９７】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載されるタンパク質複合体１つ当たり少なくとも２つの異なるＴＦＰタンパク質を含む、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞である。
【００９８】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された核酸分子によってコードされた少なくとも２つの異なるＴＦＰ分子を含む、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞である。
【００９９】
いくつかの実施形態において、ＴＦＰは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタＴＣＲサブユニットからなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその部分を含む。いくつかの実施形態において、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメインは、第１のリンカー配列によって、第１のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続され、ヒト

またはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、第２のリンカー配列によって、第２のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメインは、第１のリンカー配列によって、第１のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続され、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ２０結合ドメインは、第２のリンカー配列によって、第２のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、第１のリンカー配列及び第２のリンカー配列は、（Ｇ４Ｓ）ｎを含み、ｎ＝１～４である。

【０１００】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された核酸分子によってコードされた第１のＴＦＰ及び第２のＴＦＰと、少なくとも１つの内因性ＴＣＲサブユニットまたは内因性ＴＣＲ複合体とを含む、タンパク質複合体である。

【０１０１】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載されるタンパク質複合体１つ当たり第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を含む、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞である。

【０１０２】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された核酸分子によってコードされた第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を含む、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞である。

【０１０３】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団であって、当該集団のＴ細胞は、少なくとも２つのＴＦＰ分子を個々にまたは集合的に含み、ＴＦＰ分子は、ヒトもしくはヒト化ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団である。

【０１０４】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団であって、当該集団のＴ細胞は、少なくとも２つのＴＦＰ分子を個々にまたは集合的に含み、ＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団である。

【０１０５】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団であって、当該集団のＴ細胞は、少なくとも２つのＴＦＰ分子を個々にまたは集合的に含み、ＴＦＰ分子は、ヒトＮＫＧ２Ｄポリペプチドまたはその断片、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団である。

【０１０６】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団であって、当該集団のＴ細胞は、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を個々にまたは集合的に含み、第１のＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、第２のＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイ

ン及び細胞内ドメインを含み、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団である。

【０１０７】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団であって、当該集団のＴ細胞は、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を個々にまたは集合的に含み、第１のＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、第２のＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ２２結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団である。

【０１０８】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団であって、当該集団のＴ細胞は、本明細書に記載される単離された核酸分子によってコードされた第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を個々にまたは集合的に含む、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団である。

【０１０９】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団であって、当該集団のＴ細胞は、本明細書に記載される単離された核酸分子によってコードされた少なくとも２つのＴＦＰ分子を個々にまたは集合的に含む、ヒトＣＤ８＋またはＣＤ４＋Ｔ細胞の集団である。

【０１１０】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載される核酸、または本明細書に記載されるベクターをＴ細胞に形質導入することを含む、細胞を作製する方法である。

【０１１１】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写されたＲＮＡまたは合成ＲＮＡを細胞に導入することを含み、ＲＮＡは、本明細書に記載されるＴＦＰ分子をコードする核酸を含む、ＲＮＡ改変細胞の集団を作製する方法である。

【０１１２】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写されたＲＮＡまたは合成ＲＮＡを細胞に導入することを含み、ＲＮＡは、本明細書に記載される単離された組み換えＴＦＰ分子をコードする核酸を含む、ＲＮＡ改変細胞の集団を作製する方法である。

【０１１３】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、哺乳動物に抗腫瘍免疫を付与する方法であって、当該哺乳動物に、有効量の本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子を発現する細胞、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される細胞を投与することを含む、方法である。

【０１１４】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、哺乳動物に抗腫瘍免疫を付与する方法であって、当該哺乳動物に、有効量の本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子を発現する細胞、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される細胞を投与することを含む、方法である。

【０１１５】

いくつかの実施形態において、細胞は、自己Ｔ細胞である。いくつかの実施形態において、細胞は、同種異系Ｔ細胞である。いくつかの実施形態において、哺乳動物は、ヒトである。

【０１１６】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、腫瘍関連抗原の発現を伴う疾患を有する哺乳動物を治療する方法であって、当該哺乳動物に、有効量の本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子を発現する細胞、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される細胞を投与することを含む、方法である。

【０１１７】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ＲＯＲ１の発現を伴う疾患を有する哺乳動物を治療する方法であって、当該哺乳動物に、有効量の本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子を発現する細胞、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される細胞を投与することを含む、方法である。

【０１１８】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ＮＫＧ２Ｄ受容体の発現を伴う疾患を有する哺乳動物を治療する方法であって、当該哺乳動物に、有効量の本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子を発現する細胞、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される細胞を投与することを含む、方法である。

【０１１９】

いくつかの実施形態において、抗ＮＫＧ２Ｄ受容体の発現を伴う疾患は、形成異常、増殖性疾患、がん、悪性腫瘍、抗ＮＫＧ２Ｄ受容体の発現を伴う非がん関連適応症、炎症性疾患、リウマチ様関節炎、大腸炎、セリアック病、腸炎症、多発性硬化症、円形脱毛症、１型糖尿病、慢性閉塞性肺疾患、アテローム性動脈硬化症、及び２型糖尿病に関連するメタボリックシンドロームからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、抗ＮＫＧ２Ｄ受容体の発現を伴う疾患は、感染症である。

【０１２０】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ＣＤ１９、ＢＣＭＡまたはＣＤ２２の発現を伴う疾患を有する哺乳動物を治療する方法であって、当該哺乳動物に、有効量の本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子を発現する細胞、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される細胞を投与することを含む、方法である。

【０１２１】

いくつかの実施形態において、ＣＤ１９、ＢＣＭＡまたはＣＤ２２発現を伴う疾患は、増殖性疾患、がん、悪性腫瘍、脊髄形成異常、骨髄異形成症候群、前白血病、ＣＤ１９の発現を伴う非がん関連適応症、ＢＣＭＡの発現を伴う非がん関連適応症、及びＣＤ２２の発現を伴う非がん関連適応症からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、ＲＯＲ１発現を伴う疾患は、形成異常、増殖性疾患、がん、悪性腫瘍、及びＲＯＲ１の発現を伴う非がん関連適応症からなる群から選択される。

【０１２２】

いくつかの実施形態において、疾患は、中皮腫、乳頭状漿液性卵巣腺癌、明細胞急性リンパ性白血病（Ｔ－ＡＬＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、Ｂ細胞慢性リンパ性白血病、Ｂ細胞前リンパ性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細

胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、毛様細胞性白血病、小細胞型濾胞性リンパ腫、大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、脊髄形成異常、骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽細胞リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、前白血病、卵巣癌、卵巣ミュラー管混合癌、子宮内膜粘液性卵巣癌、膵腺癌、膵管腺癌、子宮体部漿液性癌、肺腺癌、肝外胆管癌、胃腺癌、食道腺癌、結腸直腸腺癌、乳腺癌、腎癌、結腸癌、胃癌、自己免疫疾患及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるがんである。いくつかの実施形態において、疾患は、中皮腫、乳頭状漿液性卵巣腺癌、明細胞急性リンパ性白血病（Ｔ－ＡＬＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、Ｂ細胞慢性リンパ性白血病、Ｂ細胞前リンパ性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、毛様細胞性白血病、小細胞型濾胞性リンパ腫、大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、脊髄形成異常、骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽細胞リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、前白血病、卵巣癌、卵巣ミュラー管混合癌、子宮内膜粘液性卵巣癌、膵腺癌、膵管腺癌、子宮体部漿液性癌、肺腺癌、肝外胆管癌、胃腺癌、食道腺癌、結腸直腸腺癌、乳腺癌、腎癌、結腸癌、胃癌、ＲＯＲ１発現を伴う疾患及びこれらの組み合わせからなる群から選択されるがんである。いくつかの実施形態において、疾患は、ユーイング肉腫、神経膠腫、神経芽細胞腫、多発性骨髄腫、黒色腫、白血病（例えば、ＡＭＬ、ＣＭＬ及びＣＬＬ）、卵巣癌、膀胱癌、乳癌、肺癌、肝細胞癌、結腸癌、腎癌及び前立腺癌からなる群から選択されるがんである。いくつかの実施形態において、疾患は、Ｂ細胞急性リンパ性白血病（Ｂ－ＡＬＬ）、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（Ｔ－ＡＬＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、Ｂ細胞前リンパ性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、毛様細胞性白血病、小細胞型濾胞性リンパ腫、大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、脊髄形成異常、骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽細胞リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、前白血病、ＣＤ１９、ＢＣＭＡまたはＣＤ２２発現を伴う疾患及びこれらの組み合わせからなる群から選択される血液がんである。

【０１２３】

いくつかの実施形態において、ＴＦＰ分子を発現する細胞は、ＴＦＰ分子を発現する細胞の有効性を増大させる作用物質と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、ＴＦＰ分子を発現する細胞は、腫瘍細胞上の細胞表面結合抗原に特異的に結合する抗体またはその断片と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を発現する細胞は、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を発現する細胞の有効性を増大させる作用物質と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、当該哺乳動物において放出されるサイトカインは、抗原ドメインを有するキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するＴ細胞の有効量が投与された哺乳動物と比較して、少ない。いくつかの実施形態において、当該哺乳動物において放出されるサイトカインは、リガンドＮＫＧ２Ｄを含む抗原ドメインを有するキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するＴ細胞の有効量が投与された哺乳動物と比較して、少ない。いくつかの実施形態において、当該哺乳動物において放出されるサイトカインは、細胞表面結合抗原に結合することができるキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するＴ細胞の有効量が投与された哺乳動物と比較して、少ない。いくつかの実施形態において、当該哺乳動物において放出されるサイトカインは、抗ＲＯＲ１キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するＴ細胞の有効量が投与された哺乳動物と比較して、少ない。いくつかの実施形態において、当該哺乳動物において放出されるサイトカインは、抗ＣＤ１９キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ、抗ＣＤ２２　ＣＡＲ、抗ＣＤ１９　ＣＡＲ及び抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ、抗ＣＤ１９Ｃ

ＡＲ及び抗ＣＤ２２ＣＡＲ、またはこれらの組み合わせを発現するＴ細胞の有効量が投与された哺乳動物と比較して、少ない。いくつかの実施形態において、ＴＦＰ分子を発現する細胞は、ＴＦＰ分子を発現する細胞の投与に伴う１つ以上の副作用を改善する作用物質と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、ＴＦＰ分子を発現する細胞は、第２の治療薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、ＴＦＰ分子を発現する細胞は、ＲＯＲ１に関連する疾患を治療する作用物質と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、ＴＦＰ分子を発現する細胞は、抗ＮＫＧ２Ｄ受容体に関連する疾患を治療する作用物質と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を発現する細胞は、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を発現する細胞の投与に伴う１つ以上の副作用を改善する作用物質と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を発現する細胞は、ＣＤ１９、ＢＣＭＡまたはＣＤ２２に関連する疾患を治療する作用物質と組み合わせて投与される。

【０１２４】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、薬剤として使用するための、本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子を発現する細胞、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される細胞である。

【０１２５】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、薬剤として使用するための本明細書に記載される単離された核酸分子である。

【０１２６】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ＲＯＲ１の発現を伴う疾患を有する哺乳動物を治療する方法であって、当該哺乳動物に、有効量の本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子を発現する細胞、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される細胞を投与することを含み、当該哺乳動物において放出されるサイトカインが、抗ＲＯＲ１キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するＴ細胞の有効量が投与された哺乳動物と比較して、少ない、方法である。

【０１２７】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、抗ＮＫＧ２Ｄ受容体の発現を伴う疾患を有する哺乳動物を治療する方法であって、当該哺乳動物に、有効量の本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子を発現する細胞、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される細胞を投与することを含み、当該哺乳動物において放出されるサイトカインが、リガンドＮＫＧ２Ｄを含む抗原ドメインを有するキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現するＴ細胞の有効量が投与された哺乳動物と比較して、少ない、方法である。

【０１２８】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ＣＤ１９、ＢＣＭＡまたはＣＤ２２の発現を伴う疾患を有する哺乳動物を治療する方法であって、当該哺乳動物に、有効量の本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子を発現する細胞、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される細胞を投与することを含み、当該哺乳動物において放出されるサイトカインが、抗ＣＤ１９キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ、抗ＣＤ２２　ＣＡＲ、抗ＣＤ１９　ＣＡＲ及び抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ、抗ＣＤ１９ＣＡＲ及び抗ＣＤ２２ＣＡＲ、またはこれらの組み合わせを発現するＴ細胞の有効量が投与された哺乳動物と比較して、少ない

、方法である。
【０１２９】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換え核酸分子であって、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３イプシロンの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第１のＴＦＰ；及び第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分を含むＴＣＲサブユニットと、第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第２のＴＦＰをコードし、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第１の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰ及び第２のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。
【０１３０】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換え核酸分子であって、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３ガンマの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第１のＴＦＰ；及び第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分を含むＴＣＲサブユニットと、第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第２のＴＦＰをコードし、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第１の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰ及び第２のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。
【０１３１】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換え核酸分子であって、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第１のＴＦＰ；及び第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分を含むＴＣＲサブユニットと、第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第２のＴＦＰをコードし、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第１の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰ及び第２のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。
【０１３２】
いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換え核酸分子であって、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＴＣＲアルファの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第１のＴＦＰ；及び第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分を含むＴＣＲサブユニットと、第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第２のＴＦＰをコードし、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第１の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第２のＴＦＰの

ＴＣＲサブユニット及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰ及び第２のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【０１３３】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換え核酸分子であって、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分と、ＴＣＲベータの細胞内シグナル伝達ドメインに由来する刺激ドメインを含むＴＣＲ細胞内ドメインとを含む、ＴＣＲサブユニットと、第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第１のＴＦＰ；及び第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）であって、ＴＣＲ細胞外ドメインの少なくとも一部分を含むＴＣＲサブユニットと、第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、第２のＴＦＰをコードし、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第１の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第２の抗体ドメインは、作動可能に連結され、第１のＴＦＰ及び第２のＴＦＰは、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる、単離された組み換え核酸分子である。

【０１３４】

いくつかの実施形態において、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニットは、ＴＣＲアルファ、ＴＣＲベータ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマ及びＣＤ３デルタからなる群から選択される細胞内シグナル伝達ドメインまたはその機能性断片に由来する刺激ドメインを含む、ＴＣＲ細胞内ドメインを更に含む。いくつかの実施形態において、第１の抗原結合ドメインまたは第２の抗原結合ドメインは、抗ＣＤ１９結合ドメインである。いくつかの実施形態において、第１の抗原結合ドメインまたは第２の抗原結合ドメインは、抗Ｂ細胞成熟抗原（ＢＣＭＡ）結合ドメインである。いくつかの実施形態において、第１の抗原結合ドメインまたは第２の抗原結合ドメインは、抗ＣＤ２２結合ドメインである。

【０１３５】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換え核酸分子であって、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）サブユニット、抗ＣＤ１９結合ドメインである第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメインを含む、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）と、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）サブユニット、抗ＢＣＭＡ結合ドメインである第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインを含む、第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）とをコードする、単離された組み換え核酸分子である。

【０１３６】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換え核酸分子であって、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）サブユニット、抗ＣＤ１９結合ドメインである第１の抗原結合ドメインを含む第１のヒトまたはヒト化抗体ドメインを含む、第１のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）と、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）サブユニット、抗ＣＤ２２結合ドメインである第２の抗原結合ドメインを含む第２のヒトまたはヒト化抗体ドメインを含む、第２のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）とをコードする、単離された組み換え核酸分子である。

【０１３７】

いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第１の抗体ドメインが作動可能に連結され、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット及び第２の抗体ドメインが作動可能に連結される。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰ、第２のＴＦＰ、またはその両方は、Ｔ細胞で発現される際にＴＣＲに組み込まれる。いくつかの実施形態において、コードされた第１の抗原結合ドメインは、第１のリンカー配列によって、第１のＴＦＰのＴＣＲ細胞外ドメインに接続されるか、コードされた第２の抗原結合ドメインは、第２のリンカー配列によって、第２のＴＦＰのＴＣＲ細胞外ドメインに接続されるか、または第１の抗原結合ドメインは、第１のリンカー配列によって、第１のＴＦＰのＴＣ

Ｒ細胞外ドメインに接続され、かつコードされた第２の抗原結合ドメインは、第２のリンカー配列によって、第２のＴＦＰのＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、第１のリンカー配列及び第２のリンカー配列は、（Ｇ４Ｓ）ｎを含み、ｎ＝１～４である。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、またはその両方は、ＴＣＲ細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、またはその両方は、ＴＣＲ膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、またはその両方は、ＴＣＲ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、またはその両方は、（ｉ）ＴＣＲ細胞外ドメインと、（ｉｉ）ＴＣＲ膜貫通ドメインと、（ｉｉｉ）ＴＣＲ細胞内ドメインとを含み、（ｉ）、（ｉｉ）及び（ｉｉｉ）のうちの少なくとも２つは、同じＴＣＲサブユニットに由来する。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、またはその両方は、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマもしくはＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメインから選択される刺激ドメイン、またはそれに対して少なくとも１つの修飾を有するアミノ酸配列を含む、ＴＣＲ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、第２のＴＦＰのＴＣＲサブユニット、またはその両方は、４－１ＢＢの機能的シグナル伝達ドメイン及び／またはＣＤ３ゼータの機能的シグナル伝達ドメインから選択される刺激ドメイン、またはそれに対して少なくとも１つの修飾を有するアミノ酸配列を含む、細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第１のヒトもしくはヒト化抗体ドメイン、第２のヒトもしくはヒト化抗体ドメイン、またはその両方は、抗体断片を含む。いくつかの実施形態において、第１のヒトもしくはヒト化抗体ドメイン、第２のヒトもしくはヒト化抗体ドメイン、またはその両方は、ｓｃＦｖまたはＶＨドメインを含む。

【０１３８】

いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、（ｉ）配列番号２５、配列番号２７及び配列番号２９に対してそれぞれ７０～１００％の配列同一性を有する、抗ＣＤ１９軽鎖結合ドメインの軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列、及び／または（ｉｉ）配列番号３１、配列番号３３及び配列番号３５に対してそれぞれ７０～１００％の配列同一性を有する、抗ＣＤ１９重鎖結合ドメインの重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列をコードする。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、軽鎖可変領域をコードし、軽鎖可変領域は、配列番号４９の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列、または配列番号４９の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、重鎖可変領域をコードし、重鎖可変領域は、配列番号５１の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列、または配列番号５１の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、（ｉ）配列番号３７、配列番号３９及び配列番号４１に対してそれぞれ７０～１００％の配列同一性を有する、抗ＢＣＭＡ軽鎖結合ドメインの軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列、及び／または（ｉｉ）配列番号４３、配列番号４５及び配列番号４７に対してそれぞれ７０～１００％の配列同一性を有する、抗ＢＣＭＡ重鎖結合ドメインの重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列をコードする。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、軽鎖可変領域をコードし、軽鎖可変領域は、配列番号５３の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列、または配列番号５３の軽鎖可変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、重鎖可変領域をコードし、重鎖可変領域は、配列番号５５の重鎖可変領域アミノ酸配列に対して少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列、または配列番号５５の重鎖可

変領域アミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ２２抗原結合ドメインは、本明細書に記載される可変領域または本明細書に記載される１つ以上のＣＤＲを含む。

【０１３９】

いくつかの実施形態において、コードされた第１のＴＦＰ、コードされた第２のＴＦＰ、またはその両方は、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、その機能性断片、及びその少なくとも１つから２０以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその部分を含む、ＴＣＲサブユニットの細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態において、コードされた第１のＴＦＰ及びコードされた第２のＴＦＰは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、その機能性断片、及びその少なくとも１つから２０以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む、膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、コードされた第１のＴＦＰ及びコードされた第２のＴＦＰは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＴＣＲゼータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ２８、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４、その機能性断片、及びその少なくとも１つから２０以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む、膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、共刺激ドメインをコードする配列を更に含む。いくつかの実施形態において、共刺激ドメインは、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）及び４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ならびにそれに対して少なくとも１つから２０以下の修飾を有するそのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質から得られる機能的シグナル伝達ドメインである。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、細胞内シグナル伝達ドメインをコードする配列を更に含む。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、リーダー配列を更に含む。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、プロテアーゼ切断部位を更に含む。いくつかの実施形態において、それに対する少なくとも１つから２０以下の修飾は、細胞シグナル伝達を媒介するアミノ酸の修飾、または第１のＴＦＰ、第２のＴＦＰ、もしくはその両方へのリガンド結合に応答してリン酸化されるアミノ酸の修飾を含む。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、ｍＲＮＡである。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰ、第２のＴＦＰ、またはその両方は、ＣＤ３ゼータＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、ＴＣＲゼータ鎖、Ｆｃイプシロン受容体１鎖、Ｆｃイプシロン受容体２鎖、Ｆｃガンマ受容体１鎖、Ｆｃガンマ受容体２ａ鎖、Ｆｃガンマ受容体２ｂ１鎖、Ｆｃガンマ受容体２ｂ２鎖、Ｆｃガンマ受容体３ａ鎖、Ｆｃガンマ受容体３ｂ鎖、Ｆｃベータ受容体１鎖、ＴＹＲＯＢＰ（ＤＡＰ１２）、ＣＤ５、ＣＤ１６ａ、ＣＤ１６ｂ、ＣＤ２２、ＣＤ２３、ＣＤ３２、ＣＤ６４、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ８９、ＣＤ２７８、ＣＤ６６ｄ、その機能性断片、及びそれに対して少なくとも１つから２０以下の修飾を有するそのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の免疫受容体チロシン活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）またはその部分を含む、ＴＣＲサブユニットのＩＴＡＭを含む。いくつかの実施形態において、当該ＩＴＡＭが、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、またはＣＤ３イプシロンのＩＴＡＭの代わりに使用される。いくつかの実施形態において、ＩＴＡＭは、ＣＤ３ゼータＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタＴＣＲサブユニットからなる群から選択され、ＣＤ３ゼータＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタＴＣＲサブユニットからなる群から選択される異なるＩＴＡＭの代わりに使用

される。いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、リーダー配列を更に含む。

【０１４０】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される核酸分子によってコードされた、単離されたポリペプチド分子である。いくつかの実施形態において、単離されたポリペプチドは、第１の核酸分子によってコードされた第１のポリペプチドと、第２の核酸分子によってコードされた第２のポリペプチドとを含む。

【０１４１】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子とを含む、単離された組み換えＴＦＰ分子である。

【０１４２】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子とを含み、第１のＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、単離された組み換えＴＦＰ分子である。

【０１４３】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子とを含み、第１のＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体に機能的に統合することができる、単離された組み換えＴＦＰ分子である。いくつかの実施形態において、単離された組み換えＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメインを含む抗体または抗体断片、ヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む。

【０１４４】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ２２結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子とを含む、単離された組み換えＴＦＰ分子である。

【０１４５】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えの第１のＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ヒト化抗ＣＤ２２結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含み、第１のＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、単離された組み換えの第１のＴＦＰ分子である。

【０１４６】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えの第１のＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ヒト化抗ＣＤ２２結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含み、第１のＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体に機能的に統合することができる、単離された組み換えの第１のＴＦＰ分子である。

【０１４７】

いくつかの実施形態において、単離された組み換えＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメインを含む抗体または抗体断片、ヒト化抗ＣＤ２２結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む。

【０１４８】

いくつかの実施形態において、抗ＣＤ１９結合ドメイン、抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、抗ＣＤ２２結合ドメインまたはこれらの組み合わせは、ｓｃＦｖまたはＶＨドメインである。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ１９結合ドメインは、配列番号５１のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する重鎖、その機能性断片、またはその少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ１９結合ドメインは、配列番号４９のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する軽鎖、その機能性断片、またはその少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５５のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する重鎖、その機能性断片、またはその少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、配列番号５３のアミノ酸配列に対して９５～１００％の同一性を有する軽鎖、その機能性断片、またはその少なくとも１つから３０以下の修飾を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ２２結合ドメインは、本明細書に記載される可変領域または本明細書に記載される１つ以上のＣＤＲを含む。いくつかの実施形態において、単離された組み換えＴＦＰ分子は、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、その機能性断片、及びその少なくとも１つから２０以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその部分を含む、ＴＣＲ細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ１９結合ドメインは、第１のリンカー配列によって、第１のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続され、抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、第２のリンカー配列によって、第１のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、抗ＣＤ１９結合ドメインは、第１のリンカー配列によって、第１のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続され、抗ＣＤ２２結合ドメインは、第２のリンカー配列によって、第１のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、第１のリンカー配列及び第２のリンカー配列は、（Ｇ４Ｓ）ｎを含み、ｎ＝１～４である。いくつかの実施形態において、単離された組み換えＴＦＰ分子は、共刺激ドメインを更に含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される単離された組み換えＴＦＰ分子は、細胞内シグナル伝達ドメインを更に含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される単離された組み換えＴＦＰ分子は、リーダー配列を更に含む。いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された組み換えＴＦＰをコードする配列を含む、核酸である。いくつかの実施形態において、核酸は、第１のＴＦＰ分子をコードする第１の核酸と、第２のＴＦＰ分子をコードする第２の核酸とを含む。いくつかの実施形態において、核酸は、ＤＮＡ及びＲＮＡからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、核酸は、ｍＲＮＡである。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される核酸は、プロモーターを更に含む。いくつかの実施形態において、核酸は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写された核酸である。いくつかの実施形態において、核酸は、ポリ（Ａ）テールをコードする配列を更に含む。いくつかの実施形態において、核酸は、３’ＵＴＲ配列を更に含む。いくつかの実施形態において、核酸は、プロテアーゼ切断部位をコードする配列を更に含む。

【０１４９】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された組み換えＴＦＰ分子をコードする核酸分子を含む、ベクターである。

【０１５０】

いくつかの実施形態において、ベクターは、ａ）第１のＴＦＰをコードする第１の核酸分子を含む第１のベクターと、ｂ）第２のＴＦＰをコードする第２の核酸分子を含む第２

のベクターとを含む。いくつかの実施形態において、ベクターは、ＤＮＡ、ＲＮＡ、プラスミド、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクター、ラウス肉腫ウイルス（ＲＳＶ）ベクターまたはレトロウイルスベクターからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるベクターは、プロモーターを更に含む。いくつかの実施形態において、ベクターは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写されたベクターである。いくつかの実施形態において、ベクター中の核酸分子は、ポリ（Ａ）テールを更にコードする。いくつかの実施形態において、ベクター中の核酸分子は、３’ＵＴＲを更にコードする。いくつかの実施形態において、ベクター中の核酸分子は、プロテアーゼ切断部位を更にコードする。

【０１５１】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載される単離された組み換えＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、または本明細書に記載されるベクターを含む、細胞である。

【０１５２】

いくつかの実施形態において、細胞は、ヒトＴ細胞である。いくつかの実施形態において、Ｔ細胞は、ＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞である。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される細胞は、抑制分子の少なくとも一部分を含む第１のポリペプチドを、細胞内シグナル伝達ドメインに由来する正のシグナルを備える第２のポリペプチドに会合して含む抑制分子をコードする核酸を更に含む。いくつかの実施形態において、抑制分子は、ＰＤ１の少なくとも一部分を含む第１のポリペプチドと、共刺激ドメイン及び一次シグナル伝達ドメインを含む第２のポリペプチドとを含む。

【０１５３】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子を含む、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞であって、単離された組み換えＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子とを含み、ＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞である。

【０１５４】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、単離された組み換えＴＦＰ分子を含む、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞であって、単離された組み換えＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ２２結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子とを含み、ＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞である。

【０１５５】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトまたはヒト化ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子と、少なくとも１つの内因性ＴＣＲサブユニットまたは内因性ＴＣＲ複合体とを含む、タンパク質複合体である。

【０１５６】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトまたはヒト化ＣＤ１９結合

ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第１のＴＦＰ分子と、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ２２結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む第２のＴＦＰ分子と、少なくとも１つの内因性ＴＣＲサブユニットまたは内因性ＴＣＲ複合体とを含む、タンパク質複合体である。

【０１５７】

いくつかの実施形態において、ＴＦＰは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタＴＣＲサブユニットからなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその部分を含む。いくつかの実施形態において、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメインは、第１のリンカー配列によって、第１のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続され、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメインは、第２のリンカー配列によって、第２のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメインは、第１のリンカー配列によって、第１のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続され、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ２０結合ドメインは、第２のリンカー配列によって、第２のＴＦＰ分子のＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの実施形態において、第１のリンカー配列及び第２のリンカー配列は、（Ｇ４Ｓ）ｎを含み、ｎ＝１～４である。

【０１５８】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された核酸分子によってコードされた第１のＴＦＰ及び第２のＴＦＰと、少なくとも１つの内因性ＴＣＲサブユニットまたは内因性ＴＣＲ複合体とを含む、タンパク質複合体である。

【０１５９】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載されるタンパク質複合体１つ当たり第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を含む、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞である。

【０１６０】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された核酸分子によってコードされた第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を含む、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞である。

【０１６１】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団であって、当該集団のＴ細胞は、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を個々にまたは集合的に含み、第１のＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、第２のＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＢＣＭＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団である。

【０１６２】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団であって、当該集団のＴ細胞は、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を個々にまたは集合的に含み、第１のＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ１９結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、第２のＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗ＣＤ２２結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団である。

【０１６３】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団であって、当該集団のＴ細胞は、本明細書に記載される単離された核酸分子によってコードされた第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を個々にまたは集合的に含む、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団である。

【０１６４】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載される核酸、または本明細書に記載されるベクターをＴ細胞に形質導入することを含む、細胞を作製する方法である。

【０１６５】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写されたＲＮＡまたは合成ＲＮＡを細胞に導入することを含み、ＲＮＡは、本明細書に記載される単離された組み換えＴＦＰ分子をコードする核酸を含む、ＲＮＡ改変細胞の集団を作製する方法である。

【０１６６】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、哺乳動物に抗腫瘍免疫を付与する方法であって、当該哺乳動物に、有効量の本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子を発現する細胞、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される細胞もしくは細胞集団を投与することを含む、方法である。

【０１６７】

いくつかの実施形態において、細胞は、自己Ｔ細胞である。いくつかの実施形態において、細胞は、同種異系Ｔ細胞である。いくつかの実施形態において、哺乳動物は、ヒトである。

【０１６８】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ＣＤ１９、ＢＣＭＡまたはＣＤ２２の発現を伴う疾患を有する哺乳動物を治療する方法であって、当該哺乳動物に、有効量の本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子を発現する細胞、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される細胞もしくは細胞集団を投与することを含む、方法である。

【０１６９】

いくつかの実施形態において、ＣＤ１９、ＢＣＭＡまたはＣＤ２２発現を伴う疾患は、増殖性疾患、がん、悪性腫瘍、脊髄形成異常、骨髄異形成症候群、前白血病、ＣＤ１９の発現を伴う非がん関連適応症、ＢＣＭＡの発現を伴う非がん関連適応症、及びＣＤ２２の発現を伴う非がん関連適応症からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、疾患は、Ｂ細胞急性リンパ性白血病（Ｂ－ＡＬＬ）、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（Ｔ－ＡＬＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、Ｂ細胞前リンパ性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、毛様細胞性白血病、小細胞型濾胞性リンパ腫、大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、脊髄形成異常、骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽細胞リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、前白血病、ＣＤ１９、ＢＣＭＡまたはＣＤ２２発現を伴う疾患及びこれらの組み合わせからなる群から選択される血液がんである。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を発現する細胞は、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を発現する細胞の有効性を増大させる作用物質と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、当該哺乳動物において放出されるサイトカインは、抗ＣＤ１９キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ、抗ＣＤ２２　ＣＡＲ、抗ＣＤ１９　ＣＡＲ及び抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ、抗ＣＤ１９　ＣＡＲ及び抗Ｃ

ＤＡＲ、またはこれらの組み合わせを発現するＴ細胞の有効量が投与された哺乳動物と比較して、少ない。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を発現する細胞は、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を発現する細胞の投与に伴う１つ以上の副作用を改善する作用物質と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、第１のＴＦＰ分子及び第２のＴＦＰ分子を発現する細胞は、ＣＤ１９、ＢＣＭＡまたはＣＤ２２に関連する疾患を治療する作用物質と組み合わせて投与される。

【０１７０】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、薬剤として使用するための、本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子を発現する細胞、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される細胞もしくは細胞集団である。

【０１７１】

いくつかの態様において、本明細書で提供されるのは、ＣＤ１９、ＢＣＭＡまたはＣＤ２２の発現を伴う疾患を有する哺乳動物を治療する方法であって、当該哺乳動物に、有効量の本明細書に記載される単離された核酸分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子、本明細書に記載されるポリペプチド分子を発現する細胞、本明細書に記載されるＴＦＰ分子、本明細書に記載される核酸、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される細胞もしくは細胞集団を投与することを含み、当該哺乳動物において放出されるサイトカインが、抗ＣＤ１９キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）、抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ、抗ＣＤ２２　ＣＡＲ、抗ＣＤ１９　ＣＡＲ及び抗ＢＣＭＡ　ＣＡＲ、抗ＣＤ１９ＣＡＲ及び抗ＣＤ２２ＣＡＲ、またはこれらの組み合わせを発現するＴ細胞の有効量が投与された哺乳動物と比較して、少ない、方法である。

【０１７２】

参照による援用

本明細書で言及される全ての出版物、特許及び特許出願は、それぞれ個々の出版物、特許または特許出願が参照により本明細書に援用されることが具体的かつ個別に示される場合と同様に、参照により本明細書に援用される。

【図面の簡単な説明】

【０１７３】

【図１Ａ】本明細書で開示されるがん細胞を二重標的化する方法のいくつかを示す図面である。腫瘍細胞抗原標的であるＢＣＭＡ及びＣＤ１９は、例示的な抗原である。図は、Ｔ細胞を円で示す。白い円は、ＣＤ３イプシロンサブユニットに結合された抗ＣＤ１９　ＴＦＰを有するＴＦＰを形質導入したＴ細胞の例を示す。黒い円は、ＣＤ３イプシロン（ε）またはガンマ（γ）サブユニットに結合された抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを有するＴＦＰを形質導入したＴ細胞の例を示す。「黒」及び「白」の細胞を混合して、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ及び抗ＣＤ１９　ＴＦＰの両方を含むＴ細胞集団を作製する。灰色の細胞は、２種類のレンチウイルス（すなわち、それぞれが異なる抗腫瘍抗原に対して特異性を有する（すなわち、ｓｃＦｖ））を単一のＴ細胞集団に形質導入すること、または（ａ）１つのＴＣＲサブユニット上の第１の抗腫瘍抗原ｓｃＦｖと、第２のＴＣＲサブユニット上の第２の抗腫瘍抗原ｓｃＦｖとを有するレンチウイルス、もしくは（ｂ）単一のＴＣＲサブユニットに結合され、作動可能に連結された（例えば、Ｇ４Ｓリンカーによって）第１の抗腫瘍抗原ｓｃＦｖ及び第２の抗腫瘍抗原ｓｃＦｖを有するレンチウイルスを単一のＴ細胞集団に形質導入することのいずれかによって作製された、同時形質導入Ｔ細胞集団の例を示す。

【図１Ｂ】２つの例示的な方法を示す図面であり、単一のＴＣＲが二重特異性を有するように作製される。ＴＣＲサブユニットであるイプシロン、デルタ、アルファ、ベータ、ガンマ及びイプシロンを細胞膜に沿って左から右に示す。白の楕円は、抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖを表し、網掛けの楕円は、抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖを表す。一実施形態において、ｓｃＦｖは、第１のリンカーを介して互いに作動可能に接続され、例えば、イプシロンサブユニットに連結された第２のリンカーを介してＴＣＲに作動可能に接続される（図において、

左のイプシロンサブユニットに示される）。別の実施形態において、ｓｃＦｖは、それぞれＴＣＲサブユニットに作動可能に接続され、本例では、リンカーを介してガンマサブユニットに作動可能に接続された抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖと、リンカーを介してイプシロンサブユニットに作動可能に接続された抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖとを示す（図において、ガンマ及び右のイプシロンに示される）。

【図２Ａ】ＦＡＣＳによって測定したＴＦＰ　Ｔ細胞の表面発現を示す。図２Ａは、実施例５に記載されているＮＫＧ２Ｄ特異的ＴＦＰ－Ｔ細胞の表面発現を示す。単量体及び二量体ＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ε　ＴＦＰ　Ｔ細胞はいずれも非形質導入（「ＮＴ」）と比較して発現を示し、二量体ＮＫＧ２Ｄ　ＴＦＰ　Ｔ細胞が最も高度に発現された。

【図２Ｂ】ＦＡＣＳによって測定したＴＦＰ　Ｔ細胞の表面発現を示す。図２Ｂは、抗ＢＣＭＡ及び／または抗ＣＤ１９を形質導入したＴ細胞のＦＡＣＳ解析を示す一連の図である。細胞は、ＣＤ８（ｙ軸）及び抗Ｆａｂ（上の列）またはＢＣＭＡ－Ｆｃ（下の列）のいずれか（ｘ軸）の表面発現によってソーティングした。空のベクター、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３εと抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３εの両方、または抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε＋抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γを形質導入した細胞からの結果を示す。

【図３】ＣＤ２０$^{+}$Ｒａｊｉ細胞に抗ＣＤ２０抗体リツキシマブが結合している模式図を示す。リツキシマブには、ＣＤ１６　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞が結合し、これにより、細胞溶解が誘導される（図３Ａ）。非グリコシル化リツキシマブが使用される場合、ＣＤ１６　ＴＦＰは、抗体に結合することができず、そのため、標的細胞の溶解は誘導されない（図３Ｂ）。

【図４Ａ】図４Ａは、ＣＤ１６（抗ＣＤ１６、ｘ軸）及びＣＤ３（ｙ軸）について染色した細胞上のＴＦＰの表面発現の確認を示す。非形質導入細胞またはＣＤ１６－ＣＤ３ε　ＴＦＰ、ＣＤ１６－ＣＤ３γ　ＴＦＰ、ＣＤ１６－ＣＤ３δ　ＴＦＰ及びＣＤ１６－ＣＤ３β構築物を形質導入した細胞のいずれか（上の列）と、非形質導入細胞、ＣＤ１６－ＣＤ２８ζ　ＣＡＲ、ＣＤ１６－４１ＢＢζ　ＣＡＲ及び陽性対照の抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＴＦＰを形質導入した細胞のいずれかが左から右に示されている。

【図４Ｂ】例示的なＺｅｎｏｎ染色の結果を示す。方法の正確性を実証するために、未染色または抗ＣＤ１９により染色されるいずれかのＲａｊｉ細胞（ＣＤ１９及びＣＤ２０の両方を発現する）を、抗ＣＤ１９　ＴＦＰを使用する上記方法に従って処理した。

【図４Ｃ】図４Ｃは、リツキシマブと非グリコシル化リツキシマブの両方がＣＤ１９$^{+}$Ｒａｊｉ細胞に結合できたことを示している。

【図５】単量体及び二量体の両方の、ＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞の構造、及びＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ構築物を有するレンチウイルスベクターの図を示す。上のパネルは、単量体または二量体のＮＫＧ２Ｄ結合因子のいずれかを有するＮＫＧ２Ｄ特異的サブユニットを含む、完全なＴ細胞受容体を示す。下のパネルは、構築物のレイアウトの模式図を示す。

【図６Ａ】ＵＬＢＰ２ペプチドで刺激するとＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ３ε　ＴＦＰ－Ｔ細胞が増殖することを示す、Ｚｅｎｏｎ染色の図である。ＯＶＣＡＲ３及びＯＶＣＡＲ５細胞は、細胞表面上のＮＫＧＤ２Ｌ発現が様々なレベルであるのに対し、ＡＥ１７マウス細胞株は、ＮＫＧ２ＤＬ発現に対して陰性であった。矢印は、ＴＦＰ－Ｔ細胞の増殖を示す（７２時間後のＣＦＳＥ染料の希釈）。

【図６Ｂ】腫瘍細胞上のＮＫＧ２ＤＬ抗原発現を示す。ＯＶＣＡＲ３及びＯＶＣＡＲ５細胞は、細胞表面上のＮＫＧＤ２Ｌ発現が様々なレベルであるのに対し、ＡＥ１７マウス細胞株は、ＮＫＧ２ＤＬ発現に対して陰性であった。矢印は、ＴＦＰ－Ｔ細胞の増殖を示す（７２時間後のＣＦＳＥ染料の希釈）。

【図７Ａ】図７Ａ卵巣癌細胞株ＯＶＣＡＲ３及びＯＶＣＡＲ５、ならびに陰性対照のＡＥ１７メソテリン$^{+}$細胞株における、５：１のエフェクター細胞：標的細胞比でのＮＫＧ２Ｄリガンド陽性細胞に対する単量体及び二量体ＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞活性のＲＴＣＡ解析の図を示す。図は、ＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞が、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで、非

形質導入Ｔ細胞（ＮＴ）を効果的に殺傷しないが、とりわけ、高いエフェクター細胞：標的細胞の比において、ＮＫＧ２ＤＬ$^{+}$卵巣癌細胞を特異的に殺傷することを示す。
【図７Ｂ】図７Ｂは、卵巣癌細胞株ＯＶＣＡＲ３及びＯＶＣＡＲ５、ならびに陰性対照のＡＥ１７メソテリン$^{+}$細胞株における、１：１のエフェクター細胞：標的細胞比でのＮＫＧ２Ｄリガンド陽性細胞に対する単量体及び二量体ＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞活性のＲＴＣＡ解析の図を示す。図は、ＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞が、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで、非形質導入Ｔ細胞（ＮＴ）を効果的に殺傷しないが、とりわけ、高いエフェクター細胞：標的細胞の比において、ＮＫＧ２ＤＬ$^{+}$卵巣癌細胞を特異的に殺傷することを示す。
【図７Ｃ】図７Ｃは、卵巣癌細胞株ＯＶＣＡＲ３及びＯＶＣＡＲ５、ならびに陰性対照のＡＥ１７メソテリン$^{+}$細胞株における、１：５のエフェクター細胞：標的細胞比でのＮＫＧ２Ｄリガンド陽性細胞に対する単量体及び二量体ＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞活性のＲＴＣＡ解析の図を示す。図は、ＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞が、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで、非形質導入Ｔ細胞（ＮＴ）を効果的に殺傷しないが、とりわけ、高いエフェクター細胞：標的細胞の比において、ＮＫＧ２ＤＬ$^{+}$卵巣癌細胞を特異的に殺傷することを示す。
【図８Ａ】図８Ａは、ルシフェラーゼアッセイで測定した腫瘍細胞溶解を示す一連のグラフである。Ｔ細胞には、空の発現ベクターを形質導入するか、次のＴＦＰ：抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε／抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε／抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε＋抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε、または抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε＋抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γを形質導入した。形質導入したＴ細胞を、ＣＤ１９を安定的に発現するＨｅＬａ細胞とともにインキュベートした。「／」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを含むウイルスと抗ＣＤ１９　ＴＦＰを含むウイルスの２つのウイルスをＴ細胞集団に形質導入したアッセイを指し、「＋」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団と抗ＣＤ１９　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団の２つの集団を組み合わせた使用を指す。Ｔ細胞を標的ＨｅＬａ細胞と混合し、一緒に２４時間インキュベートした。細胞を遠心してペレットにし、ルシフェラーゼ基質を含有する培地中に再懸濁した。ルシフェラーゼは、細胞溶解によって放出されるため、ルシフェラーゼ活性が高いほど細胞死の割合が大きくなる。
【図８Ｂ】図８Ｂは、ルシフェラーゼアッセイで測定した腫瘍細胞溶解を示す一連のグラフである。Ｔ細胞には、空の発現ベクターを形質導入するか、次のＴＦＰ：抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε／抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε／抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε＋抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε、または抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε＋抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γを形質導入した。形質導入したＴ細胞を、ＢＣＭＡを安定的に発現するＨｅＬａ細胞とともにインキュベートした。「／」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを含むウイルスと抗ＣＤ１９　ＴＦＰを含むウイルスの２つのウイルスをＴ細胞集団に形質導入したアッセイを指し、「＋」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団と抗ＣＤ１９　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団の２つの集団を組み合わせた使用を指す。Ｔ細胞を標的ＨｅＬａ細胞と混合し、一緒に２４時間インキュベートした。細胞を遠心してペレットにし、ルシフェラーゼ基質を含有する培地中に再懸濁した。ルシフェラーゼは、細胞溶解によって放出されるため、ルシフェラーゼ活性が高いほど細胞死の割合が大きくなる。
【図８Ｃ】図８Ｃは、ルシフェラーゼアッセイで測定した腫瘍細胞溶解を示す一連のグラフである。Ｔ細胞には、空の発現ベクターを形質導入するか、次のＴＦＰ：抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε／抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε／抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε＋抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε、または抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε＋抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γを形質導入した。形質導入したＴ細胞を、ＣＤ１９及びＢＣＭＡの両方を安定的に発現するＨｅＬａ細胞とともにインキュベートした。「／」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを含むウイルスと抗ＣＤ１９　ＴＦＰを含むウイルスの２つのウイルスをＴ細胞集団に形質導入したアッセイを指し、「＋」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団と抗ＣＤ１９　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団の２つの集団を組み合わせた使用を指す。Ｔ細胞を標的ＨｅＬ

ａ細胞と混合し、一緒に２４時間インキュベートした。細胞を遠心してペレットにし、ルシフェラーゼ基質を含有する培地中に再懸濁した。ルシフェラーゼは、細胞溶解によって放出されるため、ルシフェラーゼ活性が高いほど細胞死の割合が大きくなる。

【図９Ａ】図９Ａは、図８に示す解析でペレット化した細胞の上清で測定したサイトカイン産生を示す一連のグラフである。Ｌｕｍｉｎｅｘ（登録商標）ＥＬＩＳＡアッセイを実施して、ＩＦＮγ（斜線の付いた棒）及びＩＬ－２（無地の棒）の量を検出及び定量した。上記のように、形質導入したＴ細胞を、ＣＤ１９を安定的に発現するＨｅＬａ細胞とともにインキュベートした。「／」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを含むウイルスと抗ＣＤ１９　ＴＦＰを含むウイルスの２つのウイルスをＴ細胞集団に形質導入したアッセイを指し、「＋」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団と抗ＣＤ１９　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団の２つの集団を組み合わせた使用を指す。総サイトカイン産生をＹ軸に示す。

【図９Ｂ】図９Ｂは、図８に示す解析でペレット化した細胞の上清で測定したサイトカイン産生を示す一連のグラフである。Ｌｕｍｉｎｅｘ（登録商標）ＥＬＩＳＡアッセイを実施して、ＩＦＮγ（斜線の付いた棒）及びＩＬ－２（無地の棒）の量を検出及び定量した。上記のように、形質導入したＴ細胞を、ＢＣＭＡを安定的に発現するＨｅＬａ細胞とともにインキュベートした。「／」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを含むウイルスと抗ＣＤ１９　ＴＦＰを含むウイルスの２つのウイルスをＴ細胞集団に形質導入したアッセイを指し、「＋」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団と抗ＣＤ１９　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団の２つの集団を組み合わせた使用を指す。総サイトカイン産生をＹ軸に示す。

【図９Ｃ】図９Ｃは、図８に示す解析でペレット化した細胞の上清で測定したサイトカイン産生を示す一連のグラフである。Ｌｕｍｉｎｅｘ（登録商標）ＥＬＩＳＡアッセイを実施して、ＩＦＮγ（斜線の付いた棒）及びＩＬ－２（無地の棒）の量を検出及び定量した。上記のように、形質導入したＴ細胞を、ＣＤ１９及びＢＣＭＡの両方を安定的に発現するＨｅＬａ細胞とともにインキュベートした。「／」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを含むウイルスと抗ＣＤ１９　ＴＦＰを含むウイルスの２つのウイルスをＴ細胞集団に形質導入したアッセイを指し、「＋」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団と抗ＣＤ１９　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団の２つの集団を組み合わせた使用を指す。総サイトカイン産生をＹ軸に示す。

【図１０Ａ】実施例９に記載されるＲｅａｌ　Ｔｉｍｅ　Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃｉｔｙ　Ａｓｓａｙ（ＲＴＣＡ）の結果を示す一連の図である。細胞傷害性を示す正規化された細胞指数をリアルタイム細胞アナライザー（ＲＴＣＡ）アッセイで決定した。表２は、実施例で使用した構築物についてまとめたものである。

【図１０Ｂ】実施例９に記載されるＲｅａｌ　Ｔｉｍｅ　Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃｉｔｙ　Ａｓｓａｙ（ＲＴＣＡ）の結果を示す一連の図である。細胞傷害性を示す正規化された細胞指数をリアルタイム細胞アナライザー（ＲＴＣＡ）アッセイで決定した。表２は、実施例で使用した構築物についてまとめたものである。

【図１０Ｃ】実施例９に記載されるＲｅａｌ　Ｔｉｍｅ　Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃｉｔｙ　Ａｓｓａｙ（ＲＴＣＡ）の結果を示す一連の図である。細胞傷害性を示す正規化された細胞指数をリアルタイム細胞アナライザー（ＲＴＣＡ）アッセイで決定した。表２は、実施例で使用した構築物についてまとめたものである。

【図１０Ｄ】実施例９に記載されるＲｅａｌ　Ｔｉｍｅ　Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃｉｔｙ　Ａｓｓａｙ（ＲＴＣＡ）の結果を示す一連の図である。細胞傷害性を示す正規化された細胞指数をリアルタイム細胞アナライザー（ＲＴＣＡ）アッセイで決定した。表２は、実施例で使用した構築物についてまとめたものである。

【図１１】ＣＤ１６陽性Ｔ細胞が、１μｇ／ｍｌの抗ＣＤ２０（リツキシマブ）の存在下ではＣＤ２０陽性腫瘍溶解に有効であり、非グリコシル化ＣＤ２０の存在下では有効でないことを示す２つのグラフである。図１１Ａは、リツキシマブと様々な形質導入Ｔ細胞の組み合わせによるＲａｊｉ細胞溶解を示し、図１１Ｂは、非グリコシル化リツキシマブとの同じ組み合わせを示す。

【図１２】Ｒａｊｉ細胞及びリツキシマブと組み合わせたＴＦＰ形質導入Ｔ細胞によって

産生されるインターフェロンガンマ（ＩＦＮ－γ、図１２Ａ）及びインターロイキン２（ＩＬ－２、図１２Ｂ）のレベルが、ＣＡＲ形質導入Ｔ細胞によって産生される高いサイトカインレベルと比較して、低いことを示す、２つのグラフである。
【図１３Ａ】Ｄｙｎａｂｅａｄｓ（商標）＋ＩＬ－２条件を用いたフローサイトメトリーによるＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞のｅｘ　ｖｉｖｏ増殖の実験設計及び形質導入効率の模式図である。アイソタイプマッチを陰性対照として使用した。
【図１３Ｂ】単量体及び二量体ＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞の対応する形質導入効率である。アイソタイプマッチを陰性対照として使用した。
【図１４Ａ】複数の固形腫瘍細胞株におけるＮＫＧ２Ｄリガンド発現と、ＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞によるｉｎ　ｖｉｔｒｏ腫瘍細胞溶解を示す。図１４Ａは、ＭＳＴＯ－ＭＳＬＮ－Ｌｕｃ細胞、ＯＶＣＡＲ３－Ｌｕｃ、ＳａＯＳ２－Ｌｕｃ及びＳＫＯＶ３－Ｌｕｃ細胞に抗ＵＬＢＰ１、抗ＵＬＢＰ２／５／６、抗ＵＬＢＰ３、抗ＵＬＢＰ４及び抗ＭＩＣＡ／Ｂ（左から右）を使用して実施した、ＮＫＧ２Ｄリガンドに対するＺｅｎｏｎ染色を示す。各グラフにおいて、上の線は、ＮＫＧ２Ｄリガンドであり、中央の線は、アイソタイプコントロールまたは二次抗体単独であり、下の線は、未染色細胞である。
【図１４Ｂ】複数の固形腫瘍細胞株におけるＮＫＧ２Ｄリガンド発現と、ＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞によるｉｎ　ｖｉｔｒｏ腫瘍細胞溶解を示す。図１４Ｂは、ルシフェラーゼアッセイを使用した２４時間の共培養のＮＫＧ２Ｄ単量体及び／または二量体ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞によるｉｎ　ｖｉｔｒｏ腫瘍溶解を示す。
【図１４Ｃ】複数の固形腫瘍細胞株におけるＮＫＧ２Ｄリガンド発現と、ＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞によるｉｎ　ｖｉｔｒｏ腫瘍細胞溶解を示す。図１４Ｃは、Ａ５４９、Ａ４３１、Ｕ３７３及びＰＣ－３腫瘍細胞株におけるＵＬＢＰ２／５／６及びＭＩＣＡ／Ｂ発現と、ルシフェラーゼアッセイを使用した２４時間の共培養のＮＫＧ２Ｄ二量体ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞による腫瘍溶解を示す。
【図１４Ｄ】複数の固形腫瘍細胞株におけるＮＫＧ２Ｄリガンド発現と、ＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞によるｉｎ　ｖｉｔｒｏ腫瘍細胞溶解を示す。図１４Ｄは、図１４Ｃに示される結果のグラフを示す。
【図１５Ａ】ＮＳＧマウスのメソテリン発現腫瘍異種移植におけるＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞のｉｎ　ｖｉｖｏ有効性を示す一連のグラフである。図１５Ａは、注射日のＭＳＴＯ－ＭＬＳＮ細胞におけるＮＫＧ２Ｄリガンド（ＵＬＢＰ２／５／６及びＭＩＣＡ／Ｂ）発現を示す（腫瘍ＱＣ）。
【図１５Ｂ】ＮＳＧマウスのメソテリン発現腫瘍異種移植におけるＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞のｉｎ　ｖｉｖｏ有効性を示す一連のグラフである。図１５Ｂは、注射日のＮＴ及びＮＫＧ２Ｄ二量体ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞におけるＮＫＧ２Ｄ発現を示す（Ｔ細胞ＱＣ）。
【図１５Ｃ】ＮＳＧマウスのメソテリン発現腫瘍異種移植におけるＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞のｉｎ　ｖｉｖｏ有効性を示す一連のグラフである。図１５Ｃは、２回投与の非形質導入（「ＮＴ」、左のパネル）またはＮＫＧ２Ｄ二量体ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞を用いて２用量：5×10^{6}個のＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ細胞及び1×10^{6}個のＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ細胞で処置したマウスの腫瘍体積を示す。Ｔ細胞は、試験日０日目と２０日目に注射した。グラフ中の各線は、１匹のマウスを表す。
【図１５Ｄ】ＮＳＧマウスのメソテリン発現腫瘍異種移植におけるＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞のｉｎ　ｖｉｖｏ有効性を示す一連のグラフである。図１５Ｄは、２回投与のＮＴまたはＮＫＧ２Ｄ二量体ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞を用いて処置したマウスの生存率を示す。ＮＴ対ＮＫＧ２Ｄ二量体ε－ＴＦＰ　Ｔ、Ｐ＜０．０５。
【発明を実施するための形態】
【０１７４】
　本明細書で提供されるのは、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質またはＴ細胞集団を使用した、がんなどの疾患を治療するための組成物及び使用方法である。本明細書で使用されるとき、「Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質」または「ＴＦＰ」は、ＴＣＲを含む様々なポリペプチドに由来する組み換えポリペプチドを含み、当該ＴＣＲは、一般

に、ｉ）標的細胞上の表面抗原に結合し、ｉｉ）典型的に、Ｔ細胞の細胞内またはその表面上の同じ場所に位置する場合、インタクトＴＣＲ複合体の他のポリペプチド成分と相互作用することができる。本明細書で提供されるＴＦＰは、キメラ抗原受容体と比較して、大きな利点を提供する。「キメラ抗原受容体」または代替的に「ＣＡＲ」という用語は、ｓｃＦｖの形での細胞外抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、及び以下に定義される刺激分子に由来する機能的シグナル伝達ドメインを含む細胞質シグナル伝達ドメイン（本明細書において「細胞内シグナル伝達ドメイン」とも呼ばれる）を含む、組み換えポリペプチドを指す。一般に、ＣＡＲの中央にある細胞内シグナル伝達ドメインは、通常、ＴＣＲ複合体に関連して見出されるＣＤ３ゼータ鎖に由来する。ＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメインは、４－１ＢＢ（すなわち、ＣＤ１３７）、ＣＤ２７及び／またはＣＤ２８などの少なくとも１つの共刺激分子に由来する１つ以上の機能的シグナル伝達ドメインと融合することができる。

【０１７５】

一態様において、本明細書に記載されるのは、ＴＣＲサブユニットと、抗ＢＣＭＡ、抗ＣＤ１９、抗ＣＤ２０、抗ＣＤ２２などの抗腫瘍抗原結合ドメインを含むヒトまたはヒト化抗体ドメインとを含む、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）をコードする、単離された核酸分子である。いくつかの実施形態において、ＴＣＲサブユニットは、ＴＣＲ細胞外ドメインを含む。他の実施形態において、ＴＣＲサブユニットは、ＴＣＲ膜貫通ドメインを含む。更に他の実施形態において、ＴＣＲサブユニットは、ＴＣＲ細胞内ドメインを含む。更なる実施形態において、ＴＣＲサブユニットは、（ｉ）ＴＣＲ細胞外ドメインと、（ｉｉ）ＴＣＲ膜貫通ドメインと、（ｉｉｉ）ＴＣＲ細胞内ドメインとを含み、（ｉ）、（ｉｉ）及び（ｉｉｉ）のうちの少なくとも２つは、同じＴＣＲサブユニットに由来する。なお更なる実施形態において、ＴＣＲサブユニットは、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマもしくはＣＤ３デルタの細胞内シグナル伝達ドメインから選択される刺激ドメイン、またはそれに対して少なくとも１つ、２つもしくは３つの修飾を有するアミノ酸配列を含む、ＴＣＲ細胞内ドメインを含む。なお更なる実施形態において、ＴＣＲサブユニットは、４－１ＢＢの機能的シグナル伝達ドメイン及び／またはＣＤ３ゼータの機能的シグナル伝達ドメインから選択される刺激ドメイン、またはそれに対して少なくとも１つ、２つもしくは３つの修飾を有するアミノ酸配列を含む、細胞内ドメインを含む。

【０１７６】

いくつかの実施形態において、ヒトまたはヒト化抗体ドメインは、抗体断片を含む。いくつかの実施形態において、ヒトまたはヒト化抗体ドメインは、ｓｃＦｖまたはV_Hドメインを含む。

【０１７７】

いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、（ｉ）本明細書で提供される任意の抗腫瘍関連抗原軽鎖結合ドメインの軽鎖（ＬＣ）ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２及びＬＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列、及び／または（ｉｉ）本明細書で提供される任意の抗腫瘍関連抗原重鎖結合ドメインの重鎖（ＨＣ）ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列を含む。

【０１７８】

いくつかの実施形態において、軽鎖可変領域は、本明細書で提供される軽鎖可変領域のアミノ酸配列に対して少なくとも１つ、２つもしくは３つの修飾から３０、２０もしくは１０以下の修飾を有するアミノ酸配列、または本明細書で提供されるアミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む。他の実施形態において、重鎖可変領域は、本明細書で提供される重鎖可変領域のアミノ酸配列に対して少なくとも１つ、２つもしくは３つの修飾から３０、２０もしくは１０以下の修飾を有するアミノ酸配列、または本明細書で提供されるアミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む。

【０１７９】

いくつかの実施形態において、ＴＦＰは、Ｔ細胞受容体のアルファ鎖もしくはベータ鎖、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロンもしくはＣＤ３ガンマ、またはその機能性断片、また

はそれに対して少なくとも１つ、２つもしくは３つの修飾から２０、１０もしくは５以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその部分を含む、ＴＣＲサブユニットの細胞外ドメインを含む。他の実施形態において、コードされたＴＦＰは、ＴＣＲのアルファ鎖、ベータ鎖もしくはＴＣＲサブユニットＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマ及びＣＤ３デルタ、またはその機能性断片、またはそれに対して少なくとも１つ、２つもしくは３つの修飾から２０、１０もしくは５以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む、膜貫通ドメインを含む。

【０１８０】

いくつかの実施形態において、コードされたＴＦＰは、ＴＣＲアルファ鎖、ＴＣＲベータ鎖、ＴＣＲゼータ鎖、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、ＣＤ４５、ＣＤ２、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ２８、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７及びＣＤ１５４、その機能性断片（複数可）、ならびにそれに対する少なくとも１つ、２つまたは３つの修飾から２０以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む、膜貫通ドメインを含む。

【０１８１】

いくつかの場合において、単離された核酸分子は、共刺激ドメインをコードする配列を更に含む。いくつかの場合において、共刺激ドメインは、ＤＡＰ１０、ＤＡＰ１２、ＣＤ３０、ＬＩＧＨＴ、ＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）、ＩＣＯＳ（ＣＤ２７８）及び４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ならびにそれに対して少なくとも１つから２０以下の修飾を有するそのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質から得られる機能的シグナル伝達ドメインである。いくつかの場合において、単離された核酸分子は、リーダー配列を更に含む。いくつかの場合において、単離された核酸分子は、ｍＲＮＡである。

【０１８２】

いくつかの場合において、ＴＦＰは、ＣＤ３ゼータＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、ＣＤ３デルタＴＣＲサブユニット、ＴＣＲゼータ鎖、Ｆｃイプシロン受容体１鎖、Ｆｃイプシロン受容体２鎖、Ｆｃガンマ受容体１鎖、Ｆｃガンマ受容体２ａ鎖、Ｆｃガンマ受容体２ｂ１鎖、Ｆｃガンマ受容体２ｂ２鎖、Ｆｃガンマ受容体３ａ鎖、Ｆｃガンマ受容体３ｂ鎖、Ｆｃベータ受容体１鎖、ＴＹＲＯＢＰ（ＤＡＰ１２）、ＣＤ５、ＣＤ１６ａ、ＣＤ１６ｂ、ＣＤ２２、ＣＤ２３、ＣＤ３２、ＣＤ６４、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ８９、ＣＤ２７８、ＣＤ６６ｄ、その機能性断片、及びそれに対して少なくとも１つから２０以下の修飾を有するそのアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の免疫受容体チロシン活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）またはその部分を含む、ＴＣＲサブユニットのＩＴＡＭを含む。いくつかの場合において、当該ＩＴＡＭが、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、またはＣＤ３イプシロンのＩＴＡＭの代わりに使用される。いくつかの場合において、ＩＴＡＭは、ＣＤ３ゼータＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタＴＣＲサブユニットからなる群から選択され、ＣＤ３ゼータＴＣＲサブユニット、ＣＤ３イプシロンＴＣＲサブユニット、ＣＤ３ガンマＴＣＲサブユニット、及びＣＤ３デルタＴＣＲサブユニットからなる群から選択される異なるＩＴＡＭの代わりに使用される。

【０１８３】

いくつかの場合において、核酸は、ヌクレオチド類似体を含む。いくつかの場合において、ヌクレオチド類似体は、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－メトキシエチル（２’－Ｏ－ＭＯＥ）、２’－Ｏ－アミノプロピル、２’－デオキシ、Ｔ－デオキシ－２’－フルオロ、２’－Ｏ－アミノプロピル（２’－Ｏ－ＡＰ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＯＥ）、２’－Ｏ－ジメチルアミノプロピル（２’－Ｏ－ＤＭＡＰ）、Ｔ－Ｏ－ジメチルア

ミノエチルオキシエチル（２’－Ｏ－ＤＭＡＥＯＥ）、２’－Ｏ－Ｎ－メチルアセトアミド（２’－Ｏ－ＮＭＡ）修飾、ロックド核酸（ＬＮＡ）、エチレン核酸（ＥＮＡ）、ペプチド核酸（ＰＮＡ）、１’，５’－アンヒドロヘキシトール核酸（ＨＮＡ）、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、及び２’－フルオロＮ３－Ｐ５’－ホスホロアミダイトからなる群から選択される。

【０１８４】

いくつかの実施形態において、コードされた抗腫瘍関連抗原結合ドメインは、リンカー配列によって、ＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの場合において、コードされたリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝１～４である。いくつかの場合において、コードされたリンカー配列は、長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの場合において、コードされた長いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝２～４である。いくつかの場合において、コードされたリンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの場合において、コードされた短いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝１～３である。

【０１８５】

いくつかの実施形態において、単離された核酸分子は、リーダー配列を更に含む。

【０１８６】

本明細書で提供されるのはまた、前述の核酸分子のいずれかによってコードされた単離されたポリペプチド分子である。

【０１８７】

本明細書で提供されるのはまた、別の態様において、ヒトまたはヒト化抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む、単離されたＴ細胞受容体融合タンパク質（ＴＦＰ）分子である。いくつかの実施形態において、単離されたＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗腫瘍関連抗原結合ドメインを含む抗体または抗体断片、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む。

【０１８８】

いくつかの実施形態において、抗腫瘍関連抗原結合ドメインは、ｓｃＦｖまたはV_Hドメインである。他の実施形態において、抗腫瘍関連抗原結合ドメインは、本明細書で提供されるアミノ酸配列の軽鎖及び重鎖、またはその機能性断片、または本明細書で提供される軽鎖可変領域のアミノ酸配列に対して少なくとも１つ、２つもしくは３つの修飾から３０、２０もしくは１０以下の修飾を有するアミノ酸配列、または本明細書で提供されるアミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、単離されたＴＦＰ分子は、Ｔ細胞受容体のアルファ鎖もしくはベータ鎖、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロンもしくはＣＤ３ガンマ、またはそれに対して少なくとも１つ、２つもしくは３つの修飾から２０、１０もしくは５以下の修飾を有するアミノ酸配列からなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその部分を含む、ＴＣＲ細胞外ドメインを含む。

【０１８９】

いくつかの実施形態において、抗腫瘍関連抗原結合ドメインは、リンカー配列によって、ＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの場合において、リンカー領域は、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝１～４である。いくつかの場合において、リンカー配列は、長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの場合において、長いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝２～４である。いくつかの場合において、リンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの場合において、短いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝１～３である。

【０１９０】

いくつかの実施形態において、単離されたＴＦＰ分子は、共刺激ドメインをコードする配列を更に含む。他の実施形態において、単離されたＴＦＰ分子は、細胞内シグナル伝達ドメインをコードする配列を更に含む。更に他の実施形態において、単離されたＴＦＰ分子は、リーダー配列を更に含む。

【０１９１】
本明細書で提供されるのはまた、前述のＴＦＰ分子のいずれかをコードする核酸分子を含む、ベクターである。いくつかの実施形態において、ベクターは、ＤＮＡ、ＲＮＡ、プラスミド、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクターまたはレトロウイルスベクターからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、ベクターは、プロモーターを更に含む。いくつかの実施形態において、ベクターは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写されたベクターである。いくつかの実施形態において、ベクター中の核酸配列は、ポリ（Ａ）テールを更に含む。いくつかの実施形態において、ベクター中の核酸配列は、３’ＵＴＲを更に含む。

【０１９２】
また、本明細書で提供されるのは、本記載のベクターのいずれかを含む、細胞である。いくつかの実施形態において、細胞は、ヒトＴ細胞である。いくつかの実施形態において、細胞は、ＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞である。一実施形態において、ＣＤ８$^+$細胞は、ガンマ－デルタＴ細胞である。別の実施形態において、ＣＤ８$^+$細胞は、ＮＫ－Ｔ細胞である。他の実施形態において、細胞は、抑制分子の少なくとも一部分を含む第１のポリペプチドを、細胞内シグナル伝達ドメインに由来する正のシグナルを備える第２のポリペプチドに会合して含む抑制分子をコードする核酸を更に含む。いくつかの場合において、抑制分子は、ＰＤ１の少なくとも一部分を含む第１のポリペプチドと、共刺激ドメイン及び一次シグナル伝達ドメインを含む第２のポリペプチドとを含む。

【０１９３】
別の態様において、本明細書で提供されるのは、単離されたＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗腫瘍関連抗原（ＴＡＡ）結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、単離されたＴＦＰ分子である。

【０１９４】
別の態様において、本明細書で提供されるのは、単離されたＴＦＰ分子であって、ヒトまたはヒト化抗ＴＡＡ結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、内因性ＴＣＲ複合体に機能的に統合することができる、単離されたＴＦＰ分子である。

【０１９５】
別の態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞であって、１つ以上のＴＦＰ分子を含み、ＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞である。別の態様において、細胞は、少なくとも２つの同一でないＴＦＰ分子を含む。

【０１９６】
別の態様において、本明細書で提供されるのは、ｉ）ヒトまたはヒト化抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含むＴＦＰ分子と、ｉｉ）少なくとも１つの内因性ＴＣＲ複合体とを含む、タンパク質複合体である。

【０１９７】
いくつかの実施形態において、ＴＣＲは、Ｔ細胞受容体のアルファ鎖またはベータ鎖、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロンまたはＣＤ３ガンマからなる群から選択されるタンパク質の細胞外ドメインまたはその部分を含む。いくつかの実施形態において、抗腫瘍関連抗原結合ドメインは、リンカー配列によって、ＴＣＲ細胞外ドメインに接続される。いくつかの場合において、リンカー領域は、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝１～４である。いくつかの場合において、リンカー配列は、長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの場合において、長いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝２～４である。いくつかの場合

において、リンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの場合において、短いリンカー配列は、（Ｇ$_4$Ｓ）$_n$を含み、ｎ＝１～３である。

【０１９８】

本明細書で提供されるのはまた、本記載のタンパク質複合体のいずれか１つ当たり少なくとも２つの異なるＴＦＰタンパク質を含む、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞である。

【０１９９】

別の態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団であって、集団のＴ細胞は、少なくとも２つのＴＦＰ分子を個々にまたは集合的に含み、ＴＦＰ分子は、ヒトまたはヒト化抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、ＴＣＲ細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含み、ＴＦＰ分子は、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の中で、当該細胞において、及び／または当該細胞の表面上で、内因性ＴＣＲ複合体及び／または少なくとも１つの内因性ＴＣＲポリペプチドと機能的に相互作用することができる、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団である。

【０２００】

別の態様において、本明細書で提供されるのは、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団であって、当該集団のＴ細胞は、本明細書で提供される単離された核酸分子によってコードされた少なくとも２つのＴＦＰ分子を個々にまたは集合的に含む、ヒトＣＤ８$^+$またはＣＤ４$^+$Ｔ細胞の集団である。

【０２０１】

別の態様において、本明細書で提供されるのは、本記載のベクターのいずれかをＴ細胞に形質導入することを含む、細胞を作製する方法である。

【０２０２】

別の態様において、本明細書で提供されるのは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写されたＲＮＡまたは合成ＲＮＡを細胞に導入することを含み、ＲＮＡは、本記載のＴＦＰ分子のうちの１つ以上をコードする核酸を含む、ＲＮＡ改変細胞の集団を作製する方法である。

【０２０３】

別の態様において、本明細書で提供されるのは、哺乳動物に抗腫瘍免疫を付与する方法であって、当該哺乳動物に、本記載のＴＦＰ分子のいずれかを発現する細胞の有効量を投与することを含む、方法である。いくつかの実施形態において、細胞は、自己Ｔ細胞である。いくつかの実施形態において、細胞は、同種異系Ｔ細胞である。いくつかの実施形態において、哺乳動物は、ヒトである。

【０２０４】

別の態様において、本明細書で提供されるのは、腫瘍関連抗原の発現を伴う疾患を有する哺乳動物を治療する方法であって、当該哺乳動物に、本記載のＴＦＰ分子のいずれかを含む細胞の有効量を投与することを含む、方法である。いくつかの実施形態において、腫瘍関連抗原発現を伴う疾患は、がんもしくは悪性腫瘍などの増殖性疾患、または脊髄形成異常、骨髄異形成症候群もしくは前白血病などの前がん状態から選択され、あるいは、腫瘍関連抗原の発現を伴う非がん関連適応症である。

【０２０５】

いくつかの実施形態において、疾患は、Ｂ細胞急性リンパ性白血病（「Ｂ－ＡＬＬ」）、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（「Ｔ－ＡＬＬ」）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）を含むがこれらに限定されない１つ以上の急性白血病；慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）を含むがこれらに限定されない１つ以上の慢性白血病；Ｂ細胞前リンパ性白血病、芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍、バーキットリンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、毛様細胞性白血病、小細胞型または大細胞型濾胞性リンパ腫、悪性リンパ増殖性状態、ＭＡＬＴリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、多発性骨髄腫、くすぶり型多発性骨髄腫、孤立性形質細胞腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、形質細胞白血病、脊髄形成異常及び骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫、形質芽細胞リンパ腫、形質細胞様樹状細胞腫瘍、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、及び骨髄血液細胞の非有効的産生（または形成異常）によってまとめられる多様

な血液状態の集合である「前白血病」、及び腫瘍関連抗原を発現する異型及び／または非典型的がん、悪性腫瘍、前がん性状態または増殖性疾患を含むがこれらに限定されない腫瘍関連抗原発現を伴う疾患を含むがこれらに限定されない更なる血液がんまたは血液状態；ならびにこれらの組み合わせからなる群から選択される、血液がんである。

【０２０６】

いくつかの実施形態において、本記載のＴＦＰ分子のいずれかを発現する細胞は、ＴＦＰ分子を発現する細胞の投与に伴う１つ以上の副作用を改善する作用物質と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、本記載のＴＦＰ分子のいずれかを発現する細胞は、腫瘍関連抗原に関連する疾患を治療する作用物質と組み合わせて投与される。

【０２０７】

本明細書で提供されるのはまた、薬剤として使用するための、本記載の単離された核酸分子のいずれか、本記載の単離されたポリペプチド分子のいずれか、本記載の単離したＴＦＰのいずれか、本記載のタンパク質複合体のいずれか、本記載のベクターのいずれかまたは本記載の細胞のいずれかである。

【０２０８】

定義

別段の定義のない限り、本明細書で用いられる全ての科学技術用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されている意味と同じ意味を有する。

【０２０９】

「ａ」及び「ａｎ」という用語は、当該冠詞の文法上の目的語の１つまたは１つより多いこと（すなわち、少なくとも１つ）を指す。例として、「要素（ａｎ　ｅｌｅｍｅｎｔ）」は、１つの要素または１つより多い要素を意味する。

【０２１０】

本明細書で使用されるとき、「約」は、状況に応じて、また当業者に知られているか、または当業者が知り得ることに応じて、プラスマイナス１パーセント未満または１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０または３０パーセント超を意味することができる。「約」または「およそ」という用語は、当業者によって決定された特定の値の許容誤差範囲内を意味し得、その値がどのように測定または決定されるか、すなわち、測定系の限界に部分的に依存する。例えば、「約」は、当該技術分野の慣例に従って、１以内または１を超える標準偏差を意味し得る。あるいは、「約」は、所与の値の最大２０％、最大１０％、最大５％、または最大１％の範囲を意味し得る。あるいは、特に生物学的システムまたはプロセスに関して、「約」または「およそ」という用語は、１０倍以内、５倍以内、より好ましくは２倍以内の値を意味し得る。本出願及び特許請求の範囲において特定の値が記載される場合、特に明記しない限り、「約」という用語は、その特定の値の許容誤差範囲内を意味するとみなされるものとする。「約」という用語は、当業者によって一般的に理解されている意味を有し得る。「約」という用語は、±１０％を指し得る。「約」という用語は、±５％を指し得る。

【０２１１】

本明細書で使用されるとき、「対象（ｓｕｂｊｅｃｔ）」または「対象（ｓｕｂｊｅｃｔｓ）」または「個体」には、哺乳動物、例えば、ヒトまたは非ヒト哺乳動物、例えば、飼育動物、農業用動物または野生動物、ならびに鳥類及び水生動物が含まれ得るが、これらに限定されない。「患者」は、本明細書で提供される組成物及び方法を必要とする疾患、障害もしくは状態に罹患しているか、その発症リスクがあるか、または別様にそれを必要とする、対象である。

【０２１２】

本明細書で使用されるとき、「治療すること」または「治療」は、疾患または状態の治療または改善における成功の任意の兆しを指す。治療することは、例えば、疾患もしくは状態の１つ以上の症状の重症度を軽減、遅延もしくは緩和することを含み得、または、患者によって経験される疾患、欠陥、障害もしくは有害な状態などの症状の頻度を減少させ

ることも含み得る。本明細書で使用されるとき、「治療または予防」は、疾患または状態のある程度の治療または改善をもたらす方法を指すために使用されることがあり、限定するものではないが、状態の完全な予防を含む、当該目的に向けた様々な結果を企図する。

【０２１３】

本明細書で使用されるとき、「予防すること」は、患者における疾患または状態、例えば、腫瘍形成を防ぐことを指す。例えば、腫瘍または他の形態のがんを発症するリスクのある個体が本発明の方法で治療され、その後、当該腫瘍または他の形態のがんを発症しない場合、その疾患は、当該個体において、少なくともある期間にわたって予防されている。

【０２１４】

本明細書で使用されるとき、「治療上有効な量」は、組成物またはその活性成分の量であって、当該組成物が投与される個体に対して、有益な作用をもたらすか、有害で有益でない事象を減少させるのに十分な量である。本明細書における「治療的有効量」は、１つ以上の所望される作用または望ましい（例えば、有益な）作用を生み出す投与のための用量を意味し、かかる投与は、所与の期間にわたって１回以上行われる。正確な用量は、治療の目的に依存し、当業者であれば、既知の技術を使用して見極めることができる。（例えば、Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ（ｖｏｌｓ．１－３，１９９２）；Ｌｌｏｙｄ，Ｔｈｅ Ａｒｔ，Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｃｏｍｐｏｕｎｄｉｎｇ（１９９９）；及びＰｉｃｋａｒ，Ｄｏｓａｇｅ Ｃａｌｃｕｌａｔｉｏｎｓ（１９９９）参照）。

【０２１５】

本明細書で使用されるとき、「Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質」または「ＴＦＰ」は、ＴＣＲを含む様々なポリペプチドに由来する組み換えポリペプチドを含み、当該ＴＣＲは、一般に、ｉ）標的細胞上の表面抗原に結合し、ｉｉ）典型的に、Ｔ細胞の細胞内またはその表面上の同じ場所に位置する場合、インタクトＴＣＲ複合体の他のポリペプチド成分と相互作用することができる。

【０２１６】

本明細書で使用されるとき、「ＢＣＭＡ」という用語は、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー１７（ＴＮＦＲＳＦ１７）及び分化クラスター２６９タンパク質（ＣＤ２６９）またはＴＮＦＲＳＦ１３Ａとしても知られる、「Ｂ細胞成熟抗原」または「ＢＣＭＡ」または「ＢＣＭ」を指し、ヒトではＴＮＦＲＳＦ１７遺伝子にコードされているタンパク質である。ＢＣＭＡは、Ｂ細胞活性化因子（ＢＡＦＦ）を認識するＴＮＦ受容体スーパーファミリーの細胞表面受容体である。この受容体は、成熟Ｂリンパ球で優先的に発現され、Ｂ細胞発生及び自己免疫応答にとって重要であり得る。この受容体は、腫瘍壊死因子（リガンド）スーパーファミリーメンバー１３ｂ（ＴＮＦＳＦ１３Ｂ／ＴＡＬＬ－１／ＢＡＦＦ）に特異的に結合し、ＮＦ－κＢ及びＭＡＰＫ８／ＪＮＫ活性化をもたらすことが示されている。ＢＣＭＡは、リガンドのＢＡＦＦ及びＡＰＲＩＬに対する非グリコシル化内在性膜受容体である。ＢＣＭＡのリガンドはまた、ＡＰＲＩＬ及びＢＡＦＦが結合するＴＡＣＩ（膜貫通活性化因子及びカルシウム調節因子及びシクロフィリンリガンド相互作用因子）と、ＢＡＦＦに限定的であるが高親和性を示すＢＡＦＦ－Ｒ（ＢＡＦＦ受容体またはＢＲ３）の更なる受容体にも結合することができる。これらの受容体及び対応するリガンドは、ともに、体液性免疫、Ｂ細胞発生及びホメオスタシスの異なる側面を調節する。

【０２１７】

ＢＣＭＡの発現は、典型的に、Ｂ細胞系列に限定され、末梢性Ｂ細胞の分化を増加させることが報告されている。ＢＣＭＡは、ヒト形質芽細胞、扁桃、脾臓及び骨髄由来の形質細胞だけでなく、ＴＡＣＩ－ＢＡＦＦＲ低表現型を有する、扁桃メモリーＢ細胞及び胚中心Ｂ細胞によっても発現される（Ｄａｒｃｅ ｅｔ ａｌ，２００７）。ＢＣＭＡは、ナイーブＢ細胞及びメモリーＢ細胞には実質的に存在しない（Ｎｏｖａｋ ｅｔ ａｌ．，２００４ａ ａｎｄ ｂ）。ＢＣＭＡ抗原は、細胞表面上に発現されるので、抗体に接近可能で

あるが、ゴルジ体においても発現される。その発現プロファイルによって示唆されるように、ＢＣＭＡシグナル伝達は、典型的にＢ細胞の生存及び増殖に関連しているが、Ｂ細胞分化の後期に重要であるとともに、骨髄形質細胞（Ｏ’Ｃｏｎｎｏｒ　ｅｔ　ａｌ．，２００４）及び形質芽細胞（Ａｖｅｒｙ　ｅｔ　ａｌ．，２００３）の長期生存にも重要である。更に、ＢＣＭＡは、高い親和性でＡＰＲＩＬに結合することから、ＢＣＭＡ－ＡＰＲＩＬシグナル伝達軸は、Ｂ細胞分化の後期において優位的であり、おそらく生理学的に最も関連する相互作用であることが示唆される。

【０２１８】

ヒト及びマウスのアミノ酸及び核酸配列は、ＧｅｎＢａｎｋ、ＵｎｉＰｒｏｔ及びＳｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔなどの公共データベースで得ることができる。例えば、ヒトＢＣＭＡのアミノ酸配列は、ＵｎｉＰｒｏｔ／Ｓｗｉｓｓ－ＰｒｏｔアクセッションＱ０２２２３で得ることができる。ヒトＢＣＭＡポリペプチドの標準配列は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｑ０２２２３－１：

ＭＬＱＭＡＧＱＣＳＱＮＥＹＦＤＳＬＬＨＡＣＩＰＣＱＬＲＣＳＳＮＴＰＰＬＴＣＱＲＹ
ＣＮＡＳＶＴＮＳＶＫＧＴＮＡＩＬＷＴＣＬＧＬＳＬＩＩＳＬＡＶＦＶＬＭＦＬＬＲＫＩ
ＮＳＥＰＬＫＤＥＦＫＮＴＧＳＧＬＬＧＭＡＮＩＤＬＥＫＳＲＴＧＤＥＩＩＬＰＲＧＬＥ
ＹＴＶＥＥＣＴＣＥＤＣＩＫＳＫＰＫＶＤＳＤＨＣＦＰＬＰＡＭＥＥＧＡＴＩＬＶＴＴＫ
ＴＮＤＹＣＫＳＬＰＡＡＬＳＡＴＥＩＥＫＳＩＳＡＲ（配列番号１０３）である。

【０２１９】

ヒトＣＤ１９ポリペプチドの標準配列は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ１５３９１（またはＰ１５３９１－２：

ＭＰＰＰＲＬＬＦＦＬＬＦＬＴＰＭＥＶＲＰＥＥＰＬＶＶＫＶＥＥＧＤＮＡＶＬＱＣＬＫ
ＧＴＳＤＧＰＴＱＱＬＴＷＳＲＥＳＰＬＫＰＦＬＫＬＳＬＧＬＰＧＬＧＩＨＭＲＰＬＡＩ
ＷＬＦＩＦＮＶＳＱＱＭＧＧＦＹＬＣＱＰＧＰＰＳＥＫＡＷＱＰＧＷＴＶＮＶＥＧＳＧＥ
ＬＦＲＷＮＶＳＤＬＧＧＬＧＣＧＬＫＮＲＳＳＥＧＰＳＳＰＳＧＫＬＭＳＰＫＬＹＶＷＡ
ＫＤＲＰＥＩＷＥＧＥＰＰＣＬＰＰＲＤＳＬＮＱＳＬＳＱＤＬＴＭＡＰＧＳＴＬＷＬＳＣ
ＧＶＰＰＤＳＶＳＲＧＰＬＳＷＴＨＶＨＰＫＧＰＫＳＬＬＳＬＥＬＫＤＤＲＰＡＲＤＭＷ
ＶＭＥＴＧＬＬＬＰＲＡＴＡＱＤＡＧＫＹＹＣＨＲＧＮＬＴＭＳＦＨＬＥＩＴＡＲＰＶＬ
ＷＨＷＬＬＲＴＧＧＷＫＶＳＡＶＴＬＡＹＬＩＦＣＬＣＳＬＶＧＩＬＨＬＱＲＡＬＶＬＲ
ＲＫＲＫＲＭＴＤＰＴＲＲＦＦＫＶＴＰＰＰＧＳＧＰＱＮＱＹＧＮＶＬＳＬＰＴＰＴＳＧ
ＬＧＲＡＱＲＷＡＡＧＬＧＧＴＡＰＳＹＧＮＰＳＳＤＶＱＡＤＧＡＬＧＳＲＳＰＰＧＶＧ
ＰＥＥＥＥＧＥＧＹＥＥＰＤＳＥＥＤＳＥＦＹＥＮＤＳＮＬＧＱＤＱＬＳＱＤＧＳＧＹＥ
ＮＰＥＤＥＰＬＧＰＥＤＥＤＳＦＳＮＡＥＳＹＥＮＥＤＥＥＬＴＱＰＶＡＲＴＭＤＦＬＳ
ＰＨＧＳＡＷＤＰＳＲＥＡＴＳＬＧＳＱＳＹＥＤＭＲＧＩＬＹＡＡＰＱＬＲＳＩＲＧＱＰ
ＧＰＮＨＥＥＤＡＤＳＹＥＮＭＤＮＰＤＧＰＤＰＡＷＧＧＧＧＲＭＧＴＷＳＴＲ（配列番号１０４）である。

【０２２０】

ヒトＣＤ１９をコードするヌクレオチド配列は、アクセッション番号ＮＭ００１１７８０９８で得ることができる。ＣＤ１９は、例えば、ＡＬＬ、ＣＬＬ及び非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）を含む、ほとんどのＢ細胞系列のがんで発現される。ＣＤ１９を発現する他の細胞については、以下の「ＣＤ１９の発現を伴う疾患」の定義内で示す。ＣＤ１９は、正常Ｂ細胞の前駆細胞の初期マーカーである。例えば、Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎ．３４（１６－１７）：１１５７－１１６５（１９９７）を参照されたい。一例において、ＴＦＰの抗原結合部分は、悪性Ｂ細胞及び正常Ｂ細胞上に発現されるＣＤ１９タンパク質の細胞外ドメイン内のエピトープを認識し、結合する。

【０２２１】

本明細書で使用されるとき、「ＣＤ２２」という用語は、Ｂリンパ球細胞接着分子（ＢＬ－ＣＡＭ）、シアル酸結合Ｉｇ様レクチン２（Ｓｉｇｌｅｃ－２）及びＴ細胞表面抗原Ｌｅｕ－１４としても知られる、Ｂ細胞受容体ＣＤ２２を指す。ＣＤ２２は、Ｂ細胞間の相互作用を媒介し、Ｂ細胞のリンパ組織への局在に関与し得る。ＣＤ２２は、シアル酸化

糖タンパク質に結合し、そのうちの１つは、ＣＤ４５であり、アルファ－２，６－結合シアル酸に優先的に結合する。シアル酸認識部位は、同じ細胞表面上のシアル酸とのシス相互作用によってマスキングされ得る。リガンド誘導性チロシンリン酸化がなされると、免疫応答は、Ｂ細胞抗原受容体シグナル伝達の制御に関与するようである。ＣＤ２２は、Ｓｒｃファミリーチロシンキナーゼとの相互作用を介して正の制御を行う役割を果たし、また、ＳＨ２ドメインを介して細胞質ホスファターゼを動員し、シグナル伝達分子の脱リン酸化によりシグナル伝達を遮断することによって抑制性受容体としても作用し得る。

【０２２２】

ＣＤ２２標準配列は、ベータアイソフォーム（５つのアイソフォームのうちの１つ）であり、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ２０２７３－１で見つけることができ、次の配列に対応する：

ＭＨＬＬＧＰＷＬＬＬＬＶＬＥＹＬＡＦＳＤＳＳＫＷＶＦＥＨＰＥＴＬＹＡＷＥＧＡＣＶ
ＷＩＰＣＴＹＲＡＬＤＧＤＬＥＳＦＩＬＦＨＮＰＥＹＮＫＮＴＳＫＦＤＧＴＲＬＹＥＳＴ
ＫＤＧＫＶＰＳＥＱＫＲＶＱＦＬＧＤＫＮＫＮＣＴＬＳＩＨＰＶＨＬＮＤＳＧＱＬＧＬＲ
ＭＥＳＫＴＥＫＷＭＥＲＩＨＬＮＶＳＥＲＰＦＰＰＨＩＱＬＰＰＥＩＱＥＳＱＥＶＴＬＴ
ＣＬＬＮＦＳＣＹＧＹＰＩＱＬＱＷＬＬＥＧＶＰＭＲＱＡＡＶＴＳＴＳＬＴＩＫＳＶＦＴ
ＲＳＥＬＫＦＳＰＱＷＳＨＨＧＫＩＶＴＣＱＬＱＤＡＤＧＫＦＬＳＮＤＴＶＱＬＮＶＫＨ
ＴＰＫＬＥＩＫＶＴＰＳＤＡＩＶＲＥＧＤＳＶＴＭＴＣＥＶＳＳＳＮＰＥＹＴＴＶＳＷＬ
ＫＤＧＴＳＬＫＫＱＮＴＦＴＬＮＬＲＥＶＴＫＤＱＳＧＫＹＣＣＱＶＳＮＤＶＧＰＧＲＳ
ＥＥＶＦＬＱＶＱＹＡＰＥＰＳＴＶＱＩＬＨＳＰＡＶＥＧＳＱＶＥＦＬＣＭＳＬＡＮＰＬ
ＰＴＮＹＴＷＹＨＮＧＫＥＭＱＧＲＴＥＥＫＶＨＩＰＫＩＬＰＷＨＡＧＴＹＳＣＶＡＥＮ
ＩＬＧＴＧＱＲＧＰＧＡＥＬＤＶＱＹＰＰＫＫＶＴＴＶＩＱＮＰＭＰＩＲＥＧＤＴＶＴＬ
ＳＣＮＹＮＳＳＮＰＳＶＴＲＹＥＷＫＰＨＧＡＷＥＥＰＳＬＧＶＬＫＩＱＮＶＧＷＤＮＴ
ＴＩＡＣＡＡＣＮＳＷＣＳＷＡＳＰＶＡＬＮＶＱＹＡＰＲＤＶＲＶＲＫＩＫＰＬＳＥＩＨ
ＳＧＮＳＶＳＬＱＣＤＦＳＳＳＨＰＫＥＶＱＦＦＷＥＫＮＧＲＬＬＧＫＥＳＱＬＮＦＤＳ
ＩＳＰＥＤＡＧＳＹＳＣＷＶＮＮＳＩＧＱＴＡＳＫＡＷＴＬＥＶＬＹＡＰＲＲＬＲＶＳＭ
ＳＰＧＤＱＶＭＥＧＫＳＡＴＬＴＣＥＳＤＡＮＰＰＶＳＨＹＴＷＦＤＷＮＮＱＳＬＰＹＨ
ＳＱＫＬＲＬＥＰＶＫＶＱＨＳＧＡＹＷＣＱＧＴＮＳＶＧＫＧＲＳＰＬＳＴＬＴＶＹＹＳ
ＰＥＴＩＧＲＲＶＡＶＧＬＧＳＣＬＡＩＬＩＬＡＩＣＧＬＫＬＱＲＲＷＫＲＴＱＳＱＱＧ
ＬＱＥＮＳＳＧＱＳＦＦＶＲＮＫＫＶＲＲＡＰＬＳＥＧＰＨＳＬＧＣＹＮＰＭＭＥＤＧＩ
ＳＹＴＴＬＲＦＰＥＭＮＩＰＲＴＧＤＡＥＳＳＥＭＱＲＰＰＰＤＣＤＤＴＶＴＹＳＡＬＨ
ＫＲＱＶＧＤＹＥＮＶＩＰＤＦＰＥＤＥＧＩＨＹＳＥＬＩＱＦＧＶＧＥＲＰＱＡＱＥＮＶ
ＤＹＶＩＬＫＨ（配列番号１０５）。

【０２２３】

本明細書で使用されるとき、「ＲＯＲ１」という用語は、神経栄養因子チロシンキナーゼ受容体関連１（ＮＴＲＫＲ１）またはｄＪ５３７Ｆ１０．１としても知られる、チロシンタンパク質キナーゼ膜貫通型受容体ＲＯＲ１を指し得る。ＲＯＲ１は、マウス及びヒトにおいて、ＲＯＲ１遺伝子にコードされているタンパク質であり、ＲＯＲ２とともに、受容体型チロシンキナーゼ様オーファン受容体（ＲＯＲ）ファミリーのメンバーである。ＲＯＲ１は、グリコシル化Ｉ型膜タンパク質であり、触媒活性を欠く偽キナーゼであり、非標準Ｗｎｔシグナル伝達経路と相互作用し得る。ＲＯＲは、２つの別個の細胞外システインリッチドメインと、１つの膜貫通ドメインとを含有する。細胞内部分には、ＲＯＲ１は、１つのチロシンキナーゼドメイン、２つのセリン／トレオニンリッチドメイン及び１つのプロリンリッチドメインを有する。この遺伝子は、初期胚発生中に高度に発現するが、正常（すなわち、非がん性）成人組織においては非常に低いレベルで発現される。この遺伝子の発現上昇は、Ｂ細胞慢性リンパ性白血病に関連している。選択的スプライシングにより、異なるアイソフォームをコードする複数の転写物バリアントが生じる。

【０２２４】

ヒト及びマウスのアミノ酸及び核酸配列は、ＧｅｎＢａｎｋ、ＵｎｉＰｒｏｔ及びＳｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔなどの公共データベースで得ることができる。例えば、ヒトＲＯＲ１ポ

リペプチドの標準配列は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｑ０１９７３－１：ＭＨＲＰＲＲＲＧＴＲＰＰＬＬＡＬＬＡＡＬＬＬＡＡＲＧＡＡＡＱＥＴＥＬＳＶＳＡＥＬＶＰＴＳＳＷＮＩＳＳＥＬＮＫＤＳＹＬＴＬＤＥＰＭＮＮＩＴＴＳＬＧＱＴＡＥＬＨＣＫＶＳＧＮＰＰＰＴＩＲＷＦＫＮＤＡＰＶＶＱＥＰＲＲＬＳＦＲＳＴＩＹＧＳＲＬＲＩＲＮＬＤＴＴＤＴＧＹＦＱＣＶＡＴＮＧＫＥＶＶＳＳＴＧＶＬＦＶＫＦＧＰＰＰＴＡＳＰＧＹＳＤＥＹＥＥＤＧＦＣＱＰＹＲＧＩＡＣＡＲＦＩＧＮＲＴＶＹＭＥＳＬＨＭＱＧＥＩＥＮＱＩＴＡＡＦＴＭＩＧＴＳＳＨＬＳＤＫＣＳＱＦＡＩＰＳＬＣＨＹＡＦＰＹＣＤＥＴＳＳＶＰＫＰＲＤＬＣＲＤＥＣＥＩＬＥＮＶＬＣＱＴＥＹＩＦＡＲＳＮＰＭＩＬＭＲＬＫＬＰＮＣＥＤＬＰＱＰＥＳＰＥＡＡＮＣＩＲＩＧＩＰＭＡＤＰＩＮＫＮＨＫＣＹＮＳＴＧＶＤＹＲＧＴＶＳＶＴＫＳＧＲＱＣＱＰＷＮＳＱＹＰＨＴＨＴＦＴＡＬＲＦＰＥＬＮＧＧＨＳＹＣＲＮＰＧＮＱＫＥＡＰＷＣＦＴＬＤＥＮＦＫＳＤＬＣＤＩＰＡＣＤＳＫＤＳＫＥＫＮＫＭＥＩＬＹＩＬＶＰＳＶＡＩＰＬＡＩＡＬＬＦＦＦＩＣＶＣＲＮＮＱＫＳＳＳＡＰＶＱＲＱＰＫＨＶＲＧＱＮＶＥＭＳＭＬＮＡＹＫＰＫＳＫＡＫＥＬＰＬＳＡＶＲＦＭＥＥＬＧＥＣＡＦＧＫＩＹＫＧＨＬＹＬＰＧＭＤＨＡＱＬＶＡＩＫＴＬＫＤＹＮＮＰＱＱＷＴＥＦＱＱＥＡＳＬＭＡＥＬＨＨＰＮＩＶＣＬＬＧＡＶＴＱＥＱＰＶＣＭＬＦＥＹＩＮＱＧＤＬＨＥＦＬＩＭＲＳＰＨＳＤＶＧＣＳＳＤＥＤＧＴＶＫＳＳＬＤＨＧＤＦＬＨＩＡＩＱＩＡＡＧＭＥＹＬＳＳＨＦＦＶＨＫＤＬＡＡＲＮＩＬＩＧＥＱＬＨＶＫＩＳＤＬＧＬＳＲＥＩＹＳＡＤＹＹＲＶＱＳＫＳＬＬＰＩＲＷＭＰＰＥＡＩＭＹＧＫＦＳＳＤＳＤＩＷＳＦＧＶＶＬＷＥＩＦＳＦＧＬＱＰＹＹＧＦＳＮＱＥＶＩＥＭＶＲＫＲＱＬＬＰＣＳＥＤＣＰＰＲＭＹＳＬＭＴＥＣＷＮＥＩＰＳＲＲＰＲＦＫＤＩＨＶＲＬＲＳＷＥＧＬＳＳＨＴＳＳＴＴＰＳＧＧＮＡＴＴＱＴＴＳＬＳＡＳＰＶＳＮＬＳＮＰＲＹＰＮＹＭＦＰＳＱＧＩＴＰＱＧＱＩＡＧＦＩＧＰＰＩＰＱＮＱＲＦＩＰＩＮＧＹＰＩＰＰＧＹＡＡＦＰＡＡＨＹＱＰＴＧＰＰＲＶＩＱＨＣＰＰＰＫＳＲＳＰＳＳＡＳＧＳＴＳＴＧＨＶＴＳＬＰＳＳＧＳＮＱＥＡＮＩＰＬＬＰＨＭＳＩＰＮＨＰＧＧＭＧＩＴＶＦＧＮＫＳＱＫＰＹＫＩＤＳＫＱＡＳＬＬＧＤＡＮＩＨＧＨＴＥＳＭＩＳＡＥＬ（配列番号２０）である。

【０２２５】

ヒトＲＯＲ１転写物バリアント１をコードするヌクレオチド配列は、アクセッション番号ＸＭ＿０１７００１３７６で得ることができる。ヒトＲＯＲ１転写物バリアント２をコードするヌクレオチド配列は、アクセッション番号ＸＭ＿０１１５４１５２６で得ることができる。ヒトＲＯＲ１転写物バリアント３をコードするヌクレオチド配列は、アクセッション番号ＸＭ＿０１７００１３７７で得ることができる。低レベルのＲＯＲ１の発現が脂肪組織で認められ、膵臓、肺及び中間型Ｂ細胞のサブセットではより少ない発現が認められる。

【０２２６】

本明細書で使用されるとき、「ＮＫＧ２Ｄ」という用語は、ＮＫＧ２－Ｄ　ＩＩ型内在性膜タンパク質、ＮＫＧ２－Ｄ、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（ＫＬＲＫ）、ＮＫ細胞受容体Ｄ、ＮＫＧ２－Ｄ活性化ＮＫ受容体及びＣＤ３１４を指す。多くの免疫受容体は、別々のリガンド結合サブユニットとシグナル伝達サブユニットから構成されている。ナチュラルキラー（ＮＫ）及びＴ細胞において、ＤＡＰ１０は、ストレス誘導性及び腫瘍関連性の主要組織適合遺伝子複合体分子ＭＩＣＡの受容体であるＮＫＧ２Ｄとの活性化受容体複合体における細胞表面アダプタータンパク質として特定された。ＤＡＰ１０細胞質ドメイン内のＳｒｃ相同２（ＳＨ２）ドメイン結合部位は、ホスファチジルイノシトール３－キナーゼ（ＰＩ３－キナーゼ）のｐ８５サブユニットを動員することができ、ＮＫＧ２Ｄ依存性シグナル伝達をもたらした。したがって、ＮＫＧ２Ｄ－ＤＡＰ１０受容体複合体は、ＭＩＣＡ担持腫瘍に対するＮＫ細胞及びＴ細胞の応答を活性化する。

【０２２７】

ＮＫＧ２Ｄは、膜貫通ドメイン内の正に荷電したアルギニンとアダプターＤＡＰ１０の膜貫通ドメイン内の負に荷電したアスパラギン酸との会合を介したＣ型レクチン様ＩＩ型膜貫通糖タンパク質シグナルを有するホモ二量体である（Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｌ．Ｓｅｎｔ

ｍａｎ，Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｉｔｙ（１ Ｍａｙ ２０１３）Ｖｏｌ．１３，ｐ．８）。ヒトＮＫ細胞及びＣＤ８＋Ｔ細胞において、ＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１２及びＩＬ－１５などのガンマ鎖サイトカインのレベルが高くなると、ＮＫＧ２Ｄの上昇が観察された。ＩＬ－２１、ＩＦＮ－γ及びＴＧＦ－βは、ＮＫＧ２Ｄ発現を低下させることが示されている。

【０２２８】

ＮＫＧ２Ｄリガンド（ＮＫＧ２ＤＬ）には、ＭＨＣ領域にコードされているＭＩＣＡ／Ｂ及びＭＨＣクラスＩ関連タンパク質の第２ファミリーＵＬＢＰ（レチノイン酸早期転写物（ＲＡＥＴ）としても知られる）が含まれる（Ｂａｈｒａｍ ｅｔ ａｌ．，１９９４，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９１，６２５９－６２６３；Ｂａｕｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｓｃｉｅｎｃｅ，Ｊｕｌ ３０；２８５（５４２８）：７２７－９）。ＭＩＣＡ／Ｂタンパク質は、ＭＨＣファミリーの一部であるが、抗原を提示せず、β２－ミクログロブリンと会合しない。現在までに、ＵＬＢＰ１～６の６つの遺伝子がＵＬＢＰファミリーに属するものとして特定されている（Ｃｏｓｍａｎ ｅｔ ａｌ．，２００１，Ｉｍｍｕｎｉｔｙ Ｆｅｂ；１４（２）：１２３－３３）。これらの分子は、５５～６０％相同のアミノ酸配列であり、ＭＩＣまたはＭＨＣとの関係は等しく遠い。機能上、ＵＬＢＰは、β２－ミクログロブリンに結合せず、抗原ペプチドを提示せず、α３ドメインを欠いている（Ｅａｇｌｅ ｅｔ ａｌ．，ＰＬｏＳ Ｏｎｅ４：１－１４，２００９；Ｅａｇｌｅ ｅｔ ａｌ．，Ｅｕｒ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ３９：３２０７－３０１６４：１－１４，２００９）。ＵＬＢＰは、ＧＰＩアンカーを介して、細胞膜に結合している。

【０２２９】

ＮＫＧ２Ｄリガンドは、結腸、肝臓、胃、乳房、卵巣及び肺に由来する腫瘍細胞の表面上に発現される。また、ＡＭＬ、ＡＬＬ、ＣＭＬ、ＣＬＬを含む非固形腫瘍でも発現される。ＮＫＧ２ＤＬ発現の上昇は、乳癌患者の再発率の高さと相関する。

【０２３０】

ヒト及びマウスのアミノ酸及び核酸配列は、ＧｅｎＢａｎｋ、ＵｎｉＰｒｏｔ及びＳｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔなどの公共データベースで得ることができる。例えば、ヒト標準ＮＫＧ２Ｄ配列（アイソフォーム１）は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ２６７１８－１に対応し、配列ＭＧＷＩＲＧＲＲＳＲＨＳＷＥＭＳＥＦＨＮＹＮＬＤＬＫＫＳＤＦＳＴＲＷＱＫＱＲＣＰＶＶＫＳＫＣＲＥＮＡＳＰＦＦＦＣＣＦＩＡＶＡＭＧＩＲＦＩＩＭＶＡＩＷＳＡＶＦＬＮＳＬＦＮＱＥＶＱＩＰＬＴＥＳＹＣＧＰＣＰＫＮＷＩＣＹＫＮＮＣＹＱＦＦＤＥＳＫＮＷＹＥＳＱＡＳＣＭＳＱＮＡＳＬＬＫＶＹＳＫＥＤＱＤＬＬＫＬＶＫＳＹＨＷＭＧＬＶＨＩＰＴＮＧＳＷＱＷＥＤＧＳＩＬＳＰＮＬＬＴＩＩＥＭＱＫＧＤＣＡＬＹＡＳＳＦＫＧＹＩＥＮＣＳＴＰＮＴＹＩＣＭＱＲＴＶ（配列番号１４）を有する。一実施形態において、ＴＦＰに使用される断片は、細胞外ドメイン配列ＮＳＬＦＮＱＥＶＱＩＰＬＴＥＳＹＣＧＰＣＰＫＮＷＩＣＹＫＮＮＣＹＱＦＦＤＥＳＫＮＷＹＥＳＱＡＳＣＭＳＱＮＡＳＬＬＫＶＹＳＫＥＤＱＤＬＬＫＬＶＫＳＹＨＷＭＧＬＶＨＩＰＴＮＧＳＷＱＷＥＤＧＳＩＬＳＰＮＬＬＴＩＩＥＭＱＫＧＤＣＡＬＹＡＳＳＦＫＧＹＩＥＮＣＳＴＰＮＴＹＩＣＭＱＲＴＶ（配列番号１１０）を含む。

【０２３１】

本明細書で使用されるとき、「ＣＤ１６」という用語は、２つの異なるアイソフォーム：Ｆｃガンマ受容体ＩＩＩａ（ＣＤ１６、ＣＤ１６ａ、ＣＤ１６、ＣＤ１６Ａ、ＦｃＧ３、ＦｃＧＲ３、ＦｃＧＲＩＩＩ、ＦｃＲ－１０、ＦｃＲＩＩＩ、ＦｃＲＩＩＩＡ、ＩＧＦＲ３、ＩＭＤ２０としても知られる）及びＦｃガンマ受容体ＩＩＩｂ（ＦＣＧＲ３Ｂ、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢＱ９ＵＬＶ２）で発現される、５０～８０ｋＤａの糖タンパク質を指し得る。膜貫通型は、ヒトＮＫ細胞、マクロファージ及びマスト細胞に認められ、一方、グリコシルホスファチジルイノシトール（ＧＰＩ）結合型は、好中球に存在する。ヒトＣＤ１６抗原は、凝集したＩｇＧに対する低親和性受容体である。膜貫通型は、シグナル伝達、ＮＫ細胞活性化及び抗体依存性細胞傷害の役割を担う。

【０２３２】

「Ｖ１５８アレル」または「Ｖ１５８バリアント」は、残基１５８にバリンを有するＣＤ１６ポリペプチドを意味する。ヒト集団において、２つの天然ＣＤ１６アレルがあり、残基１５８にフェニルアラニン（Ｆ）またはバリン（Ｖ）を有するものである。ＩｇＧ１抗体のＦｃ領域に対する親和性は、Ｖ１５８アレルのほうがより高いので、一実施形態において、本明細書で開示されるＴＦＰは、Ｖ１５８　ＣＤ１６ポリペプチドを含む。２つの「Ｖ」アレルを有する患者は、ＶＦまたはＦＦ遺伝子型を有する患者よりも、抗体に基づくがん療法に良好に応答する。本明細書で開示される方法は、ＶＦまたはＦＦ遺伝子型を有する患者において、ＩｇＧ１治療薬に対する患者の応答を向上させる方法を提供する。例えば、Ｋｕｄｏ　ｅｔ　ａｌ．（２０１３）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ；７４（１）；１－１１（参照により本明細書に援用される）を参照されたい。

【０２３３】

ヒト及びマウスのアミノ酸及び核酸配列は、ＧｅｎＢａｎｋ、ＵｎｉＰｒｏｔ及びＳｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔなどの公共データベースで得ることができる。例えば、ヒトＣＤ１６アイソフォームＡは、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ０８６３７であり、配列：ＭＷＱＬＬＬＰＴＡＬＬＬＬＶＳＡＧＭＲＴＥＤＬＰＫＡＶＶＦＬＥＰＱＷＹＲＶＬＥＫＤＳＶＴＬＫＣＱＧＡＹＳＰＥＤＮＳＴＱＷＦＨＮＥＳＬＩＳＳＱＡＳＳＹＦＩＤＡＡＴＶＤＤＳＧＥＹＲＣＱＴＮＬＳＴＬＳＤＰＶＱＬＥＶＨＩＧＷＬＬＬＱＡＰＲＷＶＦＫＥＥＤＰＩＨＬＲＣＨＳＷＫＮＴＡＬＨＫＶＴＹＬＱＮＧＫＧＲＫＹＦＨＨＮＳＤＦＹＩＰＫＡＴＬＫＤＳＧＳＹＦＣＲＧＬＦＧＳＫＮＶＳＳＥＴＶＮＩＴＩＴＱＧＬＡＶＳＴＩＳＳＦＦＰＰＧＹＱＶＳＦＣＬＶＭＶＬＬＦＡＶＤＴＧＬＹＦＳＶＫＴＮＩＲＳＳＴＲＤＷＫＤＨＫＦＫＷＲＫＤＰＱＤＫ（配列番号２３）を有する。

【０２３４】

一実施形態において、ＣＤ１６　ＴＦＰ組成物は、配列番号２３を含む。別の実施形態において、ＣＤ１６　ＴＦＰ組成物は、配列番号２４を含み、これは、配列番号２３に示される配列のＶ１５８変異体であり、配列ＭＷＱＬＬＬＰＴＡＬＬＬＬＶＳＡＧＭＲＴＥＤＬＰＫＡＶＶＦＬＥＰＱＷＹＲＶＬＥＫＤＳＶＴＬＫＣＱＧＡＹＳＰＥＤＮＳＴＱＷＦＨＮＥＳＬＩＳＳＱＡＳＳＹＦＩＤＡＡＴＶＤＤＳＧＥＹＲＣＱＴＮＬＳＴＬＳＤＰＶＱＬＥＶＨＩＧＷＬＬＬＱＡＰＲＷＶＦＫＥＥＤＰＩＨＬＲＣＨＳＷＫＮＴＡＬＨＫＶＴＹＬＱＮＧＫＧＲＫＹＦＨＨＮＳＤＦＹＩＰＫＡＴＬＫＤＳＧＳＹＦＣＲＧＬＶＧＳＫＮＶＳＳＥＴＶＮＩＴＩＴＱＧＬＡＶＳＴＩＳＳＦＦＰＰＧＹＱＶＳＦＣＬＶＭＶＬＬＦＡＶＤＴＧＬＹＦＳＶＫＴＮＩＲＳＳＴＲＤＷＫＤＨＫＦＫＷＲＫＤＰＱＤＫ（配列番号２４）を有する。ＦＣＲＧ３Ａ（ＣＤ１６）のＶ１５８多型は、高親和性の免疫グロブリンＦｃ受容体をコードし、抗体療法に対する好ましい応答と関係する（例えば、Ｋｕｄｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ；７４（１）；９３－１０３（２０１３）参照（参照により本明細書に援用される））。

【０２３５】

抗体またはその抗体断片を含むＴＦＰ組成物の部分は、抗原結合ドメインが、例えば、単一ドメイン抗体断片（ｓｄＡｂ）、マウス抗体、ヒト化抗体またはヒト抗体に由来する一本鎖抗体（ｓｃＦｖ）を含む、連続するポリペプチド鎖の部分として発現される、様々な形態で存在し得る。（Ｈａｒｌｏｗ　ｅｔ　ａｌ．，１９９９，Ｉｎ：Ｕｓｉｎｇ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ，Ｎ．Ｙ．；Ｈａｒｌｏｗ　ｅｔ　ａｌ．，１９８９，Ｉｎ：Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．；Ｈｏｕｓｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９８８，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８５：５８７９－５８８３；Ｂｉｒｄ　ｅｔ　ａｌ．，１９８８，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４２：４２３－４２６）。一態様において、ＴＦＰ組成物の抗原結合ドメインは、抗体断片を含む。更なる態様において、ＴＦＰは、ｓｃＦｖまたはｓｄＡｂを含む抗体断片を含む。

【０２３６】

「抗原」または「Ａｇ」という用語は、抗体によって特異的に結合され得る分子、また

は別様に免疫応答を誘発する分子を指し得る。この免疫応答は、抗体産生もしくは特定の免疫適格細胞の活性化のいずれか、またはその両方を含み得る。本明細書で使用されるとき、「がん抗原」または「がん関連抗原」という用語は、本明細書に記載される併用療法を用いて治療され得る悪性細胞または腫瘍細胞の表面上に発現される、任意のがん細胞マーカーを指し得、これらには、限定するものではないが、５Ｔ４、８Ｈ９、αｖβθインテグリン、αｖβ６インテグリン、アルファフェトプロテイン（ＡＦＰ）、Ｂ７－Ｈ６、ＣＡ－１２５炭酸脱水酵素９（ＣＡ９）、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ３３、ＣＤ３８、ＣＤ４４、ＣＤ４４ｖ６、ＣＤ４４ｖ７／８、ＣＤ５２、ＣＤ１２３、ＣＤ１７１、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）、ＥｐＣＡＭ（上皮細胞接着分子）、Ｅ－カドヘリン、ＥＭＡ（上皮細胞膜抗原）、ＥＧＦＲｖｌｌｌ、上皮細胞糖タンパク質－２（ＥＧＰ－２）、上皮細胞糖タンパク質－４０（ＥＧＰ－４０）、ＥｒｂＢ１／ＥＧＦＲ、ＥｒｂＢ２／ＨＥＲ２／ｎｅｕ／ＥＧＦＲ２、ＥｒｂＢ３／ＨＥＲ３、ＥｒｂＢ４、上皮性腫瘍抗原（ＥＴＡ）、葉酸結合タンパク質（ＦＢＰ）、胎児型アセチルコリン受容体（ＡｃｈＲ）、葉酸受容体－α、Ｇ２５０／ＣＡＩＸ、ガングリオシド２（ＧＤ２）、ガングリオシド３（ＧＤ３）、ＨＬＡ－Ａ１、ＨＬＡ－Ａ２、高分子量黒色腫関連抗原（ＨＭＷ－ＭＡＡ）、ＩＬ－１３受容体α２（ＩＬ－１３Ｒα２）、キナーゼ挿入ドメイン受容体（ＫＤＲ）、ｋ－軽鎖、Ｌｅｗｉｓ　Ｙ（ＬｅＹ）、Ｌ１細胞接着分子、黒色腫関連抗原（ＭＡＧＥ－Ａ１）、メソテリン、ムチン－１（ＭＵＣ１）、ムチン－１６（ＭＵＣ１６）、ナチュラルキラーグループ２メンバーＤ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンド、神経細胞接着分子（ＮＣＡＭ）、ＮＹ－ＥＳＯ－１、腫瘍胎児抗原（ｈ５Ｔ４）、前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）、受容体型チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）、ｍＡｂ　ＩｇＥが標的にするＴＡＡ、腫瘍関連糖タンパク質－７２（ＴＡＧ－７２）、チロシナーゼ、及び血管内皮細胞増殖因子（ＶＥＧＦ）受容体が挙げられる。

【０２３７】

「抗体」という用語は、本明細書で使用されるとき、抗原に特異的に結合する免疫グロブリン分子に由来するタンパク質またはポリペプチド配列を指す。抗体は、ポリクローナル起源もしくはモノクローナル起源のインタクトな免疫グロブリンまたはその断片であってよく、天然源由来でも組み換え源由来でもよい。

【０２３８】

「抗体断片」または「抗体結合ドメイン」という用語は、抗体の少なくとも一部分またはその組み換えバリアントであって、抗原及びその定義されたエピトープなどの標的に対する認識及び特異的結合を抗体断片に付与するのに十分なインタクト抗体の抗原結合ドメイン、すなわち、抗原決定可変領域を含有するものを指す。抗体断片の例としては、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$及びＦｖ断片、一本鎖（ｓｃ）Ｆｖ（「ｓｃＦｖ」）抗体断片、直鎖抗体、単一ドメイン抗体（「ｓｄＡｂ」と略される）（V_LまたはV_Hのいずれか）、ラクダ科V_{HH}ドメイン、ならびに抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２３９】

「ｓｃＦｖ」という用語は、軽鎖可変領域を含む少なくとも１つの抗体断片と、重鎖可変領域を含む少なくとも１つの抗体断片とを含む、融合タンパク質を指し、ここで、軽鎖及び重鎖可変領域は、短いフレキシブルポリペプチドリンカーを介して連続して連結され、１本のポリペプチド鎖として発現され得、ｓｃＦｖは、その由来であるインタクト抗体の特異性を保持している。

【０２４０】

抗体に関する「重鎖可変領域」または「V_H」（または、単一ドメイン抗体、例えば、ナノボディの場合、「V_{HH}」）は、フレームワーク領域として知られる隣接するストレッチ間に介在する３つのＣＤＲを含有する重鎖の断片を指し、これらのフレームワーク領域は、一般に、ＣＤＲよりも高度に保存され、ＣＤＲを支持するスカフォールドを形成する。

【０２４１】
指定されない限り、本明細書で使用されるとき、ｓｃＦｖは、V_L領域及びV_H領域を、例えば、ポリペプチドのＮ末端及びＣ末端に対して、いずれの順序で有してもよく、すなわち、ｓｃＦｖは、V_L－リンカー－V_Hを含んでもよいし、V_H－リンカー－V_Lを含んでもよい。
【０２４２】
抗体またはその抗体断片を含む本発明のＴＦＰ組成物の部分は、例えば、単一ドメイン抗体断片（ｓｄＡｂ）または重鎖抗体ＨＣＡｂ２４２：４２３－４２６）を含む、抗原結合ドメインが、連続したポリペプチド鎖の一部分として発現される、様々な形態で存在し得る。一態様において、本発明のＴＦＰ組成物の抗原結合ドメインは、抗体断片を含む。更なる態様において、ＴＦＰは、ｓｃＦｖまたはｓｄＡｂを含む抗体断片を含む。
【０２４３】
「抗体重鎖」という用語は、天然に生じる立体構造で抗体分子中に存在する２つのタイプのポリペプチド鎖のうちの大きいほうを指し、通常、その抗体が属するクラスを決定する。
【０２４４】
「抗体軽鎖」という用語は、天然に生じる立体構造で抗体分子中に存在する２つのタイプのポリペプチド鎖のうちの小さいほうを指す。カッパ（「κ」）軽鎖及びラムダ（「λ」）軽鎖は、２つの主要な抗体軽鎖アイソタイプを指す。
【０２４５】
「組み換え抗体」という用語は、組み換えＤＮＡ技術を使用して作製される抗体、例えば、バクテリオファージまたは酵母の発現系によって発現される抗体などを指す。この用語はまた、抗体をコードするＤＮＡ分子であって、抗体タンパク質を発現するＤＮＡ分子の合成、または抗体を特定するアミノ酸配列の合成によって生成された抗体を意味すると解釈されるものとし、ここで、ＤＮＡまたはアミノ酸配列は、当該技術分野において利用可能であり、既知である組み換えＤＮＡまたはアミノ酸配列技術を使用して得られるものである。「抗原」または「Ａｇ」という用語は、抗体が特異的に結合することができる分子、または別様に免疫応答を誘発する分子を指す。この免疫応答は、抗体産生もしくは特定の免疫適格細胞の活性化のいずれか、またはその両方を含み得る。
【０２４６】
当業者であれば、実質的に全てのタンパク質またはペプチドを含む任意の巨大分子が抗原として機能し得ることを理解するであろう。更に、抗原は、組み換えＤＮＡまたはゲノムＤＮＡに由来してもよい。したがって、当業者であれば、免疫応答を誘起するタンパク質をコードするヌクレオチド配列または部分的なヌクレオチド配列を含む任意のＤＮＡが、本明細書で使用される用語「抗原」をコードすることを理解するであろう。更に、当業者であれば、抗原が、遺伝子の完全長ヌクレオチド配列によってのみコードされる必要はないことを理解するであろう。本発明が、限定するものではないが、２つ以上の遺伝子の部分的なヌクレオチド配列の使用を含み、これらのヌクレオチド配列が、所望の免疫応答を誘起するポリペプチドをコードするように様々な組み合わせで配置されることは容易にわかる。更に、当業者であれば、抗原は、「遺伝子」によってコードされる必要は全くないことを理解するであろう。抗原は、合成で作製されてもよいし、生体試料に由来してもよいし、ポリペプチド以外の巨大分子であり得ることは、容易にわかる。かかる生体試料としては、組織試料、腫瘍試料、細胞、または他の生物学的要素の液体を挙げることができるが、これらに限定されない。
【０２４７】
「抗腫瘍作用」という用語は、様々な手段で明示することができる生物学的作用を指し、例えば、腫瘍体積の減少、腫瘍細胞数の減少、転移数の減少、平均寿命の延長、腫瘍細胞の増殖減少、腫瘍細胞の生存低下、またはがん性状態に伴う様々な生理学的症状の改善が挙げられるが、これらに限定されない。「抗腫瘍作用」はまた、第一に、本発明のペプチド、ポリヌクレオチド、細胞及び抗体が腫瘍の発生を予防する能力によって明示するこ

とができる。

【０２４８】

「自己」という用語は、任意の物質であって、それが後に再導入される個体と同一の個体に由来する物質を指す。

【０２４９】

「同種異系」という用語は、任意の物質であって、その物質が導入される個体と同じ種の異なる動物または異なる患者に由来する物質を指す。２つ以上の個体は、１つ以上の遺伝子座の遺伝子が同一でない場合、互いに同種異系と言われる。いくつかの態様において、同じ種の個体に由来する同種異系物質は、抗原的に相互作用するのに十分に遺伝学的に異なり得る。

【０２５０】

「異種」という用語は、異なる種の動物に由来する移植物を指す。

【０２５１】

「がん」という用語は、急速で無秩序な異常細胞の成長を特徴とする疾患を指し得る。がん細胞は、局所的に、または血流及びリンパ系を介して体の他の部分に広がり得る。様々ながんの例については、本明細書に記載され、前立腺癌、乳癌、黒色腫、肉腫、大腸癌、膵癌、子宮癌、卵巣癌、胃癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、胆管癌、扁平上皮細胞肺癌、中皮腫、副腎皮質癌、食道癌、頭頸部癌、肝癌、鼻咽腔癌、神経上皮性癌、腺様嚢胞癌、胸腺腫、慢性リンパ性白血病、グリオーマ、多形膠芽腫、神経芽細胞腫、乳頭状腎細胞癌、マントル細胞リンパ腫、リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病などが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２５２】

「保存的配列修飾」という用語は、アミノ酸配列を含有する抗体または抗体断片の結合特性に大きな影響を与えないか、それを変更しない、アミノ酸修飾を指す。かかる保存的修飾としては、アミノ酸の置換、付加及び欠失が挙げられる。修飾は、当該技術分野において知られている標準的技術、例えば、部位特異的変異導入及びＰＣＲによる変異導入によって、本発明の抗体または抗体断片に導入することができる。保存的アミノ酸置換は、アミノ酸残基を、類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置き換えるものである。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該技術分野において定義されている。これらのファミリーとしては、塩基性側鎖を含むアミノ酸（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を含むアミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、無電荷極性側鎖を含むアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖を含むアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、ベータ分岐状側鎖を含むアミノ酸（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）及び芳香族側鎖を含むアミノ酸（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が挙げられる。したがって、本発明のＴＦＰ内の１つ以上のアミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーに由来する他のアミノ酸残基で置き換えることができ、変更されたＴＦＰは、本明細書に記載される機能アッセイを使用して試験することができる。

【０２５３】

「刺激」という用語は、刺激ドメインまたは刺激分子（例えば、ＴＣＲ／ＣＤ３複合体）がその同族リガンドと結合し、これにより、限定するものではないが、ＴＣＲ／ＣＤ３複合体を介したシグナル伝達などのシグナル伝達事象を媒介することによって誘導される一次応答を指す。刺激は、ある特定の分子の発現変更、及び／または細胞骨格構造の再構成などを媒介し得る。

【０２５４】

「刺激分子」または「刺激ドメイン」という用語は、Ｔ細胞によって発現される分子またはその一部分であって、Ｔ細胞シグナル伝達経路の少なくともいくつかの側面に対して刺激を与えるように、ＴＣＲ複合体の一次活性化を制御する一次細胞質シグナル伝達配列（複数可）を提供するものである。一態様において、一次シグナルは、例えば、ペプチド

を担持したＭＨＣ分子とＴＣＲ／ＣＤ３複合体との結合によって開始され、これが、限定するものではないが、増殖、活性化、分化などを含む、Ｔ細胞応答の媒介につながる。刺激を与えるように作用する一次細胞質シグナル伝達配列（「一次シグナル伝達ドメイン」とも呼ばれる）は、免疫受容体チロシン活性化モチーフまたは「ＩＴＡＭ」としても知られるシグナル伝達モチーフを含み得る。本発明において特に有用なＩＴＡＭ含有一次細胞質シグナル伝達配列の例としては、ＴＣＲゼータ、ＦｃＲガンマ、ＦｃＲベータ、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ５、ＣＤ２２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ２７８（「ＩＣＯＳ」としても知られる）及びＣＤ６６ｄに由来するものが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２５５】

「抗原提示細胞」または「ＡＰＣ」という用語は、その表面上に、主要組織適合遺伝子複合体（ＭＨＣ）と複合体化した外来抗原を提示する、アクセサリー細胞（例えば、Ｂ細胞、樹状細胞など）などの免疫系細胞を指す。Ｔ細胞は、これらの複合体を、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）を使用して認識することができる。ＡＰＣは、抗原を処理し、その抗原をＴ細胞に提示する。

【０２５６】

本明細書で使用される「細胞内シグナル伝達ドメイン」という用語は、分子の細胞内部分を指す。細胞内シグナル伝達ドメインは、ＴＦＰ含有細胞、例えば、ＴＦＰ発現Ｔ細胞の免疫エフェクター機能を促進するシグナルを生成する。例えば、ＴＦＰ発現Ｔ細胞における免疫エフェクター機能の例としては、細胞溶解活性、及びサイトカインの分泌を含むヘルパーＴ細胞活性が挙げられる。一実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次細胞内シグナル伝達ドメインを含み得る。例示的な一次細胞内シグナル伝達ドメインとしては、一次刺激または抗原依存性刺激に関与する分子に由来するものが挙げられる。一実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激細胞内ドメインを含み得る。例示的な共刺激細胞内シグナル伝達ドメインとしては、共刺激シグナルまたは抗原非依存性刺激に関与する分子に由来するものが挙げられる。

【０２５７】

一次細胞内シグナル伝達ドメインは、ＩＴＡＭ（「免疫受容体チロシン活性化モチーフ」）を含み得る。ＩＴＡＭを含有する一次細胞質シグナル伝達配列の例としては、ＣＤ３ゼータ、ＦｃＲガンマ、ＦｃＲベータ、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ５、ＣＤ２２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂならびにＣＤ６６ｄ　ＤＡＰ１０及びＤＡＰ１２に由来するものが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２５８】

「共刺激分子」という用語は、共刺激リガンドと特異的に結合し、これにより、限定するものではないが、増殖などのＴ細胞による共刺激応答を媒介する、Ｔ細胞の同族結合パートナーを指す。共刺激分子は、抗原受容体またはそのリガンド以外の細胞表面分子であり、効果的な免疫応答に必要とされる。共刺激分子としては、ＭＨＣクラス１分子、ＢＴＬＡ及びＴｏｌｌリガンド受容体、ならびにＯＸ４０、ＣＤ２、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤＳ、ＩＣＡＭ－１、ＬＦＡ－１（ＣＤ１１ａ／ＣＤ１８）及び４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）が挙げられるが、これらに限定されない。共刺激細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激分子の細胞内部分であり得る。共刺激分子は、次のタンパク質ファミリー：ＴＮＦ受容体タンパク質、免疫グロブリン様タンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、シグナル伝達リンパ球活性化分子（ＳＬＡＭタンパク質）及び活性化ＮＫ細胞受容体に代表され得る。かかる分子の例としては、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＩＣＯＳ、ＢＡＦＦＲ、ＨＶＥＭ、リンパ球機能関連抗原１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、ＳＬＡＭＦ７、ＮＫｐ８０、ＣＤ１６０、Ｂ７－Ｈ３、及びＣＤ８３に特異的に結合するリガンドなどが挙げられる。細胞内シグナル伝達ドメインは、由来する分子の細胞内部分全体もしくは天然細胞内シグナル伝達ドメイン全体、またはその機能性断片を含み得る。「４－１ＢＢ」という用語は、ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＡＡＡ６２４７８．２として提供さ

れるアミノ酸配列、または非ヒト種、例えば、マウス、齧歯類、サル、猿人類などに由来する同等の残基を有する、ＴＮＦＲスーパーファミリーのメンバーを指し、「４－１ＢＢ共刺激ドメイン」は、ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号ＡＡＡ６２４７８．２のアミノ酸残基２１４～２５５、または非ヒト種、例えば、マウス、齧歯類、サル、猿人類などに由来する同等の残基として定義される。

【０２５９】

「コードする」という用語は、定義されたヌクレオチド配列（例えば、ｒＲＮＡ、ｔＲＮＡ及びｍＲＮＡ）または定義されたアミノ酸配列のいずれかと、それに起因する生物学的特性とを有する、生物学的過程で他の高分子及び巨大分子の合成鋳型として機能する、遺伝子、ｃＤＮＡまたはｍＲＮＡなどの、ポリヌクレオチド中のヌクレオチドの特定の配列の固有の特性を指す。したがって、遺伝子、ｃＤＮＡまたはＲＮＡは、当該遺伝子に対応するｍＲＮＡの転写及び翻訳が、ある細胞または他の生物系においてタンパク質を産生する場合、タンパク質をコードする。ｍＲＮＡ配列と同一であり、通常、配列表に記載されているヌクレオチド配列であるコーディング鎖と、遺伝子またはｃＤＮＡの転写鋳型として使用されるノンコーディング鎖は、いずれも、その遺伝子またはｃＤＮＡのタンパク質または他の産物をコードするとみなされ得る。

【０２６０】

別段の指定のない限り、「アミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列」は、互いに縮重した型であって、同じアミノ酸配列をコードする全てのヌクレオチド配列を含む。タンパク質またはＲＮＡをコードするヌクレオチド配列という語句はまた、タンパク質をコードするヌクレオチド配列が、一部の型においては、１つ以上のイントロンを含み得るという限りにおいて、イントロンを含み得る。

【０２６１】

「有効量」または「治療上有効な量」という用語は、本明細書において区別なく用いられ、本明細書に記載される化合物、配合物、物質または組成物の特定の生物学的結果または治療的結果を達成するのに有効な量を指す。

【０２６２】

「内因性」という用語は、有機体、細胞、組織もしくは系に由来するか、またはその内部で産生される任意の物質を指す。

【０２６３】

「外因性」という用語は、有機体、細胞、組織もしくは系の外から導入されるか、または外部で産生される任意の物質を指す。

【０２６４】

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

【０２６５】

「転移ベクター」という用語は、組成物であって、単離された核酸を含み、その単離された核酸を細胞内部に送達するために使用することができる、組成物を指す。多数のベクターが当該技術分野において知られており、限定するものではないが、線状ポリヌクレオチド、イオン性または両親媒性化合物に会合したポリヌクレオチド、プラスミド及びウイルスが挙げられる。したがって、「転移ベクター」という用語には、自己複製プラスミドまたはウイルスが含まれる。この用語はまた、核酸の細胞内への移送を促進する非プラスミド及び非ウイルス性化合物、例えば、ポリリシン化合物、リポソームなどを更に含むものと解釈されるものとする。ウイルス性転移ベクターの例としては、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、レトロウイルスベクター、レンチウイルスベクターなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２６６】

「発現ベクター」という用語は、発現されるヌクレオチド配列に作動可能に連結された発現制御配列を含む組み換えポリヌクレオチドを含む、ベクターを指す。発現ベクターは、発現するための十分なシス作用エレメントを含み、発現のための他のエレメントは、宿

主細胞によって、またはｉｎ ｖｉｔｒｏ発現系内で供給され得る。発現ベクターとしては、組み換えポリヌクレオチドを組み込んだ、コスミド、プラスミド（例えば、ネイキッドのものまたはリポソーム内に含まれたもの）及びウイルス（例えば、レンチウイルス、レトロウイルス、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルス）を含む、当該技術分野において知られている全てのものが挙げられる。

【０２６７】

「レンチウイルス」という用語は、レトロウイルス科の属を指す。レンチウイルスは、非分裂細胞に感染することができるという点で、レトロウイルスのなかでも独特であり、宿主細胞のＤＮＡに大量の遺伝情報を送達することができるので、遺伝子送達ベクターの最も効率的な方法の１つである。ＨＩＶ、ＳＩＶ及びＦＩＶは、全てのレンチウイルスの例である。

【０２６８】

「レンチウイルスベクター」という用語は、特に、Ｍｉｌｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）に記載される自己不活化レンチウイルスベクターを含む、レンチウイルスゲノムの少なくとも一部分に由来するベクターを指す。臨床で使用することができるレンチウイルスベクターの他の例としては、例えば、Ｏｘｆｏｒｄ ＢｉｏＭｅｄｉｃａのＬＥＮＴＩＶＥＣＴＯＲ（商標）遺伝子送達技術、ＬｅｎｔｉｇｅｎのＬＥＮＴＩＭＡＸ（商標）ベクター系などが挙げられるが、これらに限定されない。非臨床型のレンチウイルスベクターもまた利用可能であり、当業者には既知である。

【０２６９】

「相同」または「同一性」という用語は、２つの高分子間、例えば、２つのＤＮＡ分子もしくは２つのＲＮＡ分子などの２つの核酸分子間、または２つのポリペプチド分子間のサブユニット配列の同一性を指す。２つの分子の両方のサブユニット位置が同じ単量体サブユニットで占められている場合、例えば、２つのＤＮＡ分子のそれぞれの位置がアデニンで占められている場合、その２つの分子は、当該位置で相同または同一である。２配列間の相同性は、一致または相同位置の数の一次関数であり、例えば、２つの配列中の位置の半分（例えば、１０サブユニット長のポリマー中５つの位置）が相同である場合、２つの配列は、５０％相同であり、位置の９０％（例えば、１０のうち９）が一致または相同の場合、２つの配列は、９０％相同である。

【０２７０】

非ヒト（例えば、マウス）抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含有する、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖またはその断片（Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$または抗体の他の抗原結合サブ配列）である。ほとんどの場合、ヒト化抗体及びその抗体断片は、ヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体または抗体断片）であって、レシピエントの相補性決定領域（ＣＤＲ）に由来する残基が、所望の特異性、親和性及び能力を有するマウス、ラットまたはウサギなどの非ヒト種（ドナー抗体）のＣＤＲ由来残基で置き換えられているものである。いくつかの場合において、ヒト免疫グロブリンのＦｖフレームワーク領域（ＦＲ）残基が、対応する非ヒト残基によって置き換えられる。更に、ヒト化抗体／抗体断片は、レシピエント抗体にも、移入されたＣＤＲまたはフレームワーク配列にもみられない残基を含み得る。これらの改変により、抗体または抗体断片の性能を更に洗練及び最適化することができる。一般に、ヒト化抗体またはその抗体断片は、少なくとも１つ、典型的には２つの可変ドメインのほぼ全てを含み、ＣＤＲ領域の全てまたはほぼ全ては、非ヒト免疫グロブリンのＣＤＲ領域に対応し、ＦＲ領域の全てまたはかなりの部分は、ヒト免疫グロブリン配列のＦＲ領域である。ヒト化抗体または抗体断片はまた、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）、典型的に、ヒト免疫グロブリンの定常領域（Ｆｃ）の少なくとも一部分を含み得る。更なる詳細については、Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３２１：５２２－５２５，１９８６；Ｒｅｉｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３３２：３２３－３２９，１９８８；Ｐｒｅｓｔａ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．，２：５９３－５９６，１９９２を参照さ

れたい。

【０２７１】

「ヒト」または「完全ヒト」は、抗体または抗体断片などの免疫グロブリンであって、分子全体がヒト起源であるか、またはヒト型の抗体もしくは免疫グロブリンに対して同一のアミノ酸配列からなるものを指す。

【０２７２】

「単離された」という用語は、天然状態から変更または除去されたことを意味する。例えば、生きている動物に天然に存在する核酸またはペプチドは、「単離された」ものではないが、その天然状態の共存する物質から部分的にまたは完全に分離された同核酸またはペプチドは、「単離された」ものである。単離された核酸またはタンパク質は、実質的に精製された形態で存在することができ、または、例えば、宿主細胞などの非天然環境で存在することもできる。

【０２７３】

本発明との関係において、一般に存在する核酸塩基についての以下の略語が使用される。「Ａ」はアデノシンを指し、「Ｃ」はシトシンを指し、「Ｇ」はグアノシンを指し、「Ｔ」はチミジンを指し、「Ｕ」はウリジンを指す。

【０２７４】

「作動可能に連結された」または「転写制御」という用語は、異種核酸配列の発現をもたらす、調節配列と異種核酸配列との間の機能的連結を指す。例えば、第１の核酸配列が第２の核酸配列と機能的な関係に置かれている場合、第１の核酸配列は、第２の核酸配列と作動可能に連結されている。例えば、プロモーターがコーディング配列の転写または発現に影響を与える場合、プロモーターは、コーディング配列に作動可能に連結されている。作動可能に連結されたＤＮＡ配列は、互いに隣接し得、例えば、２つのタンパク質コーディング領域を連結するために必要な場合、同じリーディングフレーム内にある。

【０２７５】

免疫原性組成物の「非経口」投与という用語は、例えば、皮下（ｓ．ｃ．）、静脈内（ｉ．ｖ．）、筋肉内（ｉ．ｍ．）または胸骨内注射、腫瘍内または注入技術を含む。

【０２７６】

「核酸」または「ポリヌクレオチド」という用語は、一本鎖または二本鎖のいずれかの形態のデオキシリボ核酸（ＤＮＡ）またはリボ核酸（ＲＮＡ）及びその高分子を指す。特に限定されない限り、この用語は、参照核酸と同様の結合特性を有し、天然ヌクレオチドと同様に代謝される、天然ヌクレオチドの既知の類似体を含有する核酸を包含する。別段の指示のない限り、特定の核酸配列はまた、明確に示された配列はもちろんのこと、保存的に修飾されたそのバリアント（例えば、縮重コドン置換）、アレル、オルソログ、ＳＮＰ及び相補的配列も暗黙的に包括する。特に、縮重コドン置換は、１つ以上の選択したコドン（または全てのコドン）の３番目の位置を、混合塩基及び／またはデオキシイノシン残基で置き換えた配列を生成することによって達成することができる（Ｂａｔｚｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｒｅｓ．１９：５０８１（１９９１）；Ｏｈｔｓｕｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６０：２６０５－２６０８（１９８５）；及びＲｏｓｓｏｌｉｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｐｒｏｂｅｓ ８：９１－９８（１９９４））。

【０２７７】

「ペプチド」、「ポリペプチド」及び「タンパク質」という用語は、区別なく使用され、ペプチド結合によって共有結合されたアミノ酸残基からなる化合物を指す。タンパク質またはペプチドは、少なくとも２つのアミノ酸を含有しなければならず、タンパク質配列またはペプチド配列を構成することができるアミノ酸の最大数に制限はない。ポリペプチドは、ペプチド結合によって互いに連結された２つ以上のアミノ酸を含む、任意のペプチドまたはタンパク質を含む。本明細書で使用されるとき、この用語は、当該技術分野において、例えば、ペプチド、オリゴペプチド及びオリゴマーとも一般的に呼ばれる短鎖と、当該技術分野において、通常、タンパク質と呼ばれ、多数の種類が存在する長鎖との両方

を指す。「ポリペプチド」は、とりわけ、例えば、生物学的に活性な断片、実質的に相同のポリペプチド、オリゴペプチド、ホモ二量体、ヘテロ二量体、ポリペプチドのバリアント、修飾ポリペプチド、誘導体、類似体、融合タンパク質を含む。ポリペプチドは、天然ペプチド、組み換えペプチドまたはこれらの組み合わせを含む。

【０２７８】

「プロモーター」という用語は、ポリヌクレオチド配列の特異的転写を開始するために必要とされる、細胞の転写機構または導入された合成機構によって認識されるＤＮＡ配列を指す。

【０２７９】

「プロモーター／調節配列」という用語は、プロモーター／調節配列に作動可能に連結された遺伝子産物の発現に必要とされる核酸配列を指す。いくつかの場合において、この配列は、コアプロモーター配列であり得、他の場合において、この配列は、エンハンサー配列と、遺伝子産物の発現に必要とされる他の調節エレメントとを含み得る。プロモーター／調節配列は、例えば、組織特異的に遺伝子産物を発現するものであってよい。

【０２８０】

「構成的」プロモーターという用語は、遺伝子産物をコードまたは特定するポリヌクレオチドと作動可能に連結されている場合、細胞のほとんどまたは全ての生理学的条件下で、当該遺伝子産物を細胞内で産生させるヌクレオチド配列を指す。

【０２８１】

「誘導性」プロモーターという用語は、遺伝子産物をコードまたは特定するポリヌクレオチドと作動可能に連結されている場合、プロモーターに対応するインデューサーが細胞内に存在する場合に実質的に限り、当該遺伝子産物を細胞内で産生させるヌクレオチド配列を指す。

【０２８２】

「組織特異的」プロモーターという用語は、遺伝子によってコードまたは特定されるポリヌクレオチドと作動可能に連結されている場合、細胞が、プロモーターに対応する組織型の細胞である場合に実質的に限り、当該遺伝子産物を細胞内で産生させるヌクレオチド配列を指す。

【０２８３】

ｓｃＦｖとの関係において使用される「リンカー」及び「フレキシブルポリペプチドリンカー」という用語は、グリシン及び／またはセリン残基などのアミノ酸から構成され、単独でまたは組み合わせて使用して、可変重鎖領域と可変軽鎖領域とを連結するためのペプチドリンカーを指す。一実施形態において、フレキシブルポリペプチドリンカーは、Ｇｌｙ／Ｓｅｒリンカーであり、アミノ酸配列（Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ）$_n$を含み、ｎは、１以上の整数である。例えば、ｎ＝１、ｎ＝２、ｎ＝３、ｎ＝４、ｎ＝５、ｎ＝６、ｎ＝７、ｎ＝８、ｎ＝９及びｎ＝１０である。一実施形態において、フレキシブルポリペプチドリンカーは、（Ｇｌｙ$_4$Ｓｅｒ）$_4$または（Ｇｌｙ$_4$Ｓｅｒ）$_3$を含むが、これらに限定されない。別の実施形態において、リンカーは、（Ｇｌｙ$_2$Ｓｅｒ）、（ＧｌｙＳｅｒ）または（Ｇｌｙ$_3$Ｓｅｒ）の複数の繰り返しを含む。ＷＯ２０１２／１３８４７５（参照により本明細書に援用される）に記載されているリンカーもまた、本発明の範囲内である。いくつかの場合において、リンカー配列は、長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの場合において、長いリンカー配列は、（Ｇ$_4$Ｓ）$_n$を含み、ｎ＝２～４である。いくつかの場合において、リンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの場合において、短いリンカー配列は、（Ｇ$_4$Ｓ）$_n$を含み、ｎ＝１～３である。

【０２８４】

本明細書で使用されるとき、５’キャップ（ＲＮＡキャップ、ＲＮＡ　７－メチルグアノシンキャップまたはＲＮＡ　ｍ７Ｇキャップとも称される）は、転写の開始直後に真核生物メッセンジャーＲＮＡの「フロント」または５’末端に付加される修飾グアニンヌクレオチドである。５’キャップは、最初に転写されたヌクレオチドに連結される末端基からなる。その存在は、リボソームによる認識及びリボヌクレアーゼからの保護に不可欠である。

キャップ付加は、転写と対であり、転写と同時に生じるため、互いに影響し合う。転写の開始直後に、合成中のｍＲＮＡの５’末端は、ＲＮＡポリメラーゼと会合しているキャップ合成複合体に結合する。この酵素複合体は、ｍＲＮＡキャッピングに必要とされる化学反応を媒介する。合成は、多段階の生化学反応として進行する。キャッピング部分は、ｍＲＮＡの機能性、例えば、その安定性または翻訳効率を調節するために改変され得る。

【０２８５】

本明細書で使用されるとき、「ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写ＲＮＡ」は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで合成されたＲＮＡ、好ましくは、ｍＲＮＡを指す。一般に、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写ＲＮＡは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写ベクターから生成される。ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写ベクターは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写ＲＮＡを生成するために使用される鋳型を含む。

【０２８６】

本明細書で使用されるとき、「ポリ（Ａ）」は、ポリアデニル化によってｍＲＮＡに結合される一連のアデノシンである。一過性発現用の構築物の好ましい実施形態において、ポリＡは、５０～５０００、好ましくは６４超、より好ましくは１００超、最も好ましくは３００または４００超である。ポリ（Ａ）配列は、ｍＲＮＡの機能性、例えば、局在化、安定性または翻訳効率を調節するために、化学的または酵素的に改変され得る。

【０２８７】

本明細書で使用されるとき、「ポリアデニル化」は、ポリアデニリル部分またはその修飾バリアントがメッセンジャーＲＮＡ分子に共有結合することを指す。真核生物において、ほとんどのメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）分子が３’末端でポリアデニル化される。３’ポリ（Ａ）テールは、ポリアデニル酸ポリメラーゼという酵素の作用を介してプレｍＲＮＡに付加される、アデニンヌクレオチドの長い配列（多くの場合、数百）である。高等真核細胞において、ポリ（Ａ）テールは、ポリアデニル化シグナルの特定配列を含有する転写物に付加される。ｍＲＮＡに結合したポリ（Ａ）テール及びタンパク質は、エキソヌクレアーゼによる分解からｍＲＮＡを保護するのに役立つ。ポリアデニル化はまた、転写の終結、ｍＲＮＡの核からの輸送、及び翻訳に重要である。ポリアデニル化は、ＤＮＡのＲＮＡへの転写の直後に核内で生じるが、その後、細胞質内で更に生じることもある。転写の終結後、ｍＲＮＡ鎖は、ＲＮＡポリメラーゼと会合しているエンドヌクレアーゼ複合体の作用を介して切断される。切断部位は、通常、切断部位の近傍に塩基配列ＡＡＵＡＡＡが存在することを特徴とする。ｍＲＮＡの切断後、切断部位の遊離３’末端にアデノシン残基が付加される。

【０２８８】

本明細書で使用されるとき、「一過性」は、数時間、数日または数週間にわたる非統合導入遺伝子の発現を指し、ここで、発現期間は、導入遺伝子がゲノムに組み込まれた場合、または宿主細胞の安定したプラスミドレプリコン内に含まれる場合の遺伝子発現の期間よりも短い。

【０２８９】

「シグナル伝達経路」という用語は、細胞のある部分から細胞の別の部分へシグナルを伝達することに関与する、様々なシグナル伝達分子間の生化学的関係を指す。「細胞表面受容体」という語句は、シグナルを受け取り、細胞膜を通ってシグナルを伝達することができる分子及び分子の複合体を含む。

【０２９０】

「対象」という用語は、免疫応答が誘起され得る生体（例えば、哺乳動物、ヒト）を含むことが意図される。

【０２９１】

「実質的に精製された」細胞という用語は、他の細胞型を本質的に含まない細胞を指す。実質的に精製された細胞はまた、その天然状態では通常会合している他の細胞型から分離されている細胞も指す。いくつかの場合において、実質的に精製された細胞の集団は、均質な細胞集団を指す。他の場合において、この用語は、単に、その天然状態において天然に会合している細胞から分離されている細胞を指す。いくつかの態様において、細胞は

、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで培養される。他の態様において、細胞は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで培養されない。

【０２９２】

本明細書で使用される「治療的（ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ）」という用語は、治療（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ）を意味する。治療効果は、病態の軽減、抑制、寛解または根絶によって得られる。

【０２９３】

本明細書で使用される「予防」という用語は、疾患または病態の防止または保護的治療を意味する。

【０２９４】

本発明との関係において、「腫瘍抗原」または「過剰増殖性疾患抗原」または「過剰増殖性疾患に関連する抗原」は、特定の過剰増殖性疾患に共通する抗原を指す。特定の態様において、本発明の過剰増殖性疾患抗原は、限定するものではないが、原発性または転移性黒色腫、胸腺腫、リンパ腫、肉腫、肺癌、肝癌、ＮＨＬ、白血病、子宮癌、子宮頸癌、膀胱癌、腎癌、及び腺癌、例えば、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、膵癌などを含む、がんに由来する。

【０２９５】

「トランスフェクトされた」または「形質転換された」または「形質導入された」という用語は、外因性核酸が宿主細胞に移入または導入されるプロセスを指す。「トランスフェクトされた」または「形質転換された」または「形質導入された」細胞は、外因性核酸によってトランスフェクトされ、形質転換され、または形質導入された細胞である。細胞は、初代対象細胞及びその子孫を含む。

【０２９６】

「特異的に結合する」という用語は、抗体、抗体断片または特定のリガンドが、試料中に存在する同族結合パートナー（例えば、ＢＣＭＡ、ＮＫＧ２Ｄ、ＲＯＲ１など）を認識して結合するが、試料中の他の分子を必然的及び実質的に認識も結合もしないことを指す。

【０２９７】

「結合リガンド」という用語は、一般に、ポリペプチド（例えば、タンパク質）、ポリヌクレオチド（例えば、ＤＮＡ、ＲＮＡまたはＤＮＡとＲＮＡのハイブリッド）、分子、化合物、その断片及び／またはそのハイブリッドを指す。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、ポリヌクレオチドを含み得、ポリヌクレオチドは、一本鎖、二本鎖またはこれらの組み合わせであり得る。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、生物学的分子または非生物学的分子を含み得る。いくつかの実施形態において、生物学的分子または非生物学的分子は、天然分子または人工分子であり得る。結合リガンドの非限定的な例としては、タンパク質、炭水化物、脂質または核酸が挙げられる。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、抗体またはその断片（例えば、ＩｇＡアイソタイプ抗体、ＩｇＤアイソタイプ抗体、ＩｇＥアイソタイプ抗体、ＩｇＧアイソタイプ抗体、ＩｇＭアイソタイプ抗体、ＩｇＷアイソタイプ抗体、ＩｇＹアイソタイプ抗体）に会合、結合及び／または連結し得る。いくつかの実施形態において、抗体またはその断片は、抗体のＦｃドメインであり得る（例えば、結合リガンドは、Ｆｃ受容体である）。例えば、いくつかの実施形態において、結合リガンドは、ＩｇＧ１抗体に特異的に結合することができる。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、抗体またはその断片に会合する能力、結合する能力、及び／または連結する能力があり得る。一実施形態において、結合リガンドは、ＣＤ１６ポリペプチドまたはその断片を含み得る。別の実施形態において、結合リガンドは、ＣＤ１６ポリヌクレオチドまたはその断片を含み得る。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、ＣＤ１６ポリペプチドを含み得、ＣＤ１６ポリペプチドは、天然ＣＤ１６ポリペプチド配列と少なくとも約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％または９５％相同である配列を含む。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、ＣＤ１６ポリペプチドを含み得、ＣＤ１６ポリペプチドは、天然ＣＤ１６ポリペプチド配列と最大で約９９％、９５％、９０％、８０％、７０％、６

０％、５０％、４０％、３０％、２０％または１０％相同である配列を含む。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、ＣＤ１６ポリヌクレオチドを含み得、ＣＤ１６ポリヌクレオチドは、天然ＣＤ１６ポリヌクレオチド配列と少なくとも約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％または９５％相同である配列を含む。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、ＣＤ１６ポリヌクレオチドを含み得、ＣＤ１６ポリヌクレオチドは、天然ＣＤ１６ポリヌクレオチド配列と最大で約９９％、９５％、９０％、８０％、７０％、６０％、５０％、４０％、３０％、２０％または１０％相同である配列を含む。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、複数のサブユニットを含み得る。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、複数のサブユニットを含み得、サブユニットは、同じであり得る。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、複数の異なるサブユニットを含み得る。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、複数のサブユニットを含み得、サブユニットの少なくとも２つは、異なり得る。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、二量体、三量体、四量体、五量体、六量体、七量体、九量体または十量体を含み得る。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、約１０個を超えるサブユニットを含み得る。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、ポリマーを含み得る。いくつかの実施形態において、結合リガンドは、非ヒト（例えば、霊長類）、ヒト、またはヒト化であり得る。

【０２９８】

範囲：本開示を通して、本発明の様々な態様は、範囲の形式で示され得る。範囲の形式での記述は、単に便宜上及び簡潔さのためであり、本発明の範囲に対する柔軟性のない制限と解釈されるものではないことを理解されたい。したがって、範囲の記述は、その範囲内の個々の数値だけでなく、可能な部分範囲の全てを具体的に開示しているとみなされるものとする。例えば、１～６などの範囲の記述は、その範囲内の個々の数値、例えば、１、２、２．７、３、４、５、５．３及び６だけでなく、１～３、１～４、１～５、２～４、２～６、３～６などの部分範囲を具体的に開示しているとみなされるものとする。別の例として、９５～９９％の同一性などの範囲は、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有するものを含み、９６～９９％、９６～９８％、９６～９７％、９７～９９％、９７～９８％及び９８～９９％の同一性などの部分範囲を含む。これは、当該範囲の幅にかかわらず適用される。

【０２９９】

Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）

本発明は、ＴＦＰをコードする組み換えＤＮＡ構築物であって、一態様において、ＴＦＰは、１つ以上の腫瘍関連抗原（「ＴＡＡ」）、例えば、ヒトＴＡＡに特異的に結合する抗体断片を含み、当該抗体断片の配列は、ＴＣＲサブユニットまたはその一部分をコードする核酸配列と隣接しており、同じリーディングフレーム内にある、組み換えＤＮＡ構築物を包含する。本明細書で提供されるＴＦＰは、１つ以上の内因性（あるいは、１つ以上の外因性、または内因性と外因性の組み合わせ）ＴＣＲサブユニットと会合し、機能的ＴＣＲ複合体を形成することができる。別の態様において、ＴＦＰは、ＩｇＧ１またはＩｇＧ４抗体のＴｃ領域に特異的に結合するＣＤ１６断片を含む。

【０３００】

一態様において、本発明のＴＦＰは、別名では抗原結合ドメインと呼ばれる、標的特異的結合因子を含む。部分の選択は、標的細胞の表面を画定する標的抗原の種類及び数に依存する。例えば、抗原結合ドメインは、特定の病態に関連する標的細胞上の細胞表面マーカーとして作用する標的抗原を認識するように選択され得る。したがって、本発明のＴＦＰの抗原結合ドメインに対する標的抗原として作用し得る細胞表面マーカーの例としては、ウイルス感染症、細菌感染症及び寄生虫感染症；自己免疫疾患；ならびにがん性疾患（例えば、悪性疾患）に関連するものが挙げられる。

【０３０１】

一態様において、ＴＦＰ媒介性Ｔ細胞応答は、所望の抗原に特異的に結合する抗原結合ドメインをＴＦＰに組み込むことによって、目的の抗原に向かわせることができる。

【０３０２】
一態様において、抗原結合ドメインを含むＴＦＰの部分は、ＢＣＭＡを標的にする抗原結合ドメインを含む。別の態様において、抗原結合ドメインは、ヒトＲＯＲ１を標的にする。別の態様において、抗原結合ドメインは、ヒトＮＫＧ２Ｄを標的にする。別の態様において、ＴＦＰは、抗原結合ドメインとしてＣＤ１６ポリペプチドを含み、標的は、抗ＴＡＡ抗体であり、次いで、抗ＴＡＡ抗体は、ＴＡＡを標的にする。
【０３０３】
ＴＦＰは、ＣＤ１６部分、例えば、ヒトＣＤ１６部分を含み、ＣＤ１６タンパク質またはその断片の配列は、ＴＣＲサブユニットまたはその一部分をコードする核酸配列と隣接しており、同じリーディングフレーム内にある。本明細書で提供されるＴＦＰは、１つ以上の内因性（あるいは、１つ以上の外因性、または内因性と外因性の組み合わせ）ＴＣＲサブユニットと会合し、機能的ＴＣＲ複合体を形成することができる。一態様において、ＣＤ１６　ＴＦＰは、別名ではＦｃγ受容体と呼ばれる、標的特異的結合因子を含む。ＣＤ１６　ＴＦＰは、承認済み抗がんモノクローナル（ＩｇＧ）抗体とともに作用するように選択され得、これにより、抗体の特異性と、抗体誘発性エフェクター機能を媒介する免疫細胞とを組み合わせることができる。Ｆｃドメインは、Ｆａｂ領域によって定められた特異性とＣＤ１６　ＴＦＰとの間の橋渡しとして作用する。例えば、ＣＤ１６　ＴＦＰは、標準治療薬である抗ＣＤ２０抗体リツキシマブと組み合わせることができる。ＣＤ２０は、免疫系Ｂ細胞の表面上に主に認められる。リツキシマブは、Ｂ細胞を破壊することから、Ｂ細胞の過活動、機能不全または過剰数を特徴とする疾患を治療するために使用される。これには、多くのリンパ腫、白血病、移植拒絶反応及び自己免疫疾患が含まれ得る。したがって、ＴＦＰと組み合わせる抗体の標的抗原として作用し得る細胞表面マーカーの例としては、ウイルス感染症、細菌感染症及び寄生虫感染症；自己免疫疾患；ならびにがん性疾患（例えば、悪性疾患）に関連するものが挙げられる。ＣＤ１６部分は、リンカーを介してＴＦＰに結合され得る。別の実施形態において、リンカー配列は、$(Gly_4Ser)_n$などのグリシンとセリンの繰り返しセットを含み、ｎは、１以上の整数である。一実施形態において、リンカーは、$(Gly_4Ser)_4$または$(Gly_4Ser)_3$であり得る。いくつかの場合において、リンカー配列は、長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの場合において、長いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝２～４である。いくつかの場合において、リンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの場合において、短いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝１～３である。
【０３０４】
抗原結合ドメインは、抗原に結合する任意のドメインであって、例えば、限定するものではないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組み換え抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体及びその機能性断片、例えば、限定するものではないが、重鎖可変ドメイン（V_H）、軽鎖可変ドメイン（V_L）及びラクダ科由来ナノボディの可変ドメイン（V_{HH}）などの単一ドメイン抗体、ならびに当該技術分野において抗原結合ドメインとして機能することが知られている、組み換えフィブロネクチンドメイン、アンチカリン、ＤＡＲＰＩＮなどの代替スカフォールドであり得る。同様に、標的抗原を特異的に認識及び結合する天然または合成リガンドを、ＴＦＰの抗原結合ドメインとして使用することができる。いくつかの場合において、抗原結合ドメインは、ＴＦＰが最終的に使用される種と同じ種に由来するのが有益である。例えば、ヒトでの使用において、ＴＦＰの抗原結合ドメインは、抗体または抗体断片の抗原結合ドメインのヒトまたはヒト化残基を含むことが有益であり得る。
【０３０５】
したがって、一態様において、抗原結合ドメインは、ヒト化抗体もしくはヒト化抗体断片、またはヒト抗体もしくはヒト抗体断片、またはマウス抗体もしくはマウス抗体断片を含む。一実施形態において、ヒト化またはヒト抗ＴＡＡ結合ドメインは、本明細書に記載されるヒト化またはヒト抗ＴＡＡ結合ドメインの１つ以上（例えば、３つ全て）の軽鎖相補性決定領域１（ＬＣ　ＣＤＲ１）、軽鎖相補性決定領域２（ＬＣ　ＣＤＲ２）及び軽鎖相

補性決定領域３（ＬＣ　ＣＤＲ３）、及び／または本明細書に記載されるヒト化またはヒト抗ＴＡＡ結合ドメインの１つ以上（例えば、３つ全て）の重鎖相補性決定領域１（ＨＣ　ＣＤＲ１）、重鎖相補性決定領域２（ＨＣ　ＣＤＲ２）及び重鎖相補性決定領域３（ＨＣ　ＣＤＲ３）を含み、例えば、ヒト化またはヒト抗ＴＡＡ結合ドメインは、１つ以上、例えば、３つ全てのＬＣ　ＣＤＲ及び１つ以上、例えば、３つ全てのＨＣ　ＣＤＲを含む。一実施形態において、ヒト化またはヒト抗ＴＡＡ結合ドメインは、本明細書に記載されるヒト化またはヒト抗ＴＡＡ結合ドメインの１つ以上（例えば、３つ全て）の重鎖相補性決定領域１（ＨＣ　ＣＤＲ１）、重鎖相補性決定領域２（ＨＣ　ＣＤＲ２）及び重鎖相補性決定領域３（ＨＣ　ＣＤＲ３）を含み、例えば、ヒト化またはヒト抗腫瘍関連抗原結合ドメインは、２つの可変重鎖領域を有し、それぞれが本明細書に記載されるＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２及びＨＣ　ＣＤＲ３を含む。一実施形態において、ヒト化またはヒト抗腫瘍関連抗原結合ドメインは、本明細書に記載されるヒト化またはヒト軽鎖可変領域及び／または本明細書に記載されるヒト化またはヒト重鎖可変領域を含む。一実施形態において、ヒト化またはヒト抗腫瘍関連抗原結合ドメインは、本明細書に記載されるヒト化重鎖可変領域、例えば、少なくとも２つの本明細書に記載されるヒト化またはヒト重鎖可変領域を含む。一実施形態において、抗腫瘍関連抗原結合ドメインは、本明細書で提供されるアミノ酸配列の軽鎖及び重鎖を含む、ｓｃＦｖである。一実施形態において、抗腫瘍関連抗原結合ドメイン（例えば、ｓｃＦｖまたはV_HH　ｎｂ）は、本明細書で提供される軽鎖可変領域のアミノ酸配列に対して少なくとも１つ、２つもしくは３つの修飾（例えば、置換）から３０、２０もしくは１０以下の修飾（例えば、置換）を有するアミノ酸配列、もしくは本明細書で提供されるアミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む、軽鎖可変領域、及び／または本明細書で提供される重鎖可変領域のアミノ酸配列に対して少なくとも１つ、２つもしくは３つの修飾（例えば、置換）から３０、２０もしくは１０以下の修飾（例えば、置換）を有するアミノ酸配列、もしくは本明細書で提供されるアミノ酸配列に対して９５～９９％の同一性を有する配列を含む、重鎖可変領域を含む。一実施形態において、ヒト化またはヒト抗腫瘍関連抗原結合ドメインは、ｓｃＦｖであり、本明細書に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域は、リンカー、例えば、本明細書に記載されるリンカーを介して、本明細書に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域に結合される。一実施形態において、ヒト化抗腫瘍関連抗原結合ドメインは、$(Gly_4-Ser)_n$リンカーを含み、ｎは、１、２、３、４、５または６、好ましくは、３または４である。ｓｃＦｖの軽鎖可変領域及び重鎖可変領域は、例えば、次の配向：軽鎖可変領域－リンカー－重鎖可変領域または重鎖可変領域－リンカー－軽鎖可変領域のいずれかであり得る。いくつかの場合において、リンカー配列は、長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの場合において、長いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝２～４である。いくつかの場合において、リンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの場合において、短いリンカー配列は、$(G_4S)_n$を含み、ｎ＝１～３である。

【０３０６】

いくつかの態様において、非ヒト抗体は、ヒト化されており、この場合、抗体の特定の配列または領域が、ヒトにおいて天然に産生される抗体またはその断片に対する類似性を増すように改変されている。一態様において、抗原結合ドメインは、ヒト化されている。

【０３０７】

ヒト化抗体は、当該技術分野において知られている様々な技術を使用して作製することができ、これらには、限定するものではないが、ＣＤＲグラフト化（例えば、欧州特許第ＥＰ２３９，４００号；国際公開第ＷＯ９１／０９９６７号ならびに米国特許第５，２２５，５３９号、同第５，５３０，１０１号及び同第５，５８５，０８９号参照。これらの各々は、参照によりその全体が本明細書に援用される）、ベニアリングまたはリサーフェーシング（例えば、欧州特許第ＥＰ５９２，１０６号及び同第ＥＰ５１９，５９６号；Ｐａｄｌａｎ，１９９１，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，２８（４／５）：４８９－４９８；Ｓｔｕｄｎｉｃｋａ　ｅｔ　ａｌ．，１９９４，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，７（６）：８０５－８１４；及びＲｏｇｕｓｋａ　ｅｔ　ａｌ．，１９

９４，ＰＮＡＳ，９１：９６９－９７３参照。これらの各々は、参照によりその全体が本明細書に援用される）、鎖シャフリング（例えば、米国特許第５，５６５，３３２号参照。当該特許は、参照によりその全体が本明細書に援用される）、ならびに例えば、米国特許出願公開第ＵＳ２００５／００４２６６４号、米国特許出願公開第ＵＳ２００５／００４８６１７号、米国特許第６，４０７，２１３号、米国特許第５，７６６，８８６号、国際公開第ＷＯ９３１７１０５号、Ｔａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１６９：１１１９－２５（２００２）、Ｃａｌｄａｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．，１３（５）：３５３－６０（２０００）、Ｍｏｒｅａ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ，２０（３）：２６７－７９（２０００）、Ｂａｃａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２７２（１６）：１０６７８－８４（１９９７）、Ｒｏｇｕｓｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．，９（１０）：８９５－９０４（１９９６）、Ｃｏｕｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．，５５（２３ Ｓｕｐｐ）：５９７３ｓ－５９７７ｓ（１９９５）、Ｃｏｕｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．，５５（８）：１７１７－２２（１９９５）、Ｓａｎｄｈｕ Ｊ Ｓ，Ｇｅｎｅ，１５０（２）：４０９－１０（１９９４）及びＰｅｄｅｒｓｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２３５（３）：９５９－７３（１９９４）に開示されている技術（これらの各々は、参照によりその全体が本明細書に援用される）が挙げられる。多くの場合、フレームワーク領域内のフレームワーク残基は、抗原結合を変えるために、例えば、改善するために、ＣＤＲドナー抗体由来の対応する残基で置換される。これらのフレームワーク置換は、当該技術分野においてよく知られている方法によって特定され、例えば、ＣＤＲとフレームワーク残基の相互作用をモデリングし、抗原結合に重要なフレームワーク残基を特定し、配列比較により特定の位置で他と異なるフレームワーク残基を特定することによってなされる（例えば、Ｑｕｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，米国特許第５，５８５，０８９号；及びＲｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，１９８８，Ｎａｔｕｒｅ，３３２：３２３参照。これらは、参照によりその全体が本明細書に援用される）。

【０３０８】

ヒト化抗体または抗体断片は、非ヒト起源に由来して残留する１つ以上のアミノ酸残基を有する。これらの非ヒトアミノ酸残基は、多くの場合、「移入」残基と呼ばれ、典型的に「移入」可変ドメインに由来する。本明細書において提供される場合、ヒト化抗体または抗体断片は、非ヒト免疫グロブリン分子に由来する１つ以上のＣＤＲ及びフレームワーク領域を含み、ここで、フレームワークを構成するアミノ酸残基は、完全にまたは大部分がヒト生殖細胞系に由来する。抗体または抗体断片をヒト化する技術は、当該技術分野において多数知られており、Ｗｉｎｔｅｒ及び共同研究者らの方法（Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３２１：５２２－５２５（１９８６）；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３３２：３２３－３２７（１９８８）；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２３９：１５３４－１５３６（１９８８））に従い、齧歯類のＣＤＲまたはＣＤＲ配列を、ヒト抗体の対応する配列の代わりに用いることによって、基本的に実施することができる（すなわち、ＣＤＲグラフト化（ＥＰ２３９，４００；ＰＣＴ国際公開第ＷＯ９１／０９９６７；及び米国特許第４，８１６，５６７号、同第６，３３１，４１５号、同第５，２２５，５３９号、同第５，５３０，１０１号、同第５，５８５，０８９号、同第６，５４８，６４０。これらの内容は、その全体が参照により本明細書に援用される））。かかるヒト化抗体及び抗体断片において、インタクトなヒト可変ドメインの実質的に小さい部分が、非ヒト種由来の対応する配列で置換されている。ヒト化抗体は、多くの場合、いくつかのＣＤＲ残基と、場合により、いくつかのフレームワーク（ＦＲ）残基とが、齧歯類抗体の類似部位に由来する残基で置換されている、ヒト抗体である。抗体及び抗体断片のヒト化はまた、ベニアリングもしくはリサーフェーシング（ＥＰ５９２，１０６；ＥＰ５１９，５９６；Ｐａｄｌａｎ，１９９１，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，２８（４／５）：４８９－４９８；Ｓｔｕｄｎｉｃｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，７（６）：８０５－８１４（１９９４）；及びＲｏｇｕｓｋａ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ，９１：９６９－９７３（１９９４））

または鎖シャフリング（米国特許第５，５６５，３３２号）によって達成することもでき、これらの内容は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【０３０９】

ヒト化抗体の作製に使用される軽鎖及び重鎖の両方のヒト可変ドメインの選択は、抗原性を減らすことである。いわゆる「ベストフィット」法では、齧歯類抗体の可変ドメインの配列を、既知のヒト可変ドメイン配列の全ライブラリーに対してスクリーニングする。次いで、齧歯類の配列に最も近いヒト配列を、ヒト化抗体のヒトフレームワーク（ＦＲ）とする（Ｓｉｍｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５１：２２９６（１９９３）；Ｃｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，１９６：９０１（１９８７）；これらの内容は、その全体が参照により本明細書に援用される）。別の方法は、軽鎖または重鎖の特定のサブグループの全ヒト抗体のコンセンサス配列に由来する特定のフレームワークを使用する。同じフレームワークをいくつかの異なるヒト化抗体に使用することができる（例えば、Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎ．３４（１６－１７）：１１５７－１１６５（１９９７）；Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８９：４２８５（１９９２）；Ｐｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５１：２６２３（１９９３）参照。これらの内容は、その全体が参照により本明細書に援用される）。いくつかの実施形態において、重鎖可変領域のフレームワーク領域、例えば、４つ全てのフレームワーク領域は、V_H４－４－５９生殖細胞系列配列に由来する。一実施形態において、フレームワーク領域は、例えば、対応するマウス配列のアミノ酸に由来する１、２、３、４または５つの修飾、例えば、置換を含む。一実施形態において、軽鎖可変領域のフレームワーク領域、例えば、４つ全てのフレームワーク領域は、ＶＫ３－１．２５生殖細胞系列配列に由来する。一実施形態において、フレームワーク領域は、例えば、対応するマウス配列のアミノ酸に由来する１、２、３、４または５つの修飾、例えば、置換を含む。

【０３１０】

いくつかの態様において、抗体断片を含む本発明のＴＦＰ組成物の部分は、標的抗原に対する高親和性及び他の好ましい生物学的特性を保持したままヒト化される。本発明の一態様によれば、ヒト化抗体及び抗体断片は、親配列及びヒト化配列の三次元モデルを使用して、親配列及び様々な概念上のヒト化産物について分析するプロセスによって調製される。三次元免疫グロブリンモデルは、一般に利用可能であり、当業者にはよく知られている。選択された免疫グロブリン候補配列から推定される三次元高次構造を例示及び表示するコンピュータプログラムが利用可能である。これらの表示を検討することにより、当該免疫グロブリン候補配列の機能における残基の予想される役割の分析、例えば、免疫グロブリン候補が標的抗原と結合する能力に影響を与える残基の分析が可能となる。このように、ＦＲ残基は、標的抗原に対する親和性の増加などの所望の抗体または抗体断片の特性が達成されるように、レシピエント配列及び移入配列から選択し、組み合わせることができる。一般に、ＣＤＲ残基は、抗原結合への影響に直接的かつ最も実質的に関与している。

【０３１１】

一態様において、抗腫瘍関連抗原結合ドメインは、断片、例えば、一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）またはラクダ科重鎖（V_HH）である。一態様において、抗腫瘍関連抗原結合ドメインは、Ｆｖ、Ｆａｂ、$(Ｆａｂ')_2$、または二機能性（例えば、二重特異性）ハイブリッド抗体である（例えば、Ｌａｎｚａｖｅｃｃｈｉａ ｅｔ ａｌ．，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１７，１０５（１９８７））。一態様において、本発明の抗体及びその断片は、野生型または親和性が向上された腫瘍関連抗原タンパク質に結合する。

【０３１２】

また、本明細書で提供されるのは、標的抗原（例えば、ＢＣＭＡ、または融合部分結合ドメインの標的に関して本明細書に別途記載される任意の標的抗原）に特異的な抗体抗原結合ドメインを得るための方法であって、本明細書に記載されるV_H（またはV_HH）ドメインのアミノ酸配列内の１つ以上のアミノ酸の付加、欠失、置換または挿入により、V_Hドメインのアミノ酸配列バリアントであるV_Hドメインを調製することと、任意選択的

に、このようにして調製されたＶ$_{H}$ドメインと１つ以上のＶ$_{L}$ドメインとを組み合わせることと、Ｖ$_{H}$ドメインもしくはＶ$_{H}$／Ｖ$_{L}$の組み合わせまたは複数の組み合わせを試験して、特定の結合メンバーまたは１つ以上の所望の特性を任意選択的に有する目的の標的抗原（例えば、ＢＣＭＡ、ＮＫＧ２Ｄ、ＲＯＲ１、またはＣＤ１６　ＴＦＰ＋抗ＴＡＡ抗体の組み合わせのＴＡＡ標的）に特異的な抗体抗原結合ドメインを特定することとを含む、方法である。

【０３１３】

いくつかの場合において、Ｖ$_{H}$ドメイン及びｓｃＦｖは、当該技術分野において知られている方法によって調製することができる（例えば、Ｂｉｒｄ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４２：４２３－４２６及びＨｕｓｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８５：５８７９－５８８３参照）。ｓｃＦｖ分子は、フレキシブルポリペプチドリンカーを使用して、Ｖ$_{H}$領域とＶ$_{L}$領域を連結させることによって、調製することができる。ｓｃＦｖ分子は、最適化された長さ及び／またはアミノ酸組成のリンカー（例えば、Ｓｅｒ－Ｇｌｙリンカー）を含む。リンカーの長さは、ｓｃＦｖの可変領域がどのように折り畳まれ、相互作用するかに大きく影響し得る。実際、短いポリペプチドリンカー（例えば、５～１０アミノ酸）が採用される場合、鎖内の折り畳みは阻害される。鎖間折り畳みもまた、２つの可変領域を一緒にして、機能的エピトープ結合部位を形成するために必要である。いくつかの場合において、リンカー配列は、長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの場合において、長いリンカー配列は、（Ｇ$_{4}$Ｓ）$_{n}$を含み、ｎ＝２～４である。いくつかの場合において、リンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの場合において、短いリンカー配列は、（Ｇ$_{4}$Ｓ）$_{n}$を含み、ｎ＝１～３である。リンカーの配列及び大きさの例については、例えば、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．１９９３　Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９０：６４４４－６４４８、米国特許出願公開第２００５／０１００５４３号、同第２００５／０１７５６０６号、同第２００７／００１４７９４号、ならびにＰＣＴ国際公開第ＷＯ２００６／０２０２５８号及び同第ＷＯ２００７／０２４７１５号を参照されたい。これらは、参照により本明細書に援用される。

【０３１４】

ｓｃＦｖは、Ｖ$_{L}$領域とＶ$_{H}$領域との間に、約１０、１１、１２、１３、１４、１５または１５を超える残基のリンカーを含む。リンカー配列は、任意の天然アミノ酸を含み得る。いくつかの実施形態において、リンカー配列は、アミノ酸のグリシン及びセリンを含む。別の実施形態において、リンカー配列は、（Ｇｌｙ$_{4}$Ｓｅｒ）$_{n}$などのグリシンとセリンの繰り返しセットを含み、ｎは、１以上の整数である。一実施形態において、リンカーは、（Ｇｌｙ$_{4}$Ｓｅｒ）$_{4}$または（Ｇｌｙ$_{4}$Ｓｅｒ）$_{3}$であり得る。リンカーの長さの変動は、活性を保持または向上させ得、活性試験において、優れた有効性をもたらす。いくつかの場合において、リンカー配列は、長いリンカー（ＬＬ）配列を含む。いくつかの場合において、長いリンカー配列は、（Ｇ$_{4}$Ｓ）$_{n}$を含み、ｎ＝２～４である。いくつかの場合において、リンカー配列は、短いリンカー（ＳＬ）配列を含む。いくつかの場合において、短いリンカー配列は、（Ｇ$_{4}$Ｓ）$_{n}$を含み、ｎ＝１～３である。

【０３１５】

安定性及び変異

抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖ分子（例えば、可溶性ｓｃＦｖ）の安定性は、従来の対照ｓｃＦｖ分子または完全長抗体の生物物理学的特性（例えば、熱安定性）を基準にして評価することができる。一実施形態において、ヒト化またはヒトｓｃＦｖは、本記載のアッセイにおいて、親のｓｃＦｖよりも約０．１、約０．２５、約０．５、約０．７５、約１、約１．２５、約１．５、約１．７５、約２、約２．５、約３、約３．５、約４、約４．５、約５、約５．５、約６、約６．５、約７、約７．５、約８、約８．５、約９、約９．５、約１０℃、約１１℃、約１２℃、約１３℃、約１４℃または約１５℃高い熱安定性を有する。

【０３１６】

抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖの熱安定性が改善されると、続いて、腫瘍関連抗原ＴＦＰ構築物全体も改善され、抗腫瘍関連抗原ＴＦＰ構築物の治療特性の向上につながる。抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖの熱安定性は、従来の抗体と比較して、少なくとも約２℃または３℃改善し得る。一実施形態において、抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖは、従来の抗体と比較して、１℃改善した熱安定性を有する。別の実施形態において、抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖは、従来の抗体と比較して、２℃改善した熱安定性を有する。別の実施形態において、ｓｃＦｖは、従来の抗体と比較して、４℃、５℃、６℃、７℃、８℃、９℃、１０℃、１１℃、１２℃、１３℃、１４℃または１５℃改善した熱安定性を有する。比較は、例えば、本明細書で開示されるｓｃＦｖ分子と、当該ｓｃＦｖのV_H及びV_Lが由来する抗体のｓｃＦｖ分子またはＦａｂ断片との間で行うことができる。熱安定性は、当該技術分野において知られている方法を使用して測定することができる。例えば、一実施形態において、T_Mを測定することができる。T_Mの測定方法及びタンパク質の安定性を決定する他の方法は、以下に記載される。

【０３１７】

ｓｃＦｖ中の変異（可溶性ｓｃＦｖのヒト化または変異導入から生じるもの）は、ｓｃＦｖの安定性を変え、ｓｃＦｖ及び抗腫瘍関連抗原ＴＦＰ構築物の全体的な安定性を改善する。ヒト化ｓｃＦｖの安定性は、T_M、変性温度及び凝集温度などの測定値を使用して、マウスｓｃＦｖと比較される。一実施形態において、抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖは、ヒト化プロセスから生じる少なくとも１つの変異を含み、この変異ｓｃＦｖにより、抗腫瘍関連抗原ＴＦＰ構築物に改善された安定性がもたらされる。別の実施形態において、抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖは、ヒト化プロセスから生じる少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０個の変異を含み、この変異ｓｃＦｖにより、腫瘍関連抗原ＴＦＰ構築物に改善された安定性がもたらされる。

【０３１８】

一態様において、ＴＦＰの抗原結合ドメインは、本明細書に記載される抗原結合ドメインのアミノ酸配列と相同であるアミノ酸配列を含み、抗原結合ドメインは、本明細書に記載される抗腫瘍関連抗原抗体断片の所望の機能特性を保持する。特定の一態様において、本発明のＴＦＰ組成物は、抗体断片を含む。更なる態様において、当該抗体断片は、ｓｃＦｖを含む。

【０３１９】

様々な態様において、ＴＦＰの抗原結合ドメインは、一方または両方の可変領域（例えば、V_H及び／またはV_L）内、例えば、１つ以上のＣＤＲ領域内及び／または１つ以上のフレームワーク領域内の１つ以上のアミノ酸を修飾することによって改変される。特定の一態様において、本発明のＴＦＰ組成物は、抗体断片を含む。更なる態様において、当該抗体断片は、ｓｃＦｖを含む。

【０３２０】

当業者であれば、本発明の抗体または抗体断片は、アミノ酸配列の点では異なる（例えば、野生型と異なる）が、所望の活性の点では変わらないように更に修飾され得ることが理解されよう。例えば、「非必須」アミノ酸残基にアミノ酸置換をもたらす追加のヌクレオチド置換をタンパク質に施すことができる。例えば、分子中の非必須アミノ酸残基を、同じ側鎖ファミリーに由来する別のアミノ酸残基で置き換えることができる。別の実施形態において、一続きのアミノ酸を、側鎖ファミリーメンバーの順序及び／または組成が異なる構造的に類似の一続きのアミノ酸で置き換えることができ、例えば、アミノ酸残基を、類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置き換える保存的置換がなされ得る。

【０３２１】

類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該技術分野において定義されており、塩基性側鎖（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、無電荷極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖（例えば、アラニン

、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、ベータ分岐状側鎖（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）及び芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が含まれる。

【０３２２】

２つ以上の核酸またはポリペプチド配列における同一性パーセントは、同一である２つ以上の配列を指す。２つの配列は、以下の配列比較アルゴリズムのうちの１つを使用して、または手動アラインメント及び目視確認により判定して、比較ウインドウまたは指定領域にわたって最大の一致を得るように比較及び整列したとき、当該２つの配列が特定の割合で同一のアミノ酸残基またはヌクレオチドを有するのであれば、「実質的に同一」である（例えば、特定の領域にわたって、または特定されていない場合は、配列全体にわたって、６０％の同一性、任意選択により７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性）。任意選択により、同一性は、少なくとも約５０ヌクレオチド長（または１０アミノ酸長）である領域、またはより好ましくは、１００～５００もしくは１０００以上のヌクレオチド長（または２０、５０、２００以上のアミノ酸長）である領域にわたって存在する。

【０３２３】

配列比較については、典型的に１つの配列が参照配列として機能し、試験配列と比較される。配列比較アルゴリズムを使用する場合、試験配列及び参照配列をコンピュータに入力し、サブ配列座標を指定し、必要であれば、配列アルゴリズムプログラムのパラメータを指定する。デフォルトのプログラムパラメータを使用してもよいし、別のパラメータを指定してもよい。次いで、配列比較アルゴリズムは、プログラムパラメータに基づいて、参照配列に対する試験配列の配列同一性パーセントを算出する。比較のための配列のアラインメント法は、当該技術分野においてよく知られている。比較のための配列の最適なアラインメントは、例えば、Ｓｍｉｔｈ ａｎｄ Ｗａｔｅｒｍａｎ，（１９７０）Ａｄｖ．Ａｐｐｌ．Ｍａｔｈ．２：４８２ｃの局所的相同性アルゴリズム、Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ ａｎｄ Ｗｕｎｓｃｈ，（１９７０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４３の相同性アラインメントアルゴリズム、Ｐｅａｒｓｏｎ ａｎｄ Ｌｉｐｍａｎ，（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：２４４４の類似性検索法、これらのアルゴリズムのコンピュータによる実施（ＧＡＰ、ＢＥＳＴＦＩＴ、ＦＡＳＴＡ及びＴＦＡＳＴＡ；Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｓｏｆｔｗａｒｅ Ｐａｃｋａｇｅ，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ，５７５ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｄｒ．，Ｍａｄｉｓｏｎ，Ｗｉｓ．）または手動アラインメント及び目視確認（例えば、Ｂｒｅｎｔ ｅｔ ａｌ．，（２００３）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ参照）によって実施することができる。配列同一性パーセント及び配列類似性を決定するのに適したアルゴリズムの２つの例は、ＢＬＡＳＴ及びＢＬＡＳＴ２．０アルゴリズムであり、これらは、Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，（１９７７）Ｎｕｃ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２５：３３８９－３４０２；及びＡｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，（１９９０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－４１０にそれぞれ記載されている。ＢＬＡＳＴ解析を実施するためのソフトウェアは、米国立生物工学情報センター（Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ）から公的に利用可能である。

【０３２４】

一態様において、本発明は、機能的に等価な分子を生成する、出発抗体または断片（例えば、ｓｃＦｖ）のアミノ酸配列の修飾を企図する。例えば、ＴＦＰに含まれる抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖのV_HまたはV_Lは、抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、例えば、ｓｃＦｖの出発V_HまたはV_Lフレームワーク領域と少なくとも約７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、

８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％の同一性を保持するように修飾され得る。本発明は、機能的に等価な分子を生成するために、ＴＦＰ構築物全体の修飾、例えば、ＴＦＰ構築物の様々なドメインの１つ以上のアミノ酸配列における修飾を企図する。ＴＦＰ構築物は、出発ＴＦＰ構築物と少なくとも約７０％、７１％、７２％、７３％、７４％、７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を保持するように修飾され得る。

【０３２５】

細胞外ドメイン

細胞外ドメインは、天然起源または組み換え起源のいずれかに由来し得る。起源が天然である場合、ドメインは、任意のタンパク質に由来し得るが、特に、膜結合タンパク質または膜貫通タンパク質に由来し得る。一態様において、細胞外ドメインは、膜貫通ドメインと会合することができる。本発明に特に有用な細胞外ドメインは、少なくとも、例えば、Ｔ細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖もしくはゼータ鎖、またはＣＤ３イプシロン、ＣＤ３ガンマもしくはＣＤ３デルタ、あるいは、代替的な実施形態において、ＣＤ２８、ＣＤ４５、ＣＤ２、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４の細胞外領域（複数可）を含み得る。

【０３２６】

膜貫通ドメイン

一般に、ＴＦＰ配列は、単一のゲノム配列によってコードされた細胞外ドメイン及び膜貫通ドメインを含有する。代替的な実施形態において、ＴＦＰは、ＴＦＰの細胞外ドメインに対して異種である膜貫通ドメインを含むように設計することができる。膜貫通ドメインは、膜貫通領域に隣接した１つ以上の追加のアミノ酸、例えば、膜貫通の由来であるタンパク質の細胞外領域に会合する１つ以上のアミノ酸（例えば、細胞外領域の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０または１５までのアミノ酸）及び／または膜貫通タンパク質の由来であるタンパク質の細胞内領域に会合する１つ以上のアミノ酸（例えば、細胞内領域の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０または１５までのアミノ酸）を含み得る。一態様において、膜貫通ドメインは、ＴＦＰの他のドメインのうちの１つと会合するものであり、使用される。いくつかの場合において、膜貫通ドメインは、かかるドメインが同じまたは異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインに結合しないように、例えば、受容体複合体の他のメンバーとの相互作用を最小に抑えるように、選択され、またはアミノ酸置換によって修飾され得る。一態様において、膜貫通ドメインは、ＴＦＰ－Ｔ細胞表面上の別のＴＦＰとホモ二量体化することができる。異なる態様において、膜貫通ドメインのアミノ酸配列は、同じＴＦＰに存在する天然結合パートナーの結合ドメインとの相互作用を最小に抑えるように、修飾または置換され得る。

【０３２７】

膜貫通ドメインは、天然起源または組み換え起源のいずれかに由来し得る。起源が天然である場合、ドメインは、任意の膜結合タンパク質または膜貫通タンパク質に由来し得る。一態様において、膜貫通ドメインは、ＴＦＰが標的に結合しているときはいつでも細胞内ドメイン（複数可）にシグナル伝達することができる。本発明に特に有用な膜貫通ドメインは、少なくとも、例えば、Ｔ細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖またはゼータ鎖、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４の膜貫通領域（複数可）を含み得る。

【０３２８】

いくつかの場合において、膜貫通ドメインは、ヒンジ、例えば、ヒトタンパク質由来のヒンジを介して、ＴＦＰの細胞外領域、例えば、ＴＦＰの抗原結合ドメインに結合するこ

とができる。例えば、一実施形態において、ヒンジは、ヒト免疫グロブリン（Ｉｇ）ヒンジ、例えば、ＩｇＧ４ヒンジまたはＣＤ８ａヒンジであり得る。

【０３２９】

リンカー

任意選択により、２～２０アミノ酸長の短いオリゴペプチドまたはポリペプチドリンカーにより、ＴＦＰの膜貫通ドメインと細胞質領域との連結が形成され得る。グリシン－セリンのダブレットが特に好適なリンカーを提供する。例えば、一態様において、リンカーは、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号１０１）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、リンカーは、ＧＧＴＧＧＣＧＧＡＧＧＴＴＣＴＧＧＡＧＧＴＧＧＡＧＧＴＴＣＣ（配列番号１０２）のヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、リンカーは、ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥ（配列番号１）のアミノ酸配列を含む。他の実施形態において、リンカーは、ＡＡＡＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥ（配列番号２）のアミノ酸配列を含む。他の実施形態において、リンカーは、配列ＡＡＩＥＶＭＹＰＰＰＹＬＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥ（配列番号３）を有する長いリンカーである。いくつかの実施形態において、リンカーは、ＧＧＴＧＧＡＧＧＣＧＧＴＴＣＴＧＧＴＧＧＡＧＧＣＧＧＴＴＣＧＧＡＴＧＧＣＧＧＡＧＧＴＴＣＡ（配列番号６６）のヌクレオチド配列によってコードされる。他の実施形態において、リンカーは、ＧＧＡＧＡＧＧＧＴＡＡＡＴＣＴＴＣＣＧＧＡＴＣＴＧＧＴＴＣＣＧＡＡＡＧＣＡＡＧＧＣＴＡＧＣ（配列番号７３）のヌクレオチド配列によってコードされる。

【０３３０】

細胞質ドメイン

ＴＦＰの細胞質ドメインは、ＴＦＰがＣＤ３ガンマ、デルタまたはイプシロンのポリペプチドを含有するのであれば、細胞内シグナル伝達ドメインを含み得るものであり、一般に、ＴＣＲアルファ及びＴＣＲベータサブユニットは、シグナル伝達ドメインを欠いている。細胞内シグナル伝達ドメインは、一般に、ＴＦＰが導入された免疫細胞の正常エフェクター機能のうちの少なくとも１つの活性化に関与する。「エフェクター機能」という用語は、細胞の特殊な機能を指す。Ｔ細胞のエフェクター機能は、例えば、細胞溶解活性またはサイトカインの分泌を含むヘルパー活性であり得る。したがって、「細胞内シグナル伝達ドメイン」という用語は、エフェクター機能のシグナルを伝達し、その細胞を特殊な機能を発揮させるようにするタンパク質の部分を指す。通常、細胞内シグナル伝達ドメインの全てが採用され得るが、多くの場合、全鎖を使用する必要はない。細胞内シグナル伝達ドメインの短縮部分が使用される限りにおいて、かかる短縮部分は、エフェクター機能のシグナルを伝達するのであれば、インタクトな鎖の代わりに使用することができる。したがって、細胞内シグナル伝達ドメインという用語は、エフェクター機能のシグナルを伝達するのに十分な細胞内シグナル伝達ドメインの任意の短縮部分を含むことを意味する。

【０３３１】

本発明のＴＦＰに使用される細胞内シグナル伝達ドメインの例としては、抗原受容体の結合後にシグナル伝達を開始するように協調して作用するＴ細胞受容体（ＴＣＲ）と共受容体の細胞質配列、ならびにこれらの配列の任意の誘導体またはバリアント及び同じ機能性を有する任意の組み換え配列が挙げられる。

【０３３２】

ＴＣＲのみを介して生成されるシグナルは、ナイーブＴ細胞の完全な活性化には不十分であり、二次シグナル及び／または共刺激シグナルが必要であることが知られている。したがって、ナイーブＴ細胞の活性化は、２つの別個のクラスの細胞質シグナル伝達配列：ＴＣＲを介して抗原依存性の一次活性化を開始するもの（一次細胞内シグナル伝達ドメイン）と、抗原非依存的に作用して二次シグナルまたは共刺激シグナルを与えるもの（二次細胞質ドメイン、例えば、共刺激ドメイン）とによって媒介されると言える。

【０３３３】

一次シグナル伝達ドメインは、刺激的または抑制的のいずれかで、ＴＣＲ複合体の一次活性化を制御する。刺激を与えるように作用する一次細胞内シグナル伝達ドメインは、免

疫受容体チロシン活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）として知られるシグナル伝達モチーフを含有し得る。

【０３３４】

本発明に特に有用である、ＩＴＡＭを含有する一次細胞内シグナル伝達ドメインの例としては、ＣＤ３ゼータ、ＦｃＲガンマ、ＦｃＲベータ、ＣＤ３ガンマ、ＣＤ３デルタ、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ５、ＣＤ２２、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ及びＣＤ６６ｄのものが挙げられる。一実施形態において、本発明のＴＦＰは、細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、ＣＤ３イプシロンの一次シグナル伝達ドメインを含む。一実施形態において、一次シグナル伝達ドメインは、修飾されたＩＴＡＭドメイン、例えば、天然ＩＴＡＭドメインと比較して活性が変更された（例えば、増大または減少された）変異ＩＴＡＭドメインを含む。一実施形態において、一次シグナル伝達ドメインは、修飾されたＩＴＡＭを含有する一次細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、最適化された及び／または短縮されたＩＴＡＭを含有する一次細胞内シグナル伝達ドメインを含む。一実施形態において、一次シグナル伝達ドメインは、１、２、３、４またはそれ以上のＩＴＡＭモチーフを含む。

【０３３５】

ＴＦＰの細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメインのみを含んでもよいし、本発明のＴＦＰとの関係において有用な任意の他の所望の細胞内シグナル伝達ドメイン（複数可）と組み合わせてもよい。例えば、ＴＦＰの細胞内シグナル伝達ドメインは、ＣＤ３イプシロン鎖部分及び共刺激シグナル伝達ドメインを含み得る。共刺激シグナル伝達ドメインは、共刺激分子の細胞内ドメインを含むＴＦＰの一部分を指す。共刺激分子は、抗原受容体またはそのリガンド以外の細胞表面分子であり、抗原に対するリンパ球の有効な応答に必要である。かかる分子の例としては、ＣＤ２７、ＣＤ２８、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＯＸ４０、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＰＤ１、ＩＣＯＳ、リンパ球機能関連抗原１（ＬＦＡ－１）、ＣＤ２、ＣＤ７、ＬＩＧＨＴ、ＮＫＧ２Ｃ、Ｂ７－Ｈ３、及びＣＤ８３に特異的に結合するリガンドなどが挙げられる。例えば、ＣＤ２７の共刺激は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏにおけるヒトＴＦＰ－Ｔ細胞の増殖、エフェクター機能及び生存率を向上させることが示されており、ｉｎ　ｖｉｖｏにおけるヒトＴ細胞の持続性及び抗腫瘍活性を増強する（Ｓｏｎｇ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｌｏｏｄ．２０１２；１１９（３）：６９６－７０６）。

【０３３６】

本発明のＴＦＰの細胞質部分内の細胞内シグナル伝達配列は、ランダムな順序または特定の順序で互いに連結され得る。任意選択により、例えば、２～１０アミノ酸長（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０アミノ酸長）の短いオリゴペプチドまたはポリペプチドリンカーにより、細胞内シグナル伝達配列間の連結が形成され得る。

【０３３７】

一実施形態において、グリシン－セリンのダブレットを好適なリンカーとして使用することができる。一実施形態において、単一のアミノ酸、例えば、アラニン、グリシンを好適なリンカーとして使用することができる。

【０３３８】

一態様において、本明細書に記載されるＴＦＰ発現細胞は、第２のＴＦＰ、例えば、異なる抗原結合ドメイン、例えば、同じ標的（例えば、ＣＤ２２）または異なる標的（例えば、ＣＤ１２３）に対するものを含む第２のＴＦＰを更に含み得る。一実施形態において、ＴＦＰ発現細胞が２つ以上の異なるＴＦＰを含む場合、異なるＴＦＰの抗原結合ドメインは、抗原結合ドメインが互いに相互作用しないようなものであり得る。例えば、第１及び第２のＴＦＰを発現する細胞は、第１のＴＦＰの抗原結合ドメインを、例えば、断片、例えば、ｓｃＦｖとして有し得、これは、第２のＴＦＰの抗原結合ドメインと会合しないものであり、例えば、第２のＴＦＰの抗原結合ドメインは、V_{HH}である。

【０３３９】

別の態様において、本明細書に記載されるＴＦＰ発現細胞は、別の作用物質、例えば、ＴＦＰ発現細胞の活性を高める作用物質を更に発現し得る。例えば、一実施形態において

、作用物質は、抑制分子を阻害する作用物質であり得る。抑制分子、例えば、ＰＤ１は、いくつかの実施形態において、ＴＦＰ発現細胞の免疫エフェクター応答の開始能力を低下させ得る。抑制分子の例としては、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４及びＴＧＦＲベータが挙げられる。一実施形態において、抑制分子を阻害する作用物質は、第１のポリペプチド、例えば、抑制分子を含み、これは、細胞に正のシグナルをもたらす第２のポリペプチド、例えば、本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメインに会合している。一実施形態において、作用物質は、第１のポリペプチド、例えば、ＰＤ１、ＬＡＧ３、ＣＴＬＡ４、ＣＤ１６０、ＢＴＬＡ、ＬＡＩＲ１、ＴＩＭ３、２Ｂ４及びＴＩＧＩＴなどの抑制分子またはこれらのいずれかの断片（例えば、これらのいずれかの細胞外ドメインの少なくとも一部分）と、本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、共刺激ドメインを含むもの（例えば、４－１ＢＢ、ＣＤ２７またはＣＤ２８、例えば、本明細書に記載されるもの）及び／または一次シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載されるＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメイン）である第２のポリペプチドとを含む。一実施形態において、作用物質は、ＰＤ１またはその断片（例えば、ＰＤ１の細胞外ドメインの少なくとも一部分）の第１のポリペプチドと、本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメイン（例えば、本明細書に記載されるＣＤ２８シグナル伝達ドメイン及び／または本明細書に記載されるＣＤ３ゼータシグナル伝達ドメイン）の第２のポリペプチドとを含む。ＰＤ１は、ＣＤ２８、ＣＴＬＡ－４、ＩＣＯＳ及びＢＴＬＡも含むＣＤ２８受容体ファミリーの抑制性メンバーである。ＰＤ－１は、活性化されたＢ細胞、Ｔ細胞及び骨髄細胞上に発現される（Ａｇａｔａ ｅｔ ａｌ．１９９６ Ｉｎｔ．Ｉｍｍｕｎｏｌ ８：７６５－７５）。ＰＤ１の２つのリガンド、ＰＤ－Ｌ１及びＰＤ－Ｌ２は、ＰＤ１に結合すると、Ｔ細胞活性化を下方制御することが示されている（Ｆｒｅｅｍａｎ ｅｔ ａｌ．２０００ Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ １９２：１０２７－３４；Ｌａｔｃｈｍａｎ ｅｔ ａｌ．２００１ Ｎａｔ Ｉｍｍｕｎｏｌ ２：２６１－８；Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．２００２ Ｅｕｒ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ ３２：６３４－４３）。ＰＤ－Ｌ１は、ヒトがんに豊富に含まれている（Ｄｏｎｇ ｅｔ ａｌ．２００３ Ｊ Ｍｏｌ Ｍｅｄ ８１：２８１－７；Ｂｌａｎｋ ｅｔ ａｌ．２００５ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ ５４：３０７－３１４；Ｋｏｎｉｓｈｉ ｅｔ ａｌ．２００４ Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ １０：５０９４）。免疫抑制は、ＰＤ１とＰＤ－Ｌ１の局所的相互作用を阻害することによって、逆転させることができる。

【０３４０】

一実施形態において、作用物質は、抑制分子の細胞外ドメイン（ＥＣＤ）を含み、例えば、プログラム死１（ＰＤ１）を、膜貫通ドメインと、任意選択により、４１ＢＢ及びＣＤ３ゼータなどの細胞内シグナル伝達ドメインとに融合することができる（本明細書においてＰＤ１ ＴＦＰとも呼ばれる）。一実施形態において、ＰＤ１ ＴＦＰは、本明細書に記載される抗腫瘍抗原ＴＦＰと組み合わせて使用される場合、Ｔ細胞の持続性を改善する。一実施形態において、ＴＦＰは、ＰＤ１の細胞外ドメインを含む、ＰＤ１ ＴＦＰである。あるいは、プログラム死リガンド１（ＰＤ－Ｌ１）またはプログラム死リガンド２（ＰＤ－Ｌ２）に特異的に結合するｓｃＦｖなどの抗体または抗体断片を含有するＴＦＰが提供される。

【０３４１】

別の態様において、本発明は、ＴＦＰ発現Ｔ細胞、例えば、ＴＦＰ－Ｔ細胞の集団を提供する。いくつかの実施形態において、ＴＦＰ発現Ｔ細胞の集団は、異なるＴＦＰを発現する細胞の混合物を含む。例えば、一実施形態において、ＴＦＰ－Ｔ細胞の集団は、本明細書に記載される抗腫瘍関連抗原結合ドメインを有するＴＦＰを発現する第１の細胞と、異なる抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、例えば、第１の細胞によって発現されるＴＦＰ内の抗腫瘍関連抗原結合ドメインとは異なる本明細書に記載される抗腫瘍関連抗原結合ドメインを有するＴＦＰを発現する第２の細胞とを含み得る。別の例として、ＴＦＰ発現細胞の集団は、抗腫瘍関連抗原結合ドメイン、例えば、本明細書に記載されるものを含むＴＦＰ

を発現する第１の細胞と、腫瘍関連抗原以外の標的（例えば、別の腫瘍関連抗原）に対する抗原結合ドメインを含むＴＦＰを発現する第２の細胞とを含み得る。

【０３４２】

別の態様において、本発明は、細胞の集団であって、集団中の少なくとも１つの細胞が、本明細書に記載される抗腫瘍関連抗原ドメインを有するＴＦＰを発現し、第２の細胞が、別の作用物質、例えば、ＴＦＰ発現細胞の活性を高める作用物質を発現する、細胞の集団を提供する。例えば、一実施形態において、作用物質は、抑制分子を阻害する作用物質であり得る。抑制分子は、例えば、いくつかの実施形態において、ＴＦＰ発現細胞の免疫エフェクター応答の開始能力を低下させ得る。抑制分子の例としては、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４及びＴＧＦＲベータが挙げられる。一実施形態において、抑制分子を阻害する作用物質は、第１のポリペプチド、例えば、抑制分子を含み、これは、細胞に正のシグナルをもたらす第２のポリペプチド、例えば、本明細書に記載される細胞内シグナル伝達ドメインに会合している。

【０３４３】

本明細書で開示されるのは、ＴＦＰをコードする、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写されたＲＮＡを作製する方法である。本発明はまた、細胞に直接トランスフェクトすることができる、ＴＦＰをコードするＲＮＡ構築物を含む。トランスフェクションに使用するｍＲＮＡを生成するための方法は、特別に設計されたプライマーを用いた鋳型のｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写（ＩＶＴ）、それに続くポリＡ付加により、３’及び５’非翻訳配列（「ＵＴＲ」）、５’キャップ及び／または配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）、発現される核酸、ならびに典型的に５０～２０００塩基長のポリＡテールを含有する構築物をもたらすことを伴い得る。このようにして作製されたＲＮＡは、異なる種類の細胞に効率的にトランスフェクトすることができる。一態様において、鋳型は、ＴＦＰに対する配列を含む。

【０３４４】

一態様において、抗腫瘍関連抗原ＴＦＰは、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）によってコードされる。一態様において、抗腫瘍関連抗原ＴＦＰをコードするｍＲＮＡは、ＴＦＰ－Ｔ細胞の産生のために、Ｔ細胞に導入される。一実施形態において、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写されたＲＮＡ　ＴＦＰは、一過性トランスフェクションの形態で細胞に導入することができる。ＲＮＡは、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）で生成された鋳型を使用するｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写によって生成される。任意起源に由来する目的のＤＮＡを、ＰＣＲにより、適切なプライマー及びＲＮＡポリメラーゼを使用して、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ　ｍＲＮＡ合成用の鋳型に直接変換することができる。ＤＮＡの起源は、例えば、ゲノムＤＮＡ、プラスミドＤＮＡ、ファージＤＮＡ、ｃＤＮＡ、合成ＤＮＡ配列または任意の他の適切なＤＮＡ起源であってよい。ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写に望ましい鋳型は、本発明のＴＦＰである。一実施形態において、ＰＣＲに使用されるＤＮＡは、オープンリーディングフレームを含有する。ＤＮＡは、有機体のゲノムに由来する天然ＤＮＡ配列由来であってよい。一実施形態において、核酸は、５’及び／または３’非翻訳領域（ＵＴＲ）の一部または全部を含み得る。核酸は、エクソン及びイントロンを含み得る。一実施形態において、ＰＣＲに使用されるＤＮＡは、ヒト核酸配列である。別の実施形態において、ＰＣＲに使用されるＤＮＡは、５’及び３’ＵＴＲを含む、ヒト核酸配列である。あるいは、ＤＮＡは、天然に発生する有機体では通常発現されない人工ＤＮＡ配列であり得る。例示的な人工ＤＮＡ配列は、融合タンパク質をコードするオープンリーディングフレームを形成するために一緒に連結される遺伝子の部分を含むものである。一緒に連結されるＤＮＡの部分は、単一の有機体に由来しても、複数の有機体に由来してもよい。

【０３４５】

トランスフェクションに使用されるｍＲＮＡのｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写用の鋳型を、ＰＣＲを使用して生成する。ＰＣＲの実施方法は、当該技術分野においてよく知られている。ＰＣＲに使用されるプライマーは、ＰＣＲ用の鋳型として使用されるＤＮＡの領域に実質的に相補的である領域を有するように設計される。「実質的に相補的」は、本明細書で使

用されるとき、プライマー配列中の大部分もしくは全ての塩基が相補的であるか、または１つ以上の塩基が非相補的もしくは不一致である、ヌクレオチドの配列を指す。実質的に相補的な配列は、ＰＣＲに使用されるアニーリング条件下で、アニーリングまたは目的のＤＮＡ標的とのハイブリット形成が可能である。プライマーは、ＤＮＡ鋳型の任意の部分と実質的に相補的になるように設計され得る。例えば、プライマーは、細胞内で通常転写される核酸の部分（オープンリーディングフレーム）を、５’及び３’ＵＴＲを含めて増幅するように設定することができる。プライマーはまた、目的の特定ドメインをコードする核酸の一部分を増幅するように設計することもできる。一実施形態において、プライマーは、ヒトｃＤＮＡのコーディング領域を、５’及び３’ＵＴＲの全てまたは部分を含めて増幅するように設定される。ＰＣＲに有用なプライマーは、当該技術分野においてよく知られている合成法によって作製することができる。「フォワードプライマー」は、増幅されるＤＮＡ配列の上流にある、ＤＮＡ鋳型上のヌクレオチドに実質的に相補的であるヌクレオチドの領域を含有する、プライマーである。「上流」は、増幅されるＤＮＡ配列に対して、コーディング鎖の５側の位置を指すために本明細書で使用される。「リバースプライマー」は、増幅されるＤＮＡ配列の下流にある、二本鎖ＤＮＡ鋳型に実質的に相補的であるヌクレオチドの領域を含有する、プライマーである。「下流」は、増幅されるＤＮＡ配列に対して、コーディング鎖の３’側の位置を指すために本明細書で使用される。

【０３４６】

ＰＣＲに有用な任意のＤＮＡポリメラーゼを本明細書で開示される方法に使用することができる。試薬及びポリメラーゼは、多数の供給源から市販されている。

【０３４７】

また、安定性及び／または翻訳効率を促進する能力を持つ化学構造を使用することができる。ＲＮＡは、好ましくは、５’及び３’ＵＴＲを有する。一実施形態において、５’ＵＴＲは、１～３，０００ヌクレオチド長である。コーディング領域に付加される５’及び３’ＵＴＲ配列の長さは、限定するものではないが、ＵＴＲの異なる領域にアニーリングするＰＣＲ用プライマーを設計することを含む、種々の方法によって変更することができる。このアプローチを使用して、当業者は、転写されたＲＮＡのトランスフェクション後の最適な翻訳効率を達成するのに必要な５’及び３’ＵＴＲの長さを改変することができる。

【０３４８】

５’及び３’ＵＴＲは、目的の核酸に対して天然に生じる内因性５’及び３’ＵＴＲであり得る。あるいは、目的の核酸にとって内因性でないＵＴＲ配列を、フォワード及びリバースプライマーに組み込むことによって、または鋳型の任意の他の改変によって、付加することができる。目的の核酸にとって内因性でないＵＴＲ配列の使用は、ＲＮＡの安全性及び／または翻訳効率を改変するために有用であり得る。例えば、３’ＵＴＲ配列内のＡＵに富むエレメントは、ｍＲＮＡの安定性を低下させ得ることが知られている。したがって、３’ＵＴＲは、当該技術分野においてよく知られているＵＴＲの特性に基づいて、転写されたＲＮＡの安定性を増大させるように選択または設計され得る。

【０３４９】

一実施形態において、５’ＵＴＲは、内因性核酸のコザック配列を含有し得る。あるいは、目的の核酸にとって内因性でない５’ＵＴＲが上記のようにＰＣＲによって付加される場合、この５’ＵＴＲ配列を付加することによって、コンセンサスコザック配列を再設計することができる。コザック配列は、いくつかのＲＮＡ転写物の翻訳の効率を高めることができるが、効率的な翻訳を可能にするために、全てのＲＮＡに必要とされるわけではない。多くのｍＲＮＡに対するコザック配列の要件は、当該技術分野において知られている。他の実施形態において、５’ＵＴＲは、そのＲＮＡゲノムが細胞内で安定である、ＲＮＡウイルスの５’ＵＴＲであり得る。他の実施形態において、３’または５’ＵＴＲに様々なヌクレオチド類似体を使用して、ｍＲＮＡのエキソヌクレアーゼ分解を妨げることができる。

【０３５０】

遺伝子クローニングを必要としないＤＮＡ鋳型からのＲＮＡ合成を可能にするには、転写プロモーターが、転写される配列の上流のＤＮＡ鋳型に結合する必要がある。ＲＮＡポ

リメラーゼに対するプロモーターとして機能する配列がフォワードプライマーの５’末端に付加される場合、当該ＲＮＡポリメラーゼプロモーターは、ＰＣＲ産物中、転写されるオープンリーディングフレームの上流に組み込まれる。好ましい一実施形態において、プロモーターは、本明細書に別途記載されるようなＴ７ポリメラーゼプロモーターである。他の有用なプロモーターとしては、Ｔ３及びＳＰ６　ＲＮＡポリメラーゼプロモーターが挙げられるが、これらに限定されない。Ｔ７、Ｔ３及びＳＰ６プロモーターのコンセンサスヌクレオチド配列が当該技術分野において知られている。

【０３５１】

好ましい実施形態において、ｍＲＮＡは、５’末端のキャップと、３’ポリ（Ａ）テールの両方を有し、これらは、細胞内でのｍＲＮＡのリボソーム結合、翻訳開始及び安定性を決定する。環状ＤＮＡ鋳型、例えば、プラスミドＤＮＡにおいて、ＲＮＡポリメラーゼは、真核細胞内での発現に好適でない長いコンカテマー産物を生成する。３’ＵＴＲの末端で線状化されたプラスミドＤＮＡの転写は、通常サイズのｍＲＮＡをもたらすが、転写後にポリアデニル化されても、真核生物のトランスフェクションに効果的でない。

【０３５２】

線状ＤＮＡ鋳型において、ファージＴ７　ＲＮＡポリメラーゼは、転写物の３’末端を鋳型の最終残基を超えて伸長することができる（Ｓｃｈｅｎｂｏｒｎ　ａｎｄ　Ｍｉｅｒｅｎｄｏｒｆ，Ｎｕｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．，１３：６２２３－３６（１９８５）；Ｎａｃｈｅｖａ　ａｎｄ　Ｂｅｒｚａｌ－Ｈｅｒｒａｎｚ，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，２７０：１４８５－６５（２００３）。

【０３５３】

ポリＡ／Ｔストレッチを ＤＮＡ鋳型に組み込む従来の方法は、分子クローニングである。しかしながら、プラスミドＤＮＡに組み込まれたポリＡ／Ｔ配列は、プラスミドの不安定性を引き起こすことがあり、このことが、細菌細胞から得たプラスミドＤＮＡ鋳型に欠失及び他の異常が高度に混入していることが多い理由である。これにより、クローニング手順は、面倒で時間がかかるだけでなく、信頼できないことがよくある。そのため、クローニングを行わずにポリＡ／Ｔ３’ストレッチを含むＤＮＡ鋳型を構築できる方法が非常に望ましい。

【０３５４】

転写ＤＮＡ鋳型のポリＡ／Ｔセグメントは、１００Ｔテール（５０～５０００Ｔの大きさであってよい）などのポリＴテールを含有するリバースプライマーを使用することによるＰＣＲ中、またはＤＮＡライゲーションもしくはｉｎ　ｖｉｔｒｏ組み換えを含むがこれらに限定されない任意の他の方法によるＰＣＲ後に、生成され得る。ポリ（Ａ）テールはまた、ＲＮＡに安定性を与え、その分解を減少させる。一般に、ポリ（Ａ）テールの長さは、転写されたＲＮＡの安定性と正の相関がある。一実施形態において、ポリ（Ａ）テールは、１００～５０００アデノシンである。

【０３５５】

ＲＮＡのポリ（Ａ）テールは、Ｅ．ｃｏｌｉポリＡポリメラーゼ（Ｅ－ＰＡＰ）などのポリ（Ａ）ポリメラーゼの使用により、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写後に更に伸長され得る。一実施形態において、ポリ（Ａ）テールの長さを１００ヌクレオチドから３００～４００ヌクレオチドに増やすことは、ＲＮＡの翻訳効率を約２倍にする。更に、３’末端に異なる化学基を結合することは、ｍＲＮＡ安定性を増大させ得る。かかる結合は、修飾／人工ヌクレオチド、アプタマー及び他の化合物を含有し得る。例えば、ポリ（Ａ）ポリメラーゼを使用して、ＡＴＰ類似体をポリ（Ａ）テールに組み込むことができる。ＡＴＰ類似体は、ＲＮＡの安定性を更に増大させ得る。

【０３５６】

５’キャップを付けることもまた、ＲＮＡ分子に安定性をもたらす。好ましい実施形態において、本明細書で開示される方法によって生成されるＲＮＡは、５’キャップを含む。５’キャップは、当該技術分野において知られ、本明細書に記載される技術を使用してもたらされる（Ｃｏｕｇｏｔ，ｅｔ　ａｌ．，Ｔｒｅｎｄｓ　ｉｎ　Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｃｉ．，

２９：４３６－４４４（２００１）；Ｓｔｅｐｉｎｓｋｉ，ｅｔ ａｌ．，ＲＮＡ，７：１４６８－９５（２００１）；Ｅｌａｎｇｏ，ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．，３３０：９５８－９６６（２００５））。

【０３５７】

本明細書で開示される方法によって生成されるＲＮＡはまた、配列内リボソーム進入部位（ＩＲＥＳ）配列を含有し得る。ＩＲＥＳ配列は、任意のウイルス、染色体または人工設計配列であってよく、ｍＲＮＡへのキャップ非依存性リボソーム結合を開始し、翻訳開始を促進する。細胞の透過性及び生存を促進する因子、例えば、糖、ペプチド、脂質、タンパク質、抗酸化剤及び界面活性剤などを含有し得る、細胞エレクトロポレーションに好適な任意の溶質が含まれ得る。

【０３５８】

ＲＮＡは、多数の異なる方法、例えば、エレクトロポレーション（Ａｍａｘａ Ｎｕｃｌｅｏｆｅｃｔｏｒ－ＩＩ（Ａｍａｘａ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ（Ｃｏｌｏｇｎｅ，Ｇｅｒｍａｎｙ））、ＥＣＭ ８３０（ＢＴＸ）（Ｈａｒｖａｒｄ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ（Ｂｏｓｔｏｎ，Ｍａｓｓ．））もしくはＧｅｎｅ Ｐｕｌｓｅｒ ＩＩ（ＢｉｏＲａｄ（Ｄｅｎｖｅｒ，Ｃｏｌｏ．））、Ｍｕｌｔｉｐｏｒａｔｏｒ（Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆ（Ｈａｍｂｕｒｇ Ｇｅｒｍａｎｙ））、リポフェクションを使用したカチオン性リポソーム媒介トランスフェクション、ポリマーカプセル化、ペプチド媒介トランスフェクション、または「遺伝子銃」などのパーティクルガン送達系（例えば、Ｎｉｓｈｉｋａｗａ，ｅｔ ａｌ．Ｈｕｍ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．，１２（８）：８６１－７０（２００１）参照）が挙げられるがこれらに限定されない、商業的に利用可能な方法のいずれかを使用して、標的細胞に組み込むことができる。

【０３５９】

ＴＦＰをコードする核酸構築物

本発明はまた、本明細書に記載される１つ以上のＴＦＰ構築物をコードする核酸分子を提供する。一態様において、核酸分子は、メッセンジャーＲＮＡ転写物として提供される。一態様において、核酸分子は、ＤＮＡ構築物として提供される。発現プラスミド中に、結合因子、リンカー及びＴＦＰをコードする例示的なＤＮＡ配列は、付録Ａに開示される。

【０３６０】

所望の分子をコードする核酸配列は、当該技術分野において知られている組み換え方法を使用して、例えば、当該遺伝子を発現する細胞由来のライブラリーをスクリーニングすること、当該遺伝子を含むことがわかっているベクターからその遺伝子を抽出すること、または当該遺伝子を含有する細胞及び組織から直接単離することなどによって、標準的な技術を使用して、得ることができる。あるいは、目的の遺伝子は、クローニングではなく、合成的に生成することができる。

【０３６１】

本発明はまた、本発明のＤＮＡが挿入されているベクターを提供する。レンチウイルスなどのレトロウイルスに由来するベクターは、導入遺伝子の長期間安定した統合及び娘細胞におけるその伝播が可能であるため、長期間の遺伝子導入を達成するのに好適なツールである。レンチウイルスベクターは、肝細胞などの非増殖性細胞に形質導入することができるという点で、マウス白血病ウイルスなどのオンコレトロウイルスに由来するベクターよりも更なる利点を有する。また、低免疫原性という更なる利点も有する。

【０３６２】

別の実施形態において、本発明の所望のＴＦＰをコードする核酸を含むベクターは、アデノウイルスベクター（Ａ５／３５）である。

【０３６３】

別の実施形態において、ＴＦＰ構築物の１つ以上のドメイン（例えば、細胞外、膜貫通、及び細胞内シグナル伝達ドメイン）は、クラスター化された規則的な間隔のある短い回文の繰り返し配列（ＣＲＩＳＰＲ（登録商標）、例えば、米国特許第８，６９７，３５９号参照）、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥＮ、例えば、米国特許

第９，３９３，２５７号参照）、メガヌクレアーゼ（１２～４０塩基対からなる二本鎖ＤＮＡ配列を含む大きな認識部位を有する天然エンドデオキシリボヌクレアーゼ）、またはジンクフィンガーヌクレアーゼ（ＺＦＮ、例えば、Ｕｒｎｏｖ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｇｅｎｅｔｉｃｓ（２０１０）ｖ１１，６３６－６４６）法などの遺伝子編集技術を使用して操作される。このように、キメラ構築物は、立体構造またはシグナル伝達能力などの各サブユニットの所望の特徴を組み合わせるように操作することができる。Ｓａｎｄｅｒ ＆ Ｊｏｕｎｇ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．（２０１４）ｖ３２，３４７－５５；及びＪｕｎｅ ｅｔ ａｌ．，２００９ Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖｉｅｗｓ Ｉｍｍｕｎｏｌ．９．１０：７０４－７１６も参照されたい。この各々は、参照により本明細書に援用される。いくつかの実施形態において、ＴＦＰサブユニットの細胞外ドメイン、膜貫通ドメインまたは細胞質ドメインのうちの１つ以上は、２つ以上の天然ＴＣＲサブユニットドメインの態様を有するように操作される（すなわち、キメラである）。

【０３６４】

本発明の発現構築物はまた、標準的な遺伝子送達プロトコルを使用して、核酸免疫付与及び遺伝子療法に使用され得る。遺伝子送達法は、当該技術分野において知られている（例えば、米国特許第５，３９９，３４６号、同第５，５８０，８５９号、同第５，５８９，４６６号参照。その全体が参照により本明細書に援用される）。別の実施形態において、本発明は、遺伝子治療用ベクターを提供する。

【０３６５】

核酸は、多数の種類のベクターにクローニングすることができる。例えば、核酸は、プラスミド、ファージミド、ファージ誘導体、動物ウイルス及びコスミドが挙げられるがこれらに限定されないベクターにクローニングすることができる。特に利点のあるベクターとしては、発現ベクター、複製ベクター、プローブ生成ベクター及びシークエンシングベクターが挙げられる。

【０３６６】

更に、発現ベクターは、ウイルスベクターの形態で細胞に提供されてもよい。ウイルスベクター技術は、当該技術分野においてよく知られており、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，２０１２，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，ｖｏｌｕｍｅｓ １－４，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ）ならびに他のウイルス学及び分子生物学マニュアルに記載されている。ベクターとして有用であるウイルスとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス及びレンチウイルスが挙げられるが、これらに限定されない。一般に、好適なベクターは、少なくとも１つの有機体で機能する複製起点、プロモーター配列、簡便な制限エンドヌクレアーゼ部位、及び１つ以上の選択マーカーを含有する（例えば、ＷＯ０１／９６５８４；ＷＯ０１／２９０５８；及び米国特許第６，３２６，１９３号）。

【０３６７】

多数のウイルスベースの系が哺乳動物細胞への遺伝子導入のために開発されている。例えば、レトロウイルスは、遺伝子送達系の便利なプラットフォームを提供する。当該技術分野において知られている技術を使用して、選択された遺伝子をベクターに挿入し、レトロウイルス粒子にパッケージすることができる。次いで、組み換えウイルスを単離し、対象の細胞にｉｎ ｖｉｖｏまたはｅｘ ｖｉｖｏのいずれかで送達することができる。多数のレトロウイルス系が当該技術分野において知られている。いくつかの実施形態において、アデノウイルスベクターが使用される。多数のアデノウイルスベクターが当該技術分野において知られている。一実施形態において、レンチウイルスベクターが使用される。

【０３６８】

更なるプロモーター要素、例えば、エンハンサーは、転写開始の頻度を調節する。典型的に、これらの要素は、開始部位から３０～１１０ｂｐ上流の領域に位置しているが、プロモーターの多くが開始部位の下流にも機能的要素を含むことが示されている。プロモーター要素間の間隔は、多くの場合、柔軟性があり、要素が互いに逆転または移動しても、

プロモーター機能は保持される。チミジンキナーゼ（ｔｋ）プロモーターにおいて、プロモーター要素間の間隔は、５０ｂｐまで離れるように増やすことができるが、それ以降は活性が低下し始める。個々の要素は、プロモーターに応じて、協調的または独立的に機能して転写を活性化し得ると思われる。

【０３６９】

哺乳動物のＴ細胞においてＴＦＰ導入遺伝子を発現することができるプロモーターの一例は、ＥＦ１ａプロモーターである。天然ＥＦ１ａプロモーターは、アミノアシルｔＲＮＡのリボソームへの酵素的送達に関与する伸長因子１複合体のアルファサブユニットの発現を誘導する。ＥＦ１ａプロモーターは、哺乳動物の発現プラスミドに広く使用されており、レンチウイルスベクターにクローニングされた導入遺伝子からのＴＦＰ発現を誘導するのに有効的であることが示されている（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）参照）。プロモーターの別の例は、前初期サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）プロモーター配列である。このプロモーター配列は、当該配列に作動可能に連結された任意のポリヌクレオチド配列の発現を高レベルで誘導することができる強力な構成的プロモーター配列である。しかしながら、他の構成的プロモーター配列、例えば、限定するものではないが、シミアンウイルス４０（ＳＶ４０）初期プロモーター、マウス乳癌ウイルス（ＭＭＴＶ）、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）の長い末端反復（ＬＴＲ）プロモーター、ＭｏＭｕＬＶプロモーター、トリ白血病ウイルスプロモーター、Ｅｐｓｔｅｉｎ－Ｂａｒｒウイルス前初期プロモーター、ラウス肉腫ウイルスプロモーター、ならびにヒト遺伝子プロモーター、例えば、限定するものではないが、アクチンプロモーター、ミオシンプロモーター、伸長因子１ａプロモーター、ヘモグロビンプロモーター及びクレアチンキナーゼプロモーターもまた使用することができる。更に、本発明は、構成的プロモーターの使用に限定されるものではない。誘導性プロモーターもまた、本発明の一部として企図される。誘導性プロモーターの使用は、作動可能に連結されたポリヌクレオチド配列の発現を、その発現が望まれる場合にはオンにし、または発現が望まれない場合にはその発現をオフにすることができる、分子スイッチを提供する。誘導性プロモーターの例としては、メタロチオネインプロモーター、グルココルチコイドプロモーター、プロゲステロンプロモーター及びテトラサイクリン調節プロモーターが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３７０】

ＴＦＰポリペプチドまたはその部分の発現を評価するために、細胞に導入される発現ベクターはまた、選択マーカー遺伝子もしくはレポーター遺伝子のいずれかまたはその両方を含有し得、これにより、ウイルスベクターを介してトランスフェクトまたは感染させようとする細胞の集団から発現細胞を特定及び選択することが容易になる。他の態様において、選択マーカーは、ＤＮＡの別々の小片上に担持させて、同時トランスフェクション手順に使用してもよい。選択マーカーとレポーター遺伝子の両方は、宿主細胞中での発現を可能にするように適切な調節配列に隣接し得る。有用な選択マーカーとしては、例えば、ｎｅｏなどの抗生物質耐性遺伝子が挙げられる。

【０３７１】

レポーター遺伝子は、トランスフェクトされたと思われる細胞の特定、及び調節配列の機能を評価するために使用される。一般に、レポーター遺伝子は、レシピエントの有機体または組織中に存在しないか、または発現されていない遺伝子であり、その発現がある程度簡単に検出できる特性、例えば、酵素活性によって顕在化されるポリペプチドをコードする遺伝子である。レポーター遺伝子の発現は、そのＤＮＡがレシピエント細胞に導入された後の適切な時点でアッセイされる。好適なレポーター遺伝子としては、ルシフェラーゼ、ベーターガラクトシダーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ、分泌型アルカリホスファターゼをコードする遺伝子、または緑色蛍光タンパク質遺伝子を挙げることができる（例えば、Ｕｉ－Ｔｅｉ　ｅｔ　ａｌ．，２０００　ＦＥＢＳ　Ｌｅｔｔｅｒｓ　４７９：７９－８２）。好適な発現系はよく知られており、既知の技術を使用して調製してもよいし、商業的に入手してもよい。一般に、最も高いレポーター遺伝子発現

レベルを示す最小５’フランキング領域を含む構築物がプロモーターとして特定される。かかるプロモーター領域をレポーター遺伝子に連結し、これを使用して、プロモーターによる転写調節能力について、作用物質を評価することができる。

【０３７２】

遺伝子を細胞に導入して発現させる方法は、当該技術分野において知られている。発現ベクターとの関係において、当該ベクターは、当該技術分野における任意の方法によって、宿主細胞、たとえば、哺乳動物、細菌、酵母または昆虫の細胞に容易に導入することができる。例えば、発現ベクターは、物理的、化学的または生物学的手段によって、宿主細胞に移入することができる。

【０３７３】

宿主細胞へポリヌクレオチドを導入するための物理的方法には、リン酸カルシウム沈殿法、リポフェクション、微粒子銃法、マイクロインジェクション、エレクトロポレーションなどが含まれる。ベクター及び／または外因性核酸を含む細胞を作製するための方法は、当該技術分野においてよく知られている（例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，２０１２，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，ｖｏｌｕｍｅｓ　１－４，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ参照）。宿主細胞へポリヌクレオチドを導入するための１つの方法は、リン酸カルシウムトランスフェクションである。

【０３７４】

目的のポリヌクレオチドを宿主細胞に導入するための生物学的方法には、ＤＮＡベクター及びＲＮＡベクターの使用が含まれる。ウイルスベクター、特にレトロウイルスベクターは、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞に遺伝子を挿入するために最も広く使用される方法となっている。他のウイルスベクターは、レンチウイルス、ポックスウイルス、単純ヘルペスウイルスＩ型、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルスなどから誘導され得る（例えば、米国特許第５，３５０，６７４号及び同第５，５８５，３６２号参照）。

【０３７５】

宿主細胞へポリヌクレオチドを導入するための化学的手段には、高分子複合体、ナノカプセル、ミクロスフェア、ビーズなどのコロイド分散系、ならびに水中油型エマルション、ミセル、混合ミセル及びリポソームを含む脂質系が含まれる。ｉｎ　ｖｉｔｒｏ及びｉｎ　ｖｉｖｏでの送達担体として使用するための例示的なコロイド系は、リポソーム（例えば、人工膜小胞）である。他の最先端の核酸の標的送達法、例えば、標的化ナノ粒子または他の好適なサブミクロンサイズの送達系によるポリヌクレオチドの送達も利用可能である。

【０３７６】

非ウイルス送達系が利用される場合、例示的な送達担体は、リポソームである。脂質配合物の使用は、宿主細胞へ核酸を導入するために企図される（ｉｎ　ｖｉｔｒｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏまたはｉｎ　ｖｉｖｏ）。別の態様において、核酸は、脂質と会合され得る。脂質と会合した核酸は、リポソームの水性内部に封入され、リポソームの脂質二重層内に挿入され、リポソームとオリゴヌクレオチドの両方に会合する連結分子を介してリポソームに付着し、リポソーム内に捕捉され、リポソームと複合体を形成し、脂質を含有する溶液中に分散され、脂質と混合され、脂質と配合され、脂質中の懸濁液として含有され、ミセルとともに含有もしくは複合体を形成し、または脂質と別様に会合され得る。脂質、脂質／ＤＮＡまたは脂質／発現ベクター会合組成物は、溶液中において、いかなる特定の構造にも限定されない。例えば、二層構造、ミセル、または「崩壊した」構造で存在し得る。また、溶液中に単に散在していてもよく、サイズも形状も均一でない凝集体を場合によって形成する。脂質とは、天然脂質でも合成脂質でもよい脂肪性物質のことである。例えば、脂質には、細胞質内で天然に生じる脂肪滴、ならびに脂肪酸、アルコール、アミン、アミノアルコール及びアルデヒドなどの長鎖脂肪族炭化水素及びそれらの誘導体を含有する化合物のクラスが挙げられる。

【０３７７】

使用に適した脂質は、民間の供給元から得ることができる。例えば、ジミリスチルホス

ファチジルコリン（「ＤＭＰＣ」）は、Ｓｉｇｍａ（Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，Ｍｏ）から入手でき、リン酸ジセチル（「ＤＣＰ」）は、Ｋ　＆　Ｋ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ｐｌａｉｎｖｉｅｗ，Ｎ．Ｙ．）から入手でき、コレステロール（「Ｃｈｏｉ」）は、Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ－Ｂｅｈｒｉｎｇから入手でき、ジミリスチルホスファチジルグリセロールは（「ＤＭＰＧ」）及び他の脂質は、Ａｖａｎｔｉ　Ｐｏｌａｒ　Ｌｉｐｉｄｓ，Ｉｎｃ，（Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ，Ａｌａ．）から入手できる。クロロホルムまたはクロロホルム／メタノール中の脂質ストック溶液は、約－２０℃で保存することができる。クロロホルムは、メタノールよりも容易に蒸発するので、唯一の溶媒として使用される。「リポソーム」は、封入された脂質二重層または凝集体の生成によって形成される、様々な単層及び多重層の脂質担体を包含する総称である。リポソームは、リン脂質二重層膜と内側の水性媒体とを備えた小胞構造を有することを特徴とし得る。多重層リポソームは、水性媒体によって分離された複数の脂質層を有する。これは、リン脂質を過剰の水溶液中に懸濁させると、自然に形成される。脂質成分は、自己再編成を経た後、閉鎖構造を形成し、脂質二重層間に水及び溶解した溶質を捕捉する（Ｇｈｏｓｈ　ｅｔ　ａｌ．，１９９１　Ｇｌｙｃｏｂｉｏｌｏｇｙ　５：５０５－１０）。しかしながら、溶液中で通常の小胞構造とは異なる構造を取る組成物も企図される。例えば、脂質は、ミセル構造を取ってもよいし、脂質分子の不均一な凝集体として単に存在してもよい。リポフェクタミン－核酸複合体もまた企図される。

【０３７８】

宿主細胞における組み換えＤＮＡ配列の存在を確認するためには、宿主細胞へ外因性核酸を導入するために使用される方法、または他の場合には細胞を本発明の阻害剤に曝露するために使用される方法にかかわらず、様々なアッセイを実施することができる。かかるアッセイには、例えば、当業者によく知られた、サザン及びノーザンブロッティング、ＲＴ－ＰＣＲ及びＰＣＲなどの「分子生物学的」アッセイ；特定のペプチドの有無を検出することなどによる「生化学的」アッセイ、例えば、免疫学的手段（ＥＬＩＳＡ及びウェスタンブロット）または本発明の範囲に含まれる作用物質を特定するための本明細書に記載されるアッセイによるものが含まれる。

【０３７９】

本発明は、ＴＦＰをコードする核酸分子を含むベクターを更に提供する。一態様において、ＴＦＰベクターは、細胞、例えば、Ｔ細胞に直接形質導入することができる。一態様において、ベクターは、クローニングベクターまたは発現ベクター、例えば、１つ以上のプラスミド（例えば、発現プラスミド、クローニングベクター、ミニサークル、ミニベクター、二重微小染色体）、レトロウイルス及びレンチウイルスベクター構築物が挙げられるがこれらに限定されないベクターである。一態様において、ベクターは、哺乳動物のＴ細胞においてＴＦＰ構築物を発現することができる。一態様において、哺乳動物のＴ細胞は、ヒトＴ細胞である。

【０３８０】

Ｔ細胞源

増殖及び遺伝子改変に先立って、Ｔ細胞源を対象から得る。「対象」という用語は、免疫応答が誘起され得る生体（例えば、哺乳動物）を含むことが意図される。対象の例としては、ヒト、イヌ、ネコ、マウス、ラット及びそれらのトランスジェニック種が挙げられる。Ｔ細胞は、末梢血単核細胞、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位由来の組織、腹水、胸水、脾臓組織及び腫瘍を含む、多数の起源から得ることができる。本発明の特定の態様において、当該技術分野において入手可能な様々なＴ細胞株が使用され得る。本発明の特定の態様において、Ｔ細胞は、Ｆｉｃｏｌｌ（登録商標）分離などの当業者に知られている様々な技術を使用して、対象から採取した血液単位から得ることができる。好ましい一態様において、個体の循環血液に由来する細胞がアフェレーシスによって取得される。アフェレーシス産物は、典型的に、Ｔ細胞を含むリンパ球、単球、顆粒球、Ｂ細胞、他の有核白血球、赤血球及び血小板を含有する。一態様において、アフェレーシスによって採取された細胞は、血漿分画を除去し、後続の処理工程に適切な緩衝液または

媒体中に細胞を入れるために、洗浄され得る。本発明の一態様において、細胞は、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で洗浄される。代替的な態様において、洗浄液は、カルシウムを欠いており、かつマグネシウムを欠いてもよく、または全てではないにしても多くの二価カチオンを含み得ない。カルシウム不存在下での最初の活性化工程は、活性化の拡大につながり得る。当業者であれば容易に理解されるように、洗浄工程は、当業者に知られている方法、例えば、半自動化「フロースルー」遠心分離器（例えば、ＣＯＢＥ（登録商標）２９９１細胞処理装置、Ｂａｘｔｅｒ　ＣｙｔｏＭａｔｅ（登録商標）、またはＨａｅｍｏｎｅｔｉｃｓ（登録商標）Ｃｅｌｌ　Ｓａｖｅｒ（登録商標）５）を製造元の説明書に従って使用することによって、達成することができる。洗浄後、細胞は、様々な生体適合性緩衝液、例えば、Ｃａ不含Ｍｇ不含ＰＢＳであるＰｌａｓｍａＬｙｔｅ（登録商標）Ａなど、または緩衝剤含有もしくは不含の他の食塩水中に再懸濁され得る。あるいは、アフェレーシス試料の望ましくない成分を除去し、細胞を培地に直接再懸濁してもよい。

【０３８１】

一態様において、Ｔ細胞は、赤血球を溶解し、単球を除去することによって、例えば、Ｐｅｒｃｏｌｌ（商標）密度勾配による遠心分離または対向流遠心溶出によって、末梢血リンパ球から単離される。Ｔ細胞の特定のサブ集団、例えば、ＣＤ３$^+$、ＣＤ２８$^+$、ＣＤ４$^+$、ＣＤ８$^+$、ＣＤ４５ＲＡ$^+$及びＣＤ４５ＲＯ$^+$Ｔ細胞などを、ポジティブまたはネガティブ選択技術によって、更に単離することができる。例えば、一態様において、Ｔ細胞は、所望のＴ細胞のポジティブ選択に十分な時間、Ｄｙｎａｂｅａｄｓ（登録商標）Ｍ－４５０　ＣＤ３／ＣＤ２８　Ｔなどの抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８（例えば、３×２８）結合ビーズとのインキュベーションによって単離される。一態様において、当該時間は、約３０分である。更なる態様において、時間は、３０分～３６時間の範囲またはそれより長い時間及びその間の全ての整数値である。更なる態様において、時間は、少なくとも１、２、３、４、５または６時間である。好ましい更に別の一態様において、時間は、１０～２４時間である。一態様において、インキュベーション時間は、２４時間である。腫瘍組織または免疫不全の個体から腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）を単離する場合などの、他の細胞型と比較してＴ細胞がわずかである任意の状況では、より長いインキュベーション時間を用いてＴ細胞を単離してもよい。更に、より長いインキュベーション時間を用いることで、ＣＤ８$^+$Ｔ細胞の捕捉効率を高めることができる。したがって、Ｔ細胞をＣＤ３／ＣＤ２８ビーズに結合させる時間を単に短縮または延長することによって、及び／またはビーズとＴ細胞の比率を増加もしくは減少させることによって（本明細書において更に記載されるように）、培養開始時または工程中の他の時点で、Ｔ細胞のサブ集団を優先的に選択または反選択することができる。更に、ビーズまたは他の表面上の抗ＣＤ３及び／または抗ＣＤ２８抗体の比率を増加または減少させることによって、培養開始時または他の所望の時点で、Ｔ細胞のサブ集団を優先的に選択または反選択することができる。当業者であれば、本発明との関係において、複数ラウンドの選択も使用され得ることを認識するであろう。特定の態様において、選択手順を実施し、「選択されていない」細胞を活性化及び増殖工程に使用することが望ましい場合がある。「選択されていない」細胞はまた、更なるラウンドの選択にかけることもできる。

【０３８２】

ネガティブ選択によるＴ細胞集団の濃縮は、ネガティブ選択された細胞に特有の表面マーカーに対する抗体の組み合わせで達成することができる。１つの方法は、ネガティブ選択された細胞に存在する細胞表面マーカーに対するモノクローナル抗体のカクテルを使用するネガティブ磁気免疫付着またはフローサイトメトリーを介したセルソーティング及び／または細胞選択である。例えば、ネガティブ選択によってＣＤ４$^+$細胞を濃縮する場合、モノクローナル抗体カクテルは、典型的に、ＣＤ１４、ＣＤ２０、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ１６、ＨＬＡ－ＤＲ及びＣＤ８に対する抗体を含む。特定の態様において、典型的に、ＣＤ４$^+$、ＣＤ２５＋、ＣＤ６２Ｌｈｉ、ＧＩＴＲ$^+$及びＦｏｘＰ３$^+$を発現する制御性Ｔ細胞を濃縮またはポジティブ選択することが望ましい場合がある。あるいは、特定の態様において、制御性Ｔ細胞は、抗Ｃ２５結合ビーズまたは他の類似の選択方法によって除去され

る。
【０３８３】
一実施形態において、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－アルファ、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、グランザイムＢ及びパーフォリン、または他の適切な分子、例えば、他のサイトカインのうちの１つ以上を発現するＴ細胞集団が選択され得る。細胞発現をスクリーニングする方法は、例えば、ＰＣＴ国際公開第ＷＯ２０１３／１２６７１２号に記載されている方法によって決定することができる。
【０３８４】
ポジティブまたはネガティブ選択によって所望の細胞集団を単離するために、細胞濃度及び表面（例えば、ビーズなどの粒子）を変えることができる。特定の態様において、細胞とビーズの最大の接触を確実にするために、ビーズと細胞の混合体積を大幅に減少させる（例えば、細胞の濃度を上げる）ことが望ましい場合がある。例えば、一態様において、２０億細胞／ｍＬの濃度が使用される。一態様において、１０億細胞／ｍＬの濃度が使用される。更なる態様において、１億細胞／ｍＬ超が使用される。更なる態様において、１０００万、１５００万、２０００万、２５００万、３０００万、３５００万、４０００万、４５００万、または５０００万細胞／ｍＬの細胞濃度が使用される。更なる一態様において、７５００万、８０００万、８５００万、９０００万、９５００万、または１億細胞／ｍＬからの細胞濃度が使用される。更なる態様において、１億２５００万または１億５０００万細胞／ｍＬの濃度が使用され得る。高濃度の使用は、細胞収率、細胞活性化及び細胞増殖の増加をもたらし得る。更に、高い細胞濃度を使用すると、ＣＤ２８ネガティブＴ細胞などの、目的の標的抗原の発現が弱い細胞を効率的に捕捉することができ、または多数の腫瘍細胞が存在する試料（例えば、白血球血液、腫瘍組織など）から細胞を効率的に捕捉することができる。かかる細胞集団は、治療上の価値を有し得、これを得ることが望ましいであろう。例えば、高い細胞濃度を使用すると、通常、ＣＤ２８の発現が弱いＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の効率的な選択が可能となる。
【０３８５】
関連する態様において、より低い細胞濃度を使用することが望ましい場合がある。Ｔ細胞と表面（例えば、ビーズなどの粒子）の混合物を大幅に希釈することによって、粒子と細胞との間の相互作用が最小に抑えられる。これは、粒子に結合する所望の抗原を豊富に発現する細胞を選択する。例えば、ＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞は、ＣＤ２８を高レベルで発現し、希釈濃度でＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞よりも効率的に捕捉される。一態様において、使用される細胞の濃度は、５×１０^{6}／ｍＬである。他の態様において、使用される濃度は、約１×１０^{5}／ｍＬ～１×１０^{6}／ｍＬ及びその間の任意の整数値であり得る。他の態様において、細胞は、回転装置上で、様々な長さの時間、２～１０℃または室温のいずれかで、様々な速度でインキュベートされ得る。
【０３８６】
刺激のためのＴ細胞は、洗浄工程後に凍結することもできる。理論に束縛されることを望むものではないが、凍結及び後続の融解工程は、細胞集団中の顆粒球及びある程度の単球を除去することによって、より均一な産物をもたらす。血漿及び血小板を除去する洗浄工程の後、細胞を凍結溶液中に懸濁することができる。多くの凍結溶液及びパラメータが当該技術分野において知られており、本文脈で有用であるが、１つの方法は、２０％ＤＭＳＯ及び８％ヒト血清アルブミンを含有するＰＢＳ、または１０％デキストラン４０及び５％ブドウ糖、２０％ヒト血清アルブミン及び７．５％ＤＭＳＯ、もしくは３１．２５％Ｐｌａｓｍａｌｙｔｅ－Ａ、３１．２５％ブドウ糖５％、０．４５％ＮａＣｌ、１０％デキストラン４０及び５％ブドウ糖、２０％ヒト血清アルブミンならびに７．５％ＤＭＳＯを含有する培地、または他の好適な細胞凍結培地、例えば、Ｈｅｓｐａｎ（登録商標）及びＰｌａｓｍａＬｙｔｅ（登録商標）Ａを含有するものを使用することを含み、次いで、細胞を－８０℃まで１／分の速度で凍結し、液体窒素貯蔵タンクの気相で保存する。－２０℃または液体窒素中での制御されていない即時凍結と同様に、他の制御凍結法も使用され得る。特定の態様において、凍結保存細胞は、本明細書に記載されるように融解及び洗

浄され、室温で１時間静置され、その後、本発明の方法を使用して活性化される。
【０３８７】
また、本発明との関係において企図されるのは、本明細書に記載される増殖した細胞が必要とされ得る時よりも前の時点における対象からの血液試料またはアフェレーシス産物の採取である。したがって、増殖される細胞源は、任意の必要な時点で採取することができ、Ｔ細胞などの所望の細胞が、本明細書に記載されるものなどのＴ細胞療法から恩恵を受け得る様々な疾患または状態に対するＴ細胞療法での後の使用のために、単離及び凍結され得る。一態様において、血液試料またはアフェレーシスは、全般的に健康な対象から採取される。特定の態様において、血液試料またはアフェレーシスは、疾患を発症するリスクがあるが、疾患をまだ発症していない全般的に健康な対象から採取され、目的の細胞が、後の使用のために単離及び凍結される。特定の態様において、Ｔ細胞は、増殖され、凍結され、その後、使用され得る。特定の態様において、試料は、本明細書に記載される特定の疾患の診断の直後に、任意の治療に先立って、患者から採取される。更なる態様において、細胞は、作用物質、例えば、ナタリズマブ、エファリズマブ、抗ウイルス剤、化学療法、放射線、免疫抑制剤、例えば、シクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキサート、ミコフェノール酸エステル及びタクロリムス（ＦＫ５０６）、抗体または他の免疫消失薬、例えば、アレムツズマブ、抗ＣＤ３抗体、シクロホスファミド、フルダラビン、シクロスポリン、ラパマイシン、ミコフェノール酸、ステロイド、ロミデプシン（旧ＦＲ９０１２２８）、ならびに放射線照射による治療が挙げられるがこれらに限定されない様々な関連療法に先立って対象から得た血液試料またはアフェレーシスから単離される。
【０３８８】
本発明の更なる態様において、Ｔ細胞は、対象に機能性Ｔ細胞を戻す治療の後に、患者から直接得られる。これについて、ある特定のがん治療、特に、免疫系に損傷を与える薬物による治療後であり、患者が当該治療から通常回復する期間中の治療の直後に得られるＴ細胞は、ｅｘ　ｖｉｖｏでの増殖能力に関する質が最適であり、または改善され得ることが観察された。同様に、本明細書に記載される方法を使用したｅｘ　ｖｉｖｏ操作の後、これらの細胞は、生着及びｉｎ　ｖｉｖｏ増殖の向上に好ましい状態にあり得る。したがって、この回復期中に、Ｔ細胞、樹状細胞または他の造血系細胞を含む血液細胞を採取することは、本発明の範囲内であることが意図される。更に、特定の態様において、動員（例えば、ＧＭ－ＣＳＦによる動員）及び移植前処置を使用して、対象において、特に、治療法後の所定の時間幅中、特定の細胞型の再増殖、再循環、再生及び／または増殖が促進される状態を作り上げることができる。例示的な細胞型としては、Ｔ細胞、Ｂ細胞、樹状細胞及び免疫系の他の細胞が挙げられる。
【０３８９】
Ｔ細胞の活性化及び増殖
Ｔ細胞は、例えば、米国特許第６，３５２，６９４号、同第６，５３４，０５５号、同第６，９０５，６８０号、同第６，６９２，９６４号、同第５，８５８，３５８号、同第６，８８７，４６６号、同第６，９０５，６８１号、同第７，１４４，５７５号、同第７，０６７，３１８号、同第７，１７２，８６９号、同第７，２３２，５６６号、同第７，１７５，８４３号、同第５，８８３，２２３号、同第６，９０５，８７４号、同第６，７９７，５１４号、同第６，８６７，０４１号及び同第７，５７２，６３１号に記載されるような方法を概ね使用して、活性化及び増殖させることができる。
【０３９０】
一般に、本発明のＴ細胞は、ＣＤ３／ＴＣＲ複合体に関連するシグナルを刺激する作用物質が結合した表面と、Ｔ細胞の表面上の共刺激分子を刺激するリガンドとの接触により増殖し得る。特に、Ｔ細胞集団は、本明細書に記載されるように、例えば、抗ＣＤ３抗体もしくはその抗原結合断片、もしくは表面上に固定化された抗ＣＤ２抗体との接触によって、またはカルシウムイオノフォアと組み合わせたプロテインキナーゼＣ活性化剤（例えば、ブリオスタチン）との接触によって、刺激することができる。Ｔ細胞表面上のアクセサリー分子の共刺激については、アクセサリー分子に結合するリガンドが使用される。例

えば、Ｔ細胞集団は、Ｔ細胞の増殖を刺激するために適切な条件下で、抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体と接触され得る。ＣＤ４＋Ｔ細胞またはＣＤ８＋Ｔ細胞のいずれかの増殖を刺激するためには、抗ＣＤ３抗体及び抗ＣＤ２８抗体である。抗ＣＤ２８抗体の例としては、９．３、Ｂ－Ｔ３、ＸＲ－ＣＤ２８（Ｄｉａｃｌｏｎｅ（Ｂｅｓａｎｃｏｎ，Ｆｒａｎｃｅ））が挙げられ、当該技術分野において一般的に知られている他の方法を使用してもよい（Ｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔ Ｐｒｏｃ．３０（８）：３９７５－３９７７，１９９８；Ｈａａｎｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１９０（９）：１３１９１３２８，１９９９；Ｇａｒｌａｎｄ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈ．２２７（１－２）：５３－６３，１９９９）。

【０３９１】

さらされた刺激時間が異なるＴ細胞は、異なる特徴を呈し得る。例えば、典型的な血液またはアフェレーシスで得られた末梢血の単核細胞産物は、細胞傷害性または抑制性Ｔ細胞集団（ＴＣ、ＣＤ８＋）よりも多く、ヘルパーＴ細胞集団（ＴＨ、ＣＤ４＋）を有する。ＣＤ３及びＣＤ２８受容体を刺激することによるＴ細胞のＥｘ ｖｉｖｏ増殖は、約８～９日目以前には、主にＴＨ細胞からなるＴ細胞集団をもたらすが、約８～９日目以降には、Ｔ細胞集団は、次第に増加するＴＣ細胞集団を含む。したがって、治療目的に応じて、主にＴＨ細胞を含むＴ細胞集団を対象に注入することが有利な場合がある。同様に、ＴＣ細胞の抗原特異的サブセットが単離された場合、このサブセットを更に多く増殖させることが有益であり得る。

【０３９２】

更に、ＣＤ４及びＣＤ８マーカーに加えて、細胞増殖工程中、他の表現型マーカーは、大幅に変化するが、大部分は再現性がよい。したがって、かかる再現性により、活性化したＴ細胞産物を特定の目的のために調整することが可能になる。

【０３９３】

抗腫瘍関連抗原ＴＦＰが構築されたら、様々なアッセイを使用して、当該分子の活性、例えば、限定するものではないが、抗原刺激後にＴ細胞を増殖させる能力、再刺激がない状態でＴ細胞の増殖を維持する能力、ならびに適切なｉｎ ｖｉｔｒｏ及び動物モデルにおける抗がん活性を評価することができる。抗腫瘍関連抗原ＴＦＰの作用を評価するアッセイは、以下に更に詳述される。

【０３９４】

一次Ｔ細胞におけるＴＦＰ発現のウェスタンブロット解析を使用して、単量体及び二量体の存在を検出することができる（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔｈｅｒａｐｙ １７（８）：１４５３－１４６４（２００９）参照）。極めて簡潔に述べれば、ＴＦＰを発現するＴ細胞（ＣＤ４＋とＣＤ８＋Ｔ細胞の１：１混合物）を、１０日を超えてｉｎ ｖｉｔｒｏで増殖させ、溶解し、還元条件下でＳＤＳ－ＰＡＧＥを行う。ＴＦＰは、ＴＣＲ鎖に対する抗体を使用してウェスタンブロットによって検出される。同じＴ細胞サブセットを非還元条件下でのＳＤＳ－ＰＡＧＥ解析に使用すると、共有結合した二量体形態の評価が可能となる。

【０３９５】

抗原刺激後のＴＦＰ＋Ｔ細胞のｉｎ ｖｉｔｒｏ増殖は、フローサイトメトリーによって測定することができる。例えば、ＣＤ４＋とＣＤ８＋Ｔ細胞の混合物をアルファＣＤ３／アルファＣＤ２８及びＡＰＣにより刺激し、続いて、プロモーターの制御下でＧＦＰを発現するレンチウイルスベクターを形質導入し、分析する。例示的なプロモーターとしては、ＣＭＶ ＩＥ遺伝子、ＥＦ－１アルファ、ユビキチンＣまたはホスホグリセロキナーゼ（ＰＧＫ）プロモーターが挙げられる。ＧＦＰ蛍光は、ＣＤ４＋及び／またはＣＤ８＋Ｔ細胞サブセットの培養６日目に、フローサイトメトリーによって評価される（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔｈｅｒａｐｙ １７（８）：１４５３－１４６４（２００９）参照）。あるいは、０日目に、ＣＤ４＋とＣＤ８＋Ｔ細胞の混合物をアルファＣＤ３／アルファＣＤ２８被覆磁気ビーズにより刺激し、１日目に、ＴＦＰを発現するバイシストロニックレンチウイルスベクターを、２Ａリボソームスキッピン

グ配列を使用したｅＧＦＰとともに使用して、ＴＦＰを形質導入する。

【０３９６】

再刺激がない状態で持続するＴＦＰ＋Ｔ細胞の増殖もまた測定することができる（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）参照）。簡潔に述べれば、０日目に、アルファＣＤ３／アルファＣＤ２８被覆磁気ビーズにより刺激し、１日目に、指定のＴＦＰを形質導入し、その後、培養の８日目に、Ｃｏｕｌｔｅｒ　Ｍｕｌｔｉｓｉｚｅｒ　ＩＩＩ粒子計測器を使用して、平均Ｔ細胞体積（ｆｌ）を測定する。

【０３９７】

また、動物モデルを使用してＴＦＰ－Ｔ活性を測定することもできる。例えば、免疫不全マウスのがんを処置するために、ヒトＢＣＭＡ特異的ＴＦＰ＋Ｔ細胞を使用する異種移植モデルである（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）参照）。極めて簡潔に述べれば、がんの確立後、マウスを処置群に無作為化する。異なる数の改変Ｔ細胞を１：１の比でがん担持ＮＯＤ／ＳＣＩＤ／γ－／－マウスに同時注入する。マウス由来の脾臓ＤＮＡ中の各ベクターのコピー数をＴ細胞の注入後の様々な時点で評価する。動物のがんを週間隔で評価する。末梢血腫瘍関連抗原＋がん細胞数を、アルファ腫瘍関連抗原－ゼータＴＦＰ＋Ｔ細胞またはモック形質導入Ｔ細胞を注入したマウスで測定する。これらの群の生存曲線を、ログランク検定を使用して比較する。加えて、Ｔ細胞を注入して４週間後のＮＯＤ／ＳＣＩＤ／γ－／－マウスの末梢血ＣＤ４＋及びＣＤ８＋Ｔ細胞の絶対数も解析することができる。マウスにがん細胞を注入し、３週間後、ｅＧＦＰに連結されたＴＦＰをコードするバイシストロニックレンチウイルスベクターによってＴＦＰを発現するように改変されたＴ細胞を注入する。Ｔ細胞は、注入前にモック形質導入細胞と混合することによって、４５～５０％入力ＧＦＰ＋Ｔ細胞に正規化して、フローサイトメトリーによって確認する。動物のがんを１週間間隔で評価する。ＴＦＰ＋Ｔ細胞群の生存曲線を、ログランク検定を使用して比較する。

【０３９８】

用量依存的なＴＦＰ処置応答を評価することができる（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）参照）。例えば、がんを確立してから３５～７０日後の末梢血を、ＴＦＰ　Ｔ細胞もしくは同数のモック形質導入Ｔ細胞を２１日目に注入したマウス、またはＴ細胞を注入しなかったマウスにおいて得る。３５日目及び４９日目に、末梢血＋がん細胞数の決定のために各群のマウスを無作為に採血し、次いで、　　殺する。残りの動物は、５７日目及び７０日目に評価する。

【０３９９】

細胞増殖及びサイトカイン産生の評価は、例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）に先に記載されている。簡潔に述べれば、ＴＦＰ媒介性増殖の評価は、マイクロタイタープレート上で、洗浄したＴ細胞を、ＢＣＭＡまたはＣＤ３２及びＣＤ１３７（ＫＴ３２－ＢＢＬ）を発現する細胞と、最終Ｔ細胞：ＢＣＭＡ発現細胞の比が２：１になるように混合することによって実施される。ＢＣＭＡ細胞を発現する細胞には、使用前に、ガンマ線を照射する。抗ＣＤ３（クローンＯＫＴ３）及び抗ＣＤ２８（クローン９．３）モノクローナル抗体を、ＫＴ３２－ＢＢＬ細胞を含む培地に添加し、Ｔ細胞増殖を刺激するための陽性対照とする。これは、これらのシグナルが、ｅｘ　ｖｉｖｏにおける長期間のＣＤ８＋Ｔ細胞増殖をサポートするからである。Ｔ細胞は、ＣｏｕｎｔＢｒｉｇｈｔ（商標）蛍光ビーズ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）及びフローサイトメトリーを製造元による記載のとおりに使用して、培地中で計数される。ＴＦＰ＋Ｔ細胞は、ｅＧＦＰ－２Ａが連結されたＴＦＰ発現レンチウイルスベクターで改変されたＴ細胞を使用して、ＧＦＰ発現によって特定される。ＧＦＰを発現しないＴＦＰ＋Ｔ細胞については、ＴＦＰ＋Ｔ細胞は、ビオチン化組み換えＢＣＭＡタンパク質及び二次アビジン－ＰＥコンジュゲートにより検出される。Ｔ細胞上

のＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$発現はまた、特異的なモノクローナル抗体（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）により同時に検出される。サイトカインの測定は、ヒトＴＨ１／ＴＨ２サイトカインサイトメトリックビーズアレイキット（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を製造元の説明書に従って使用して、再刺激してから２４時間後に採取した上清で実施される。ＦＡＣＳｃａｌｉｂｕｒ（商標）フローサイトメーターを使用して蛍光を評価し、製造元の説明書に従ってデータを解析する。

【０４００】

細胞傷害性は、標準的な^{51}Ｃｒ放出アッセイによって評価することができる（例えば、Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１７（８）：１４５３－１４６４（２００９）参照）。簡潔に述べれば、標的細胞に、３７℃で２時間、頻繁に振盪しながら、^{51}Ｃｒ（$NaCrO_4$として、Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｎｕｃｌｅａｒ）をロードし、完全ＲＰＭＩで２回洗浄し、マイクロタイタープレートに播種する。完全ＲＰＭＩを含むウェル中で、エフェクターＴ細胞を標的細胞と、様々なエフェクター細胞：標的細胞（Ｅ：Ｔ）比で混合する。培地のみ（自然放出、ＳＲ）またはトリトン－Ｘ１００界面活性剤の１％溶液（完全放出、ＴＲ）を含む追加のウェルも用意する。３７℃で４時間のインキュベーション後、各ウェルから上清を回収する。次いで、放出される^{51}Ｃｒをガンマ粒子カウンター（Ｐａｃｋａｒｄ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔ　Ｃｏ．（Ｗａｌｔｈａｍ，Ｍａｓｓ．））を使用して測定する。各条件を少なくとも３連で実施し、溶解率を式：溶解（％）＝（ＥＲ－ＳＲ）／（ＴＲ－ＳＲ）（式中、ＥＲは、各実験条件についての^{51}Ｃｒ放出の平均を表す）を使用して算出する。

【０４０１】

イメージング技術を使用して、腫瘍担持動物モデルにおけるＴＦＰの特異的輸送及び増殖を評価することができる。かかるアッセイは、例えば、Ｂａｒｒｅｔｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｈｕｍａｎ　Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒａｐｙ　２２：１５７５－１５８６（２０１１）に記載されている。簡潔に述べれば、ＮＯＤ／ＳＣＩＤ／γｃ－／－（ＮＳＧ）マウスにがん細胞を静注し、その７日後、ＴＦＰ構築物のエレクトロポレーションから４時間後のＴ細胞を静注する。Ｔ細胞は、ホタルルシフェラーゼを発現するレンチウイルス構築物で安定的にトランスフェクトされており、マウスを生物発光について撮像する。あるいは、がん異種移植モデルにおけるＴＦＰ＋Ｔ細胞の単回注射による治療有効性及び特異性を以下のように測定することができる。ＮＳＧマウスに、ホタルルシフェラーゼを安定的に発現するように形質導入を行ったがん細胞を注射し、その７日後、ＢＣＭＡ　ＴＦＰ　をエレクトロポレーションしたＴ細胞を単回尾静脈注射する。注入後の様々な時点で、動物を撮像する。例えば、代表的なマウスにおけるホタルルシフェラーゼ陽性がんの光子密度ヒートマップを、５日目（処置の２日前）及び８日目（ＴＦＰ＋ＰＢＬの２４時間後）に生成することができる。

【０４０２】

本明細書の実施例の項に記載されるもの及び当該技術分野において知られているものを含む他のアッセイもまた、本明細書で開示される抗ＴＡＡ　ＴＦＰ構築物を評価するために使用することができる。

【０４０３】

治療用途

腫瘍抗原関連疾患または障害

本明細書において例及び実施形態を提供してきたが、例えば、ＲＯＲ１関連疾患及び／または抗ＲＯＲ１抗体及びそのための使用に関する、更なる技術及び実施形態については、２０１３年１月１３日に出願された米国特許第９，２１７，０４０号；２０１１年１１月３０日に出願された米国特許第９，７５８，５８６号；２０１１年６月１７日に出願された国際公開第ＷＯ２０１２０７６０６６号；Ｍａｔｏ，Ａ．＆　Ｐｏｒｔｅｒ，Ｄ．（２０１５）Ｂｌｏｏｄ　１２６（４），４７８－４８５；Ｃｈｏｉ，Ｍ．，ｅｔ　ａｌ．（２０１５）Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｌｙｍｐｈｏｍａ，Ｍｙｅｌｏｍａ　＆　Ｌｅｕｋｅｍｉａ　１５（Ｓ１），Ｓ１６７－Ｓ１６９；Ｃｕｉ，Ｂ．，ｅｔ　ａｌ．（２０１５）Ｃａｎｃ

ｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ７３（１２），３６４９－３６６０；Ｙｕ，Ｊ．，ｅｔ ａｌ．（２０１５）Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｉｎｖｅｓｔｉｇａｔｉｏｎ １０（１１７２），１－３４；Ｂｏｒｃｈｅｒｄｉｎｇ，Ｎ．，ｅｔ ａｌ．（２０１４）Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｃｅｌｌ ５（７），４９６－５０２；Ｚｈａｎｇ，Ｓ．，ｅｔ ａｌ．（２０１２）Ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｐａｔｈｏｌｏｇｙ １８１（６），１９０３－１９１０；Ｈｕｄｅｃｅｋ，Ｍ．，ｅｔ ａｌ．（２０１０）Ｂｌｏｏｄ １１６（２２），４５３２－４５４１；ならびにＤｅｎｉｇｅｒ，Ｄ．，ｅｔ ａｌ．（２０１５）ＰＬｏＳ ＯＮＥ １０（６），１－１９に見出すことができ、これらは、その全体が参照により本明細書に援用される。

【０４０４】

一態様において、本発明は、ＴＡＡ、例えば、ＲＯＲ１またはＮＫＧ２Ｄリガンド（ＮＫＧ２ＤＬ）の発現を伴う疾患を治療するための方法を提供する。一態様において、本発明は、腫瘍の一部がＮＫＧ２ＤＬについて陰性であり、腫瘍の一部がＮＫＧ２ＤＬについて陽性である疾患を治療するための方法を提供する。例えば、ＴＦＰは、ＮＫＧ２ＤＬの発現の上昇を伴う疾患について治療を受けたことがある対象を治療するのに有用であり、ここで、ＮＫＧ２ＤＬのレベルの上昇について治療を受けたことがある対象は、ＮＫＧ２ＤＬのレベルの上昇を伴う疾患を呈する。

【０４０５】

一態様において、本発明は、哺乳動物のＴ細胞における発現用のプロモーターに作動可能に連結されたＴＡＡ結合ＴＦＰを含むベクターに関する。一態様において、本発明は、ＮＫＧ２ＤＬ発現腫瘍を治療する際に使用するための組み換えＴ細胞、例えば、ＮＫＧ２Ｄ ＴＦＰを発現する組み換えＴ細胞を提供し、ここで、ＮＫＧ２Ｄ ＴＦＰを発現する組み換えＴ細胞は、ＮＫＧ２Ｄ ＴＦＰ－Ｔと呼ばれる。一態様において、ＮＫＧ２Ｄ ＴＦＰ－Ｔは、表面上に少なくとも１つのＮＫＧ２ＤＬを発現している腫瘍細胞と接触することができ、これにより、ＴＦＰ－Ｔは、腫瘍細胞を標的にし、腫瘍成長を阻害する。

【０４０６】

二重特異性ＴＦＰ

腫瘍細胞上の１つの標的、例えば、ＢＣＭＡ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ１２３などを指向するがん治療薬により治療された多くの患者は、代替のシグナル伝達経路及びフィードバックループなどの回避機構が活性化されるにつれて、経時的に抵抗性になる。二重特異性治療薬は、回避経路としてしばしば互いに代用される標的を組み合わせることによって、これに対処しようとするものである。２つ以上の腫瘍関連抗原に特異的なＴＣＲを有する治療用Ｔ細胞集団は、有望な併用療法である。

【０４０７】

抗ＴＡＡ ＴＦＰ－Ｔ細胞、二重特異性抗ＴＡＡ ＴＦＰ Ｔ細胞、または抗ＴＡＡ抗体と組み合わせたＣＤ－１６ＴＦＰ Ｔ細胞の腫瘍関連抗原標的

例示的な腫瘍関連抗原としては、腫瘍胎児抗原（例えば、胎児組織及びがん性体細胞に発現されるもの）、腫瘍ウイルス抗原（例えば、腫瘍形成性形質転換ウイルスによってコードされるもの）、過剰発現／蓄積抗原（例えば、正常組織及び新生物組織の療法によって発現され、新生物において発現レベルが非常に高いもの）、がん－精巣抗原（例えば、がん細胞ならびに精巣及び胎盤などの成人生殖組織によってのみ発現されるもの）、系統限定抗原（例えば、単一のがん組織型によって主に発現されるもの）、変異抗原（例えば、遺伝子突然変異または転写における変化の結果としてがんによって発現されるもの）、翻訳後に改変された抗原（例えば、グリコシル化における腫瘍関連改変など）、及びイディオタイプ抗原（例えば、腫瘍細胞が特定のクローン型を発現する、高度に多型の遺伝子に由来するもの、例えば、クローン性異常に起因するＢ細胞、Ｔ細胞リンパ腫／白血病におけるもの）が挙げられるが、これらに限定されない。例示的な腫瘍関連抗原としては、アルファ－アクチニン－４、ＡＲＴＣ１、ＢＣＲ－ＡＢＬ融合タンパク質（ｂ３ａ２）、Ｂ－ＲＡＦ、ＣＡＳＰ－５、ＣＡＳＰ－８、ベーター－カテニン、Ｃｄｃ２７、ＣＤＫ４、ＣＤＫ１２、ＣＤＫＮ２Ａ、ＣＬＰＰ、ＣＯＡ－１、ＣＳＮＫ１Ａ１、ｄｅｋ－ｃａｎ融

合タンパク質、ＥＦＴＵＤ２、伸長因子２、ＥＴＶ６－ＡＭＬ１融合タンパク質、ＦＬＴ３－ＩＴＤ、ＦＮＤＣ３Ｂ、ＦＮ１、ＧＡＳ７、ＧＰＮＭＢ、ＨＡＵＳ３、ＨＳＤＬ１、ＬＤＬＲ－フコシルトランスフェラーゼＡＳ融合タンパク質、ＨＬＡ－Ａ２ｄ、ＨＬＡ－Ａ１１ｄ、ｈｓｐ７０－２、ＭＡＲＴ２、ＭＡＴＮ、ＭＥ１、ＭＵＭ－１ｆ、ＭＵＭ－２、ＭＵＭ－３、ｎｅｏ－ＰＡＰ、Ｉ型ミオシン、ＮＦＹＣ、ＯＧＴ、ＯＳ－９、ｐ５３、ｐｍｌ－ＲＡＲアルファ融合タンパク質、ＰＰＰ１Ｒ３Ｂ、ＰＲＤＸ５、ＰＴＰＲＫ、Ｋ－ｒａｓ、Ｎ－ｒａｓ、ＲＢＡＦ６００、ＳＩＲＴ２、ＳＮＲＰＤ１、ＳＹＴ－ＳＳＸ１または－ＳＳＸ２融合タンパク質、ＴＧＦ－ベータＲＩＩ、トリオースリン酸イソメラーゼ、ＢＡＧＥ－１、Ｄ３９３－ＣＤ２０ｎ、サイクリン－Ａ１、ＧＡＧＥ－１、ＧＡＧＥ－２、ＧＡＧＥ－８、ＧＡＧＥ－３、ＧＡＧＥ－４、ＧＡＧＥ－５、ＧＡＧＥ－６、ＧＡＧＥ－７、ＧｎＴＶｆ、ＨＥＲＶ－Ｋ－ＭＥＬ、ＫＫ－ＬＣ－１、ＫＭ－ＨＮ－１、ＬＡＧＥ－１、ＬＹ６Ｋ、ＭＡＧＥ－Ａ１、ＭＡＧＥ－Ａ２、ＭＡＧＥ－Ａ３、ＭＡＧＥ－Ａ４、ＭＡＧＥ－Ａ６、ＭＡＧＥ－Ａ９、ＭＡＧＥ－Ａ１０、ＭＡＧＥ－Ａ１２ｍ、ＭＡＧＥ－Ｃ１、ＭＡＧＥ－Ｃ２、ｍｕｃｉｎｋ、ＮＡ８８－Ａ、ＮＹ－ＥＳＯ－１／ＬＡＧＥ－２、ＳＡＧＥ、Ｓｐ１７、ＳＳＸ－２、ＳＳＸ－４、ＴＡＧ－１、ＴＡＧ－２、ＴＲＡＧ－３、ＴＲＰ２－ＩＮＴ２ｇ、ＸＡＧＥ－１ｂ／ＧＡＧＥＤ２ａ、遺伝子／タンパク質、ＣＥＡ、ｇｐ１００／Ｐｍｅｌ１７、マンマグロビン－Ａ、Ｍｅｌａｎ－Ａ／ＭＡＲＴ－１、ＮＹ－ＢＲ－１、ＯＡ１、ＰＡＰ、ＰＳＡ、ＲＡＢ３８／ＮＹ－ＭＥＬ－１、ＴＲＰ－１／ｇｐ７５、ＴＲＰ－２、チロシナーゼ、アディポフィリン、ＡＩＭ－２、ＡＬＤＨ１Ａ１、ＢＣＬＸ（Ｌ）、ＢＩＮＧ－４、ＣＡＬＣＡ、ＣＤ４５、ＣＤ２７４、ＣＰＳＦ、サイクリンＤ１、ＤＫＫ１、ＥＮＡＨ（ｈＭｅｎａ）、ＥｐＣＡＭ、ＥｐｈＡ３、ＥＺＨ２、ＦＧＦ５、グリピカン－３、Ｇ２５０／ＭＮ／ＣＡＩＸ、ＨＥＲ－２／ｎｅｕ、ＨＬＡ－ＤＯＢ、ヘプシン、ＩＤＯ１、ＩＧＦ２Ｂ３、ＩＬ１３Ｒアルファ２、小腸カルボキシルエステラーゼ、アルファ－フォエトプロテイン、カリクレイン４、ＫＩＦ２０Ａ、レングシン、Ｍ－ＣＳＦ、ＭＣＳＰ、ｍｄｍ－２、Ｍｅｌｏｅ、ミッドカイン、ＭＭＰ－２、ＭＭＰ－７、ＭＵＣ１、ＭＵＣ５ＡＣ、ｐ５３、ＰＡＸ５、ＰＢＦ、ＰＲＡＭＥ、ＰＳＭＡ、ＲＡＧＥ－１、ＲＧＳ５、ＲｈｏＣ、ＲＮＦ４３、ＲＵ２ＡＳ、セセルニン１、ＳＯＸ１０、ＳＴＥＡＰ１、サバイビン、テロメラーゼ、ＴＰＢＧ、ＶＥＧＦ及びＷＴ１の抗原が挙げられるが、これらに限定されない。

【０４０８】

一態様において、本発明は、少なくとも１つの腫瘍関連抗原の発現を伴う疾患を治療するための方法を提供する。一態様において、本発明は、腫瘍の一部が腫瘍関連抗原について陰性であり、腫瘍の一部が腫瘍関連抗原について陽性である疾患を治療するための方法を提供する。例えば、本発明の抗体またはＴＦＰは、当該腫瘍抗原の発現の上昇を伴う疾患について治療を受けたことがある対象を治療するのに有用であり、ここで、腫瘍関連抗原のレベルの上昇について治療を受けたことがある対象は、腫瘍関連抗原のレベルの上昇を伴う疾患を呈する。

【０４０９】

一態様において、本発明は、哺乳動物のＴ細胞における発現用のプロモーターに作動可能に連結された抗腫瘍関連抗原抗体またはＴＦＰを含むベクターに関する。一態様において、本発明は、腫瘍関連抗原を発現する腫瘍を治療する際に使用するための腫瘍関連抗原ＴＦＰを発現する組み換えＴ細胞を提供し、ここで、腫瘍関連抗原ＴＦＰを発現する組み換えＴ細胞は、腫瘍関連抗原ＴＦＰ－Ｔと呼ばれる。一態様において、本発明の腫瘍関連抗原ＴＦＰ－Ｔは、表面上に本発明の少なくとも１つの腫瘍関連抗原ＴＦＰを発現している腫瘍細胞と接触することができ、これにより、ＴＦＰ－Ｔは、腫瘍細胞を標的にし、腫瘍成長を阻害する。

【０４１０】

一態様において、本発明は、腫瘍関連抗原発現腫瘍細胞の成長を阻害する方法であって、腫瘍細胞を、本発明の腫瘍関連抗原抗体またはＴＦＰ　Ｔ細胞と接触させることを含み、これにより、ＴＦＰ－Ｔが、抗原に応答して活性化され、がん細胞を標的にし、腫瘍成

長が阻害される、方法に関する。
【０４１１】
一態様において、本発明は、対象のがんを治療する方法に関する。方法は、がんが対象において治療されるように、本発明の腫瘍関連抗原抗体、二重特異性抗体、またはＴＦＰＴ細胞を対象に投与することを含む。本発明の腫瘍関連抗原ＴＦＰ　Ｔ細胞によって治療可能ながんの一例は、腫瘍関連抗原の発現を伴うがんである。一態様において、がんは、骨髄腫である。一態様において、がんは、リンパ腫である。一態様において、がんは、結腸癌である。
【０４１２】
いくつかの実施形態において、腫瘍関連抗原抗体またはＴＦＰ療法は、１つ以上の追加の治療法と組み合わせて使用され得る。いくつかの場合において、かかる追加の治療法は、化学療法剤、例えば、シクロホスファミドを含む。いくつかの場合において、かかる追加の治療法は、外科的切除または放射線治療を含む。
【０４１３】
一態様において、本明細書で開示されるのは、Ｔ細胞がＴＦＰを発現するように遺伝子改変され、ＴＦＰ発現Ｔ細胞が、それを必要とするレシピエントに注入される、細胞療法の一方法である。注入される細胞は、レシピエントにおいて、腫瘍細胞を殺傷することができる。抗体療法とは異なり、ＴＦＰ発現Ｔ細胞は、ｉｎ　ｖｉｖｏで複製可能であり、長期間持続することから、持続的な腫瘍制御につながり得る。様々な態様において、患者に投与されるＴ細胞またはその子孫は、患者へのＴ細胞の投与後、少なくとも４ヶ月、５ヶ月、６ヶ月、７ヶ月、８ヶ月、９ヶ月、１０ヶ月、１１ヶ月、１２ヶ月、１３ヶ月、１４ヶ月、１５ヶ月、１６ヶ月、１７ヶ月、１８ヶ月、１９ヶ月、２０ヶ月、２１ヶ月、２２ヶ月、２３ヶ月、２年、３年、４年または５年間、患者内で存続する。
【０４１４】
いくつかの場合において、本明細書で開示されるのは、Ｔ細胞がＴＦＰを一過性に発現するように、例えば、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写ＲＮＡによって、改変され、ＴＦＰ発現Ｔ細胞が、それを必要とするレシピエントに注入される、細胞療法の一種である。注入される細胞は、レシピエントにおいて、腫瘍細胞を殺傷することができる。したがって、様々な態様において、患者に投与されるＴ細胞は、患者へのＴ細胞の投与後、１ヶ月未満、例えば、３週間、２週間または１週間、存在する。
【０４１５】
いかなる特定の理論に束縛されることを望むものではないが、ＴＦＰ発現Ｔ細胞によって誘起される抗腫瘍免疫応答は、能動免疫応答でも受容免疫応答でもよく、あるいは直接対間接免疫応答によるものであってもよい。一態様において、ＴＦＰを形質導入したＴ細胞は、腫瘍関連抗原を発現するヒトがん細胞に反応して特定の炎症性サイトカインの分泌及び強力な細胞溶解活性を呈し、可溶性腫瘍関連抗原阻害に抵抗し、バイスタンダー殺傷を媒介し、及び／または確立されたヒト腫瘍の退行を媒介する。例えば、腫瘍関連抗原発現腫瘍の不均一な領域内の無抗原腫瘍細胞は、隣接する抗原陽性がん細胞に対して先に反応している腫瘍関連抗原再指向性Ｔ細胞による間接的破壊を受ける可能性がある。
【０４１６】
一態様において、本発明のヒトＴＦＰ改変Ｔ細胞は、哺乳動物におけるｅｘ　ｖｉｖｏ免疫付与及び／またはｉｎ　ｖｉｖｏ療法のためのワクチンの一種であり得る。一態様において、哺乳動物は、ヒトである。
【０４１７】
ｅｘ　ｖｉｖｏ免疫付与に関して、細胞を哺乳動物に投与する前に、次のうちの少なくとも１つがｉｎ　ｖｉｔｒｏで行われる：ｉ）細胞の増殖、ｉｉ）ＴＦＰをコードする核酸の細胞への導入またはｉｉｉ）細胞の凍結保存。
【０４１８】
Ｅｘ　ｖｉｖｏ手順は、当該技術分野においてよく知られており、以下でより詳細に論じる。簡潔に述べれば、哺乳動物（例えば、ヒト）から細胞を単離し、本明細書で開示さ

れるＴＦＰを発現するベクターにより細胞を遺伝子改変する（すなわち、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでの形質導入またはトランスフェクション）。このＴＦＰ改変細胞を哺乳動物のレシピエントに投与すると、治療上の利益を得ることができる。哺乳動物のレシピエントは、ヒトであり得、ＴＦＰ改変細胞は、レシピエントに対して自己由来であり得る。あるいは、細胞は、レシピエントに対して同種異系、同系または異種であり得る。

【０４１９】

造血幹細胞及び前駆細胞のｅｘ　ｖｉｖｏ増殖手順は、例えば、参照により本明細書に援用される米国特許第５，１９９，９４２号に記載されており、これを本発明の細胞に適用することができる。他の適切な方法は、当該技術分野において知られており、したがって、本発明は、いかなる特定のｅｘ　ｖｉｖｏ細胞増殖方法に限定されない。簡潔に述べれば、Ｔ細胞のｅｘ　ｖｉｖｏ培養及び増殖は、（１）末梢血採取物または骨髄外植体から哺乳動物由来のＣＤ３４＋造血幹細胞及び前駆細胞を採取することと、（２）かかる細胞をｅｘ　ｖｉｖｏで増殖させることとを含む。米国特許第５，１９９，９４２号に記載される細胞成長因子に加えて、ｆｌｔ３－Ｌ、ＩＬ－１、ＩＬ－３及びｃ－ｋｉｔリガンドなどの他の因子も、細胞の培養及び増殖に使用することができる。

【０４２０】

ｅｘ　ｖｉｖｏ免疫付与における細胞ベースのワクチンの使用に加えて、本発明はまた、患者の抗原に対する免疫応答を誘起するｉｎ　ｖｉｖｏ免疫付与のための組成物及び方法を提供する。

【０４２１】

一般に、本明細書に記載されるように活性化及び増殖された細胞を、免疫不全の個体で生じる疾患の治療及び予防に利用することができる。特に、本発明のＴＦＰ改変Ｔ細胞は、腫瘍関連抗原の発現を伴う疾患、障害及び状態の治療に使用される。特定の態様において、本発明の細胞は、腫瘍関連抗原の発現を伴う疾患、障害及び状態を発症するリスクのある患者の治療に使用される。したがって、本発明は、腫瘍関連抗原の発現を伴う疾患、障害及び状態の治療または予防のための方法であって、それを必要とする対象に、治療上有効な量の本発明のＴＦＰ改変Ｔ細胞を投与することを含む、方法を提供する。

【０４２２】

一態様において、本発明の抗体またはＴＦＰ－Ｔ細胞は、がんもしくは悪性腫瘍などの増殖性疾患を治療するために使用され得、または前がん状態である。一態様において、がんは、骨髄腫である。一態様において、がんは、リンパ腫である。一態様において、がんは、結腸癌である。更に、腫瘍関連抗原の発現を伴う疾患には、例えば、腫瘍関連抗原を発現する、非定型及び／または非古典的がん、悪性腫瘍、前がん状態または増殖性疾患が挙げられるが、これらに限定されない。腫瘍関連抗原の発現を伴う非がん関連適応症は、抗原によって異なるが、例えば、感染症、自己免疫疾患（例えば、狼瘡）、炎症性障害（アレルギー及び喘息）及び移植であるが、これらに限定されない。

【０４２３】

本発明の抗体またはＴＦＰ改変Ｔ細胞は、単独で、または希釈剤及び／またはＩＬ－２、ＩＬ－７、ＩＬ－１２、ＩＬ－１５もしくは他のサイトカインもしくは細胞集団などの他の成分と組み合わせた医薬組成物として、投与され得る。

【０４２４】

本発明はまた、腫瘍関連抗原発現細胞集団の増殖を阻害するための方法または当該細胞集団を減少させるための方法であって、腫瘍関連抗原発現細胞を含む細胞集団を、腫瘍関連抗原発現細胞に結合する本発明の抗腫瘍関連抗原ＴＦＰ－Ｔ細胞と接触させることを含む、方法を提供する。特定の態様において、本発明は、腫瘍関連抗原を発現するがん細胞集団の増殖を阻害するための方法または当該がん細胞集団を減少させるための方法であって、腫瘍関連抗原発現がん細胞集団を、腫瘍関連抗原発現細胞に結合する本発明の抗腫瘍関連抗原抗体またはＴＦＰ－Ｔ細胞と接触させることを含む、方法を提供する。一態様において、本発明は、腫瘍関連抗原を発現するがん細胞集団の増殖を阻害するための方法または当該がん細胞集団を減少させるための方法であって、腫瘍関連抗原発現がん細胞集団

を、腫瘍関連抗原発現細胞に結合する本発明の抗腫瘍関連抗原抗体またはＴＦＰ－Ｔ細胞と接触させることを含む、方法を提供する。特定の態様において、本発明の抗腫瘍関連抗原抗体またはＴＦＰ－Ｔ細胞は、細胞及び／またはがん細胞の分量、数、量または割合を、多発性骨髄腫もしくは腫瘍関連抗原発現細胞に関連する別のがんを有する対象またはその動物モデルにおいて、陰性対照と比較して、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６５％、少なくとも７５％、少なくとも８５％、少なくとも９５％または少なくとも９９％減少させる。一態様において、対象は、ヒトである。

【０４２５】

本発明はまた、腫瘍関連抗原発現細胞（例えば、腫瘍関連抗原を発現するがん）に関連する疾患を予防、治療及び／または管理するための方法であって、それを必要とする対象に、腫瘍関連抗原発現細胞に結合する本発明の抗腫瘍関連抗原抗体またはＴＦＰ－Ｔ細胞を投与することを含む、方法を提供する。一態様において、対象は、ヒトである。腫瘍関連抗原発現細胞に関連する障害の非限定的な例としては、自己免疫障害（狼瘡など）、炎症性障害（アレルギー及び喘息など）及びがん（血液がんまたは腫瘍関連抗原を発現する非定型がんなど）が挙げられる。

【０４２６】

本発明はまた、腫瘍関連抗原発現細胞に関連する疾患を予防、治療及び／または管理するための方法であって、それを必要とする対象に、腫瘍関連抗原発現細胞に結合する本発明の抗腫瘍関連抗原抗体またはＴＦＰ－Ｔ細胞を投与することを含む、方法を提供する。一態様において、対象は、ヒトである。

【０４２７】

本発明は、腫瘍関連抗原発現細胞に関連するがんの再発を予防するための方法であって、それを必要とする対象に、腫瘍関連抗原発現細胞に結合する本発明の抗腫瘍関連抗原抗体及び／またはＴＦＰ－Ｔ細胞を投与することを含む、方法を提供する。一態様において、方法は、それを必要とする対象に、腫瘍関連抗原発現細胞に結合する本明細書に記載される抗腫瘍関連抗原抗体またはＴＦＰ－Ｔ細胞の有効量を、別の治療法の有効量と組み合わせて投与することを含む。

【０４２８】

併用療法

本明細書に記載される抗体またはＴＦＰ発現細胞は、他の既知の作用物質及び治療法と組み合わせて使用してもよい。本明細書で使用されるとき、「組み合わせて」投与されるとは、対象が障害による苦痛を受けている間に、２つ（またはそれ以上）の異なる治療が対象に送達されること、例えば、対象が障害の診断を受けた後、障害が治癒もしくは排除される前、または治療が別の理由で中止されるまで、２つ以上の治療が送達されることを意味する。いくつかの実施形態において、１つの治療の送達は、第２の送達の開始時にも変わらず行われるため、投与に関しては重複がある。これは、本明細書において、「同時」または「同時送達」と呼ばれることがある。他の実施形態において、１つの治療の送達は、もう１つの治療の送達が始まる前に終了する。いずれの場合のいくつかの実施形態において、治療は、併用投与のため、より効果的である。例えば、第２の治療は、より効果的であり、例えば、同等の効果が、第２の治療が少なくてもみられるか、または、第２の治療が、第１の治療なく第２の治療が施される場合にみられるよりも、症状を大幅に軽減するか、または、類似の状況が第１の治療でみられる。いくつかの実施形態において、送達は、障害に関係する症状または他のパラメータの軽減が、他の治療なしで送達される１つの治療から観察される軽減よりも大きくなるようなものである。２つの治療の効果は、部分的に相加であるか、全体的に相加であるか、相加を超えるものであり得る。送達は、送達された第１の治療の効果が、第２の治療の送達時に依然として検出可能であるようなものであり得る。

【０４２９】

ＣＤ１６　ＴＦＰ　Ｔ細胞との併用療法のための抗がん抗体

本明細書で開示されるＣＤ１６　ＴＦＰは、抗がん抗体と組み合わせて投与される。腫瘍細胞の表面上に発現される腫瘍関連抗原に対する任意のＩｇＧ１またはＩｇＧ４抗がん抗体が、本明細書に開示される組み合わせ及び方法における使用に好適である。かかる抗体には、限定するものではないが、５Ｔ４、８Ｈ９、αｖβθインテグリン、αｖβ６インテグリン、アルファフェトプロテイン（ＡＦＰ）、Ｂ７－Ｈ６、ＣＡ－１２５炭酸脱水酵素９（ＣＡ９）、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２、ＣＤ３０、ＣＤ３３、ＣＤ３８、ＣＤ４４、ＣＤ４４ｖ６、ＣＤ４４ｖ７／８、ＣＤ５２、ＣＤ１２３、ＣＤ１７１、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）、ＥｐＣＡＭ（上皮細胞接着分子）、Ｅ－カドヘリン、ＥＭＡ（上皮細胞膜抗原）、ＥＧＦＲｖｌｌｌ、上皮細胞糖タンパク質－２（ＥＧＰ－２）、上皮細胞糖タンパク質－４０（ＥＧＰ－４０）、ＥｒｂＢ１／ＥＧＦＲ、ＥｒｂＢ２／ＨＥＲ２／ｎｅｕ／ＥＧＦＲ２、ＥｒｂＢ３／ＨＥＲ３、ＥｒｂＢ４、上皮性腫瘍抗原（ＥＴＡ）、葉酸結合タンパク質（ＦＢＰ）、胎児型アセチルコリン受容体（ＡｃｈＲ）、葉酸受容体－α、Ｇ２５０／ＣＡＩＸ、ガングリオシド２（ＧＤ２）、ガングリオシド３（ＧＤ３）、ＨＬＡ－Ａ１、ＨＬＡ－Ａ２、高分子量黒色腫関連抗原（ＨＭＷ－ＭＡＡ）、ＩＬ－１３受容体α２（ＩＬ－１３Ｒα２）、キナーゼ挿入ドメイン受容体（ＫＤＲ）、ｋ－軽鎖、Ｌｅｗｉｓ　Ｙ（ＬｅＹ）、Ｌ１細胞接着分子、黒色腫関連抗原（ＭＡＧＥ－Ａ１）、メソテリン、ムチン－１（ＭＵＣ１）、ムチン－１６（ＭＵＣ１６）、ナチュラルキラーグループ２メンバーＤ（ＮＫＧ２Ｄ）リガンド、神経細胞接着分子（ＮＣＡＭ）、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＮＹ－ＥＳＯ－１、腫瘍胎児抗原（ｈ５Ｔ４）、前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）、受容体型チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）、ｍＡｂ　ＩｇＥが標的にするＴＡＡ、腫瘍関連糖タンパク質－７２（ＴＡＧ－７２）、チロシナーゼ、及び血管内皮細胞増殖因子（ＶＥＧＦ）受容体が挙げられるが、これらに限定されない。一実施形態において、腫瘍関連抗原は、正常（すなわち、非がん性）組織の細胞の細胞表面上に発現されない抗原である。別の実施形態において、腫瘍関連抗原は、当該抗原が腫瘍細胞上に発現されるレベルよりも極めて低いレベルで、正常組織の細胞の細胞表面上に発現される（例えば、細胞当たりの受容体が少ない）。

【０４３０】

他の組み合わせ

いくつかの実施形態において、「少なくとも１つの追加の治療薬」には、ＴＦＰ発現細胞が含まれる。また、同じもしくは異なる標的抗原または同一標的抗原上の同じもしくは異なるエピトープに結合する、複数のＴＦＰを発現するＴ細胞を提供する。また、Ｔ細胞の第１のサブセットが第１のＴＦＰを発現し、Ｔ細胞の第２のサブセットが第２のＴＦＰを発現する、Ｔ細胞の集団を提供する。

【０４３１】

本明細書に記載されるＴＦＰ発現細胞及び少なくとも１つの追加の治療薬は、同じまたは別個の組成物で同時投与されてもよいし、順次投与されてもよい。順次投与の場合、本明細書に記載されるＴＦＰ発現細胞を第１に投与することができ、追加の作用物質を第２に投与することができ、または投与の順番を逆にすることができる。

【０４３２】

更なる態様において、本明細書に記載されるＴＦＰ発現細胞は、手術、化学療法、放射線、免疫抑制剤、例えば、シクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキサート、ミコフェノール酸エステル、抗体もしくは他の免疫消失薬、例えば、アレムツズマブ、抗ＣＤ３抗体、または他の抗体療法、シクロホスファミド、フルダラビン、シクロスポリン、タクロリムス（フジマイシン）、ラパマイシン、ミコフェノール酸、ステロイド、ロミデプシン（ＦＲ９０１２２８としても知られる）、サイトカイン、及び放射線照射、Ｉｚｕｍｏ　ｅｔ　ａｌ．２００８　Ｊ　Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ　１０８：９６３－９７１に記載されているペプチドワクチンと組み合わせて治療レジメンに使用され得る。

【０４３３】

一実施形態において、対象は、ＴＦＰ発現細胞の投与に伴う副作用を軽減または改善す

る作用物質が投与され得る。ＴＦＰ発現細胞の投与に伴う副作用としては、サイトカイン放出症候群（ＣＲＳ）、及びマクロファージ活性化症候群（ＭＡＳ）とも呼ばれる血球貪食性リンパ組織球症（ＨＬＨ）が挙げられるが、これらに限定されない。ＣＲＳの症状としては、高熱、悪心、一過性低血圧、低酸素症などが挙げられる。したがって、本明細書に記載される方法は、本明細書に記載されるＴＦＰ発現細胞を対象に投与することと、ＴＦＰ発現細胞による治療から生じる可溶性因子のレベル上昇を管理する作用物質を更に投与することとを含み得る。一実施形態において、対象において上昇する可溶性因子は、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦα、ＩＬ－２、ＩＬ－６及びＩＬ－８のうちの１つ以上である。したがって、この副作用を治療するために投与される作用物質は、これらの可溶性因子のうちの１つ以上を中和する作用物質であり得る。かかる作用物質としては、ステロイド、ＴＮＦαの阻害剤及びＩＬ－６の阻害剤が挙げられるが、これらに限定されない。ＴＮＦα阻害剤の一例は、エタネルセプト（ＥＮＢＲＥＬ（登録商標）の名称で上市されている）である。ＩＬ－６阻害剤の一例は、トシリズマブ（ＡＣＴＥＭＲＡ（登録商標）の名称で上市されている）である。

【０４３４】

一実施形態において、対象は、ＴＦＰ発現細胞の活性を高める作用物質が投与され得る。例えば、一実施形態において、作用物質は、抑制分子を阻害する作用物質であり得る。抑制分子、例えば、プログラム死（ＰＤ１）は、いくつかの実施形態において、ＴＦＰ発現細胞の免疫エフェクター応答の開始能力を低下させ得る。抑制分子の例としては、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ４、ＴＩＭ３、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＢＴＬＡ、ＴＩＧＩＴ、ＬＡＩＲ１、ＣＤ１６０、２Ｂ４及びＴＧＦＲベータが挙げられる。抑制分子の阻害、例えば、ＤＮＡ、ＲＮＡまたはタンパク質レベルでの阻害によるものは、ＴＦＰ発現細胞の性能を最適化し得る。実施形態において、抑制核酸、例えば、抑制核酸、例えば、ｄｓＲＮＡ、例えば、ｓｉＲＮＡまたはｓｈＲＮＡを使用して、ＴＦＰ発現細胞中の抑制分子の発現を阻害することができる。一実施形態において、阻害剤は、ｓｈＲＮＡである。一実施形態において、抑制分子は、ＴＦＰ発現細胞内で阻害される。これらの実施形態において、抑制分子の発現を阻害するｄｓＲＮＡ分子は、ＴＦＰの構成要素、例えば、全ての構成要素をコードする核酸に連結される。一実施形態において、抑制シグナルの阻害剤は、例えば、抑制分子に結合する抗体または抗体断片であり得る。例えば、作用物質は、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２またはＣＴＬＡ４に結合する抗体または抗体断片であり得る（例えば、イピリムマブ（ＭＤＸ－０１０及びＭＤＸ－１０１とも呼ばれ、ＹＥＲＶＯＹ（登録商標）として上市されているもの）；Ｂｒｉｓｔｏｌ－ＭｙｅｒｓＳｑｕｉｂｂ；トレメリムマブ（Ｐｆｉｚｅｒから入手可能なＩｇＧ２モノクローナル抗体、かつてチシリムマブとして知られていたもの、ＣＰ－６７５，２０６））。一実施形態において、作用物質は、Ｔ細胞免疫グロブリン及びムチンドメイン含有分子３（ＴＩＭ３）に結合する抗体または抗体断片である。一実施形態において、作用物質は、リンパ球活性化遺伝子３（ＬＡＧ３）に結合する抗体または抗体断片である。

【０４３５】

いくつかの実施形態において、本明細書で開示されるＴＦＰ　Ｔ細胞と組み合わせて使用するのに好適な作用物質は、骨髄抑制細胞を調節する作用物質、例えば、ＣＣＲ２抗体である。他の治療法としては、例えば、ナノ粒子療法が当該技術分野において知られている。

【０４３６】

いくつかの実施形態において、ＴＦＰ発現細胞の活性を高める作用物質は、例えば、第１のドメイン及び第２のドメインを含み、第１のドメインは、抑制分子またはその断片であり、第２のドメインは、正のシグナルに関連するポリペプチド、例えば、本明細書に記載されるような細胞内シグナル伝達ドメインを含むポリペプチドである、融合タンパク質であり得る。いくつかの実施形態において、正のシグナルに関連するポリペプチドは、ＣＤ２８、ＣＤ２７、ＩＣＯＳの共刺激ドメイン、例えば、ＣＤ２８、ＣＤ２７及び／またはＩＣＯＳの細胞内シグナル伝達ドメイン、及び／または一次シグナル伝達ドメイン、例

えば、本明細書に記載される、例えば、ＣＤ３ゼータのドメインを含み得る。一実施形態において、融合タンパク質は、ＴＦＰを発現するのと同じ細胞によって発現される。別の実施形態において、融合タンパク質は、細胞、例えば、抗腫瘍関連抗原ＴＦＰを発現しないＴ細胞によって発現される。

【０４３７】

医薬組成物

本発明の医薬組成物は、本明細書に記載されるＴＦＰ発現細胞、例えば、複数のＴＦＰ発現細胞を、１つ以上の薬学的もしくは生理学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤と組み合わせて含み得る。かかる組成物は、中性緩衝生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水などなどの緩衝液；グルコース、マンノース、スクロースまたはデキストラン、マンニトールなどの炭水化物；タンパク質；ポリペプチドまたはグリシンなどのアミノ酸；抗酸化剤；ＥＤＴＡまたはグルタチオンなどのキレート剤；アジュバント（例えば、水酸化アルミニウム）；及び保存剤を含み得る。本発明の組成物は、一態様において、静脈内投与用に製剤化される。

【０４３８】

本発明の医薬組成物は、治療される（または予防される）疾患に適した方法で投与され得る。適切な用量は臨床試験によって決定され得るが、投与量及び投与回数は、患者の状態、ならびに患者の疾患の種類及び重症度などの因子によって決定される。

【０４３９】

一実施形態において、医薬組成物は、夾雑物、例えば、エンドトキシン、マイコプラズマ、複製可能なレンチウイルス（ＲＣＬ）、ｐ２４、ＶＳＶ－Ｇ核酸、ＨＩＶ ｇａｇ、残存した抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８被覆ビーズ、マウス抗体、保存ヒト血清、ウシ血清アルブミン、ウシ血清、培地成分、ベクターパッケージング細胞またはプラスミド成分、細菌及び真菌からなる群から選択される夾雑物を実質的に含まないものであり、例えば、検出可能なレベルの夾雑物がない。一実施形態において、細菌は、Ａｌｃａｌｉｇｅｎｅｓ ｆａｅｃａｌｉｓ、Ｃａｎｄｉｄａ ａｌｂｉｃａｎｓ、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ、Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｉｎｆｌｕｅｎｚａ、Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｍｅｎｉｎｇｉｔｉｄｅｓ、Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｎｅｕｍｏｎｉａ、及びＳｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｙｏｇｅｎｅｓ ｇｒｏｕｐ Ａからなる群から選択される少なくとも１つである。

【０４４０】

「免疫学的有効量」、「抗腫瘍有効量」、「腫瘍阻害有効量」、または「治療量」が示される場合、投与される本発明の組成物の正確な量は、患者（対象）の年齢、体重、腫瘍サイズ、感染症または転移の程度、及び状態の個体差を考慮して、医師によって決定され得る。本明細書に記載されるＴ細胞を含む医薬組成物は、10^4～10^9細胞／ｋｇ体重、いくつかの場合では10^5～10^6細胞／ｋｇ体重の用量（これらの範囲内の全ての整数値を含む）で投与され得ると一般的に言うことができる。また、Ｔ細胞組成物は、当該用量で複数回投与され得る。細胞は、免疫療法において一般に知られている注入技術を使用することによって、投与することができる（例えば、Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｎｅｗ Ｅｎｇ．Ｊ．ｏｆ Ｍｅｄ．３１９：１６７６，１９８８参照）。

【０４４１】

特定の態様において、活性化されたＴ細胞を対象に投与し、その後続いて再採血し（またはアフェレーシスが行われる）、本発明に従ってＴ細胞を活性化し、これらの活性化及び増殖されたＴ細胞を患者に再注入することが望ましい場合がある。この工程は、数週間ごとに複数回実施され得る。特定の態様において、Ｔ細胞は、１０ｃｃ～４００ｃｃの採取血液から活性化され得る。特定の態様において、Ｔ細胞は、２０ｃｃ、３０ｃｃ、４０ｃｃ、５０ｃｃ、６０ｃｃ、７０ｃｃ、８０ｃｃ、９０ｃｃまたは１００ｃｃの採取血液から活性化される。

【０４４２】

目的の組成物の投与は、エアロゾル吸入、注射、経口摂取、輸液、移入または移植を含む、任意の簡便な方法で実施され得る。本明細書に記載される組成物は、患者に、経動脈、皮下、皮内、腫瘍内、結節内、髄内、筋肉内、静脈内（ｉ．ｖ．）注射により、または腹腔内に投与され得る。一態様において、本発明のＴ細胞組成物は、患者に、皮内または皮下注射によって投与される。一態様において、本発明のＴ細胞組成物は、ｉ．ｖ．注射によって投与される。Ｔ細胞の組成物は、腫瘍、リンパ節または感染部位に直接注入してもよい。

【０４４３】

例示的な特定の態様において、対象は、白血球除去療法を受けてもよく、ここで、白血球は、ｅｘ　ｖｉｖｏで収集、濃縮、または除去され、目的の細胞、例えば、Ｔ細胞が選択及び／または単離される。これらのＴ細胞単離物は、当該技術分野において知られている方法によって増殖され、１つ以上の本発明のＴＦＰ構築物が導入され得るように処理され、これにより、本発明のＴＦＰ発現Ｔ細胞が作製され得る。それを必要とする対象は、その後、高用量の化学療法による標準治療と、それに続く末梢血幹細胞移植を受けることができる。特定の態様において、移植の後または移植と同時に、対象は、本発明の増殖されたＴＦＰ　Ｔ細胞の注入を受ける。更なる態様において、増殖された細胞は、手術の前または後に投与される。

【０４４４】

患者に施される上記治療の用量は、治療対象の状態の正確な性質及び治療のレシピエントによって変化する。ヒト投与に対する用量の増減は、当該分野で認められている慣行に従って行うことができる。例えば、アレムツズマブ（ＣＡＭＰＡＴＨ（登録商標））の用量は、一般に、成人患者に対して１～約１００ｍｇの範囲であり、通常、１～３０日間の期間にわたって毎日投与される。好ましい１日用量は、１～１０ｍｇ／日であるが、いくつかの場合において、４０ｍｇ／日までのより大きな用量が使用されてもよい（米国特許第６，１２０，７６６号に記載されている）。

【０４４５】

一実施形態において、ＴＦＰは、例えば、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写を使用してＴ細胞に導入され、対象（例えば、ヒト）は、本発明のＴＦＰ　Ｔ細胞の初回投与と、本発明のＴＦＰ　Ｔ細胞の１回以上の後続投与を受け、ここで１回以上の後続投与は、先の投与後１５日未満、例えば、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３または２日に行われる。一実施形態において、週当たり１回を超える本発明のＴＦＰ　Ｔ細胞の投与を対象（例えば、ヒト）に行い、例えば、週当たり２、３または４回の本発明のＴＦＰ　Ｔ細胞の投与がなされる。一実施形態において、対象（例えば、ヒト対象）は、週当たり１回を超えるＴＦＰ　Ｔ細胞の投与を受け（例えば、２、３または４回／週）（本明細書においてサイクルとも呼ばれる）、続いて１週間はＴＦＰ　Ｔ細胞の投与を受けず、その後、１回以上のＴＦＰ　Ｔ細胞の追加投与（例えば、週当たり１回を超えるＴＦＰ　Ｔ細胞の投与）が対象になされる。別の実施形態において、対象（例えば、ヒト対象）は、１回を超えるサイクルのＴＦＰ　Ｔ細胞を受け、各サイクルの間隔は、１０、９、８、７、６、５、４、または３日未満である。一実施形態において、ＴＦＰ　Ｔ細胞は、週当たり３回投与するために１日おきに投与される。一実施形態において、本発明のＴＦＰ　Ｔ細胞は、少なくとも２、３、４、５、６、７、８週間またはそれ以上にわたって投与される。

【０４４６】

一態様において、腫瘍関連抗原ＴＦＰ　Ｔ細胞は、レンチウイルスなどのレンチウイルスウイルスベクターを使用して生成される。当該方法で生成されたＴＦＰ－Ｔ細胞は、安定したＴＦＰ発現を有する。

【０４４７】

一態様において、ＴＦＰ　Ｔ細胞は、形質導入後、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５日間、ＴＦＰベクターを一過性に発現する。ＴＦＰの一過性発現は、ＲＮＡ　ＴＦＰベクターの送達によって生じさせることができる。一態様において、ＴＦＰ　ＲＮＡは、エレクトロポレーションによって、Ｔ細胞に形質導入される。

【０４４８】
一過性発現ＴＦＰ　Ｔ細胞（特に、マウスｓｃＦｖを担持するＴＦＰ　Ｔ細胞）を使用して治療される患者において生じ得る潜在的な問題は、複数回治療後のアナフィラキシーである。
【０４４９】
本理論に束縛されるものではないが、かかるアナフィラキシー応答は、体液性抗ＴＦＰ応答、すなわち、抗ＩｇＥアイソタイプを有する抗ＴＦＰ抗体を発生している患者で引き起こされる可能性があると考えられている。患者の抗体産生細胞は、抗原への曝露が１０～１４日の間中断されると、ＩｇＧアイソタイプ（アナフィラキシーを引き起こさないもの）からＩｇＥアイソタイプへのクラススイッチを受けると思われる。
【０４５０】
一過性ＴＦＰ療法（ＲＮＡ形質導入によって生じるものなど）の過程で、患者が抗ＴＦＰ抗体応答を起こすリスクが高い場合、ＴＦＰ　Ｔ細胞注入の中断は、１０～１４日間を超えるべきではない。
【実施例】
【０４５１】
以下の実験的な実施例を参照しながら、本発明を更に詳述する。これらの実施例は、例示のみを目的に提供されるものであり、特に指定されない限り、限定を意図しない。したがって、本発明は、以下の実施例に限定されると解釈されるものではなく、本明細書で提供される教示の結果として明らかになる、ありとあらゆる変形を包含すると解釈されるものとする。当業者であれば、更なる説明なく、前述の説明及び以下の例示的な実施例を使用して、本発明の化合物を作製及び利用することができ、特許請求される方法を実施することができると考えられる。以下の実施例は、本発明の様々な態様を具体的に指摘するものであり、本開示の残余の部分を限定するものとして理解されるべきではない。
【０４５２】
実施例１：ＴＦＰ構築物
抗ＴＡＡ　ＴＦＰ構築物は、短いリンカー（ＳＬ）：ＡＡＡＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥ（配列番号２）または長いリンカー（ＬＬ）：ＡＡＡＩＥＶＭＹＰＰＰＹＬＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥ（配列番号３）のいずれかをコードするＤＮＡ配列によって、ＣＤ３またはＴＣＲ　ＤＮＡ断片に連結された１つ以上の抗ＴＡＡ　ｓｃＦｖ　ＤＮＡ断片またはＣＤ１６断片を、例えば、ＸｂａＩ及びＥｃｏＲ１部位でｐ５１０ベクター（（Ｓｙｓｔｅｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ（ＳＢＩ））にクローニングすることによって作製する。ＣＡＲ構築物は、抗ＴＡＡ抗体（例えば、ＮＫＧ２Ｄまたは抗ＲＯＲ１）、部分的なＣＤ２８細胞外ドメイン、ＣＤ２８膜貫通ドメイン、ＣＤ２８細胞内ドメイン及びＣＤ３ゼータをコードする合成ＤＮＡを、例えば、ＸｂａＩ及びＥｃｏＲ１部位でｐ５１０ベクターにクローニングすることによって作製する。本明細書で開示されるＣＤ３ε　ＴＦＰ構築物は、完全配列（配列番号４）を基準にしてＮ末端が切断されている配列番号９７に記載の配列を含む。
【０４５３】
抗ＲＯＲ１、ＮＫＧ２Ｄなど。ＴＦＰは、上記のとおりに作製される。例えば、作製する抗ＲＯＲ１ＴＦＰ構築物は、ｐ５１０＿抗ＲＯＲ１＿ＬＬ＿ＴＣＲα（抗ＲＯＲ１　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒト完全長Ｔ細胞受容体α鎖）、ｐ５１０＿抗ＲＯＲ１＿ＬＬ＿ＴＣＲαＣ（抗ＲＯＲ１　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＴ細胞受容体α定常ドメイン鎖）、ｐ５１０＿抗ＲＯＲ１＿ＬＬ＿ＴＣＲβ（抗ＲＯＲ１　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒト完全長Ｔ細胞受容体β鎖）、ｐ５１０＿抗ＲＯＲ１＿ＬＬ＿ＴＣＲβＣ（抗ＲＯＲ１　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＴ細胞受容体β定常ドメイン鎖）、ｐ５１０＿抗ＲＯＲ１＿ＬＬ＿ＣＤ３γ（抗ＲＯＲ１　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＣＤ３γ鎖）、ｐ５１０＿抗ＲＯＲ１＿ＬＬ＿ＣＤ３（抗ＲＯＲ１　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＣＤ３鎖）、ｐ５１０＿抗ＲＯＲ１＿ＬＬ＿ＣＤ３ε（抗ＲＯＲ１　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＣＤ３ε鎖）、ｐ５１０＿抗ＲＯＲ１＿ＳＬ＿ＴＣＲβ（抗ＲＯＲ１　ｓｃＦｖ－短いリン

カー－ヒト完全長Ｔ細胞受容体β鎖）、ｐ５１０＿抗ＲＯＲ１＿ＳＬ＿ＣＤ３γ（抗ＲＯＲ１　ｓｃＦｖ－短いリンカー－ヒトＣＤ３γ鎖）、ｐ５１０＿抗ＲＯＲ１＿ＳＬ＿ＣＤ３（抗ＲＯＲ１　ｓｃＦｖ－短いリンカー－ヒトＣＤ３鎖）、ｐ５１０＿抗ＲＯＲ１＿ＳＬ＿ＣＤ３ε（抗ＲＯＲ１　ｓｃＦｖ－短いリンカー－ヒトＣＤ３ε鎖）である。

【０４５４】

抗ＲＯＲ１　ＣＡＲ構築物であるｐ５１０＿抗ＲＯＲ１＿２８ζは、抗ＲＯＲ１、部分的なＣＤ２８細胞外ドメイン、ＣＤ２８膜貫通ドメイン、ＣＤ２８細胞内ドメイン及びＣＤ３ゼータをコードする合成ＤＮＡを、ＸｂａＩ及びＥｃｏＲ１部位でｐ５１０ベクターにクローニングすることによって作製する。

【０４５５】

２つのｓｃＦｖが両方とも同じＴＣＲで発現される、二重特異性ＴＦＰ構築物を作製する。一実施形態において、第１の抗腫瘍抗原ｓｃＦｖ　ＤＮＡ断片は、ｐ５１０ベクター（（Ｓｙｓｔｅｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ（ＳＢＩ））にＸｂａＩ及びＥｃｏＲ１部位で、短いリンカー（ＳＬ）：ＡＡＡＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥまたは長いリンカー（ＬＬ）：ＡＡＡＩＥＶＭＹＰＰＰＹＬＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥのいずれかをコードするＤＮＡ配列によって、ＣＤ３またはＴＣＲ　ＤＮＡ断片に連結される。別の実施形態において、第２の抗腫瘍抗原ｓｃＦｖ　ＤＮＡ断片は、ＳＬまたはＬＬによって、第１の抗腫瘍抗原断片に作動可能に連結される。

【０４５６】

別の実施形態において、第１の発現構築物中、第１の抗腫瘍抗原ｓｃＦｖ　ＤＮＡ断片は、ＳＬまたはＬＬのいずれかをコードするＤＮＡ配列によって第１のＣＤ３またはＴＣＲ断片に連結され、第２の発現構築物中、第２の抗腫瘍抗原ｓｃＦｖ　ＤＮＡ断片は、ＳＬまたはＬＬのいずれかをコードするＤＮＡ配列によって第１のＣＤ３またはＴＣＲ断片に連結される。例えば、それぞれのウイルス発現構築物中、抗ＣＤ２０または抗ＣＤ２２抗原ｓｃＦｖ　ＤＮＡ断片は、ＣＤ３ε　ＤＮＡ断片に作動可能に連結され、抗ＣＤ１９ｓｃＦｖ　ＤＮＡ断片は、ＣＤ３γ　ｓｃＦｖ　ＤＮＡ断片に作動可能に連結される。ＣＤ３ε／ＣＤ３ε、ＣＤ３ε／ＣＤ３β、ＣＤ３ε／ＣＤ３δ、ＣＤ３ε／ＣＤ３αなどのＣＤ３サブユニットの任意の組み合わせを使用することができる。

【０４５７】

一実施形態において、両方のウイルス発現構築物を使用して、Ｔ細胞の同じ集団に形質導入することにより、Ｔ細胞の１つの集団が２つ以上の腫瘍関連抗原に特異的なＴＦＰを有するようにする。別の実施形態において、ウイルス発現構築物をそれぞれ使用して、Ｔ細胞の別個の集団に形質導入し、形質導入したＴ細胞の２つの集団を使用前に混合する。二重特異性Ｔ細胞集団を作製する例示的な戦略を図１Ａ及び１Ｂに示す。

【０４５８】

一実施形態において、抗腫瘍関連抗原ＣＡＲ構築物は、比較物として作製される。ｐ５１０＿抗腫瘍関連抗原＿２８ζ　ＣＡＲは、抗腫瘍関連抗原、部分的なＣＤ２８細胞外ドメイン、ＣＤ２８膜貫通ドメイン、ＣＤ２８細胞内ドメイン及びＣＤ３ゼータをコードする合成ＤＮＡを、ＸｂａＩ及びＥｃｏＲ１部位でｐ５１０ベクターにクローニングすることによって作製する。

【０４５９】

抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ構築物は、リンカー：ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥ（配列番号１）をコードするＤＮＡ配列によってＣＤ３　ＤＮＡ断片に連結された抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖ　ＤＮＡ断片を、ＸｂａＩ及びＥｃｏＲ１部位でｐ５１０ベクター（ＳＢＩ）にクローニングすることによって作製した。作製した抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ構築物は、ｐ５１０＿抗ＢＣＭＡ＿ＣＤ３γ（抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖ（またはV_HH）－リンカー－ヒトＣＤ３γ鎖）及びｐ５１０＿抗ＢＣＭＡ＿ＣＤ３ε（抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖ（またはV_HH）－リンカー－ヒトＣＤ３ε鎖）であった。

【０４６０】

完全長ＢＣＭＡを合成し、ｐ５１４（ＳＢＩ）にＢａｍＨＩ及びＮｈｅＩ部位でクロー

ニングして、構築物ｐ５１４＿ＢＣＭＡを作製し、これを使用して安定した標的細胞株を作製した。

【０４６１】

抗ＣＤ１９　ＴＦＰ構築物は、短いリンカー（ＳＬ）：ＡＡＡＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥ（配列番号２）または長いリンカー（ＬＬ）：ＡＡＡＩＥＶＭＹＰＰＰＹＬＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥ（配列番号３）のいずれかをコードするＤＮＡ配列によってＣＤ３またはＴＣＲ　ＤＮＡ断片に連結された抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ　ＤＮＡ断片を、ＸｂａＩ及びＥｃｏＲ１部位でｐ５１０ベクター（（Ｓｙｓｔｅｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ（ＳＢＩ））にクローニングすることによって作製した。

【０４６２】

作製した抗ＣＤ１９　ＴＦＰ構築物は、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＴＣＲα（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒト完全長Ｔ細胞受容体α鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＴＣＲαＣ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＴ細胞受容体α定常ドメイン鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＴＣＲβ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒト完全長Ｔ細胞受容体β鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＴＣＲβＣ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＴ細胞受容体β定常ドメイン鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＣＤ３γ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＣＤ３γ鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＣＤ３δ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＣＤ３δ鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＬＬ＿ＣＤ３ε（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－長いリンカー－ヒトＣＤ３ε鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＳＬ＿ＴＣＲβ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－短いリンカー－ヒト完全長Ｔ細胞受容体β鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＳＬ＿ＣＤ３γ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－短いリンカー－ヒトＣＤ３γ鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＳＬ＿ＣＤ３γ（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－短いリンカー－ヒトＣＤ３γ鎖）、ｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿ＳＬ＿ＣＤ３ε（抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ－短いリンカー－ヒトＣＤ３ε鎖）であった。

【０４６３】

抗ＣＤ１９　ＣＡＲ構築物であるｐ５１０＿抗ＣＤ１９＿２８ζは、抗ＣＤ１９、部分的なＣＤ２８細胞外ドメイン、ＣＤ２８膜貫通ドメイン、ＣＤ２８細胞内ドメイン及びＣＤ３ゼータをコードする合成ＤＮＡを、ＸｂａＩ及びＥｃｏＲ１部位でｐ５１０ベクターにクローニングすることによって作製した。

【０４６４】

抗ＢＣＭＡ、抗ＣＤ１９、抗ＣＡＩＸ及び抗ＦＡＰ構築物をコードする例示的な構築物の配列は、参照により本明細書に援用される同時係属の国際特許出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０１６／０３３４１６号に開示されている。

【０４６５】

抗ＣＤ２２　ＴＦＰ構築物は、短いリンカー（ＳＬ）：ＡＡＡＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥまたは長いリンカー（ＬＬ）：ＡＡＡＩＥＶＭＹＰＰＰＹＬＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥのいずれかをコードするＤＮＡ配列によってＣＤ３またはＴＣＲ　ＤＮＡ断片に連結された抗ＣＤ１９　ｓｃＦｖ　ＤＮＡ断片を、ＸｂａＩ及びＥｃｏＲ１部位でｐ５１０ベクター（（Ｓｙｓｔｅｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ（ＳＢＩ））にクローニングすることによって作製した。

【０４６６】

実施例２：抗体配列

抗体配列の生成

ヒトＴＡＡポリペプチド（複数可）に特異的に結合することができる抗体ポリペプチド及びその断片またはドメインを提供する。抗ＴＡＡ抗体は、様々な技術を使用して作製することができる（例えば、（Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ，１９９７）参照）。マウス抗ＴＡＡ抗体が出発材料として使用される場合、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）融合タンパク質（ＴＦＰ）治療、すなわち、ＴＦＰ．ＴＡＡ構築物を形質導入したＴ細胞による治療を受ける対象において、マウス特異的残基がヒト抗マウス抗原（ＨＡＭＡ）応答を誘起し得る

臨床環境では、マウス抗ＴＡＡ抗体のヒト化が望ましい。ヒト化は、マウス抗ＴＡＡ抗体由来のＣＤＲ領域を、適切なヒト生殖細胞系列のアクセプターフレームワークにグラフト化し、任意選択により、ＣＤＲ及び／またはフレームワーク領域に他の改変を含めることによって、達成される。本明細書で提供される場合、抗体及び抗体断片の残基ナンバリングは、Ｋａｂａｔに従う（Ｋａｂａｔ　Ｅ．Ａ．ｅｔ　ａｌ，１９９１；Ｃｈｏｔｈｉａ　ｅｔ　ａｌ，１９８７）。

【０４６７】

ヒトＢＣＭＡポリペプチドの標準配列は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｑ０２２２３である。ヒトＲＯＲ１ポリペプチドの標準配列は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｑ０１９７３－１である。ヒトＮＫＧ２Ｄポリペプチドの標準配列は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ２６７１８－１（アイソフォーム１）である。ヒトＩｇＧのＦｃ部分に特異的に結合することができるポリペプチド及びその断片またはドメインを提供する。

【０４６８】

ｓｃＦｖの作製

ヒトまたはヒト化抗ＴＡＡ　ＩｇＧを使用して、ＴＦＰ構築物のｓｃＦｖ配列を生成する。ヒトまたはヒト化V_L及びV_HドメインをコードするＤＮＡ配列を得、任意選択により、構築物のコドンをヒト由来の細胞での発現に最適化する。ｓｃＦｖ中に現れるV_L及びV_Hドメインの順序は様々であり（すなわち、V_L－V_HまたはV_H－V_Lの配向）、「Ｇ４Ｓ」または「G_4S」サブユニットの３つのコピー（G_4S）$_3$が、これらの可変ドメインを接続してｓｃＦｖドメインを生成する。抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖプラスミド構築物は、任意のＦｌａｇ、Ｈｉｓまたは他の親和性タグを有し得、これをＨＥＫ－２９３または他の好適なヒトもしくは哺乳動物細胞株にエレクトロポレーションし、精製する。検証アッセイには、ＦＡＣＳによる結合解析、Ｐｒｏｔｅｏｎを使用するカイネティクス解析及びＴＡＡ発現細胞の染色が含まれる。

【０４６９】

例示的な抗ＲＯＲ１のＶＬ及びＶＨドメイン、ＣＤＲならびにこれらをコードするヌクレオチド配列は、米国特許第９，３１６，６４６号、米国特許出願公開第２０１６／０２０８０１８号及び国際特許公開第ＷＯ２０１６０１６３４４号に記載されているものであってよく、これらの各々は、その全体が参照により本明細書に援用される。他の例示的な抗ＲＯＲ１のＶＬ及びＶＨドメイン、ＣＤＲならびにこれらをコードするヌクレオチド配列は、それぞれ、次のモノクローナル抗体：マウス抗ＲＯＲ１抗体２Ｈ６、マウス抗ＲＯＲ１抗体２Ａ２、ならびに次のポリクローナル抗体：抗ＲＯＲ１ヤギ抗ＲＯＲ１抗体カタログ番号：ＡＦ２０００（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）、抗体番号ＡＢＩＮ２８６９４３７、マウス抗ＲＯＲ１抗体番号ＡＢＩＮ９６９３８５、抗ＲＯＲ１抗体番号ＡＢＩＮ１１０８８９３、及びウサギポリクローナル抗ＲＯＲ１抗体カタログ番号ＡＢＩＮ３５９９２９（Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ　Ｏｎｌｉｎｅ）のものであってよい。

【０４７０】

例示的な抗ＢＭＣＡ及び抗ＣＤ１９抗体は、同時係属の国際特許公開第ＷＯ／２０１６／１８７３４９号に開示されており、参照により本明細書に援用される。例示的な抗ＢＭＣＡ及び抗ＣＤ１９のV_L及びV_HドメインのＣＤＲならびにこれらをコードするヌクレオチド配列を以下にそれぞれ示す。

【０４７１】

ＣＤ１６結合因子

いくつかの実施形態において、本明細書で開示されるＣＤ１６　ＴＦＰは、配列番号２３に記載されるアミノ酸配列を含む。他の実施形態において、本明細書で開示されるＣＤ１６　ＴＦＰは、配列番号１０６に記載されるように、ＣＤ１６の細胞外ドメインのみを含む。

【０４７２】

抗ＲＯＲ１

いくつかの実施形態において、本明細書で開示される抗体またはその断片は、ラクダ抗

体などの単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）を含む。一実施形態において、本明細書で開示されるＴＦＰ構築物に使用される抗ＲＯＲ１　ｓｄＡｂは、配列番号８０～９６のいずれかによってコードされる。他の実施形態において、抗ＲＯＲ１抗体またはその断片は、ｓｃＦｖである。例示的な抗ＲＯＲ１結合因子は、配列番号６５によってコードされ、ｓｃＦｖ「２－７」をＶＨ＿リンカー＿ＶＬの配向でコードする。別の例示的な結合因子は、配列番号６９によってコードされ、ｓｃＦｖ「２－９」をＶＨ＿リンカー＿ＶＬの配向でコードする。別の例示的な結合因子は、配列番号７９によってコードされ、ｓｃＦｖ「３－６」をＶＬ＿リンカー＿ＶＨの配向でコードする。

【０４７３】

ＮＫＧ２Ｄリガンド（ＮＫＧ２ＤＬ）のＮＫＧ２Ｄ結合因子

いくつかの実施形態において、ＮＫＧ２ＤＬ結合因子は、単量体であり、例えば、配列番号１０７に記載される配列によってコードされるものである。他の実施形態において、ＮＫＧ２ＤＬ結合因子は、二量体であり、例えば、配列番号１０８に記載される配列によってコードされるものである。

【０４７４】

抗ＣＤ１９

抗ＣＤ１９軽鎖ＣＤＲ１

コーディング配列：ＡＧＧＧＣＡＡＧＴＣＡＧＧＡＣＡＴＴＡＧＴＡＡＡ（配列番号２５）

アミノ酸配列：ＲＡＳＱＤＩＳＫ（配列番号２６）

【０４７５】

抗ＣＤ１９軽鎖ＣＤＲ２

コーディング配列：ＡＴＣＴＡＣＣＡＴＡＣＡＴＣＡＡＧＡＴＴＡ（配列番号２７）

アミノ酸配列：ＩＹＨＴＳＲＬ（配列番号２８）

【０４７６】

抗ＣＤ１９軽鎖ＣＤＲ３

コーディング配列：ＣＡＡＣＡＧＧＧＴＡＡＴＡＣＧＣＴＴＣＣＧＴＡＣＡＣＧ（配列番号２９）

アミノ酸配列：ＱＱＧＮＴＬＰＹＴ（配列番号３０）

【０４７７】

抗ＣＤ１９重鎖ＣＤＲ１

コーディング配列：ＧＧＧＧＴＣＴＣＡＴＴＡＣＣＣＧＡＣＴＡＴＧＧＴＧＴＡＡＧＣ（配列番号３１）

アミノ酸配列：ＧＶＳＬＰＤＹＧＶＳ（配列番号３２）

【０４７８】

抗ＣＤ１９重鎖ＣＤＲ２

コーディング配列：ＧＴＡＡＴＡＴＧＧＧＧＴＡＧＴＧＡＡＡＣＣＡＣＡＴＡＣＴＡＴＡＡＴＴＣＡＧＣＴＣＴＣ（配列番号３３）

アミノ酸配列：ＶＩＷＧＳＥＴＴＹＹＮＳＡＬ（配列番号３４）

【０４７９】

抗ＣＤ１９重鎖ＣＤＲ３

コーディング配列：ＣＡＴＴＡＴＴＡＣＴＡＣＧＧＴＧＧＴＡＧＣＴＡＴＧＣＴＡＴＧＧＡＣＴＡＣ（配列番号３５）

アミノ酸配列：ＨＹＹＹＧＧＳＹＡＭＤＹ（配列番号３６）

【０４８０】

抗ＣＤ１９軽鎖可変領域

コーディング配列：ＧＡＣＡＴＣＣＡＧＡＴＧＡＣＡＣＡＧＡＣＴＡＣＡＴＣＣＴＣＣＣＴＧＴＣＴＧＣＣＴＣＴＣＴＧＧＧＡＧＡＣＡＧＡＧＴＣＡＣＣＡＴＣＡＧＴＴＧＣＡＧＧＧＣＡＡＧＴＣＡＧＧＡＣＡＴＴＡＧＴＡＡＡＴＡＴＴＴＡＡＡＴＴＧＧＴＡＴＣＡＧＣＡＧＡＡＡＣＣＡＧＡＴＧＧＡＡＣＴＧＴＴＡＡＡＣＴＣＣＴＧＡＴＣＴＡＣＣＡＴＡＣＡＴＣＡＡＧＡＴＴＡＣＡＣＴＣＡＧＧＡＧＴＣＣＣＡＴＣＡＡＧＧＴＴＣＡＧＴＧＧ

ＣＡＧＴＧＧＧＴＣＴＧＧＡＡＣＡＧＡＴＴＡＴＴＣＴＣＴＣＡＣＣＡＴＴＡＧＣＡＡＣ
ＣＴＧＧＡＧＣＡＡＧＡＡＧＡＴＡＴＴＧＣＣＡＣＴＴＡＣＴＴＴＴＧＣＣＡＡＣＡＧＧ
ＧＴＡＡＴＡＣＧＣＴＴＣＣＧＴＡＣＡＣＧＴＴＣＧＧＡＧＧＧＧＧＧＡＣＴＡＡＧＴＴ
ＧＧＡＡＡＴＡＡＣＡ（配列番号３７）
アミノ酸配列：ＤＩＱＭＴＱＴＴＳＳＬＳＡＳＬＧＤＲＶＴＩＳＣＲＡＳＱＤＩＳＫＹＬ
ＮＷＹＱＱＫＰＤＧＴＶＫＬＬＩＹＨＴＳＲＬＨＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＹＳＬ
ＴＩＳＮＬＥＱＥＤＩＡＴＹＦＣＱＱＧＮＴＬＰＹＴＦＧＧＧＴＫＬＥＩＴ（配列番号３
８）
【０４８１】
抗ＣＤ１９重鎖可変領域
コーディング配列：ＧＡＧＧＴＧＡＡＡＣＴＧＣＡＧＧＡＧＴＣＡＧＧＡＣＣＴＧＧＣＣ
ＴＧＧＴＧＧＣＧＣＣＣＴＣＡＣＡＧＡＧＣＣＴＧＴＣＣＧＴＣＡＣＡＴＧＣＡＣＴＧＴ
ＣＴＣＡＧＧＧＧＴＣＴＣＡＴＴＡＣＣＣＧＡＣＴＡＴＧＧＴＧＴＡＡＧＣＴＧＧＡＴＴ
ＣＧＣＣＡＧＣＣＴＣＣＡＣＧＡＡＡＧＧＧＴＣＴＧＧＡＧＴＧＧＣＴＧＧＧＡＧＴＡＡ
ＴＡＴＧＧＧＧＴＡＧＴＧＡＡＡＣＣＡＣＡＴＡＣＴＡＴＡＡＴＴＣＡＧＣＴＣＴＣＡＡ
ＡＴＣＣＡＧＡＣＴＧＡＣＣＡＴＣＡＴＣＡＡＧＧＡＣＡＡＣＴＣＣＡＡＧＡＧＣＣＡＡ
ＧＴＴＴＴＣＴＴＡＡＡＡＡＴＧＡＡＣＡＧＴＣＴＧＣＡＡＡＣＴＧＡＴＧＡＣＡＣＡＧ
ＣＣＡＴＴＴＡＣＴＡＣＴＧＴＧＣＣＡＡＡＣＡＴＴＡＴＴＡＣＴＡＣＧＧＴＧＧＴＡＧ
ＣＴＡＴＧＣＴＡＴＧＧＡＣＴＡＣＴＧＧＧＧＴＣＡＡＧＧＡＡＣＣＴＣＡＧＴＣＡＣＣ
ＧＴＣＴＣＣＴＣＡ（配列番号３９）
アミノ酸配列：ＥＶＫＬＱＥＳＧＰＧＬＶＡＰＳＱＳＬＳＶＴＣＴＶＳＧＶＳＬＰＤＹＧ
ＶＳＷＩＲＱＰＰＲＫＧＬＥＷＬＧＶＩＷＧＳＥＴＴＹＹＮＳＡＬＫＳＲＬＴＩＩＫＤＮ
ＳＫＳＱＶＦＬＫＭＮＳＬＱＴＤＤＴＡＩＹＹＣＡＫＨＹＹＹＧＧＳＹＡＭＤＹＷＧＱＧ
ＴＳＶＴＶＳＳ（配列番号４０）
【０４８２】
抗ＢＣＭＡ
抗ＢＣＭＡ軽鎖ＣＤＲ１
コーディング配列：ＡＡＡＡＧＣＡＧＣＣＡＧＡＧＣＣＴＧＧＴＧＣＡＴＡＧＣＡＡＣＧ
ＧＣＡＡＣＡＣＣＴＡＴＣＴＧＣＡＴ（配列番号４１）
アミノ酸配列：ＫＳＳＱＳＬＶＨＳＮＧＮＴＹＬＨ（配列番号４２）
【０４８３】
抗ＢＣＭＡ軽鎖ＣＤＲ２
コーディング配列：ＡＡＡＧＴＧＡＧＣＡＡＣＣＧＣＴＴＴＡＧＣ（配列番号４３）
アミノ酸配列：ＫＶＳＮＲＦＳ（配列番号４４）
【０４８４】
抗ＢＣＭＡ軽鎖ＣＤＲ３
コーディング配列：ＧＣＧＧＡＡＡＣＣＡＧＣＣＡＴＧＴＧＣＣＧＴＧＧＡＣＣ（配列番
号４５）
アミノ酸配列：ＡＥＴＳＨＶＰＷＴ（配列番号４６）
【０４８５】
抗ＢＣＭＡ重鎖ＣＤＲ１
コーディング配列：ＡＡＡＧＣＧＡＧＣＧＧＣＴＡＴＡＧＣＴＴＴＣＣＧＧＡＴＴＡＴＴ
ＡＴＡＴＴＡＡＣ（配列番号４７）
アミノ酸配列：ＫＡＳＧＹＳＦＰＤＹＹＩＮ（配列番号４８）
【０４８６】
抗ＢＣＭＡ重鎖ＣＤＲ２
コーディング配列：ＴＧＧＡＴＴＴＡＴＴＴＴＧＣＧＡＧＣＧＧＣＡＡＣＡＧＣＧＡＡＴ
ＡＴＡＡＣＣＡＧＡＡＡＴＴＴＡＣＣＧＧＣ（配列番号４９）
アミノ酸配列：ＷＩＹＦＡＳＧＮＳＥＹＮＱＫＦＴＧ（配列番号５０）
【０４８７】

抗ＢＣＭＡ重鎖ＣＤＲ３
コーディング配列：ＣＴＧＴＡＴＧＡＴＴＡＴＧＡＴＴＧＧＴＡＴＴＴＴＧＡＴＧＴＧ（配列番号５１）
アミノ酸配列：ＬＹＤＹＤＷＹＦＤＶ（配列番号５２）
【０４８８】
抗ＢＣＭＡ重鎖可変領域
コーディング配列：ＣＡＧＧＴＧＣＡＧＣＴＧＧＴＧＣＡＧＡＧＣＧＧＣＧＣＧＧＡＡＧ
ＴＧＡＡＡＡＡＡＣＣＧＧＧＣＧＣＧＡＧＣＧＴＧＡＡＡＧＴＧＡＧＣＴＧＣＡＡＡＧＣ
ＧＡＧＣＧＧＣＴＡＴＡＧＣＴＴＴＣＣＧＧＡＴＴＡＴＴＡＴＡＴＴＡＡＣＴＧＧＧＴＧ
ＣＧＣＣＡＧＧＣＧＣＣＧＧＧＣＣＡＧＧＧＣＣＴＧＧＡＡＴＧＧＡＴＧＧＧＣＴＧＧＡ
ＴＴＴＡＴＴＴＴＧＣＧＡＧＣＧＧＣＡＡＣＡＧＣＧＡＡＴＡＴＡＡＣＣＡＧＡＡＡＴＴ
ＴＡＣＣＧＧＣＣＧＣＧＴＧＡＣＣＡＴＧＡＣＣＣＧＣＧＡＴＡＣＣＡＧＣＡＧＣＡＧＣ
ＡＣＣＧＣＧＴＡＴＡＴＧＧＡＡＣＴＧＡＧＣＡＧＣＣＴＧＣＧＣＡＧＣＧＡＡＧＡＴＡ
ＣＣＧＣＧＧＴＧＴＡＴＴＴＴＴＧＣＧＣＧＡＧＣＣＴＧＴＡＴＧＡＴＴＡＴＧＡＴＴＧ
ＧＴＡＴＴＴＴＧＡＴＧＴＧＴＧＧＧＧＣＣＡＧＧＧＣＡＣＣＡＴＧＧＴＧＡＣＣＧＴＧ
ＡＧＣＡＧＣ（配列番号５３）
アミノ酸配列：ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＳＦＰＤＹＹ
ＩＮＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＷＩＹＦＡＳＧＮＳＥＹＮＱＫＦＴＧＲＶＴＭＴＲＤ
ＴＳＳＳＴＡＹＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＦＣＡＳＬＹＤＹＤＷＹＦＤＶＷＧＱＧＴ
ＭＶＴＶＳＳ（配列番号５４）
【０４８９】
抗ＢＣＭＡ軽鎖可変領域
コーディング配列：ＧＡＴＡＴＴＧＴＧＡＴＧＡＣＣＣＡＧＡＣＣＣＣＧＣＴＧＡＧＣＣ
ＴＧＡＧＣＧＴＧＡＣＣＣＣＧＧＧＣＧＡＡＣＣＧＧＣＧＡＧＣＡＴＴＡＧＣＴＧＣＡＡ
ＡＡＧＣＡＧＣＣＡＧＡＧＣＣＴＧＧＴＧＣＡＴＡＧＣＡＡＣＧＧＣＡＡＣＡＣＣＴＡＴ
ＣＴＧＣＡＴＴＧＧＴＡＴＣＴＧＣＡＧＡＡＡＣＣＧＧＧＣＣＡＧＡＧＣＣＣＧＣＡＧＣ
ＴＧＣＴＧＡＴＴＴＡＴＡＡＡＧＴＧＡＧＣＡＡＣＣＧＣＴＴＴＡＧＣＧＧＣＧＴＧＣＣ
ＧＧＡＴＣＧＣＴＴＴＡＧＣＧＧＣＡＧＣＧＧＣＡＧＣＧＧＣＧＣＧＧＡＴＴＴＴＡＣＣ
ＣＴＧＡＡＡＡＴＴＡＧＣＣＧＣＧＴＧＧＡＡＧＣＧＧＡＡＧＡＴＧＴＧＧＧＣＧＴＧＴ
ＡＴＴＡＴＴＧＣＧＣＧＧＡＡＡＣＣＡＧＣＣＡＴＧＴＧＣＣＧＴＧＧＡＣＣＴＴＴＧＧ
ＣＣＡＧＧＧＣＡＣＣＡＡＡＣＴＧＧＡＡＡＴＴＡＡＡＡＧＣ（配列番号５５）
アミノ酸配列：ＤＩＶＭＴＱＴＰＬＳＬＳＶＴＰＧＥＰＡＳＩＳＣＫＳＳＱＳＬＶＨＳＮ
ＧＮＴＹＬＨＷＹＬＱＫＰＧＱＳＰＱＬＬＩＹＫＶＳＮＲＦＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧ
ＡＤＦＴＬＫＩＳＲＶＥＡＥＤＶＧＶＹＹＣＡＥＴＳＨＶＰＷＴＦＧＱＧＴＫＬＥＩＫＳ
（配列番号５６）
【０４９０】
抗ＣＤ２２の例示的な配列
抗ＣＤ２２軽鎖ＣＤＲ１
アミノ酸配列：ＱＤＩＨＧＹ（配列番号５７）
【０４９１】
抗ＣＤ２２軽鎖ＣＤＲ２
アミノ酸配列：ＹＴＳ（配列番号５８）
【０４９２】
抗ＣＤ２２軽鎖ＣＤＲ３
アミノ酸配列：ＱＱＧＮＴＬＰＷＴ（配列番号５９）
【０４９３】
抗ＣＤ２２重鎖ＣＤＲ１
アミノ酸配列：ＧＦＡＦＳＩＹＤ（配列番号６０）
【０４９４】
抗ＣＤ２２重鎖ＣＤＲ２

アミノ酸配列：ＩＳＳＧＧＧＴＴ（配列番号６１）
【０４９５】
抗ＣＤ２２重鎖ＣＤＲ３
アミノ酸配列：ＡＲＨＳＧＹＧＴＨＷＧＶＬＦＡＹ（配列番号６２）
【０４９６】
抗ＣＤ２２軽鎖可変領域
アミノ酸配列：ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＫＰＧＧＳＬＫＬＳＣＡＡＳＧＦＡＦＳＩＹＤ
ＭＳＷＶＲＱＴＰＥＫＲＬＥＷＶＡＹＩＳＳＧＧＧＴＴＹＹＰＤＴＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤ
ＮＡＫＮＴＬＹＬＱＭＳＳＬＫＳＥＤＴＡＭＹＹＣＡＲＨＳＧＹＧＴＨＷＧＶＬＦＡＹＷ
ＱＧＴＬＶＴＶＳＡ（配列番号６３）
【０４９７】
抗ＣＤ２２重鎖可変領域
アミノ酸配列：ＧＧＳＬＡＡＬＴＡＨＱＡＣＨＬＰＬＥＴＦＴＲＨＲＱＰＲＧＷＥＱＬＥ
ＱＣＧＹＰＶＱＲＬＶＡＬＹＬＡＡＲＬＳＷＮＱＶＤＱＶＩＲＮＡＬＡＳＰＧＳＧＧＤＬ
ＧＥＡＩＲＥＱＰＥＱＡＲＬＡＬＴＬＡＡＡＥＳＥＲＦＶＲＱＧＴＧＮＤＥＡＧＡＡＮＧ
ＰＡＤＳＧＤＡＬＬＥＲＮＹＰＴＧＡＥＦＬＧＤＧＧＤＶＳＦＳＴＲＧＴＱＮＷＴＶＥＲ
ＬＬＱＡＨＲＱＬＥＥＲＧＹＶＦＶＧＹＨＧＴＦＬＥＡＡＱＳＩＶＦＧＧＶＲＡＲＳＱＤ
ＬＤＡＩＷＲＧＦＹＩＡＧＤＰＡＬＡＹＧＹＡＱＤＱＥＰＤＡＡＧＲＩＲＮＧＡＬＬＲＶ
ＹＶＰＲＳＳＬＰＧＦＹＲＴＳＬＴＬＡＡＰＥＡＡＧＥＶＥＲＬＩＧＨＰＬＰＬＲＬＤＡ
ＩＴＧＰＥＥＥＧＧＲＬＥＴＩＬＧＷＰＬＡＥＲＴＶＶＩＰＳＡＩＰＴＤＰＲＮＶＧＧＤ
ＬＤＰＳＳＩＰＤＫＥＱＡＩＳＡＬＰＤＹＡＳＱＰＧＫＰＰＲＥＤＬＫ（配列番号６４）
【０４９８】
ＴＣＲサブユニット源
ヒトＴ細胞受容体（ＴＣＲ）複合体のサブユニットは全て、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含有する。ヒトＴＣＲ複合体は、ＣＤ３イプシロンポリペプチド、ＣＤ３ガンマポリペプチド、ＣＤ３デルタポリペプチド、ＣＤ３ゼータポリペプチド、ＴＣＲアルファ鎖ポリペプチド及びＴＣＲベータ鎖ポリペプチドを含有する。ヒトＣＤ３イプシロンポリペプチドの標準配列は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ０７７６６である。ヒトＣＤ３ガンマポリペプチドの標準配列は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ０９６９３である。ヒトＣＤ３デルタポリペプチドの標準配列は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ０４３２３４である。ヒトＣＤ３ゼータポリペプチドの標準配列は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ２０９６３である。ヒトＴＣＲアルファ鎖の標準配列は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｑ６ＩＳＵ１である。ヒトＴＣＲベータ鎖Ｃ領域の標準配列は、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ０１８５０であり、ヒトＴＣＲベータ鎖Ｖ領域の配列は、Ｐ０４４３５である。
【０４９９】
ヒトＣＤ３イプシロンポリペプチドの標準配列は、ＭＱＳＧＴＨＷＲＶＬＧＬＣＬＬＳ
ＶＧＶＷＧＱＤＧＮＥＥＭＧＧＩＴＱＴＰＹＫＶＳＩＳＧＴＴＶＩＬＴＣＰＱＹＰＧＳＥ
ＩＬＷＱＨＮＤＫＮＩＧＧＤＥＤＤＫＮＩＧＳＤＥＤＨＬＳＬＫＥＦＳＥＬＥＱＳＧＹＹ
ＶＣＹＰＲＧＳＫＰＥＤＡＮＦＹＬＹＬＲＡＲＶＣＥＮＣＭＥＭＤＶＭＳＶＡＴＩＶＩＶ
ＤＩＣＩＴＧＧＬＬＬＬＶＹＹＷＳＫＮＲＫＡＫＡＫＰＶＴＲＧＡＧＡＧＧＲＱＲＧＱＮ
ＫＥＲＰＰＰＶＰＮＰＤＹＥＰＩＲＫＧＱＲＤＬＹＳＧＬＮＱＲＲＩ（配列番号４）である。一実施形態において、ＴＦＰにおいて使用されるヒトＣＤ３イプシロン断片は、ＤＧ
ＮＥＥＭＧＧＩＴＱＴＰＹＫＶＳＩＳＧＴＴＶＩＬＴＣＰＱＹＰＧＳＥＩＬＷＱＨＮＤＫ
ＮＩＧＧＤＥＤＤＫＮＩＧＳＤＥＤＨＬＳＬＫＥＦＳＥＬＥＱＳＧＹＹＶＣＹＰＲＧＳＫ
ＰＥＤＡＮＦＹＬＹＬＲＡＲＶＣＥＮＣＭＥＭＤＶＭＳＶＡＴＩＶＩＶＤＩＣＩＴＧＧＬ
ＬＬＬＶＹＹＷＳＫＮＲＫＡＫＡＫＰＶＴＲＧＡＧＡＧＧＲＱＲＧＱＮＫＥＲＰＰＰＶＰ
ＮＰＤＹＥＰＩＲＫＧＱＲＤＬＹＳＧＬＮＱＲＲＩ（配列番号９７）である。
【０５００】
ヒトＣＤ３ガンマポリペプチドの標準配列は、ＭＥＱＧＫＧＬＡＶＬＩＬＡＩＩＬＬＱ

ＧＴＬＡＱＳＩＫＧＮＨＬＶＫＶＹＤＹＱＥＤＧＳＶＬＬＴＣＤＡＥＡＫＮＩＴＷＦＫＤ
ＧＫＭＩＧＦＬＴＥＤＫＫＫＷＮＬＧＳＮＡＫＤＰＲＧＭＹＱＣＫＧＳＱＮＫＳＫＰＬＱ
ＶＹＹＲＭＣＱＮＣＩＥＬＮＡＡＴＩＳＧＦＬＦＡＥＩＶＳＩＦＶＬＡＶＧＶＹＦＩＡＧ
ＱＤＧＶＲＱＳＲＡＳＤＫＱＴＬＬＰＮＤＱＬＹＱＰＬＫＤＲＥＤＤＱＹＳＨＬＱＧＮＱ
ＬＲＲＮ（配列番号５）である。一実施形態において、ＴＦＰにおいて使用されるヒトＣ
Ｄ３ガンマ断片は、ＱＳＩＫＧＮＨＬＶＫＶＹＤＹＱＥＤＧＳＶＬＬＴＣＤＡＥＡＫＮＩ
ＴＷＦＫＤＧＫＭＩＧＦＬＴＥＤＫＫＫＷＮＬＧＳＮＡＫＤＰＲＧＭＹＱＣＫＧＳＱＮＫ
ＳＫＰＬＱＶＹＹＲＭＣＱＮＣＩＥＬＮＡＡＴＩＳＧＦＬＦＡＥＩＶＳＩＦＶＬＡＶＧＶ
ＹＦＩＡＧＱＤＧＶＲＱＳＲＡＳＤＫＱＴＬＬＰＮＤＱＬＹＱＰＬＫＤＲＥＤＤＱＹＳＨ
ＬＱＧＮＱＬＲＲＮ（配列番号１０７）である。

【０５０１】

ヒトＣＤ３デルタポリペプチドの標準配列は、ＭＥＨＳＴＦＬＳＧＬＶＬＡＴＬＬＳＱ
ＶＳＰＦＫＩＰＩＥＥＬＥＤＲＶＦＶＮＣＮＴＳＩＴＷＶＥＧＴＶＧＴＬＬＳＤＩＴＲＬ
ＤＬＧＫＲＩＬＤＰＲＧＩＹＲＣＮＧＴＤＩＹＫＤＫＥＳＴＶＱＶＨＹＲＭＣＱＳＣＶＥ
ＬＤＰＡＴＶＡＧＩＩＶＴＤＶＩＡＴＬＬＬＡＬＧＶＦＣＦＡＧＨＥＴＧＲＬＳＧＡＡＤ
ＴＱＡＬＬＲＮＤＱＶＹＱＰＬＲＤＲＤＤＡＱＹＳＨＬＧＧＮＷＡＲＮＫ（配列番号６）
である。一実施形態において、ＴＦＰにおいて使用されるヒトＣＤ３デルタ断片は、ＦＫ
ＩＰＩＥＥＬＥＤＲＶＦＶＮＣＮＴＳＩＴＷＶＥＧＴＶＧＴＬＬＳＤＩＴＲＬＤＬＧＫＲ
ＩＬＤＰＲＧＩＹＲＣＮＧＴＤＩＹＫＤＫＥＳＴＶＱＶＨＹＲＭＣＱＳＣＶＥＬＤＰＡＴ
ＶＡＧＩＩＶＴＤＶＩＡＴＬＬＬＡＬＧＶＦＣＦＡＧＨＥＴＧＲＬＳＧＡＡＤＴＱＡＬＬ
ＲＮＤＱＶＹＱＰＬＲＤＲＤＤＡＱＹＳＨＬＧＧＮＷＡＲＮＫ（配列番号１０８）である。

【０５０２】

ヒトＣＤ３ゼータポリペプチドの標準配列は、ＭＫＷＫＡＬＦＴＡＡＩＬＱＡＱＬＰＩ
ＴＥＡＱＳＦＧＬＬＤＰＫＬＣＹＬＬＤＧＩＬＦＩＹＧＶＩＬＴＡＬＦＬＲＶＫＦＳＲＳ
ＡＤＡＰＡＹＱＱＧＱＮＱＬＹＮＥＬＮＬＧＲＲＥＥＹＤＶＬＤＫＲＲＧＲＤＰＥＭＧＧ
ＫＰＱＲＲＫＮＰＱＥＧＬＹＮＥＬＱＫＤＫＭＡＥＡＹＳＥＩＧＭＫＧＥＲＲＲＧＫＧＨ
ＤＧＬＹＱＧＬＳＴＡＴＫＤＴＹＤＡＬＨＭＱＡＬＰＰＲ（配列番号７）である。一実施
形態において、ＴＦＰにおいて使用されるヒトＣＤ３ゼータ断片は、ＲＶＫＦＳＲＳＡＤ
ＡＰＡＹＱＱＧＱＮＱＬＹＮＥＬＮＬＧＲＲＥＥＹＤＶＬＤＫＲＲＧＲＤＰＥＭＧＧＫＰ
ＱＲＲＫＮＰＱＥＧＬＹＮＥＬＱＫＤＫＭＡＥＡＹＳＥＩＧＭＫＧＥＲＲＲＧＫＧＨＤＧ
ＬＹＱＧＬＳＴＡＴＫＤＴＹＤＡＬＨＭＱＡＬＰＰＲ（配列番号１０９）である。

【０５０３】

ヒトＴＣＲアルファ鎖の標準配列は、ＭＡＧＴＷＬＬＬＬＡＬＧＣＰＡＬＰＴＧＶＧ
ＧＴＰＦＰＳＬＡＰＰＩＭＬＬＶＤＧＫＱＱＭＶＶＶＣＬＶＬＤＶＡＰＰＧＬＤＳＰＩＷ
ＦＳＡＧＮＧＳＡＬＤＡＦＴＹＧＰＳＰＡＴＤＧＴＷＴＮＬＡＨＬＳＬＰＳＥＥＬＡＳＷ
ＥＰＬＶＣＨＴＧＰＧＡＥＧＨＳＲＳＴＱＰＭＨＬＳＧＥＡＳＴＡＲＴＣＰＱＥＰＬＲＧ
ＴＰＧＧＡＬＷＬＧＶＬＲＬＬＬＦＫＬＬＬＦＤＬＬＬＴＣＳＣＬＣＤＰＡＧＰＬＰＳＰ
ＡＴＴＴＲＬＲＡＬＧＳＨＲＬＨＰＡＴＥＴＧＧＲＥＡＴＳＳＰＲＰＱＰＲＤＲＲＷＧＤ
ＴＰＰＧＲＫＰＧＳＰＶＷＧＥＧＳＹＬＳＳＹＰＴＣＰＡＱＡＷＣＳＲＳＡＬＲＡＰＳＳ
ＳＬＧＡＦＦＡＧＤＬＰＰＰＬＱＡＧＡＡ（配列番号８）である。

【０５０４】

ヒトＴＣＲアルファ鎖Ｃ領域の標準配列は、ＰＮＩＱＮＰＤＰＡＶＹＱＬＲＤＳＫＳＳ
ＤＫＳＶＣＬＦＴＤＦＤＳＱＴＮＶＳＱＳＫＤＳＤＶＹＩＴＤＫＴＶＬＤＭＲＳＭＤＦＫ
ＳＮＳＡＶＡＷＳＮＫＳＤＦＡＣＡＮＡＦＮＮＳＩＩＰＥＤＴＦＦＰＳＰＥＳＳＣＤＶＫ
ＬＶＥＫＳＦＥＴＤＴＮＬＮＦＱＮＬＳＶＩＧＦＲＩＬＬＬＫＶＡＧＦＮＬＬＭＴＬＲＬ
ＷＳＳ（配列番号９）である。

【０５０５】

ヒトＴＣＲアルファ鎖Ｖ領域ＣＴＬ－Ｌ１７の標準配列は、ＭＡＭＬＬＧＡＳＶＬＩＬ
ＷＬＱＰＤＷＶＮＳＱＱＫＮＤＤＱＱＶＫＱＮＳＰＳＬＳＶＱＥＧＲＩＳＩＬＮＣＤＹＴ
ＮＳＭＦＤＹＦＬＷＹＫＫＹＰＡＥＧＰＴＦＬＩＳＩＳＳＩＫＤＫＮＥＤＧＲＦＴＶＦＬ

ＮＫＳＡＫＨＬＳＬＨＩＶＰＳＱＰＧＤＳＡＶＹＦＣＡＡＫＧＡＧＴＡＳＫＬＴＦＧＴＧＴＲＬＱＶＴＬ（配列番号１０）である。

【０５０６】

ヒトＴＣＲベータ鎖Ｃ領域の標準配列は、ＥＤＬＮＫＶＦＰＰＥＶＡＶＦＥＰＳＥＡＥＩＳＨＴＱＫＡＴＬＶＣＬＡＴＧＦＦＰＤＨＶＥＬＳＷＷＶＮＧＫＥＶＨＳＧＶＳＴＤＰＱＰＬＫＥＱＰＡＬＮＤＳＲＹＣＬＳＳＲＬＲＶＳＡＴＦＷＱＮＰＲＮＨＦＲＣＱＶＱＦＹＧＬＳＥＮＤＥＷＴＱＤＲＡＫＰＶＴＱＩＶＳＡＥＡＷＧＲＡＤＣＧＦＴＳＶＳＹＱＱＧＶＬＳＡＴＩＬＹＥＩＬＬＧＫＡＴＬＹＡＶＬＶＳＡＬＶＬＭＡＭＶＫＲＫＤＦ（配列番号１１）である。

【０５０７】

ヒトＴＣＲベータ鎖Ｖ領域のＣＴＬ－Ｌ１７標準配列は、ＭＧＴＳＬＬＣＷＭＡＬＣＬＬＧＡＤＨＡＤＴＧＶＳＱＮＰＲＨＮＩＴＫＲＧＱＮＶＴＦＲＣＤＰＩＳＥＨＮＲＬＹＷＹＲＱＴＬＧＱＧＰＥＦＬＴＹＦＱＮＥＡＱＬＥＫＳＲＬＬＳＤＲＦＳＡＥＲＰＫＧＳＦＳＴＬＥＩＱＲＴＥＱＧＤＳＡＭＹＬＣＡＳＳＬＡＧＬＮＱＰＱＨＦＧＤＧＴＲＬＳＩＬ（配列番号１２）である。

【０５０８】

ヒトＴＣＲベータ鎖Ｖ領域ＹＴ３５の標準配列は、ＭＤＳＷＴＦＣＣＶＳＬＣＩＬＶＡＫＨＴＤＡＧＶＩＱＳＰＲＨＥＶＴＥＭＧＱＥＶＴＬＲＣＫＰＩＳＧＨＮＳＬＦＷＹＲＱＴＭＭＲＧＬＥＬＬＩＹＦＮＮＮＶＰＩＤＤＳＧＭＰＥＤＲＦＳＡＫＭＰＮＡＳＦＳＴＬＫＩＱＰＳＥＰＲＤＳＡＶＹＦＣＡＳＳＦＳＴＣＳＡＮＹＧＹＴＦＧＳＧＴＲＬＴＶＶ（配列番号１３）である。

【０５０９】

ＴＣＲドメイン及びｓｃＦｖからのＴＦＰの作製

例示的な二重特異性ＴＦＰは、ＢＣＭＡ及びＣＤ１９に対する結合特異性を有するｓｃＦｖを含むＴＦＰである。別の例示的な二重特異性ＴＦＰは、ＢＣＭＡ及びＣＤ２０に対する結合特異性を有するｓｃＦｖを含むＴＦＰである。別の例示的な二重特異性ＴＦＰは、ＢＣＭＡ及びＣＤ２２に対する結合特異性を有するｓｃＦｖを含むＴＦＰである。別の例示的な二重特異性ＴＦＰは、ＣＤ１９及びＣＤ２２に対する結合特異性を有するｓｃＦｖを含むＴＦＰである。

【０５１０】

抗ＴＡＡ　ｓｃＦｖ（例えば、ＮＫＧ２Ｄ、ＲＯＲ１など）は、G_4S、（G_4S）$_2$（G_4S）$_3$または（G_4S）$_4$などのリンカー配列を使用して、ＣＤ３イプシロンまたは他のＴＣＲサブユニット（１Ｃ参照）に組み換えによって連結される。様々なリンカー及びｓｃＦｖの構造が使用される。ＴＦＰの作製には、ＴＣＲアルファ鎖及びＴＣＲベータ鎖を、完全長ポリペプチドまたはその定常ドメインのみのいずれかで使用する。ＴＣＲアルファ鎖及びＴＣＲベータ鎖の任意の可変配列がＴＦＰの作製に好適である。

【０５１１】

ＣＤ１９　ｓｃＦｖは、上に記載されるようなリンカー配列を使用して、第２のＣＤ３イプシロンまたは他のＴＣＲサブユニットに組み換えによって連結される。

【０５１２】

ＣＤ１６ペプチドは、G_4S、（G_4S）$_2$　（G_4S）$_3$または（G_4S）$_4$などのリンカー配列を使用して、ＣＤ３イプシロンまたは他のＴＣＲサブユニット（１Ｃ参照）に組み換えによって連結される。様々なリンカー及びｓｃＦｖの構造が利用される。ＴＦＰの作製には、ＴＣＲアルファ鎖及びＴＣＲベータ鎖を、完全長ポリペプチドまたはその定常ドメインのみのいずれかで使用した。ＴＣＲアルファ鎖及びＴＣＲベータ鎖の任意の可変配列がＴＦＰの作製を可能にする。

【０５１３】

ＴＦＰ発現ベクター

プロモーター（サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）エンハンサープロモーター）、分泌を可能にするシグナル配列、ポリアデニル化シグナル及び転写ターミネーター（ウシ成長ホ

ルモン（ＢＧＨ）遺伝子）、エピソーム複製及び原核生物での複製を可能にする要素（例えば、ＳＶ４０起点及びＣｏｌＥ１または当該技術分野において知られている他のもの）ならびに選択を可能にする要素（アンピシリン耐性遺伝子及びゼオシンマーカー）を含む、発現ベクターが提供される。

【０５１４】

好ましくは、ＴＦＰをコードする核酸構築物（複数可）は、１つ以上のレンチウイルス発現ベクターにクローニングされ、発現は、ＴＡＡ＋標的細胞に応答する形質導入Ｔ細胞のエフェクターＴ細胞応答の量及び質に基づいて評価される。エフェクターＴ細胞応答には、細胞拡大、増殖、倍増、サイトカイン産生及び標的細胞溶解または細胞溶解活性（すなわち、脱顆粒）が含まれるが、これらに限定されない。

【０５１５】

単一または二重特異性ＴＦＰレンチウイルス転移ベクターを使用して、ＶＳＶｇシュードタイプ化レンチウイルス粒子中にパッケージ化されるゲノム材料を生成する。レンチウイルス転移ベクターＤＮＡを、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ（登録商標）試薬と組み合わせて、ＶＳＶｇの３つのパッケージング成分ｇａｇ／ｐｏｌ及びｒｅｖと混合し、これらを一緒に２９３細胞にトランスフェクトする。２４時間後及び４８時間後、培地を回収し、濾過し、超遠心分離によって濃縮する。得られたウイルス調製物を－８０℃で保存する。形質導入単位の数は、ＳｕｐＴ１細胞（Ｔ細胞リンパ芽球性リンパ腫、（ＡＴＣＣ（登録商標）ＣＲＬ－１９４２（商標））での滴定によって決定される。再指向性二重特異性ＴＦＰ　Ｔ細胞は、新鮮なナイーブＴ細胞を抗ＣＤ３×抗ＣＤ２８ビーズで２４時間活性化し、次いで、適切な数の形質導入単位を加え、所望の割合の形質導入Ｔ細胞を得ることによって作製される。これらの改変Ｔ細胞を、細胞が休止してサイズが小さくなるまで増殖させ、この時点で、これらの細胞を後の分析のために凍結保存する。細胞の数及びサイズは、Ｃｏｕｌｔｅｒ　Ｃｏｕｎｔｅｒ（登録商標）Ｍｕｌｔｉｓｉｚｅｒ（商標）３（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ）を使用して測定する。凍結保存の前に、形質導入された細胞（細胞表面上にＴＦＰ．ＢＣＭＡを表現するもの）の割合及びその発現の相対的蛍光強度をフローサイトメトリー解析によって決定する。ヒストグラムプロットから、形質導入された割合とその相対的蛍光強度とを比較することによって、ＴＦＰの相対的発現レベルを調べる。

【０５１６】

いくつかの実施形態において、複数のウイルスベクターを用いたＴ細胞形質導入によって、複数のＴＦＰが導入される。

【０５１７】

ＣＤ１６ウイルス調製

ウイルス調製の力価が高ければ、Ｔ細胞表面上のＣＤ１６　ＴＦＰ発現がより高くなることが予測される。表１は、ＨＥＫ－２９３細胞から単離された様々な構築物のウイルス力価を示す。

【０５１８】

【表１】

表１．ＨＥＫ－２９３の力価の値

構築物	力価*
19CD3ε	7.29E+07
CD16 CD3ε	2.74E+07
CD16 CD3γ	8.37E+07
CD16 CD3δ	4.00E+07
CD16 CD28-CD3ζ	5.23E+07
CD16 41BB CD3ζ	5.21E+07
CD16 TCRβ	1.05E+08

*ｍｌ当たりの感染単位（ＩＦＵ／ｍｌ）

【０５１９】

ヒト化ＴＦＰ再指向性Ｔ細胞の細胞溶解活性、増殖能力及びサイトカイン分泌の評価

ＴＦＰ．ＴＡＡ　Ｔ細胞が、細胞表面上に発現されるＴＦＰを産生し、標的腫瘍細胞を殺傷し、増殖し、サイトカインを分泌する機能的能力は、当該技術分野において知られているアッセイを使用して決定される。

【０５２０】

ヒトＰＢＭＣ（例えば、正常なアフェレーシスドナー由来の血液であり、そのナイーブＴ細胞は、Ｔ細胞、ＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$リンパ球に対するネガティブ選択によって得られる）をヒトインターロイキン－２（ＩＬ－２）で処理し、次いで、抗ＣＤ３×抗ＣＤ２８ビーズにより、例えば、１０％ＲＰＭＩ中、３７℃、５％CO_2で活性化し、その後、ＴＦＰをコードするレンチウイルスベクターで形質導入する。フローサイトメトリーアッセイを利用して、例えば、抗ＦＬＡＧ抗体または抗マウス可変ドメイン抗体によって、細胞表面のＴＦＰの存在を確認する。サイトカイン（例えば、ＩＦＮ－γ）産生は、ＥＬＩＳＡまたは他のアッセイを使用して測定される。

【０５２１】

実施例３：ヒトＡＬＬマウスモデルにおけるヒトＴＦＰ　Ｔ細胞の有効性

初代ヒトＡＬＬ細胞は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで培養する必要なく、免疫不全マウス（例えば、ＮＳＧまたはＮＯＤ）で成長することができる。同様に、培養したヒトＡＬＬ細胞株は、かかるマウスで白血病を誘導することができる。ＡＬＬ担持マウスを使用して、例えば、モデルＨＡＬＬＸ５４４７において、ヒトＴＦＰ．ＴＡＡ　Ｔ細胞の有効性を試験することができる。このモデルで読み出す情報は、ＡＬＬ細胞の静脈内（ｉ．ｖ．）注入後における、ｉ．ｖ．投与されたヒトＴＦＰ．ＴＡＡ　Ｔ細胞の非存在及び存在下でのマウスの生存率である。

【０５２２】

実施例４：ｉｎ　ｖｉｖｏ固形腫瘍異種移植マウスモデルにおけるヒトＴＦＰ　Ｔ細胞治療

ヒトＴＦＰ．ＴＡＡ　Ｔ細胞の有効性はまた、ヒトＴＡＡを発現するヒト細胞株由来の皮下固形腫瘍を担持する免疫不全マウスモデルで試験することもできる。ヒトＴＦＰ．ＴＡＡ　Ｔ細胞治療に応答した腫瘍の縮小は、測径器による腫瘍サイズの測定によって、またはＧＦＰ発現腫瘍細胞によって放出されるＧＦＰ蛍光シグナルの強度を観察することのいずれかによって評価することができる。

【０５２３】

初代ヒト固形腫瘍細胞は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで培養する必要なく、免疫不全マウスで成長することができる。例示的な固形がん細胞としては、Ｔｈｅ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｇｅｎｏｍｅ　Ａｔｌａｓ（ＴＣＧＡ）及び／またはＢｒｏａｄ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｃｅｌｌ　Ｌｉｎｅ　Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ（ＣＣＬＥ、Ｂａｒｒｅｔｉｎａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ

４８３：６０３（２０１２）参照）に示される固形腫瘍細胞株が挙げられる。例示的な固形がん細胞としては、中皮腫、腎細胞癌、胃癌、乳癌、肺癌、卵巣癌、前立腺癌、結腸癌、子宮頸癌、脳癌、肝癌、膵癌、腎癌、子宮内膜癌、または胃癌から単離された初代腫瘍細胞が挙げられる。いくつかの実施形態において、治療対象のがんは、中皮腫、乳頭状漿液性卵巣腺癌、卵巣明細胞癌、卵巣ミュラー管混合癌、子宮内膜粘液性卵巣癌、膵腺癌、膵管腺癌、子宮体部漿液性癌、肺腺癌、肝外胆管癌、胃腺癌、食道腺癌、結腸直腸腺癌及び乳腺癌からなる群から選択される。これらのマウスを使用して、ヒト腫瘍異種移植モデルにおけるＴＦＰ．腫瘍関連抗原Ｔ細胞の有効性を試験することができる（例えば、Ｍｏｒｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｐｒｏｃｏｌ．２：２４７（２００７）参照）。１×１０^{6}～１×１０^{7}個の初代細胞（コラゲナーゼ処理したＥＣマトリックス材料中バルク腫瘍懸濁物）または腫瘍断片（ＥＣマトリックス材料中の初代腫瘍断片）の皮下移植または皮下注射後、腫瘍を２００～５００mm^{3}になるまで成長させてから治療を開始する。

【０５２４】

実施例５：ＴＦＰを形質導入したＴ細胞の調製

レンチウイルス作製

適切な構築物をコードするレンチウイルスを以下のように調製する。５×１０^{6}個のＨＥＫ－２９３ＦＴ細胞を１００mmのディッシュに播種し、７０～９０％コンフルエントに達するまで一晩置く。指定のＤＮＡプラスミド２．５μｇ及び２０μＬのＬｅｎｔｉｖｉｒｕｓ Ｐａｃｋａｇｉｎｇ Ｍｉｘ（ＡＬＳＴＥＭ、カタログ番号ＶＰ１００）を、０．５mＬの血清を含まないＤＭＥＭまたはＯｐｔｉ－ＭＥＭ（登録商標）Ｉ Ｍｅｄｉｕｍに希釈し、緩やかに混合する。別の試験管に、３０μＬのＮａｎｏＦｅｃｔ（登録商標）トランスフェクション試薬（ＡＬＳＴＥＭ、カタログ番号ＮＦ１００）を、０．５mＬの血清を含まないＤＭＥＭまたはＯｐｔｉ－ＭＥＭ Ｉ Ｍｅｄｉｕｍで希釈し、緩やかに混合する。次いで、ＮａｎｏＦｅｃｔ／ＤＭＥＭ及びＤＮＡ／ＤＭＥＭ溶液を一緒に混合し、１０～１５秒間ボルテックス処理し、その後、ＤＭＥＭ－プラスミド－ＮａｎｏＦｅｃｔ混合物を室温で１５分間インキュベートする。前工程から得た完全なトランスフェクション複合体を細胞のプレートに滴加し、振盪してトランスフェクション複合体をプレート上に均等に分散させる。次いで、プレートを、加湿した５％ＣＯ２のインキュベータ内で３７℃で一晩インキュベートする。翌日、上清を１０mＬの新しい培地に置き換え、２０μＬのＶｉｒａｌＢｏｏｓｔ（商標）（５００×、ＡＬＳＴＥＭ、カタログ番号ＶＢ１００）を追加する。次いで、プレートを３７℃で更に２４時間インキュベートする。次いで、レンチウイルスを含有する上清を５０mＬの滅菌蓋付きコニカル遠心管に採取し、氷上に置く。４℃で１５分、３０００ｒｐmで遠心分離後、澄明な上清を低タンパク質結合性０．４５μm滅菌フィルターで濾過し、続いて、ウイルスを４℃で１．５時間、２５，０００ｒｐmで超遠心分離（Ｂｅｃｋｍａｎｎ、Ｌ８－７０Ｍ）することによって単離する。ペレットを取り出し、ＤＭＥＭ培地中に再懸濁し、Ｌｅｎｔｉ－Ｘ（商標）ｑＲＴ－ＰＣＲ Ｔｉｔｒａｔｉｏｎキット（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ（登録商標）；カタログ番号６３１２３５）を使用する定量ＲＴ－ＰＣＲによってレンチウイルス濃度／力価を確立する。ＤＮａｓｅＩでの処理によって、あらゆる残余プラスミドＤＮＡを取り除く。ウイルスストック調製物は、直ちに感染に使用するか、または、等分して後の使用のために－８０℃で保存する。

【０５２５】

レンチウイルス力価を確立するために、異なる量のウイルス調製物をＪｕｒｋａｔ細胞に形質導入した。次いで、形質導入から２４時間後に、形質導入したＪｕｒｋａｔ細胞からＤＮＡを単離した。ウイルス力価を、ウッドチャック肝炎ウイルス（ＷＨＰ）転写後調節エレメント（ＷＰＲＥ）及びアルブミン（内部定量対照）に特異的な社内設計プライマー／プローブを用いる定量リアルタイムＰＣＲによって決定した。

【０５２６】

Ｔ細胞単離

末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を全血またはバフィーコートから調製する。全血は、１０

ｍＬのヘパリンバキュテイナーに採取し、直ちに処理するか、または４℃で一晩保存する。およそ１０ｍＬの抗凝固処理した全血を、５０ｍＬのコニカル遠心管中、滅菌リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）緩衝液（ＰＢＳ、ｐＨ７．４、Ca^{2+}／Mg^{2+}不含）と総体積２０ｍＬになるよう混合する。次いで、この血液／ＰＢＳ混合物２０ｍＬを、１５ｍＬのＦｉｃｏｌｌ－Ｐａｑｕｅ（登録商標）ＰＬＵＳ（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、１７－１４４０－０３）の表面の上に静かに置き、その後、室温、４００ｇで、３０～４０分間、ブレーキをかけずに遠心分離した。

【０５２７】

バフィーコートは、Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｂｌｏｏｄ Ｃｏｍｐｏｎｅｎｔｓ（Ｂｏｓｔｏｎ，ＭＡ）から購入する。ＬｅｕｃｏＳｅｐ（商標）試験管（Ｇｒｅｉｎｅｒ ｂｉｏ－ｏｎｅ）を１５ｍＬのＦｉｃｏｌｌ－Ｐａｑｕｅ（登録商標）（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈ Ｃａｒｅ）を加えることによって調製し、１０００ｇで１分間遠心分離する。バフィーコートは、ＰＢＳ（ｐＨ７．４、Ca^{2+}またはMg^{2+}不含）で１：３に希釈する。希釈したバフィーコートをＬｅｕｃｏＳｅｐ試験管に移し、１０００ｇで１５分間、ブレーキをかけずに遠心分離する。希釈血漿／Ｆｉｃｏｌｌの界面に見られるＰＢＭＣを含有する細胞層を、Ｆｉｃｏｌｌ（登録商標）の混入が最小になるように、慎重に取り出す。次いで、ＰＢＭＣを４０ｍＬのＰＢＳで３回洗浄し、室温で２００ｇで１０分間遠心分離することによって、残余のＦｉｃｏｌｌ、血小板及び血漿タンパク質を除去する。次いで、細胞を血球計算盤で計数する。次いで、$CD4^{+}$及び$CD8^{+}$Ｔ細胞を、バイアル当たり３０～５０×10^{6}個の細胞の濃度で、凍結培地（９０％ＦＢＳ＋１０％ＤＭＳＯ中で凍結する。

【０５２８】

Ｔ細胞活性化

全血またはバフィーコートのいずれかから調製したＰＢＭＣを抗ヒトＣＤ２８及びＣＤ３抗体結合磁気ビーズで２４時間刺激し、その後、ウイルス形質導入を行う。新たに単離したＰＢＭＣをＣＡＲ－Ｔ培地（ＡＩＭ Ｖ－ＡｌｂｕＭＡＸ（ＢＳＡ、Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）、５％ＡＢ血清ならびに１．２５μｇ／ｍＬのアンホテリシンＢ（Ｇｅｍｉｎｉ Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ）、１００Ｕ／ｍＬのペニシリン及び１００μｇ／ｍＬストレプトマイシン含有）でｈｕＩＬ－２なしで１回洗浄し、その後、３００ＩＵ／ｍＬのヒトＩＬ－２、ＩＬ－７またはＩＬ－１５（１０００×ストックから；Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を含むＣＡＲ－Ｔ培地中に１×10^{6}細胞／ｍＬの最終濃度で再懸濁する。

【０５２９】

あるいは、凍結$CD4^{+}$／$CD8^{+}$Ｔ細胞を予め温めておいたＤＭＥＭ＋１０％ＦＢＳ中で融解し、遠心分離し、次いで、３００ＩＵ／ｍＬのｈｕＩＬ２（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ（登録商標））を添加した完全Ｔ細胞増殖培地中に１×１０６細胞／ｍＬの最終濃度で再懸濁する。Ｔ細胞の活性化に使用する前に、抗ヒトＣＤ２８及び抗ヒトＣＤ３抗体結合磁気ビーズ（Ｄｙｎａｂｅａｄｓ（登録商標）、Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ）を、磁気ラックを使用して、滅菌した１×ＰＢＳ（ｐＨ７．４）で３回洗浄し、溶液からビーズを分離する。次いで、２５μＬのビーズ（１×10^{6}個のビーズ）を１ｍＬのＴ細胞懸濁液に移すことによって、Ｔ細胞とビーズを１：１の比で混合する。次いで、ビーズ／細胞混合物を、ＴＣ無処理１２ウェルプレートの単一ウェルに分注し、３７℃、５％ＣＯ２で、２４時間インキュベートする。

【０５３０】

活性化の前に、抗ヒトＣＤ２８及びＣＤ３抗体結合磁気ビーズ（例えば、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓから入手可能）を、磁気ラックを使用して、１ｍＬの滅菌した１×ＰＢＳ（ｐＨ７．４）で３回洗浄し、溶液からビーズを分離し、その後、３００ＩＵ／ｍＬのヒトＩＬ－２を含むＣＡＲ－Ｔ培地中に再懸濁して、最終濃度４×10^{7}ビーズ／ｍＬにした。次いで、２５μＬのビーズ（１×10^{6}個のビーズ）を１ｍＬのＰＢＭＣに移すことによって、ビーズ対細胞比１：１でＰＢＭＣ及びビーズを混合する。次いで、所望数のアリコートを、低付着または無処理の１２ウェル細胞培養プレートの単一ウェルに分注し、３７℃、５％ＣＯ２で、２４時間インキュベートした後

、ウイルス形質導入を行う。

【０５３１】

Ｔ細胞の形質導入及び増殖

ＰＢＭＣの活性化に続き、細胞を３７℃、５％CO_2で、２４時間、インキュベートする。次いで、レンチウイルスを氷上で融解し、１０μｇ／ｍｌのポリブレン（Ｓｉｇｍａ）の存在下、指定のＭＯＩで、活性化したＴ細胞に加えた。細胞を室温で１００分間、２００ｇでレンチウイルスとスピノキュレーションした。形質導入された細胞を更に２４時間インキュベートし、その後、更にレンチウイルスの形質導入を行った。２回目のレンチウイルス形質導入後、３００ＩＵ／ｍＬのｈＩＬ－２を添加したＴ細胞増殖培地でＴ細胞を増殖させ、5×10^5細胞／ｍＬで一日おきに継代培養した。

【０５３２】

いくつかの場合において、活性化されたＰＢＭＣは、ｉｎ ｖｉｔｒｏ転写された（ＩＶＴ）ｍＲＮＡとともにエレクトロポレーションを行う。３００ＩＵ／ｍｌの組み換えヒトＩＬ－２（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍ）の存在下で、ヒトＰＢＭＣをＤｙｎａｂｅａｄｓ（登録商標）（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ（登録商標））と１：１の比で３日間刺激する。ビーズは、エレクトロポレーションの前に除去する。細胞を洗浄し、５％ｈＡＢ血清（Ｇｅｍｉｎｉ Ｂｉｏ－Ｐｒｏｄｕｃｔｓ）及び１％抗生物質を含むＯＰＴＩ－ＭＥＭ（登録商標）培地（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ）またはＡｉｍＶ培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）中に、2.5×10^7細胞／ｍＬの濃度で、再懸濁する。２００μＬの細胞懸濁液（5×10^6個の細胞）をギャップ２ｍｍのＥｌｅｃｔｒｏｐｏｒａｔｉｏｎ Ｃｕｖｅｔｔｅｓ Ｐｌｕｓ（商標）（Ｈａｒｖａｒｄ Ａｐｐａｒａｔｕｓ ＢＴＸ）に移し、氷上で予冷する。この細胞懸濁液に、１０μｇのＩＶＴ ＴＦＰ ｍＲＮＡを加える。次いで、ｍＲＮＡ／細胞混合物に対して、ＥＣＭ８３０ Ｅｌｅｃｔｒｏ Ｓｑｕａｒｅ Ｗａｖｅ Ｐｏｒａｔｏｒ（Ｈａｒｖａｒｄ Ａｐｐａｒａｔｕｓ ＢＴＸ）を使用して、２００Ｖで２０ミリ秒間、エレクトロポレーションを実施した。エレクトロポレーションの直後に、細胞を新しい細胞培養培地（ＡＩＭ Ｖ ＡｌｂｕＭＡＸ（登録商標）（ＢＳＡ）血清不含培地＋５％ヒトＡＢ血清＋３００ＩＵ／ｍｌ ＩＬ－２）に移し、３７℃でインキュベートする。

【０５３３】

細胞染色によるＴＦＰ発現の検証

レンチウイルスの形質導入またはｍＲＮＡのエレクトロポレーションに続いて、ＴＦＰ、例えば、ＲＯＲ１、ＮＫＧ２Ｄ、ＣＤ１６または二重特異性ＴＦＰの発現をフローサイトメトリーによって確認する。Ｔ細胞を、抗ＣＤ３ ＡＰＣ（クローン、ＵＣＨＴ１）、抗ＣＤ４パシフィックブルー（クローン、ＲＰＡＴ４）、抗ＣＤ８－ＡＰＣＣＹ７（クローン）及び例えば、ヒトＮＫＧ２Ｄ／ＣＤ３１４－ＡＰＣ（Ｒ＆Ｄ ｓｙｓｔｅｍｓ、ロット番号ＬＣＯ０６１３２１）ならびにそれぞれのアイソタイプコントロール（ＢＤ ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用して染色する。

【０５３４】

ＮＫＧ２Ｄ ＴＦＰ Ｔ細胞集団

Ｔ細胞を３ｍＬの染色用緩衝液（ＰＢＳ、４％ＢＳＡ）で３回洗浄し、1×10^6細胞／ウェルでＰＢＳ中に再懸濁する。死細胞を排除するために、細胞をＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ（登録商標）Ｆｉｘａｂｌｅ Ａｑｕａ Ｄｅａｄ Ｃｅｌｌ Ｓｔａｉｎ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）とともに氷上で３０分間インキュベートする。細胞をＰＢＳで２回洗浄し、５０μＬの染色緩衝液中に再懸濁する。Ｆｃ受容体をブロッキングするために、１μＬの１：１００に希釈した正常ヤギｌｇＧ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を各試験管に加え、氷中で１０分間インキュベートする。１．０ｍＬのＦＡＣＳ緩衝液を各試験管に加え、よく混合し、細胞を３００ｇで５分間遠心分離することによってペレットにする。ｓｃＦｖ ＴＦＰの表面発現は、Ｚｅｎｏｎ（登録商標）Ｒ－Ｐｈｙｃｏｅｒｙｔｈｒｉｎ標識ヒトＮＫＧ２Ｄ ＩｇＧ１ ＦｃまたはヒトＩｇＧ１アイソタイプコントロールによって検出する。１μｇの抗体をそれぞれの試料に加え、氷上で３０分インキュベートする。次いで、

細胞を２回洗浄し、ＢＤ　ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅの抗ＣＤ３　ＡＰＣ（クローン、ＵＣＨＴ１）、抗ＣＤ４パシフィックブルー（クローンＲＰＡ－Ｔ４）、抗ＣＤ８　ＡＰＣＣｙ７（クローンＳＫ１）を使用して、表面マーカーを染色する。フローサイトメトリーをＢＤ－ＬＳＲＩＩ　Ｆｏｒｔｅｓｓａ（登録商標）Ｘ２０（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用して実施し、データをＦＡＣＳ　ｄｉｖａソフトウェアを使用して取得し、ＦｌｏｗＪｏ（登録商標）（Ｔｒｅｅｓｔａｒ，Ｉｎｃ．（Ａｓｈｌａｎｄ，ＯＲ））で解析する。

【０５３５】

例示的な結果を図２Ａに示す。これは、ＣＤ８（抗ＣＤ８　ＡＰＣＣｙ７、ｙ軸）及びＮＫＧ２Ｄ（「ＮＫＧ２Ｄ」）（Ｚｅｎｏｎ（登録商標）Ｒ－Ｐｈｙｃｏｅｒｙｔｈｒｉｎ標識ｈＮＫＧ２Ｄ　ＩｇＧ、ｘ軸）について染色した活性化ＰＢＭＣ細胞の表面発現解析を示す。非形質導入細胞またはＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ３ε、ＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ２８ζ及びＮＫＧ２Ｄ－４１ＢＢζ構築物を形質導入した細胞のいずれかが左から右に示されている。ＣＤ８$^{+}$，ＮＫＧ２Ｄ$^{+}$細胞の割合を各パネルの右上隅に示す。

【０５３６】

二重特異性ＴＦＰ　Ｔ細胞集団

抗ＣＤ１９または抗ＢＣＭＡ　ｓｃＦｖを担持するＴＦＰの表面発現は、ビオチン化ヤギ抗マウスＦ（ａｂ’）$_2$（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ）を用いて、試料当たり４．５μｇ、４℃、３０分間で検出される。染色用緩衝液で３回洗浄した後、細胞をＰＥ結合ストレプトアビジン（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、１：１０００の希釈）で染色する。抗腫瘍関連抗原（Ａｇ）ｓｃＦｖを担持するＴＦＰの表面発現も同様にＡｇ　Ｆｃ融合タンパク質での染色によって検出される。Ａｇ　Ｆｃ融合タンパク質、例えば、ＢＣＭＡ－Ｆｃ融合タンパク質は、社内で発現させ、Ｚｅｎｏｎ（登録商標）－ＰＥ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ）を製造元のプロトコルに従って用いて標識する。Ｔ細胞をＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ（登録商標）Ｆｉｘａｂｌｅ　Ａｑｕａ　Ｄｅａｄ　Ｃｅｌｌ　Ｓｔａｉｎで染色し、ヒトＢＤ　Ｆｃ　Ｂｌｏｃｋ（商標）でブロッキングし、次いで、試料当たり１μｇの標識ＢＣＭＡ＿Ｆｃ融合試料で染色する。

【０５３７】

Ｔ細胞マーカー（ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８）を、ＡＰＣマウス抗ヒトＣＤ３抗体（クローンＵＣＨＴ１、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、１：１００の希釈）、ＰｅｒＣＰ／Ｃｙ５．５マウス抗ヒトＣＤ８抗体（クローンＳＫ１、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、１：１００の希釈）及びＰａｃｉｆｉｃ　Ｂｌｕｅ（商標）マウス抗ヒトＣＤ４抗体（クローンＲＰＡ－Ｔ４、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、１：１０００の希釈）で４℃で３０分間染色する。染色用緩衝液で２回洗浄した後、次いで、細胞をＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａ（商標）Ｘ２０（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）にかける。データをＦＡＣＳＤｉｖａ（登録商標）を使用して取得し、ＦｌｏｗＪｏ（登録商標）（Ｔｒｅｅｓｔａｒ，Ｉｎｃ．（Ａｓｈｌａｎｄ，ＯＲ））で解析する。

【０５３８】

結果を図２Ｂに示す。これは、ＴＣＲの発現を確認するものであった。細胞は、ＣＤ８（ｙ軸）及び抗Ｆａｂ（上の列）またはＢＣＭＡ－Ｆｃ（下の列）のいずれか（ｘ軸）の表面発現によってソーティングした。空のベクター、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３εと抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３εの両方、または抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε＋抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γを形質導入した細胞からの結果を示す。

【０５３９】

ＣＤ１６　ＴＦＰ　Ｔ細胞集団

ＣＤ１６（ＦｃγＲＩＩＩａ）は、主に、ＮＫ細胞、好中球、単球、マクロファージ及び白血球に存在する。しかしながら、Ｔ細胞とは異なり、ＮＫ細胞は、循環リンパ球のごくわずかな割合（５～１５％）でしかない。加えて、ＮＫ細胞は、ほとんどの従来の遺伝子トランスフェクション／形質導入技術に対して耐性があり、ワクシニアウイルスによる短時間の一過性形質導入が達成されているだけである。しかしながら、外因性Ｔ細胞は、

より容易に形質導入され、本明細書で開示される方法によって増殖可能であり、これにより、外因性Ｔ細胞は、併用療法での抗がん治療薬に対する患者の免疫応答を高めるのに更に適したものになる。

【０５４０】

レンチウイルスの形質導入またはｍＲＮＡのエレクトロポレーションに続いて、ＣＤ１６　ＴＦＰの発現を、抗ＣＤ１６－ＰＥ抗体及びＩｇＧ１ｋ－ＰＥ抗体（それぞれカタログ番号５５５４０７及び５５５７４９；いずれもＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）を使用したフローサイトメトリーによって確認する。Ｔ細胞を３ｍＬの染色用緩衝液（ＰＢＳ、４％ＢＳＡ）で３回洗浄し、１×１０^{6}細胞／ウェルでＰＢＳ中に再懸濁する。死細胞を排除するために、細胞をＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ（登録商標）Ｆｉｘａｂｌｅ　Ａｑｕａ　Ｄｅａｄ　Ｃｅｌｌ　Ｓｔａｉｎ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）とともに氷上で３０分間インキュベートする。細胞をＰＢＳで２回洗浄し、５０μＬの染色緩衝液中に再懸濁する。Ｆｃ受容体をブロッキングするために、１μＬの１：１００に希釈した正常ヤギｌｇＧ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を各試験管に加え、氷中で１０分間インキュベートする。１．０ｍＬのＦＡＣＳ緩衝液を各試験管に加え、よく混合し、細胞を３００ｇで５分間遠心分離することによってペレットにする。

【０５４１】

図３は、ＣＤ２０＋Ｒａｊｉ細胞に抗ＣＤ２０抗体リツキシマブが結合している模式図を示す。リツキシマブには、ＣＤ１６　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞が結合し、これにより、細胞溶解が誘導される（図３Ａ）。非グリコシル化リツキシマブが使用される場合、ＣＤ１６　ＴＦＰは、抗体に結合することができず、そのため、標的細胞の溶解は誘導されない（図３Ｂ）。

【０５４２】

ＣＤ１６　ＴＦＰによって検出されるがん抗原の表面発現は、Ｚｅｎｏｎ（登録商標）Ｒ－Ｐｈｙｃｏｅｒｙｔｈｒｉｎ標識ヒト抗ＣＤ２０　ＩｇＧ１　Ｆｃ（例えば、リツキシマブ）または非グリコシル化形態の抗ＣＤ２０抗体によって検出される。非グリコシル化形態のＣＤ２０は、腫瘍細胞表面上のＣＤ２０抗原に結合する機能的ｓｃＦｖを有するが、そのＦｃ部分にＮからＧへの置換を伴うＮ－グリコシル化変異のため、ＣＤ１６ＴＦＰまたはＣＡＲに結合しない。１μｇの抗ＣＤ２０もしくは非グリコシル化抗ＣＤ２０のそれぞれまたはＺｅｎｏｎ　Ｒ－Ｐｈｙｃｏｅｒｙｔｈｒｉｎ単独を、Ｒａｊｉ細胞とともに、３０分間、氷上でインキュベートした。次いで、細胞をＰＢＳで２回洗浄し、フローサイトメトリーをＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａ（登録商標）Ｘ２０（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用して実施し、データをＦＡＣＳ　ｄｉｖａソフトウェアを使用して取得し、ＦｌｏｗＪｏ（登録商標）（Ｔｒｅｅｓｔａｒ，Ｉｎｃ．（Ａｓｈｌａｎｄ，ＯＲ））で解析する。

【０５４３】

ＦＡＣＳ確認の例示的な結果を図４Ａに示す。ＣＤ１６（抗ＣＤ１６、ｘ軸）及びＣＤ３（ｙ軸）について染色した細胞を示す。非形質導入細胞またはＣＤ１６－ＣＤ３ε　ＴＦＰ、ＣＤ１６－ＣＤ３γ　ＴＦＰ、ＣＤ１６－ＣＤ３δ　ＴＦＰ及びＣＤ１６－ＣＤ３β構築物を形質導入した細胞のいずれか（上の列）と、非形質導入細胞、ＣＤ１６－ＣＤ２８ζ　ＣＡＲ、ＣＤ１６－４１ＢＢζ　ＣＡＲ及び陽性対照の抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＴＦＰを形質導入した細胞のいずれかが左から右に示されている。ＣＤ３$^{+}$，ＣＤ１６$^{+}$細胞の割合を各パネルの右上隅に示す。

【０５４４】

例示的なＺｅｎｏｎ染色の結果を図４Ｂに示す。方法の正確性を実証するために、未染色または抗ＣＤ１９により染色されるいずれかのＲａｊｉ細胞（ＣＤ１９及びＣＤ２０の両方を発現する）を、抗ＣＤ１９　ＴＦＰを使用する上記方法に従って処理した。図４Ｃは、リツキシマブと非グリコシル化リツキシマブの両方がＣＤ１９＋Ｒａｊｉ細胞に結合できたことを示している。

【０５４５】

実施例６：フローサイトメトリーによる細胞傷害性アッセイ

抗腫瘍抗原標的に対して陽性または陰性のいずれかである標的細胞を、蛍光色素のカルボキシフルオレセインジアセテートスクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）で標識する。これらの標的細胞を、形質導入なし、対照のＣＡＲ－Ｔ構築物による形質導入、またはＴＦＰによる形質導入のいずれかを行ったエフェクターＴ細胞と混合する。指定のインキュベーション期間後、それぞれのエフェクター／標的細胞培養物について、ＣＦＳＥ標識標的細胞の生死細胞及び陰性対照の標的細胞の割合をフローサイトメトリーによって決定する。各Ｔ細胞＋標的細胞培養物における標的細胞の生存率（％）を、標的細胞のみを含有するウェルを基準として算出する。

【０５４６】

エフェクターＴ細胞、または抗がん作用物質とエフェクターＴ細胞の組み合わせ（例えば、抗がん抗体とＣＤ１６　ＴＦＰ）の細胞傷害活性は、エフェクター細胞と標的細胞のコインキュベーション後における、エフェクターＴ細胞ありまたはなしの標的細胞中の生存標的細胞の数を、フローサイトメトリーを使用して比較することによって測定する。抗腫瘍抗原ＴＦＰまたはＣＡＲ－Ｔ細胞との実験において、標的細胞は、腫瘍抗原陽性細胞であり、陰性対照として使用される細胞は、腫瘍抗原陰性細胞である。

【０５４７】

標的細胞を１回洗浄し、ＰＢＳ中に1×10^6細胞／ｍＬで再懸濁する。蛍光色素のカルボキシフルオレセインジアセテートスクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ（登録商標））を０．０３μＭの濃度で細胞懸濁液に加え、細胞を室温で２０分間インキュベートする。完全細胞培養培地（ＲＰＭＩ－１６４０＋１０％ＨＩ－ＦＢＳ）を反応体積の５倍の体積で細胞懸濁液に加えることによって標識反応を止め、室温で更に２分間、細胞をインキュベートする。細胞を遠心分離によってペレットにし、細胞傷害性培地（フェノールレッド不含ＲＰＭＩ１６４０（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）＋５％ＡＢ血清（Ｇｅｍｉｎｉ　Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ）中に2×10^5細胞／ｍＬで再懸濁する。５０マイクロリットルのＣＦＳＥ標識標的細胞懸濁液（１０，０００細胞に相当）をＵ底９６ウェルプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）の各ウェルに加える。

【０５４８】

抗腫瘍抗原ＴＦＰ構築物を形質導入したエフェクターＴ細胞を、陰性対照の非形質導入Ｔ細胞とともに洗浄し、細胞傷害性培地中に2×10^6細胞／ｍＬまたは1×10^6細胞／ｍＬで再懸濁する。５０μＬのエフェクターＴ細胞懸濁液（１００，０００または５０，０００細胞に相当）を、播種した標的細胞に加え、総体積１００μＬ中、エフェクター対標的比がそれぞれ１０：１または５：１になるようにする。次いで、培養物を混合し、遠心し、３７℃、５％CO_2で４時間インキュベートする。このインキュベーションの直後、この培養した細胞に、７ＡＡＤ（７－アミノアクチノマイシンＤ）（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ）を製造元の推奨のとおりに加え、フローサイトメトリーをＢＤ　ＦｏｒｔｅｓｓａＸ－２０（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）により実施する。フローサイトメトリーのデータの解析をＦｌｏｗＪｏ（登録商標）ソフトウェア（ＴｒｅｅＳｔａｒ，Ｉｎｃ．）を使用して実施する。

【０５４９】

ＲＰＭＩ－８２２６標的細胞の生存率（％）は、エフェクターＴ細胞及び標的細胞を含む試料における生存ＲＰＭＩ－８２２６標的細胞（ＣＦＳＥ＋７－ＡＡＤ－）の数を、標的細胞のみを含む試料における生存ＲＰＭＩ－８２２６（ＣＦＳＥ＋７－ＡＡＤ－）細胞の数で除することによって算出する。エフェクター細胞の細胞傷害性は、ＲＰＭＩ－８２２６の殺傷率（％）＝１００％－ＲＰＭＩ－８２２６細胞の生存率（％）として算出する。

【０５５０】

抗腫瘍抗原－２８ζ　ＣＡＲ構築物を形質導入したＴ細胞は、非形質導入Ｔ細胞または非腫瘍関連抗原特異的ＣＡＲ対照を形質導入したＴ細胞のいずれかと比較した場合、腫瘍抗原発現細胞に対して細胞傷害性を示し得る。しかしながら、抗腫瘍関連抗原－ＣＤ３εを形質導入したＴ細胞は、抗腫瘍関連抗原ＣＡＲ対照よりも、標的に対して効果的な細胞

傷害性を誘導し得る。抗腫瘍関連抗原－ＣＤ３γ　ＴＦＰもまた、５～１０：１のエフェクター：標的比で、抗腫瘍関連抗原－ＣＡＲで観察される細胞傷害性よりも高く強力な細胞傷害性を媒介し得る。抗腫瘍関連抗原－ＴＣＲα　ＴＦＰ及び抗腫瘍関連抗原－ＴＣＲβ　ＴＦＰでもある程度の細胞傷害性が観察され得る。代替ヒンジ領域を用いて構築された抗腫瘍関連抗原ＴＦＰでも同様の結果が得られ得る。この場合でも、腫瘍関連抗原を発現する標的細胞に対する細胞傷害性は、抗腫瘍関連抗原－ＣＡＲを形質導入したＴ細胞よりも、抗腫瘍関連抗原－ＣＤ３ε　ＴＦＰまたは抗腫瘍関連抗原－ＣＤ３γ　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞のほうが大きいだろう。

【０５５１】

実施例７：リアルタイム細胞傷害性アッセイによる細胞傷害性：ＮＫＧ２Ｄ　ＴＦＰ　Ｔ細胞

ＮＫＧ２Ｄ　ＴＦＰも同様に、リアルタイム細胞傷害性アッセイ（ＲＴＣＡ）フォーマットにおいて、ＮＫＧ２Ｄ　ＣＡＲよりも優れた細胞傷害性を示し得る。ＲＴＣＡアッセイは、専用９６ウェルプレートの各ウェルで接着性標的細胞単層の電気インピーダンスをリアルタイムで測定し、最終読み出し値を細胞指数と呼ばれる値で示すものである。細胞指数の変化は、コインキュベートしたＴ細胞エフェクターによる標的細胞の殺傷の結果として、標的細胞単層が破壊されることを示す。したがって、エフェクターＴ細胞の細胞傷害性は、標的細胞とエフェクターＴ細胞の両方を含むウェルの細胞指数の変化と、標的細胞のみを含むウェルの細胞指数の変化を比較して評価することができる。

【０５５２】

接着性標的細胞を、ＤＭＥＭ、１０％ＦＢＳ、１％抗生物質抗真菌剤（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で培養する。ＲＴＣＡを準備するために、例えば、ＤＭＥＭ培地５０μＬをＥ－プレート（ＡＣＥＡ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ、カタログ番号：ＪＬ－１０－１５６０１０－１Ａ）の適切なウェルに加える。次いで、プレートをＲＴＣＡ　ＭＰ装置（ＡＣＥＡ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ．）に入れ、適切なプレートレイアウト及びアッセイスケジュールをＲＴＣＡ２．０ソフトウェアに製造元のマニュアルに記載のとおりに入力する。ベースライン測定は、１００回の測定について１５分毎に実施する。次いで、体積１００μＬ中１×10^4個の標的細胞を各アッセイウェルに加え、細胞を１５分間静置する。プレートを読み取り装置に戻し、読み取りを再開する。

【０５５３】

翌日、エフェクターＴ細胞を洗浄し、細胞傷害性培地（フェノールレッド不含ＲＰＭＩ１６４０（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）＋５％ＡＢ血清（Ｇｅｍｉｎｉ　Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ；１００－３１８））中に再懸濁する。次いで、プレートを装置から取り出し、細胞傷害性培地（フェノールレッド不含ＲＰＭＩ１６４０＋５％ＡＢ血清）中に懸濁したエフェクターＴ細胞を１００，０００細胞または５０，０００細胞で各ウェルに加え、エフェクター対標的比がそれぞれ１０：１または５：１になるようにする。次いで、プレートを装置に戻す。測定を１００回の測定については２分毎に行い、その後、１，０００回の測定については１５分毎に行う。

【０５５４】

ＲＴＣＡアッセイにおいて、ＮＫＧ２Ｄを形質導入した細胞の殺傷は、ＮＫＧ２Ｄ－２８ζ　ＣＡＲを形質導入したＴ細胞によって観察され得、エフェクター細胞の添加後における、細胞単独または対照のＣＡＲ構築物を形質導入したＴ細胞とコインキュベートした細胞に対する細胞指数の時間依存的減少によって示される。しかしながら、ＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ３ε　ＴＦＰを発現するＴ細胞による標的細胞の殺傷は、ＮＫＧ２Ｄ　ＣＡＲで観察される殺傷よりも深く、迅速であり得る。例えば、ＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ３ε　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞の添加から４時間以内に、ＮＫＧ２ＤＬを発現する標的細胞の殺傷が本質的に完遂し得る。他のＣＤ３及びＴＣＲ構築物を含むいくつかのＴＦＰ構築物を形質導入したＴ細胞では、殺傷はほとんどまたは全く観察され得ない。代替ヒンジ領域を用いて構築されたＮＫＧ２Ｄ　ＴＦＰでも同様の結果が得られ得る。ＮＫＧ２Ｄを形質導入した標的細胞に対する細胞傷害性は、ＮＫＧ２Ｄ－ＣＡＲを形質導入したＴ細胞よりも、ＮＫＧ２

Ｄ－ＣＤ３ε　ＴＦＰまたはＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ３γ　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞のほうが大きいだろう。

【０５５５】

ＴＦＰを形質導入したＴ細胞の細胞傷害活性は、形質導入に使用されるウイルス量（ＭＯＩ）に対して用量依存的であり得る。ＮＫＧ２ＤＬ陽性細胞の殺傷増加は、ＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ３ε　ＴＦＰレンチウイルスのＭＯＩの増加とともに観察され、ＴＦＰ形質導入と細胞傷害性との関係を更に強め得る。

【０５５６】

ＮＫＧ２Ｄ　ＴＦＰ構築物は、リンカー：ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥ（配列番号１）をコードするＤＮＡ配列によってＣＤ３ε　ＤＮＡ断片に連結されたＮＫＧ２Ｄ　ｓｃＦｖ　ＤＮＡ断片を、ＸｂａＩ及びＥｃｏＲＩ部位でｐ５１０ベクター（ＳＢＩ）にクローニングすることによって作製する。作製されるＮＫＧ２Ｄ　ＴＦＰ構築物は、例えば、ｐ５１０＿抗ＮＫＧ２Ｄ＿ＳＳ１＿ＣＤ３ε（ＮＫＧ２Ｄ　ＳＳ１　ｓｃＦｖ－リンカー－ヒトＣＤ３ε鎖）である。

【０５５７】

完全長ＮＫＧ２Ｄは、ｐＣＭＶ６＿ＸＬ４＿ＮＫＧ２Ｄ（Ｏｒｉｇｅｎｅ）からＰＣＲ増幅し、単量体またはリンカーを含む二量体は、Ｇｉｂｓｏｎ　Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｔｉｏｎ反応を介してＸｂａＩ及びＥｃｏＲＩ制限酵素消化したｐ５２７ａ（ｐＣＤＨ－ＥＦ１－ＭＣＳ－Ｔ２Ａ－Ｐｕｒｏ）（ＳＢＩ）にクローニングする。

【０５５８】

ＲＴＣＡ用の標的細胞は、例えば、ＮＫＧ２Ｄ$^{+}$ＨｅＬａ細胞（子宮頸部腺癌、ＡＴＣＣ（登録商標）ＣＣＬ－２（商標））であり、ＮＫＧ２Ｄ陰性ＰＣ－３細胞（前立腺癌、ＡＴＣＣ（登録商標）ＣＲＬ－１４３５（商標））が陰性対照として使用される。接着性標的細胞を、１０％ＦＢＳ及び１％抗生物質抗真菌剤を含むＤＭＥＭ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で培養する。

【０５５９】

次いで、細胞傷害性を示す、正規化された細胞指数を決定する。活性化したＰＢＭＣは、未処理、形質導入なし、または空のベクター、ＮＫＧ２Ｄ　ＴＦＰ）、ＣＤ２８ζもしくは４１ＢＢζシグナル伝達ドメインを含むＮＫＧ２Ｄ　ＣＡＲの形質導入がなされる。

【０５６０】

標的ＮＫＧ２Ｄ陽性ＨｅＬａ細胞は、陰性対照と比較して、抗ＮＫＧ２Ｄ　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞によって効果的に殺傷される。対照的に、ＮＫＧ２Ｄ陰性ＰＣ－３細胞は、いずれの構築物によっても効果的に殺傷されない。

【０５６１】

抗ＮＫＧ２Ｄ　ＣＡＲ及びＴＦＰ構築物を発現するＴ細胞の活性化は、ＮＫＧ２Ｄ$^{+}$及びＮＫＧ２Ｄ$^{-}$Ｋ５６２細胞を使用して実施する。上記のとおり、活性化したＰＢＭＣに５０ＭＯＩのＬＶを２日間連続して形質導入し、増殖させる。形質導入後８日目に、ＰＢＭＣの共培養液を、細胞傷害性培地（フェノールレッド不含ＲＰＭＩ１６４０（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）＋５％ＡＢ血清（Ｇｅｍｉｎｉ　Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ；１００－３１８）中、Ｅ：Ｔ比１：１（各細胞型０．２×１０^{6}個）で標的細胞（ＮＫＧ２Ｄを過剰発現するＫ５６２細胞）と組み合わせた。ＢＣＭＡを過剰発現するＫ５６２細胞を陰性対照として使用した。共培養開始から２４時間後、細胞を回収し、ＰＢＳで３回洗浄し、Ｌｉｖｅ／Ｄｅａｄ　Ａｑｕａにより氷上で３０分間染色する。Ｆｃ受容体をブロッキングするために、ヒトＦｃブロック（ＢＤ）を加え、室温で１０分間インキュベートする。その後、細胞を、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓの抗ＣＤ３　ＡＰＣ（クローン、ＵＣＨＴ１）、抗ＣＤ８　ＡＰＣｃｙ７（クローンＳＫ１）、抗ＣＤ６９－Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ（登録商標）７００（クローンＦＮ５０）及び抗ＣＤ２５－ＰＥ（クローンＢＣ９６、ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）で染色する。細胞を２回洗浄し、ＢＤ　ＬＳＲＩＩ－Ｆｏｒｔｅｓｓａによって解析する。データを、上記のとおり、ＦｌｏｗＪｏ（登録商標）解析ソフトウェア（Ｔｒｅｅｓｔａｒ，Ｉｎｃ．）を使用して解析する。

【０５６２】
Ｔ細胞は、形質導入しないもの、空のベクターを形質導入したもの、抗ＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ３ε　ＴＦＰ、抗ＮＫＧ２Ｄ－２８ζ　ＣＡＲまたは抗ＮＫＧ２Ｄ－４１ＢＢζ　ＣＡＲを形質導入したもののいずれかである。示されるように、抗ＮＫＧ２Ｄ　ＣＡＲ及びＴＦＰ構築物を発現するＴ細胞は、ＮＫＧ２Ｄ$^{+}$細胞と培養することによって活性化されるが、ＮＫＧ２Ｄ－細胞では活性化されない。データは、ＮＫＧ２Ｄ発現細胞がＴ細胞を特異的に活性化させる能力があることを示す。
【０５６３】
Ｔ細胞の活性化は、グランザイムＢ産生の分析によって同様に評価され得る。Ｔ細胞を上記のとおりに培養及び増殖し、グランザイムＢの細胞内染色を製造元のキット説明書（Ｇｅｍｉｎｉ　Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ；１００－３１８）に従って行う。細胞を回収し、ＰＢＳで３回洗浄し、ヒトＦｃブロックで１０分間ブロッキングする。表面抗原について、細胞を抗ＣＤ３　ＡＰＣ（クローン、ＵＣＨＴ１）及び抗ＣＤ８　ＡＰＣｃｙ７（クローンＳＫ１）により、４℃で３０分間染色する。次いで、細胞を固定／透過処理溶液（ＢＤ　Ｃｙｔｏｆｉｘ／Ｃｙｔｏｐｅｒｍ　Ｆｉｘａｔｉｏｎ／Ｐｅｒｍｅａｂｉｌｉｚａｔｉｏｎキット　カタログ番号５５４７１４）により４℃で２０分間固定し、続いて、ＢＤ　Ｐｅｒｍ／Ｗａｓｈ緩衝液で洗浄した。その後、細胞を抗Ｇｒａｎｚｙｍｅ　Ｂ　Ａｌｅｘａｆｌｕｏｒ７００（クローンＧＢ１１）で染色し、ＢＤ　Ｐｅｒｍ／Ｗａｓｈ緩衝液で２回洗浄し、ＦＡＣＳ緩衝液に再懸濁する。データをＢＤ　ＬＳＲＩＩ－Ｆｏｒｔｅｓｓａで取得し、ＦｌｏｗＪｏ（登録商標）（Ｔｒｅｅ　ｓｔａｒ　Ｉｎｃ．）を使用して解析する。
【０５６４】
Ｔ細胞は、形質導入しないもの、空のベクターを形質導入したもの、抗ＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ３ε　ＴＦＰ、抗ＮＫＧ２Ｄ－２８ζ　ＣＡＲまたは抗ＮＫＧ２Ｄ－４１ＢＢζ　ＣＡＲを形質導入したもののいずれかである。抗ＮＫＧ２Ｄ　ＣＡＲ及びＴＦＰ構築物を発現するＴ細胞は、ＮＫＧ２Ｄ$^{+}$細胞と培養することによって活性化されるが、ＮＫＧ２Ｄ－細胞では活性化されない。ＮＫＧ２Ｄリガンド$^{-}$細胞及びＮＫＧ２Ｄリガンド$^{+}$細胞において、各構築物のグランザイムＢ陽性細胞の割合を決定する。
【０５６５】
実施例８：リアルタイム細胞傷害性アッセイによる細胞傷害性：ＣＤ１６　ＴＦＰ　Ｔ細胞
標的細胞及び形質導入したＴ細胞の調製をＮＫＧ２Ｄについて上に記載したとおりに実施する。
【０５６６】
ＲＴＣＡアッセイにおいて、Ａｇを形質導入した細胞の殺傷は、ＣＤ１６－２８ζ　ＣＡＲを形質導入したＴ細胞によって観察され得、エフェクター細胞の添加後における、細胞単独または対照のＣＡＲ構築物を形質導入したＴ細胞とコインキュベートした細胞に対する細胞指数の時間依存的減少によって示される。しかしながら、ＣＤ１６－ＣＤ３ε　ＴＦＰを発現するＴ細胞による標的細胞の殺傷は、ＣＤ１６　ＣＡＲで観察される殺傷よりも深く、迅速であり得る。例えば、ＣＤ１６－ＣＤ３ε　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞及び抗ＴＡＡ抗体の添加から４時間以内に、Ａｇを発現する標的細胞の殺傷が本質的に完遂し得る。他のＣＤ３及びＴＣＲ構築物を含むいくつかのＴＦＰ構築物を形質導入したＴ細胞では、殺傷はほとんどまたは全く観察され得ない。代替ヒンジ領域を用いて構築されたＣＤ１６　ＴＦＰでも同様の結果が得られ得る。Ａｇを形質導入した標的細胞に対する細胞傷害性は、ＣＤ１６－ＣＡＲを形質導入したＴ細胞よりも、ＣＤ１６－ＣＤ３ε　ＴＦＰまたはＣＤ１６－ＣＤ３γ　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞のほうが大きいだろう。
【０５６７】
抗ＴＡＡ抗体と組み合わせた、ＣＤ１６　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞の細胞傷害活性は、形質導入に使用されるウイルス量（ＭＯＩ）に対して用量依存的であり得る。Ａｇ陽性細胞の殺傷増加は、ＣＤ１６－ＣＤ３ε　ＴＦＰレンチウイルスのＭＯＩの増加及び抗Ａｇ抗体の用量増加とともに観察され、ＴＦＰ形質導入と細胞傷害性との関係を更に強め

得る。

【０５６８】

ＣＤ１６　ＴＦＰ構築物は、リンカー：ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＬＥ（配列番号１）をコードするＤＮＡ配列によってＣＤ３ε　ＤＮＡ断片に連結されたＣＤ１６　ＤＮＡ断片を、ＸｂａＩ及びＥｃｏＲＩ部位でｐ５１０ベクター（ＳＢＩ）にクローニングすることによって作製する。

【０５６９】

ＲＴＣＡ用の標的細胞は、例えば、Ａｇ陽性ＨｅＬａ細胞（子宮頸部腺癌、ＡＴＣＣ（登録商標）ＣＣＬ－２（商標））であり、Ａｇ陰性細胞、例えば、ＰＣ－３細胞（前立腺癌、ＡＴＣＣ（登録商標）ＣＲＬ－１４３５（商標））が陰性対照として使用される。接着性標的細胞を、１０％ＦＢＳ及び１％抗生物質抗真菌剤を含むＤＭＥＭ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で培養する。

【０５７０】

次いで、細胞傷害性を示す、正規化された細胞指数を決定する。活性化したＰＢＭＣは、未処理、形質導入なし、または空のベクター、ＣＤ１６　ＴＦＰ、ＣＤ２８ζもしくは４１ＢＢζシグナル伝達ドメインを含むＣＤ１６　ＣＡＲの形質導入がなされる。

【０５７１】

標的Ａｇ陽性ＨｅＬａ細胞は、陰性対照と比較して、ＣＤ１６　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞と組み合わせた抗Ａｇ抗体によって効果的に殺傷される。対照的に、Ａｇ陰性ＰＣ－３細胞は、いずれの構築物によっても効果的に殺傷されない。

【０５７２】

抗ＣＤ１６　ＣＡＲ及びＴＦＰ構築物を発現するＴ細胞の活性化は、ＣＤ１６$^{+}$及びＣＤ１６$^{-}$Ｋ５６２細胞を使用して実施される。上記のとおり、活性化したＰＢＭＣに５０ＭＯＩのＬＶを２日間連続して形質導入し、増殖させる。形質導入後８日目に、ＰＢＭＣの共培養液を、細胞傷害性培地（フェノールレッド不含ＲＰＭＩ１６４０（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）＋５％ＡＢ血清（Ｇｅｍｉｎｉ　Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ；１００－３１８）中、Ｅ：Ｔ比１：１（各細胞型０．２×１０^{6}個）で標的細胞（ＣＤ１６を過剰発現するＫ５６２細胞）と組み合わせた。ＢＣＭＡを過剰発現するＫ５６２細胞を陰性対照として使用した。共培養開始から２４時間後、細胞を回収し、ＰＢＳで３回洗浄し、Ｌｉｖｅ／Ｄｅａｄ　Ａｑｕａにより氷上で３０分間染色する。Ｆｃ受容体をブロッキングするために、ヒトＦｃブロック（ＢＤ）を加え、室温で１０分間インキュベートする。その後、細胞を、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓの抗ＣＤ３　ＡＰＣ（クローン、ＵＣＨＴ１）、抗ＣＤ８　ＡＰＣｃｙ７（クローンＳＫ１）、抗ＣＤ６９－Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ（登録商標）７００（クローンＦＮ５０）及び抗ＣＤ２５－ＰＥ（クローンＢＣ９６、ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）で染色する。細胞を２回洗浄し、ＢＤ　ＬＳＲＩＩ－Ｆｏｒｔｅｓｓａによって解析する。データを、上記のとおり、ＦｌｏｗＪｏ（登録商標）解析ソフトウェア（Ｔｒｅｅｓｔａｒ，Ｉｎｃ．）を使用して解析する。

【０５７３】

Ｔ細胞は、形質導入しないもの、空のベクターを形質導入したもの、ＣＤ１６－ＣＤ３ε　ＴＦＰ、ＣＤ１６－２８ζ　ＣＡＲまたはＣＤ１６－４１ＢＢζ　ＣＡＲを形質導入したもののいずれかである。示されるように、ＣＤ１６　ＣＡＲ及びＴＦＰ構築物を発現するＴ細胞は、Ａｇ＋細胞及び有効量の抗Ａｇ抗体と培養することによって活性化されるが、Ａｇ－細胞では活性されない。データは、Ａｇ発現細胞が抗Ａｇ抗体の存在下でＴ細胞を特異的に活性化させる能力があることを示す。

【０５７４】

Ｔ細胞の活性化は、グランザイムＢ産生の分析によって同様に評価され得る。Ｔ細胞を上記のとおりに培養及び増殖し、グランザイムＢの細胞内染色を製造元のキット説明書（Ｇｅｍｉｎｉ　Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ；１００－３１８）に従って行う。細胞を回収し、ＰＢＳで３回洗浄し、ヒトＦｃブロックで１０分間ブロッキングする。表面抗原について、細胞を抗ＣＤ３　ＡＰＣ（クローン、ＵＣＨＴ１）及び抗ＣＤ８　ＡＰＣｃｙ７（クロ

ーンＳＫ１）により、４℃で３０分間染色する。次いで、細胞を固定／透過処理溶液（ＢＤ Ｃｙｔｏｆｉｘ／Ｃｙｔｏｐｅｒｍ Ｆｉｘａｔｉｏｎ／Ｐｅｒｍｅａｂｉｌｉｚａｔｉｏｎキット カタログ番号５５４７１４）により４℃で２０分間固定し、続いて、ＢＤ Ｐｅｒｍ／Ｗａｓｈ緩衝液で洗浄した。その後、細胞を抗Ｇｒａｎｚｙｍｅ Ｂ Ａｌｅｘａｆｌｕｏｒ７００（クローンＧＢ１１）で染色し、ＢＤ Ｐｅｒｍ／Ｗａｓｈ緩衝液で２回洗浄し、ＦＡＣＳ緩衝液に再懸濁する。データをＢＤ ＬＳＲＩＩ－Ｆｏｒｔｅｓｓａで取得し、ＦｌｏｗＪｏ（登録商標）（Ｔｒｅｅ ｓｔａｒ Ｉｎｃ．）を使用して解析する。

【０５７５】

Ｔ細胞は、形質導入しないもの、空のベクターを形質導入したもの、ＣＤ１６－ＣＤ３ε ＴＦＰ、ＣＤ１６－２８ζ ＣＡＲまたはＣＤ１６－４１ＢＢζ ＣＡＲを形質導入したもののいずれかである。ＣＤ１６ ＣＡＲ及びＴＦＰ構築物を発現するＴ細胞は、Ag^+細胞と培養することによって活性化されるが、Ag^-細胞では活性されない。Ag^-細胞及びAg^+細胞において、各構築物のグランザイムＢ陽性細胞の割合を決定する。

【０５７６】

実施例９：ＮＫＧ２Ｄ ＴＦＰ－Ｔ細胞は、ｉｎ ｖｉｔｒｏで、抗原特異的に増殖し、ＮＫＧ２Ｄリガンドを発現する腫瘍細胞を溶解する。

ＮＫＧ２Ｄ ＴＦＰ Ｔ細胞のｉｎ ｖｉｔｒｏにおける有効性を更に評価するために、ＴＦＰ Ｔ細胞の３群：単量体ＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ３ε、二量体ＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ３ε及び形質導入なしを試験した。単量体及び二量体ＮＫＧ２Ｄ ＴＦＰの模式図を図５に示す。

【０５７７】

材料及び方法

レンチウイルス作製

レンチウイルスを２９３ＴＮ Ｐｒｏｄｕｃｅｒ Ｃｅｌｌ Ｌｉｎｅ（Ｓｙｓｔｅｍ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ．、ＬＶ９００Ａ－１）の一過性トランスフェクションによって調製し、ＴＦＰ及びＣＡＲ構築物を、ＣＤ３イプシロン鎖に融合したＮＫＧ２Ｄ受容体配列の単量体または二量体を使用して作製した（付録Ａ参照）。

【０５７８】

Ｔ細胞の単離及びレンチウイルスの形質導入

$CD4^+$及び$CD8^+$Ｔ細胞をＬｅｕｋｏｐａｃｋ（登録商標）試料（ＨｅｍａＣａｒｅ、ドナーＩＤ：Ｗ３１３７１６０４０８９１）から精製した。白血球除去療法の試料を、ＣＤ４及びＣＤ８ ＭＡＣＳビーズを用いて、自動ｃｌｉｎｉＭＡＣＳ（登録商標）Ｐｒｏｄｉｇｙ自動システム（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ）を製造元の説明書に従って使用して、$CD4^+$及び$CD8^+$Ｔ細胞濃縮に供した。

【０５７９】

Ｔ細胞を、１：１の比でＤｙｎａｂｅａｄｓを使用して活性化し、５％ヒトＡＢ血清（Ｇｅｍｉｎｉ Ｂｉｏ Ｐｒｏｄｕｃｔｓ、カタログ番号１００－３１８）及び１％Ｐｅｎｉｃｉｌｌｉｎ－Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｉｎ（Ｇｉｂｃｏ、カタログ番号１５２４０－０６２）を含むＡｉｍＶ培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）中に、３００ＩＵ／ｍｌのＩＬ－２（Ｐｅｐｒｏｔｅｃｈ）の存在下で維持した。Ｄｙｎａｂｅａｄで活性化したＴ細胞に、ポリブレン（５μｇ／ｍｌ）の存在下、レンチウイルスをそれぞれ１０ＭＯＩ（Ｊｕｒｋａｔ細胞を使用して滴定したウイルス）で形質導入し、形質導入から２４時間後に１００×Ｇで１００分間、１回、スピノキュレーションした。

【０５８０】

形質導入効率の決定

形質導入効率をフローサイトメトリーによって決定した。Ｔ細胞を、抗ＣＤ３ ＡＰＣ（クローン、ＵＣＨＴ１）、抗ＣＤ４－パシフィックブルー（クローン、ＲＰＡＴ４）、抗ＣＤ８－ＡＰＣＣＹ７（クローン）、ヒトＮＫＧ２Ｄ／ＣＤ３１４－ＡＰＣ（Ｒ＆Ｄ ｓｙｓｔｅｍｓ、ロット番号ＬＣＯ０６１３２１）及びそれぞれのアイソタイプコントロール（ＢＤ ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用して染色した。細胞をＢＤ－ＬＳＲＩＩ Ｆ

ｏｒｔｅｓｓａ（登録商標）Ｘ２０を使用して解析した。

【０５８１】

細胞株及び腫瘍細胞表面上の抗原発現：

卵巣癌細胞株ＯＶＣＡＲ３及びＯＶＣＡＲ５をＡＴＣＣから購入した。ＡＥ１７中皮腫細胞株をＳｉｇｍａから購入した。全細胞株を製造元の説明書に従って成長させた。腫瘍細胞表面上の抗原発現を、抗ＭＩＣＡ／Ｂ－Ｒ－フィコエリトリン（ＰＥ）（ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ（商標）、ロット番号６０４９６８７）、抗ＵＬＢＰ－２／５／６－ＰＥ（Ｒ＆Ｄ　ｓｙｓｔｅｍｓ、ロット番号ＬＷＥ０７１６０９１）、ＩｇＧ１　ｋアイソタイプコントロール－ＰＥ（ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ、ロット番号６０７０６４１）を使用して決定した。細胞表面染色を標準プロトコルを使用して実施し、ＢＤ－ＬＳＲＩＩ　Ｆｏｒｔｅｓｓａ（登録商標）Ｘ２０を使用して解析した。

【０５８２】

抗原特異的Ｔ細胞の増殖の決定：

増殖アッセイを次のとおりに実施した：１００μｌの１Ｘ　ＰＢＳ中、１００μｇ／ウェルのＵＬＢＰ２－Ｆｃ（Ｒ＆Ｄ　ｓｙｓｔｅｍｓ、ロット番号ＧＭＩ０３１６０４１）またはＩｇＧコントロールを高結合９６ウェルプレートに４℃で一晩コーティングした。プレートを１Ｘ　ＰＢＳで洗浄し、１％ＢＳＡを用いて４℃で２０分間ブロッキングし、１Ｘ　ＰＢＳで再度洗浄した。１ウェル当たり５０００個のＣＦＳＣ標識Ｔ細胞を播種し、３７℃で３日間インキュベートした。４日目に、細胞の生死染色を確立されたプロトコルに従って実施し、ＢＤ－ＬＳＲＩＩ　Ｆｏｒｔｅｓｓａ（登録商標）Ｘ２０を使用して解析した。

【０５８３】

抗原特異的腫瘍溶解の決定：

９６ウェルＲＴＣＡプレートで、卵巣癌細胞株ＯＶＣＡＲ３もしくはＯＶＣＡＲ５または中皮腫細胞株ＡＥ１７を、ＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ｅ　ＴＦＰまたは非形質導入Ｔ細胞とＥ：Ｔ比１：５、１：１及び５：１で共培養した。生存している接着性腫瘍細胞の存在を、ＲＴＣＡプレートの底部の電極によって捕捉された電気インパルスとして記録した。非接着性の死細胞は、電極によって記録されないことから、細胞数は、確立された標準プロトコル後、低下する。

【０５８４】

結果

Ｔ細胞をＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞で濃縮し、指定のレンチウイルスベクターを形質導入した（図６）。上記のように、ＣＤ３及びＣＤ２８　Ｄｙｎａｂｅａｄｓを使用してＴ細胞を刺激し、ＩＬ－２の存在下で培養した。図７Ａ～Ｃは、ＭＳＴＯ－ＭＳＬＮ－Ｌｕｃ細胞、ＯＶＣＡＲ３－Ｌｕｃ、ＳａＯＳ２－Ｌｕｃ及びＳＫＯＶ３－Ｌｕｃ細胞に抗ＵＬＢＰ１、抗ＵＬＢＰ２／５／６、抗ＵＬＢＰ３、抗ＵＬＢＰ４及び抗ＭＩＣＡ／Ｂ（左から右）を使用した、ＮＫＧ２Ｄリガンドに対するＺｅｎｏｎ染色を示す。各グラフにおいて、上の図は、抗ＮＫＧ２Ｄリガンドであり、中央の図は、アイソタイプコントロールまたは二次抗体単独であり、下の図は、未染色細胞である。

【０５８５】

モノ及びジＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ε　ＴＦＰの形態を抗ＮＫＧ２Ｄ表面染色によって評価した。本発明者らのデータは、モノＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ε　ＴＦＰバリアントと比較した場合、ジＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ε　ＴＦＰバリアントが最も効率的に表面上に発現されるのに対し、アイソタイプコントロールは、全てのＴ細胞群に対して陰性であることを明示した（図２Ａ参照）。

【０５８６】

ＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ε　ＴＦＰ　Ｔ細胞の抗原特異性を決定するために、ＣＦＳＣ標識Ｔ細胞を、３日間の培養期間、プレート上にコーティングされたＵＬＢＰ－２と共培養した。二量体ＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ε　ＴＦＰ　Ｔ細胞は、非形質導入Ｔ細胞とは異なり、６０ｎｇ／ｍｌもの低い濃度で抗原の存在下増殖する（図６Ａ中、赤い矢印で示す）。モノＮＫ

Ｇ２Ｄ　ＣＤ３ε　ＴＦＰ　Ｔ細胞は、２５０ｎｇ／ｍｌの抗原濃度まで増殖する（図６Ａ中、矢印で示す）。ジＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ε　ＴＦＰの増殖能力の増大は、モノＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ｅ　ＴＦＰと比較してＴ細胞表面上のジＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ｅの表現が多いことに起因し得る。形質導入条件または非形質導入条件のいずれも、プレートに結合したアイソタイプコントロールの存在下では増殖しない。

【０５８７】

ＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ε　ＴＦＰ　Ｔ細胞の抗原特異的腫瘍溶解能力を評価するために、エフェクター細胞及び腫瘍細胞をＥ：Ｔ比１：５、１：１及び５：１で共培養した。表面上にＮＫＧ２ＤＬを発現した卵巣癌細胞を、ＮＫＧ２ＤＬ発現に関するフローサイトメトリー解析によって評価した。ＯＶＣＡＲ３及びＯＶＣＡＲ５は、アイソタイプコントロールまたは未染色試料と比較して、ＭＩＣＡ／Ｂ及びＵＬＢＰ２／５／６の両方に対して陽性であった。ＡＥ１７マウス腫瘍細胞株は、ＮＫＧ２ＤＬ抗原発現に対して陰性であり、フローサイトメトリーによって評価した場合、ＰＥチャネルのアイソタイプコントロールまたは未染色試料と同様のプロファイルを有した（図６Ｂ）。

【０５８８】

ＲＴＣＡアッセイによって評価した抗原特異的腫瘍溶解能力は、二量体ＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ε　ＴＦＰ　Ｔ細胞及び単量体ＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ε　ＴＦＰ　Ｔ細胞が１：５の比では同程度に抗原陽性腫瘍細胞を溶解することを示したのに対し、１：１及び５：１の比では、モノＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ε　ＴＦＰは、ジＮＫＨ２Ｄ　ＣＤ３ε　Ｔ細胞と比較して、ＴＦＰ発現が低いため、遅延した腫瘍溶解を示した（図７Ａ～Ｃ）。抗原陰性ＡＥ１７マウス腫瘍細胞株または非形質導入Ｔ細胞の条件では腫瘍溶解は観察されなかった。

【０５８９】

これらの結果は、非形質導入Ｔ細胞と比較して、モノ及びジＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ε　ＴＦＰ　Ｔ細胞に抗原特異的増殖及び腫瘍溶解があることを示している。

【０５９０】

実施例１０：ルシフェラーゼベースの細胞傷害性アッセイ：二重特異性ＴＦＰ　Ｔ細胞

ルシフェラーゼベースの細胞傷害性アッセイ（「Ｌｕｃ－Ｃｙｔｏ」アッセイ）は、共培養後の残存生標的細胞におけるルシフェラーゼ酵素活性を間接的に測定することによって、ＴＦＰ　Ｔ細胞の細胞傷害性を評価するものである。Ｌｕｃ－Ｃｙｔｏアッセイに使用した標的細胞は、ホタルルシフェラーゼを発現するように安定的に形質導入されたＨｅＬａ－ＢＣＭＡｔ細胞及びＨｅＬａ－ＣＤ１９ｔ細胞であった。ホタルルシフェラーゼをコードするＤＮＡは、ＧｅｎｅＡｒｔ（登録商標）（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ（登録商標））によって合成されたものであり、単一プロモーターレンチウイルスベクターｐＣＤＨ５２７Ａ－１（Ｓｙｓｔｅｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）のマルチクローニングサイトに挿入した。ホタルルシフェラーゼを保有するレンチウイルスを、セクション１．１に記載の手順と同じ手順でパッケージ化した。次いで、ＨｅＬａ－ＢＣＭＡｔ細胞及びＨｅＬａ－ＣＤ１９ｔ細胞に、レンチウイルスを保有するホタルルシフェラーゼ構築物を２４時間形質導入した後、ピューロマイシン（５μｇ／ｍＬ）で選択した。ＨｅＬａ－ＢＣＭＡｔ－ルシフェラーゼ細胞またはＨｅＬａ－ＣＤ１９ｔ－ルシフェラーゼ細胞の生成を、Ｂｒｉｇｈｔ－Ｇｌｏ（商標）Ｌｕｃｉｆｅｒａｓｅ　Ａｓｓａｙ　Ｓｙｓｔｅｍ（Ｐｒｏｍｅｇａ）を用いて細胞内のルシフェラーゼ酵素活性を測定することによって確認した。

【０５９１】

結果を図８に示す。Ｔ細胞には、空の発現ベクターを形質導入するか、次のＴＦＰ：抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε、抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε／抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε／抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γ、抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε＋抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３ε、または抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε＋抗ＢＣＭＡ－ＣＤ３γを形質導入した。形質導入したＴ細胞を、ＣＤ１９を安定的に発現するＨｅＬａ細胞（図８Ａ）、ＢＣＭＡを安定的に発現するＨｅＬａ細胞（図８Ｂ）、またはＣＤ１９及びＢＣＭＡの両方を安定的に発現するＨｅＬａ細胞（図８Ｃ）とともにインキュベートした。「／」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを含むウイルスと抗ＣＤ１９　ＴＦＰを含むウイルスの２

つのウイルスをＴ細胞集団に形質導入したアッセイを指し、「＋」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団と抗ＣＤ１９　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団の２つの集団を組み合わせた使用を指す。標的細胞（本アッセイの場合、ＨｅＬａ－ＢＣＭＡｔ－ルシフェラーゼまたはＨｅＬａ－ＣＤ１９ｔ－ルシフェラーゼ）を９６－ウェルプレートに５０００細胞／ウェルで播種した。ＴＦＰ　Ｔ細胞を所望のエフェクター対標的比で標的細胞に加えた。次いで、細胞の混合物を３７℃、５％CO_2で２４時間培養し、その後、生標的細胞内のルシフェラーゼ酵素活性をＢｒｉｇｈｔ－Ｇｌｏ（登録商標）Ｌｕｃｉｆｅｒａｓｅ　Ａｓｓａｙ　Ｓｙｓｔｅｍによって測定した。細胞を遠心してペレットにし、ルシフェラーゼ基質を含有する培地中に再懸濁した。ルシフェラーゼは、細胞溶解によって放出されるため、ルシフェラーゼ活性が高いほど細胞死の割合が大きくなる。図に示されるように、二重特異性ＴＦＰ　Ｔ細胞集団は、単一の構築物単独のいずれよりも大きな割合の細胞を殺傷した。

【０５９２】

実施例１１：Ｌｕｍｉｎｅｘ（登録商標）によるＩＬ－２及びＩＦＮ－γ分泌：二重特異性ＴＦＰ　Ｔ細胞

標的細胞に接触したエフェクター細胞によるサイトカイン放出のレベルを検出するために、２－Ｐｌｅｘアッセイを、ヒトサイトカインＭａｇｎｅｔｉｃ　Ｂｕｆｆｅｒ　Ｒｅａｇｅｎｔ　Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＬＨＢ０００１Ｍ）をヒトＩＬ－２　Ｍａｇｎｅｔｉｃ　Ｂｅａｄ　Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＬＨＣ００２１Ｍ）及びヒトＩＦＮ－γ　Ｍａｇｎｅｔｉｃ　Ｂｅａｄ　Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＬＨＣ４０３１Ｍ）とともに使用して実施した。サイトカイン産生を、図８に示す解析でペレット化した細胞の上清で測定した。

【０５９３】

結果を図９に示し、ＩＦＮγ（斜線の付いた棒）及びＩＬ－２（無地の棒）の量を示す。上記のように、形質導入したＴ細胞を、ＣＤ１９を安定的に発現するＨｅＬａ細胞（図９Ａ）、ＢＣＭＡを安定的に発現するＨｅＬａ細胞（図９Ｂ）、またはＣＤ１９及びＢＣＭＡの両方を安定的に発現するＨｅＬａ細胞（図９Ｃ）とともにインキュベートした。「／」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを含むウイルスと抗ＣＤ１９　ＴＦＰを含むウイルスの２つのウイルスをＴ細胞集団に形質導入したアッセイを指し、「＋」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団と抗ＣＤ１９　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団の２つの集団を組み合わせた使用を指す。総サイトカイン産生をＹ軸に示す。図に示されるように、二重特異性ＴＦＰで処理した細胞からのサイトカイン産生は、単一特異性ＴＦＰのものより高くなかった。ほとんどの場合、サイトカインの産生は低く、これは、本明細書に記載される改変Ｔ細胞による治療を受ける患者に対して毒性の増大がない可能性を示している。

【０５９４】

実施例１２：ＥＬＩＳＡによるＩＬ－２及びＩＦＮ－γ分泌：ＮＫＧ２Ｄ　ＴＦＰ　Ｔ細胞

同種抗原を担持するＴ細胞の認識と関連するエフェクターＴ細胞活性化及び増殖の別の尺度は、インターロイキン－２（ＩＬ－２）及びインターフェロン－ガンマ（ＩＦＮ－γ）などのエフェクターサイトカインの産生である。

【０５９５】

ヒトＩＬ－２に対するＥＬＩＳＡアッセイ（カタログ番号ＥＨ２ＩＬ２、ＴｈｅｒｍｏＳｃｉｅｎｔｉｆｉｃ（登録商標））及びＩＦＮ－γ　カタログ番号ＫＨＣ４０１２、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を製品挿入物の記載のとおりに実施する。一例において、５０μＬの再構成した標準または試料を二連で９６ウェルプレートの各ウェルに加え、続いて５０μＬのＢｉｏｔｉｎｙｌａｔｅｄ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｒｅａｇｅｎｔを加える。プレートを静かに数回タッピングすることによって、試料を混合する。次いで、標準も試料も含まないウェルの全てに５０μＬのＳｔａｎｄａｒｄ　Ｄｉｌｕｅｎｔを加え、プレートを接着プレートカバーで慎重に密閉し、その後、室温で３時間インキュベート（２０～２５℃）する。次いで、プレートカバーを取り外し、プレートのなかを空にし、各ウェルをＷａｓｈ　Ｂｕｆｆｅｒで満たす。この洗浄手順を合計３回繰り返し、プレートを紙タオルま

たは他の吸収材料上で乾かす。調製した１００μＬのＳｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎ－ＨＲＰ Ｓｏｌｕｔｉｏｎを各ウェルに加え、新しいプレートカバーを付け、その後、室温で３０分間インキュベートする。プレートカバーを再び取り外し、プレートの内容物を捨て、１００μＬのＴＭＢ Ｓｕｂｓｔｒａｔｅ Ｓｏｌｕｔｉｏｎを各ウェルに加える。室温の暗所で３０分間反応させ、その後、１００μＬのＳｔｏｐ Ｓｏｌｕｔｉｏｎを各ウェルに加える。プレートを評価する。反応停止から３０分以内に、吸光度を、４５０ｎｍ及び５５０ｎｍに設定したＥＬＩＳＡプレートリーダーで測定する。４５０ｎｍの値から５５０ｎｍの値を引き、未知試料中のＩＬ－２量をＩＬ－２標準曲線から得た値を基準として算出する。

【０５９６】

あるいは、２－Ｐｌｅｘアッセイを、ヒトサイトカインＭａｇｎｅｔｉｃ Ｂｕｆｆｅｒ Ｒｅａｇｅｎｔ Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＬＨＢ０００１Ｍ）をヒトＩＬ－２ Ｍａｇｎｅｔｉｃ Ｂｅａｄ Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＬＨＣ００２１Ｍ）及びヒトＩＦＮ－γ Ｍａｇｎｅｔｉｃ Ｂｅａｄ Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＬＨＣ４０３１Ｍ）とともに使用して実施する。簡潔に述べれば、２５μＬのヒトＩＬ－２及びＩＦＮ－γ抗体ビーズを９６ウェルプレートの各ウェルに加え、次のガイドラインを使用して洗浄する：１×洗浄液２００μＬでの洗浄２回、プレートをＭａｇｎｅｔｉｃ ９６－ｗｅｌｌ ｐｌａｔｅ Ｓｅｐａｒａｔｏｒ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ａ１４１７９）に接触させて配置、ビーズを１分間沈降、及び液体のデカント。次いで、５０μＬのＩｎｃｕｂａｔｉｏｎ Ｂｕｆｆｅｒを、１００μＬの再構成した標準とともに２連で、または５０μＬの試料（細胞傷害性アッセイの上清）及び５０μＬのＡｓｓａｙ Ｄｉｌｕｅｎｔとともに３連で、プレートの各ウェルに加え、合計体積１５０μＬにする。試料を暗所にて、軌道半径３ｍｍのオービタルシェーカーを用いて、室温で２時間、６００ｒｐｍで混合する。同じ洗浄ガイドラインに従ってプレートを洗浄し、１００μＬのヒトＩＬ－２及びＩＦＮ－γビオチン化検出抗体を各ウェルに加える。試料を暗所にて、軌道半径３ｍｍのオービタルシェーカーを用いて、室温で１時間、６００ｒｐｍで混合する。同じ洗浄ガイドラインに従ってプレートを洗浄し、１００μＬのＳｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎ－Ｒ－Ｐｈｙｃｏｅｒｙｔｈｒｉｎを各ウェルに加える。試料を暗所にて、軌道半径３ｍｍのオービタルシェーカーを用いて、室温で３０分間、６００ｒｐｍで混合する。同じ洗浄ガイドラインを使用してプレートを３回洗浄し、液体をデカントした後、試料を１×洗浄液１５０μＬ中に再懸濁する。試料を軌道半径３ｍｍのオービタルシェーカーを用いて３分間６００ｒｐｍで混合し、４℃で一晩保存する。その後、同じ洗浄ガイドラインに従ってプレートを洗浄し、試料を１×洗浄液１５０μＬ中に再懸濁する。

【０５９７】

プレートをＭＡＧＰＩＸ Ｓｙｓｔｅｍ（Ｌｕｍｉｎｅｘ）及びｘＰＯＮＥＮＴソフトウェアを使用して読み取る。データ解析は、ＭＩＬＬＩＰＬＥＸ Ａｎａｌｙｓｔソフトウェアを使用して実施し、これにより、標準曲線及びサイトカイン濃度を得る。

【０５９８】

非形質導入細胞または対照のＣＡＲを形質導入したＴ細胞と比較して、ＮＫＧ２Ｄ ＴＦＰを形質導入したＴ細胞は、ＮＫＧ２Ｄを内因的に発現する細胞またはＮＫＧ２Ｄを形質導入した細胞のいずれかと共培養した場合、ＩＬ－２及びＩＦＮ－γの両方を高レベルで産生し得る。対照的に、ＮＫＧ２Ｄ陰性細胞または非形質導入細胞との共培養では、ＴＦＰを形質導入したＴ細胞からのサイトカイン放出は、ほとんどまたは全くもたらされ得ない。先の細胞傷害性データと一致して、代替ヒンジ領域を用いて構築されたＮＫＧ２ＤＴＦＰは、ＮＫＧ２Ｄを担持する標的細胞と共培養した場合、同様の結果をもたらし得る。

【０５９９】

先の細胞傷害性データと一致して、ＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ３ε及びＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ３γは、各ＴＦＰ構築物のうち、最大レベルのＩＬ－２及びＩＦＮ－γをもたらし得る。しかしながら、ＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ３ε ＴＦＰ及びＮＫＧ２Ｄ－ＣＤ３γ ＴＦＰを形質導入したＴ細胞によるサイトカイン産生は、当該ＴＦＰが極めて高い標的細胞殺傷レベルを示すに

もかかわらず、ＮＫＧ２Ｄ－２８ζ　ＣＡＲを発現するＴ細胞の産生と同程度であり得る。ＴＦＰがＣＡＲよりも効果的に標的細胞を殺傷する一方で、炎症促進性サイトカインの放出は同等または低レベルであり得るという可能性は、これらのサイトカインのレベル上昇が養子ＣＡＲ－Ｔ療法の用量制限毒性と関連していることから、ＣＡＲと比較して、ＴＦＰの潜在的な利点を表す。

【０６００】

活性化したＰＢＭＣに５０ＭＯＩのレンチウイルスを２日間連続して形質導入し、増殖させる。形質導入後８日目に、ＰＢＭＣの共培養液を、細胞傷害性培地（フェノールレッド不含ＲＰＭＩ１６４０（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）＋５％ＡＢ血清（Ｇｅｍｉｎｉ　Ｂｉｏｐｒｏｄｕｃｔｓ；１００－３１８）中、Ｅ：Ｔ比１：１（各細胞型０．２×１０^{6}個）で標的細胞（ＮＫＧ２Ｄを過剰発現するＫ５６２細胞）と組み合わせた。ＢＣＭＡを過剰発現するＫ５６２細胞を陰性対照として使用した。２４時間後、細胞のＩＦＮ－γ及びＩＬ－２発現を上記のとおりＥＬＩＳＡによって解析する。ＮＫＧ２Ｄ　ＣＡＲ及びＴＦＰ構築物を発現するＴ細胞は、ＩＦＮ－γ及びＩＬ－２の両方の産生によって示されるように、ＮＫＧ２Ｄ$^{+}$細胞と共培養することによって活性化されるが、ＮＫＧ２Ｄ$^{-}$細胞では活性されない。これは、ＮＫＧ２Ｄ発現細胞がＴ細胞を特異的に活性化させる能力があることを更に示す。

【０６０１】

実施例１３：リアルタイム細胞傷害性アッセイによる細胞傷害性：二重特異性ＴＦＰＴ細胞

ＲＴＣＡは、専用９６ウェルプレートの各ウェルで接着性標的細胞単層の電気インピーダンスをリアルタイムで測定し、最終読み出し値を細胞指数と呼ばれる値で示すものである。細胞指数の変化は、コインキュベートしたＴ細胞エフェクターによる標的細胞の殺傷の結果として、標的細胞単層が破壊されることを示す。したがって、エフェクターＴ細胞の細胞傷害性は、標的細胞とエフェクターＴ細胞の両方を含むウェルの細胞指数の変化と、標的細胞のみを含むウェルの細胞指数の変化を比較して評価することができる。

【０６０２】

本実施例で使用した標的細胞は、切断型ＢＣＭＡを発現するＨｅＬａ細胞（ＨｅＬａ－ＢＣＭＡｔ、細胞内ドメイン欠失）または切断型ＣＤ１９を発現するＨｅＬａ細胞（ＨｅＬａ－ＣＤ１９ｔ、細胞内ドメイン欠失）であった。ヒトＢＣＭＡｔまたはＣＤ１９ｔをコードするＤＮＡは、ＧｅｎｅＡｒｔ（登録商標）（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ）によって合成されたものであり、ＥＦ１ａプロモーターの制御下にある、選択マーカーとしてネオマイシンを保有する二重プロモーターレンチウイルスベクターｐＣＤＨ５１４Ｂ（Ｓｙｓｔｅｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）のマルチクローニングサイトに挿入した。次いで、ＢＣＭＡｔまたはＣＤ１９ｔをコードするベクターを保有するレンチウイルスを上記と同じ手順でパッケージ化した。次いで、ＨｅＬａ細胞にレンチウイルスを保有するＢＣＭＡｔまたはＣＤ１９ｔ構築物を２４時間形質導入した後、Ｇ４１８（１ｍｇ／ｍＬ）で選択した。選択されたＨｅＬａ－ＢＣＭＡｔ細胞またはＨｅＬａ－ＣＤ１９ｔ細胞によるＢＣＭＡｔまたはＣＤ１９ｔの発現は、抗ヒトＢＣＭＡ抗体（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ、クローン番号１９Ａ２；Ｍｉｌｔｅｎｙｉ、クローン番号ＲＥＡ３１５）または抗ヒトＣＤ１９抗体（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）をそれぞれ用いるＦＡＣＳ解析によって確認した。

【０６０３】

ＲＴＣＡのために、標的細胞（ＨｅＬａ－ＢＣＭＡｔまたはＨｅＬａ－ＣＤ１９ｔ）を９６ウェルポリエチレンテレフタレート（ＰＥＴ）Ｅ－Ｐｌａｔｅ（登録商標）（ＡＣＥＡ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ．）に１０，０００細胞／ウェルで播種した。二重特異性ＴＦＰ　Ｔ細胞を試験するために、ＨｅＬａ－ＢＣＭＡｔ細胞及びＨｅＬａ－ＣＤ１９ｔ細胞を最終数１０，０００細胞／ウェルになるように１：１の比で混合した。次いで、プレートをｘＣＥＬＬｉｇｅｎｃｅ（登録商標）ＲＴＣＡ　ＭＰ装置（ＡＣＥＡ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ．）に入れ、ベースライン測定を１００回の測定について１５分毎に行った。次いで、プレートを装置から取り出し、細胞傷害性培地（フェノールレ

ッド不含ＲＰＭＩ１６４０＋５％ＡＢ血清）中に懸濁したエフェクターＴ細胞を６０，０００細胞で各ウェルに加え、エフェクター対標的比を６：１にした。次いで、プレートを装置に戻した。測定を１００回の測定については２分毎に行い、その後、１０００回の測定については１５分毎に行った。

【０６０４】

結果を図１０に示す。図１０の凡例を以下の表に示す。

【０６０５】

【表２】

表２．ＲＴＣＡアッセイに使用した構築物

図	記録番号	標的細胞	構築物
5A	1	HeLa-CD19	標的のみ
	2		α-BCMA-CD3ε
	3		α-BCMA-CD3γ
	4		形質導入なし
	5		空のベクター
	6		α-CD19-CD3ε / α-BCMA-CD3γ
	7		α-CD19-CD3ε / α-BCMA-CD3ε
	8		α-CD19-CD3ε + α-BCMA-CD3γ
	9		α-CD19-CD3ε + α-BCMA-CD3ε
	10		α-CD19-CD3ε
5B	1	HeLa-BCMA	標的のみ
	2		形質導入なし
	3		空のベクター
	4		α-CD19 -CD3ε
	5		α-CD19-CD3ε + α-BCMA-CD3ε
	6		α-CD19 -CD3ε + α-BCMA-CD3γ
	7		α-CD19-CD3ε / α-BCMA-CD3γ
	8		α-CD19 -CD3ε / α-BCMA-CD3ε
	9		α-BCMA-CD3ε
	10		α-BCMA-CD3γ
5C	1	HeLa-CD19 + HeLa-BCMA (εε)	標的のみ
	2		形質導入なし
	3		空のベクター
	4		α-CD19-CD3ε
	5		α-BCMA-CD3ε
	6		α-CD19-CD3ε / α-BCMA-CD3ε
	7		α-CD19-CD3ε + α-BCMA-CD3ε
5D	1	HeLa-CD19 + HeLa-BCMA (εγ)	標的のみ
	2		形質導入なし
	3		空のベクター
	4		α-CD19-CD3ε
	5		α-BCMA-CD3γ
	6		α-CD19-CD3ε / α-BCMA-CD3γ
	7		α-CD19-CD3ε + α-BCMA-CD3γ

【０６０６】

右側の列の表において、「／」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを含むウイルスと抗ＣＤ１９　Ｔ

ＦＰを含むウイルスの２つのウイルスをＴ細胞集団に形質導入したアッセイを指し、「＋」は、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団と抗ＣＤ１９　ＴＦＰを形質導入したＴ細胞集団の２つの集団を組み合わせた使用を指す。

【０６０７】

図１０Ａは、ＣＤ１９を発現するＨｅＬａ細胞を示し、二重構築物を含む抗ＢＣＭＡ及び抗ＣＤ１９　ＴＦＰ　Ｔ細胞が、抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ　Ｔ細胞単独を含む細胞よりも、良好かつ迅速に細胞を殺傷したことを示す。単一特異性抗ＣＤ１９　ＴＦＰ対照は、二重特異性ＴＦＰ　Ｔ細胞と同等の活性を有した。

【０６０８】

図１０Ｂは、ＢＣＭＡ－を発現するＨｅＬａ細胞を示し、二重構築物を含む抗ＢＣＭＡ及び抗ＣＤ１９　ＴＦＰ　Ｔ細胞が、抗ＣＤ１９　ＴＦＰ　Ｔ細胞単独を含む細胞よりも、良好かつ迅速に細胞を殺傷したことを示す。単一特異性抗ＢＣＭＡ　ＴＦＰ対照は、二重特異性ＴＦＰ　Ｔ細胞と同等の活性を有した。

【０６０９】

図１０Ｃは、ＢＣＭＡ及びＣＤ１９を発現するＨｅＬａ細胞を示し、二重特異性構築物「ε ε」の能力を単一特異性ＴＦＰと比較して測定する。示されるように、二重特異性ＴＦＰ　Ｔ細胞は、２つのウイルスまたは２つのＴ細胞集団混合のいずれの形質導入にかかわらず、単一特異性ＴＦＰ　Ｔ細胞集団単独のいずれよりも著しく高い活性を有した。

【０６１０】

図１０Ｄは、ＢＣＭＡ及びＣＤ１９を発現するＨｅＬａ細胞を示し、二重特異性構築物「ε γ」の能力を単一特異性ＴＦＰと比較して測定する。示されるように、二重特異性ＴＦＰ　Ｔ細胞は、２つのウイルスまたは２つのＴ細胞集団混合のいずれの形質導入にかかわらず、単一特異性ＴＦＰ　Ｔ細胞集団単独のいずれよりも著しく高い活性を有した。

【０６１１】

実施例１４：フローサイトメトリーによるＣＤ１０７ａの露出

Ｔ細胞活性化の更なるアッセイは、休止細胞の細胞質細胞溶解性顆粒の膜に存在するリソソーム膜タンパク質（ＬＡＭＰ－１）である、ＣＤ１０７の表面発現である。細胞溶解活性の必要条件であるエフェクターＴ細胞の脱顆粒は、活性化により誘導される顆粒のエキソサイトーシスの結果、ＣＤ１０７ａの細胞表面への動員をもたらす。したがって、ＣＤ１０７ａの露出は、細胞傷害性と密接に相関し、サイトカイン産生に加えて、Ｔ細胞活性化の更なる尺度をもたらす。

【０６１２】

標的細胞とエフェクター細胞を別々に洗浄し、細胞傷害性培地（ＲＰＭＩ＋５％ヒトＡＢ血清＋１％抗生物質抗真菌剤）中に再懸濁する。アッセイは、Ｕ底９６ウェルプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）で、０．５μＬ／ウェルのＰＥ／Ｃｙ７標識抗ヒトＣＤ１０７ａ（ＬＡＭＰ－１）抗体（クローン－Ｈ４Ａ３、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）の存在下、最終体積１００μＬで、２×１０^{5}個のエフェクター細胞と２×１０^{5}個の標的細胞とを合わせることによって実施する。次いで、培養物を３７℃、５％CO_2で１時間インキュベートする。このインキュベーションの直後、１：１０希釈の分泌阻害剤のモネンシン１０μＬ（１０００×溶液、ＢＤ　ＧｏｌｇｉＳｔｏｐ（商標））を、細胞を乱さないように各ウェルに慎重に加える。次いで、プレートを３７℃、５％CO_2で更に２．５時間インキュベートする。このインキュベーションに続いて、細胞を、ＡＰＣ抗ヒトＣＤ３抗体（クローンＵＣＨＴ１、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、ＰｅｒＣＰ／Ｃｙ５．５抗ヒトＣＤ８抗体（クローンＳＫ１、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）及びＰａｃｉｆｉｃ　Ｂｌｕｅ抗ヒトＣＤ４抗体（クローンＲＰＡ－Ｔ４、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で染色し、次いで、３７℃、５％CO_2で３０分間インキュベートする。次いで、細胞をＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄し、（１００μＬのＦＡＣＳ緩衝液及び１００ｕｌのＩＣ固定緩衝液中に再懸濁し、その後、解析する。

【０６１３】

Ｔ細胞表面上のＣＤ１０７ａの露出をフローサイトメトリーによって検出する。フロー

サイトメトリーは、ＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａ（商標）Ｘ２０（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）により実施し、フローサイトメトリーのデータの解析は、ＦｌｏｗＪｏソフトウェア（Ｔｒｅｅｓｔａｒ，Ｉｎｃ．（Ａｓｈｌａｎｄ，ＯＲ））を使用して実施する。ＣＤ１０７$^{+}$であるＣＤ３ゲート内のＣＤ８$^{+}$エフェクター細胞のパーセンテージを各エフェクター／標的細胞培養物について測定する。

【０６１４】

先の細胞傷害性及びサイトカインデータと一致して、腫瘍関連抗原を発現する標的細胞と、抗腫瘍関連抗原－２８ζ　ＣＡＲを形質導入したエフェクターＴ細胞との共培養は、腫瘍関連抗原陰性標的細胞とインキュベートしたエフェクターと比較して、ＣＤ１０７ａ表面発現の増加を誘導し得る。同じ条件下で比較すると、抗腫瘍関連抗原－ＣＤ３ε　ＬＬ　ＴＦＰまたは抗腫瘍関連抗原－ＣＤ３γ　ＬＬ　ＴＦＰを発現するエフェクターは、５～７倍のＣＤ１０７ａ発現の誘導を示し得る。代替ヒンジ領域を用いて構築された抗腫瘍関連抗原ＴＦＰは、腫瘍関連抗原を担持する標的細胞と共培養した場合、同様の結果をもたらし得る。

【０６１５】

実施例１５：ｉｎ　ｖｉｖｏマウスでの有効性試験

抗腫瘍関連抗原ＴＦＰを形質導入したエフェクターＴ細胞がｉｎ　ｖｉｖｏで抗腫瘍応答を達成する能力を評価するために、抗腫瘍関連抗原－２８ζ　ＣＡＲ、抗腫瘍関連抗原－ＣＤ３ε　ＬＬ　ＴＦＰまたは抗腫瘍関連抗原－ＣＤ３γ　ＬＬ　ＴＦＰのいずれかを形質導入したエフェクターＴ細胞を、前もって腫瘍関連抗原＋ヒトがん細胞株を接種したＮＯＤ／ＳＣＩＤ／ＩＬ－２Ｒγ－／－（ＮＳＧ－ＪＡＸ）マウスに養子移入する。

【０６１６】

試験の開始前に少なくとも６週齢である雌のＮＯＤ／ＳＣＩＤ／ＩＬ－２Ｒγ－／－（ＮＳＧ－ＪＡＸ）マウスをＴｈｅ　Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ（ストック番号００５５５７）から入手し、実験使用前の３日間、順化させる。接種用のヒト腫瘍関連抗原発現細胞株は、対数増殖期培養に維持し、その後、生細胞数を決定するために回収し、トリパンブルーで計数する。腫瘍接種の当日に、細胞を３００ｇで５分間遠心分離し、予め温めておいた滅菌ＰＢＳ中に０．５～１×１０^{6}細胞／１００μＬのいずれかで再懸濁する。養子移入用に、非形質導入Ｔ細胞または抗腫瘍関連抗原－２８ζ　ＣＡＲ、抗腫瘍関連抗原－ＣＤ３ε　ＬＬ　ＴＦＰもしくは抗ＣＤ３γ　ＬＬ　ＴＦＰ構築物を形質導入したＴ細胞のいずれかを調製する。試験０日目に、実験群当たり１０匹の動物に対して、０．５～１×１０^{6}個の腫瘍関連抗原発現細胞を静脈内接種した。３日後、１００μＬの滅菌ＰＢＳ中の５×１０^{6}個のエフェクターＴ細胞集団を各動物に静脈内移入した。動物に関する詳細な臨床観察を安楽死まで毎日記録する。体重測定を死亡または安楽死まで毎週行う。試験物質及び対照物質の養子移入から３５日後に全ての動物を安楽死させる。試験中に瀕死状態を呈する動物は全て、獣医と相談の上、本試験の責任者の判断で安楽死させる。

【０６１７】

非形質導入Ｔ細胞と比較して、抗腫瘍関連抗原－２８ζ　ＣＡＲ、抗腫瘍関連抗原－ＣＤ３ε　ＬＬ　ＴＦＰまたは抗腫瘍関連抗原－ＣＤ３γ　ＬＬ　ＴＦＰのいずれかを形質導入したＴ細胞の養子移入は、メソテリン発現細胞株腫瘍担持マウスの生存を延長させ得、抗腫瘍関連抗原ＣＡＲ及びＴＦＰを形質導入したＴ細胞の両方が、これらのマウスモデルにおいて、標的細胞の殺傷を媒介し、これに付随して生存を延長することができることを示し得る。まとめると、これらのデータは、ＴＦＰが、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ及びｉｎ　ｖｉｖｏの両方で、第一世代ＣＡＲに優る抗原特異的殺傷を示すキメラ受容体を作製するための代替プラットフォームとなることを示し得る。

【０６１８】

実施例１６：ＣＤ１６　ＴＦＰは、腫瘍細胞抗原及び抗腫瘍抗原抗体の存在下で、腫瘍細胞溶解及びサイトカイン産生を誘導する。

ルシフェラーゼ標識Ｒａｊｉ細胞（ホタルルシフェラーゼを安定的に形質導入したＲａ

ｊｉ－ＦＦＬｕｃ腫瘍細胞）をＣＤ１６　ＴＦＰ　Ｔ細胞と１：１０の比、例えば、５０００個の腫瘍細胞＋５０，０００個のＴＦＰ　Ｔ細胞）で組み合わせた。リツキシマブまたは非グリコシル化リツキシマブを１μｇ／ｍｌで加え、細胞と抗体の混合物を３７℃で２４時間インキュベートした。細胞を遠心し、上清及びペレットを回収した。ペレットを再懸濁し、ルシフェリン基質とともにインキュベートし、ＳｐｅｃｔｒａＭａｘ（登録商標）プレートリーダーで読み取った。ルシフェラーゼは、溶解した細胞からしか得られないので、ルシフェラーゼシグナルと溶解は同等とみなされる。

【０６１９】

図１１は、無抗体対照と比較した、様々な構築物を形質導入したＴ細胞による本アッセイの結果を示す。Ｒａｊｉ細胞を、リツキシマブ及び次のＴ細胞：培地単独（抗体なし、白い棒）、陰性対照としてＴ細胞を含まないＲａｊｉ細胞、陰性対照として形質導入していないＴ細胞、ＣＤ１６－ＣＤ３ε　ＴＦＰ、ＣＤ１６－ＣＤ３γ　ＴＦＰ、ＣＤ１６－ＣＤ３δ　ＴＦＰ、ＣＤ１６－ＣＤ３β　ＴＦＰ、ＣＤ１６－ＣＤ２８ζ　ＣＡＲ、ＣＤ１６－４１ＢＢζ　ＣＡＲ、及び陽性対照として既知の活性を有する抗ＣＤ１９－ＣＤ３ε　ＴＦＰとともにインキュベートした。図１１Ａに見られるように、ＴＦＰ及びＣＡＲは全て、様々な程度で標的細胞集団の溶解を誘導することができた。陰性対照は、あったとしても、最小限の溶解であった。ＣＤ１６　ＴＦＰの中では、ＣＤ１６－ＣＤ３ε　ＴＦＰ及びＣＤ１６－ＣＤ３γが最も強力であった。陽性対照の抗ＣＤ１９　ＴＦＰは、このＴＦＰが標的細胞に直接結合するので、「抗体なし」対照群（白い棒）で溶解を誘導した。

【０６２０】

図１１Ｂは、同じアッセイを示すが、非グリコシル化リツキシマブ抗体を用いた。予想したとおり、ＣＤ１６は、非グリコシル化形態に結合しないので、リツキシマブとは無関係に機能する抗ＣＤ１９　ＴＦＰ陽性対照を除いて、Ｔ細胞構築物のいずれについても、細胞溶解はほとんど検出されなかった。

【０６２１】

上記の方法から回収した上清をＬｕｍｉｎｅｘ（登録商標）ＥＬＩＳＡアッセイに使用して、ＩＦＮγ及びＩＬ－２の量を検出及び定量した。図１２Ａ（ＩＦＮγ）及び図１２Ｂ（ＩＬ－２）に示されるように、ＴＦＰ　Ｔ細胞は、そのＣＡＲ　Ｔ細胞対応物よりも極めて低いサイトカイン濃度を誘導した。これは、過剰なサイトカイン産生が患者に望ましくない副作用を引き起こすので、治療薬として魅力的である。

【０６２２】

実施例１７：複数の悪性腫瘍に対するＮＫＧ２Ｄ$^{+}$－ＴＦＰ　Ｔ細胞のｉｎ　ｖｉｔｒｏ及びｉｎ　ｖｉｖｏ有効性

正常なドナー由来のＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞を調製して、ＮＫＧ２Ｄリガンドを発現する複数の固形腫瘍細胞株に対するＮＫＧ２Ｄ　ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞のｉｎ　ｖｉｔｒｏ及びｉｎ　ｖｉｖｏでの抗腫瘍効果を試験した。精製した正常ドナーＣＤ４及びＣＤ８Ｔ細胞をｐｒｏｄｉｇｙによって回収し、ＮＫＧ２Ｄ　ＣＤ３ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞をｅｘｖｉｖｏで増大させ、Ｄｙｎａｂｅａｄｓ＋ＩＬ－２またはＴｒａｎｓＡｃｔ＋ＩＬ－７／１５の存在条件下で、１０日間形質導入した。ｉｎ　ｖｉｔｒｏ及びｉｎ　ｖｉｖｏ抗腫瘍活性を、ＮＫＧ２Ｄリガンドを発現する複数の腫瘍細胞株を使用して解析した。レンチウイルスベクター及びレンチウイルスを上記の実施例に記載のとおりに調製した。

【０６２３】

ＮＫＧ２Ｄ単量体または二量体ＣＤ３ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞の調製

ＮＤ１３（ＨｅｍａＣａｒｅ、ドナーＩＤ：Ｗ３１３７１６０４０８９１）またはＮＤ１５（ＨｅｍａＣａｒｅ、ドナーＩＤ：Ｗ３１３７１７０４１４５９）由来の凍結ＣＤ４$^{+}$またはＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞を、０日目に、５％ヒトＡＢ血清（Ｇｅｍｉｎｉ　Ｐｒｏｄｕｃｔｓ、１００－３１８）、３００ＩＵ／ｍＬのｒｈＩＬ－２（Ｐｅｐｒｏｔｅｃｈ、２００－０２）及び１％抗生物質（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ロット番号１７３４０３６）を添加したＴ細胞増殖培地（ＡＩＭ－Ｖ（登録商標）＋ＡｌｂｕＭＡＸ（登録商標）（ＢＳＡ）（１×）（Ｇｉｂｃｏ、３１０３５－０２５）または３％ヒトＡＢ血清（Ｇｅｍｉｎｉ

Ｐｒｏｄｕｃｔｓ、１００－３１８）、１２．５ｎｇ／ｍＬのＩＬ－７（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ、カタログ番号１３０－０９５－３６３）及び１２．５ｎｇ／ｍｌのＩＬ－１５（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ、カタログ番号１３０－０９５－７６５）ならびに１％抗生物質（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を含むＴｅｘＭＡＣＳ（商標）培地（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ、ロット番号５１５１１２６０９４）のいずれかに再懸濁した。Ｄｙｎａｂｅａｄｓ＋ＩＬ－２条件で活性化させたＴ細胞については、Ｄｙｎａｂｅａｄｓ Ｈｕｍａｎ Ｔ－ａｃｔｉｖａｔｏｒ ＣＤ３／ＣＤ２８（Ｇｉｂｃｏ、００４１５４４７、ロット１７８５０７９）を１×滅菌ＰＢＳで３回洗浄した。次いで、５０μＬ（１×１０^{6}個のビーズ）のビーズ懸濁液を１ｍＬのＴ細胞懸濁液（１×１０^{6}細胞／ｍＬ）に移すことによって、ビーズをＴ細胞に１：１の比で加えた。次いで、１ｍＬのビーズ／細胞混合物を４８ウェルプレートの単一ウェルに分注し、３７℃、５％CO_2でインキュベートした。ＴｒａｎｓＡｃｔ＋ＩＬ－７／１５条件で活性化させたＴ細胞については、４０μＬ（１×１０^{6}個のビーズ）のビーズ懸濁液を１ｍＬのＴ細胞懸濁液（１×１０^{6}細胞／ｍＬ）に移すことによって、ビーズをＴ細胞に１：１の比で直接加えた。１日目に、指定のＭＯＩでレンチウイルスの形質導入を実施し、レンチウイルスを添加していないＴ細胞を非形質導入群（ＮＴ）とした。プレートを、ウェル中の細胞を乱さないように、３７℃のインキュベータに戻した。形質導入Ｔ細胞を、３００ＩＵ／ｍＬのｒｈＩＬ－２を添加したＴ細胞増殖培地または１２．５ｎｇ／ｍｌのＩＬ－７及び１２．５ｎｇ／ｍｌのＩＬ－１５を添加したＴｅｘＭＡＣＳ（商標）に維持した。形質導入Ｔ細胞を５×１０^{5}細胞／ｍＬの濃度まで４８時間毎に継代培養した。活性化後１０日目に、ＳＤ１（抗メソテリン）ＣＤ３ε－ＴＦＰ Ｔ細胞及び非形質導入Ｔ細胞を計数し、表現型を調べ、更なる分析のために液体窒素中に保存した。

【０６２４】

腫瘍細胞

ＭＳＬＮ$^{+}$細胞株ＭＳＴＯ－２１１Ｈ（ＡＴＣＣ（登録商標）ＣＲＬ－２０８１（商標））をＡＴＣＣから入手した。ＭＳＬＮ高発現細胞株ＭＳＴＯ－２１１Ｈ－ＦＬ ＭＳＬＮを、完全長ＭＳＬＮをコードするレンチウイルスベクターをＭＳＴＯ－２１１Ｈ（ＡＴＣＣ、ＣＲＬ－２０８１（商標））に安定的に形質導入することによって作製した。ＯＶＣＡＲ３（ＡＴＣＣ ＨＴＢ－１６１（商標））、ＳａＯＳ２（ＡＴＣＣ ＨＴＢ－８５（商標））、ＳＫＯＶ３（ＡＴＣＣ ＨＴＢ－７７（商標））、Ａ５４９（ＡＴＣＣ－ＣＣＬ１８５（商標））、Ａ４３１（ＡＴＣＣ ＣＲＬ－１５５５（商標））、Ｕ３７３（ＡＴＣＣ ＨＴＢ－１７（商標））、ＰＣ－３（ＡＴＣＣ ＣＲＬ－１４３５（商標））。ルシフェラーゼを発現する細胞株を、ホタルルシフェラーゼをコードするレンチウイルスベクターを細胞に形質導入することによって作製した。形質導入後、ピューロマイシン（５μｇ／ｍＬ）またはＧ４１８（５ｍｇ／ｍＬ）を加えることによって安定発現株を選択した。全細胞株及びその誘導体をＡＴＣＣ推奨培地に維持した。

【０６２５】

ＦＡＣＳによる形質導入効率及びＴ細胞活性化の決定

更なる詳細を得るために、ＳＯＰ ００５ Ｔ細胞の表現型染色パネルショートを参照する。簡潔に述べれば、Ｔ細胞からビーズを除去し（Ｄｙｎａｂｅａｄｓ＋ＩＬ－２条件で増殖させた場合）、ＰＢＳで２回洗浄してから、固定可能生死判定溶液（ＰＢＳで１：１０００に希釈）で染色した。ＰＢＳで２回洗浄した後、細胞ペレットを１００μＬの抗体染色ミックス中に再懸濁した。抗体染色ミックスは、１００μＬ／試料ＦＡＣＳ緩衝液中に次の抗体：ヒトＦｃブロック（１μＬ／試料）、ＣＤ４－パシフィックブルー（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ、カタログ番号３００５２１、ロット番号Ｂ２３１６１１、１μＬ／試料）、ＣＤ８－ＰｅｒＣＰｃｙ５．５（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ、カタログ番号３４４７１０、ロット番号Ｂ２２６３６２、１μＬ／試料）、ＮＫＧ２Ｄ－ＡＰＣ（Ｒ＆Ｄ、カタログ番号：ＦＡＢ１３９Ａ、ロット番号ＬＣＯ０６１３１２１、１μＬ／試料）、ＵＬＢＰ１－ＡＰＣ（Ｒ＆Ｄ、カタログ番号：ＦＡＢ１３９Ａ、ロット番号ＬＣＯ０６１３１２１、１μＬ／試料）、ＵＬＢＰ２／５／６－ＰＥ（Ｒ＆Ｄ、ＦＡＢ１２９８Ｐ、ロット番号ＬＷＥ０７１６０９１、１μＬ／試料）、ＵＬＢＰ４－ＡＰＣ（Ｒ＆Ｄ、カタログ番号：ＦＡＢ

６２８５Ａ、ロット番号ＡＤＸＯ０１１７０４１、１μＬ／試料）、ＭＩＣＡ／Ｂ－ＡＦ４８８（ｅｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、カタログ番号：５３－５７８８－４２、ロット番号：Ｅ１０６８３－１６３３、１μＬ／試料）を用いて調製する。一致するアイソタイプコントロール抗体（１μＬ／試料）を用いて、アイソタイプコントロールミックスを調製する。暗所にて４℃、少なくとも３０分間インキュベートする。室温、６００×ｇで２分間遠心分離し、上清を捨て、２００μＬのＦＡＣＳ緩衝液中に細胞ペレットを再懸濁する。洗浄を２回繰り返し、試料をＢＤ　ＬＳＲ　ＦｏｒｔｅｓｓａＸ－２０　Ｃｅｌｌ　Ａｎａｌｙｚｅｒにかける。

【０６２６】

腫瘍細胞溶解：ルシフェラーゼレポーター（Ｌｕｃ）アッセイ

標的細胞上のＮＫＧ２Ｄリガンド発現を確認し、ＮＫＧ２Ｄ単量体または二量体εＴＦＰ　Ｔ細胞の発現を、品質管理として、Ｌｕｃアッセイの日にフローサイトメトリーによって確認した。標的細胞の単一懸濁液をＲ１０培地で調製した。１００μＬ中1×10^4個の細胞を丸底９６ウェルプレートに加えた。ＴＦＰ　Ｔ細胞を融解し、ビーズを除去し（Ｄｙｎａｂｅａｄｓ＋ＩＬ－２条件でｅｘ　ｖｉｖｏ増殖させた場合）、洗浄し、その後、サイトカインを含まないＴ細胞培養培地で再懸濁した。所望数のＴ細胞（１００μＬ中）をエフェクター対標的比がそれぞれ５：１、１：１及び１：５になるように加えた。各Ｔ細胞型について、試験する比率で３連で調製した。次いで、細胞を３７℃、５％CO_2で２４時間培養した。２４時間共培養した後、プレートを３００×ｇで２分間遠心分離し、細胞をペレットにした。Ｌｕｍｉｎｅｘ（登録商標）アッセイのために、各ウェルの１００μＬの培養上清を慎重に取り出した。Ｂｒｉｇｈｔ－Ｇｌｏ（商標）Ｌｕｃｉｆｅｒａｓｅ　Ａｓｓａｙ　Ｓｙｓｔｅｍ（Ｐｒｏｍｅｇａ、Ｅ２６５０、ロット０００００２２３８５２）の１００μＬのアッセイ緩衝液を各ウェルに加えた。各ウェルの内容物を静かに上下にピペッティングすることによって混合した。細胞・試薬混合物を、細胞を完全に溶解させるために、室温で３分間、暗所に放置した。各ウェルの２００μＬの細胞溶解物をＧｒｅｉｎｅｒ－Ｏｎｅ白色壁９６ウェルプレートに移した。発光をＳｐｅｃｔｒａＭａｘ（登録商標）Ｍ５プレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）によって相対発光量（ＲＬＵ）で測定した。腫瘍溶解率（％）を以下に示す式によって算出した。

【０６２７】

【数１】

$$\text{腫瘍溶解率（\%）} = 100 * \left[1 - \frac{\text{発光（腫瘍＋Ｔ細胞）}}{\text{発光（腫瘍）}}\right]$$

【０６２８】

ＭＳＴＯ－ＦＬ　ＭＳＬＮを用いた皮下異種移植マウスモデル及びｉｎ　ｖｉｖｏ評価

マウスモデルは、Ａｂｐｒｏ（Ｗｏｂｕｒｎ，ＭＡ）で実施した。雌の６週齢ＮＳＧマウス（Ｔｈｅ　Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ、ストック番号００５５５７）を以下のＮＤ試験に使用した条件と同じ条件下で最低３日間順化させた。ＭＳＴＯ－２１１Ｈ－ＦＬＭＳＬＮ－Ｌｕｃ細胞を1×10^6細胞／１００μＬの濃度で滅菌ＰＢＳ中に再懸濁した。次いで、ＰＢＳ細胞懸濁液を氷冷Ｍａｔｒｉｇｅｌ（登録商標）と１：１で混合し、各マウスにつき最終注射体積を２００μＬにした。得られたＰＢＳ／Ｍａｔｒｉｇｅｌ細胞懸濁液は、マウスの後側腹部に皮下投与するまで、氷上に維持した。腫瘍成長をＣａｌｉｐｅｒ測定により腫瘍体積としてモニタリングした。腫瘍体積は、次のとおりに算出した：

腫瘍体積＝１／２（長径×短径^2）
【０６２９】
腫瘍細胞の注射から１３日後、動物を腫瘍体積（２００～３００mm^3）に従って無作為化し、３群に分け、Ｄｙｎａｂｅａｄｓ＋ＩＬ－２条件でｅｘ　ｖｉｖｏ増殖させたＮＤ１３由来のＮＫＧ２Ｄ二量体ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞を注射した。Ｔ細胞の注射日を試験０日目とみなした。Ｔ細胞は、滅菌ＰＢＳ中、１×１０^{6}または５×１０^{6}細胞／１００μＬの濃度でそれぞれ０日目及び２０日目に２回調製した。次いで、細胞懸濁液をマウスに尾静脈を介して静脈内注射した。
【０６３０】
ＴｒａｎｓＡｃｔ＋ＩＬ－７／１５条件によるＮＫＧ２Ｄ二量体ＣＤ３ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞のｅｘ　ｖｉｖｏ増殖中及び抗原結合中のＣＤ４及びＣＤ８比、ＮＫＧ２Ｄリガンド発現
ＴｒａｎｓＡｃｔ＋ＩＬ－７／１５条件を使用して作製したＮＫＧ２Ｄ二量体ＣＤ３ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞について、増殖後３、６、８、１０日目に、細胞を計数し、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８及びＮＫＧ２Ｄリガンド（ＮＫＧ２ＤＬ）を染色した。抗原結合時のＮＫＧ２Ｄリガンド発現について、ＥＧＦＲｖＩＩＩ－ＴＦＰ　Ｔ細胞及びＫ５６２親細胞またはＫ５６２－ＥＧＦＲｖＩＩＩ細胞を１：１の比で２４時間共培養した。次いで、ＮＫＧ２Ｄリガンド発現をフローサイトメトリーによって測定し、ＣＤ４$^+$及びＣＤ８$^+$Ｔ細胞でゲーティングして解析した。
【０６３１】
Ｄｙｎａｂｅａｄｓ＋ＩＬ－２条件でのＮＫＧ２Ｄ単量体及び二量体ε－ＴＦＰ（商標）Ｔ細胞のｅｘ　ｖｉｖｏ増殖
ＮＫＧ２Ｄは細胞表面上で二量体化することから、ＮＫＧ２Ｄ細胞外ドメイン（ＥＣＤ）を逆の順序でＴＦＰのＣＤ３ε形態とともにコードするレンチウイルスを用いて、ＮＫＧ２Ｄリガンド特異的ＴＦＰ　Ｔ細胞を調製した。単量体及び二量体融合物を作製した。ＮＫＧ２Ｄ単量体及び二量体ＣＤ３ε－ＴＦＰ構造及びプラスミド設計を上記図５に示した。Ｄｙｎａｂｅａｄｓ＋ＩＬ－２条件を用いたｅｘ　ｖｉｖｏ増殖の実験計画を図１３Ａに示す。ＮＤ１３（ＨｅｍａＣａｒｅ（商標）（Ｖａｎ　Ｎｕｙｓ，ＣＡ）のＷ３１３７１６０４０８９１）を使用して、ＮＫＧ２Ｄ単量体及び二量体ＣＤ３ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞の両方を作製した。増殖１０日目に、ＣＤ４$^+$及びＣＤ８$^+$集団のＮＧＫ２Ｄの存在について表面染色することによって、ＮＫＧ２Ｄ単量体及び二量体ε－ＴＦＰの形質導入効率を決定した（図１３Ｂ）。ＮＫＧ２Ｄ単量体の形質導入効率は約１８％であり、二量体は約７８％であった。ＮＫＧ２Ｄ二量体ＣＤ３ε－ＴＦＰは、ＮＫＧ２Ｄ単量体ＣＤ３ε－ＴＦＰと比較して、より高い形質導入効率を示した。
【０６３２】
ＮＫＧ２Ｄ単量体または二量体ＣＤ３ε－ＴＦＰ細胞のｉｎ　ｖｉｔｒｏ有効性は、ルシフェラーゼレポーター腫瘍細胞溶解アッセイを使用して試験した。アッセイの日に、ＭＳＴＯ－２１１Ｈ－ＦＬＭＳＬＮ－Ｌｕｃ（中皮腫／卵巣癌／膵癌／肺癌）、ＯＶＣＡＲ３－Ｌｕｃ及びＳＫＯＶ３－Ｌｕｃ（卵巣癌）、ＳａＯＳ２（骨肉腫）細胞株（図１４Ａ）上のリガンド発現（ＵＬＢＰ－１、ＵＬＢＰ２／５／６、ＵＬＢＰ－３、ＵＬＢＰ－４、ＭＩＣＡ／Ｂ）を確認し、Ａ５４９－Ｌｕｃ（肺癌）、Ａ４３１（皮膚癌）、Ｕ３７３（膠芽腫）及びＰＣ－３（前立腺癌）細胞株上のＵＬＢＰ２／５／６及びＭＩＣＡ／Ｂを確認した（図１４Ｃ）。ＮＫＧ２Ｄ　単量体及び二量体ＣＤ３ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞のいずれも異なるレベルの腫瘍殺傷を示した。５：１のエフェクター対標的比で全ての細胞株と共培養した場合のＮＫＧ２Ｄ二量体ＣＤ３ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞、１：１エフェクター対標的比で全ての細胞株と共培養した場合のＮＫＧ２Ｄ二量体ＣＤ３ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞で、強力な腫瘍細胞溶解が観察され、または、５：１のエフェクター対標的比で全ての細胞株と共培養した場合のＮＫＧ２Ｄ単量体ＣＤ３ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞は、２４時間後、３０～５０％の殺傷を示す。これらの細胞株と共培養した場合、ＮＴ　Ｔ細胞ではいずれも腫瘍溶解は観察されなかった（図１４Ｂ及び１４Ｃ）。

【０６３３】
異種移植リガンド発現腫瘍マウスモデルにおけるＮＫＧ２Ｄ二量体ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞のｉｎ　ｖｉｖｏ有効性
ＭＳＴＯ－２１１Ｈ－ＦＬＭＳＬＮ－Ｌｕｃを使用してｓ．ｃ．異種移植ＮＫＧ２Ｄリガンド発現腫瘍マウスモデルを確立し、腫瘍体積を週２回測定した。腫瘍での標的発現及びＴ細胞でのＴＦＰ発現のＱＣを注射日にそれぞれ実施した（図１５Ａ及び１５Ｂ）。腫瘍注射後１３日目に、平均腫瘍体積は、２００～３００mm^3に達した。１０日目に、ＮＤ１３（ＨｅｍａＣａｒｅ（商標）（Ｖａｎ　Ｎｕｙｓ，ＣＡ）のＷ３１３７１６０４０８９１）に由来する、Ｄｙｎａｂｅａｄｓ＋ＩＬ－２で増殖させたＮＫＧ２Ｄ二量体ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞を融解し、形質導入効率を確認した。マウス当たり１×１０^6または５×１０^6個のＮＫＧ２Ｄ二量体ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞または一致する非形質導入Ｔ細胞を、０日目及び２０日目に２回、静脈内注射し、その後、腫瘍体積をモニタリングした。用量５×１０^6細胞でのＮＫＧ２Ｄ二量体ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞による処置は、４２日間の観察にわたって部分的な保護を示す。マウス１０匹中４匹で腫瘍がなくなり、４２日目まで腫瘍がない状態を維持し、１０匹中１匹は、約１００mm^3の腫瘍体積を保持した。ＮＴ細胞で処置したマウスと５×１０^6ＮＫＧ２Ｄ二量体ε－ＴＦＰ　Ｔ細胞で処置したマウスとの間には、生存率に有意な差が示された。用量１×１０^6でのＮＫＧ２Ｄ二量体ε－ＴＦＰによる処置では、腫瘍成長を制御できなかった。（図１５Ｃ及び１５Ｄ）。
【０６３４】
本発明の好ましい実施形態を本明細書に示し、説明してきたが、かかる実施形態は、例としてのみ提供されることは、当業者には明らかであろう。当業者であれば、本発明から逸脱することなく、多数の変形形態、変更及び置換を想起するであろう。本明細書に記載される本発明の実施形態に対する様々な代替が本発明の実施において採用され得ることを理解されたい。以下の特許請求の範囲が本発明の範囲を定義し、特許請求の範囲内の方法及び構造ならびにそれらの等価物を包含することが意図される。
【０６３５】

【表３－１】

付録Ａ：配列一覧

配列番号	名称	配列
1	短いリンカー１	GGGGSGGGGSGGGGSLE
2	短いリンカー２	AAAGGGGSGGGGSGGGGSLE
3	長いリンカー	AAAIEVMYPPPYLGGGGSGGGGSGGGGSLE
4	ヒトＣＤ３－ε	MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTV ILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELE QSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVD ICITGGLLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPP VPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRI
5	ヒトＣＤ３－γ	MEQGKGLAVLILAIILLQGTLAQSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCD AEAKNITWFKDGKMIGFLTEDKKKWNLGSNAKDPRGMYQCKGSQ NKSKPLQVYYRMCQNCIELNAATISGFLFAEIVSIFVLAVGVYFIAGQ DGVRQSRASDKQTLLPNDQLYQPLKDREDDQYSHLQGNQLRRN
6	ヒトＣＤ３－δ	MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPIEELEDRVFVNCNTSITWVEGT VGTLLSDITRLDLGKRILDPRGIYRCNGTDIYKDKESTVQVHYRMC QSCVELDPATVAGIIVTDVIATLLLALGVFCFAGHETGRLSGAADTQ ALLRNDQVYQPLRDRDDAQYSHLGGNWARNKS
7	ヒトＣＤ３－ζ	MKWKALFTAAILQAQLPITEAQSFGLLDPKLCYLLDGILFIYGVILTA LFLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
8	ヒトＴＣＲα鎖	MAGTWLLLLLALGCPALPTGVGGTPFPSLAPPIMLLVDGKQQMVV VCLVLDVAPPGLDSPIWFSAGNGSALDAFTYGPSPATDGTWTNLAH LSLPSEELASWEPLVCHTGPGAEGHSRSTQPMHLSGEASTARTCPQ EPLRGTPGGALWLGVLRLLLFKLLLFDLLLTCSCLCDPAGPLPSPAT TTRLRALGSHRLHPATETGGREATSSPRPQPRDRRWGDTPPGRKPG SPVWGEGSYLSSYPTCPAQAWCSRSALRAPSSSLGAFFAGDLPPPLQ AGA
9	ヒトＴＣＲα鎖Ｃ領域	PNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITD KTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPE SSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRL WSS
10	ヒトＴＣ	MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQQKNDDQQVKQNSPSLSVQEGRIS

【０６３６】

【表３－２】

	Rα鎖V領域CTL－L17	ILNCDYTNSMFDYFLWYKKYPAEGPTFLISISSIKDKNEDGRFTVFL NKSAKHLSLHIVPSQPGDSAVYFCAAKGAGTASKLTFGTGTRLQVT L
11	ヒトTCRß鎖C領域	EDLNKVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWW VNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPR NHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSV SYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF
12	ヒトTCRß鎖V領域CTL－L17	MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQNPRHNITKRGQNVTFRCDPI SEHNRLYWYRQTLGQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERPK GSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASSLAGLNQPQHFGDGTRLSIL
13	ヒトTCRß鎖V領域YT35	MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPIS GHNSLFWYRQTMMRGLELLIYFNNNVPIDDSGMPEDRFSAKMPN ASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSFSTCSANYGYTFGSGTRLTVV
14	ＩＩ型NKG2D内在性膜タンパク質、UniProtアクセッション番号P26718－1	MGWIRGRRSRHSWEMSEFHNYNLDLKKSDFSTRWQKQRCPVVKS KCRENASPFFFCCFIAVAMGIRFIIMVAIWSAVFLNSLFNQEVQIPLT ESYCGPCPKNWICYKNNCYQFFDESKNWYESQASCMSQNASLLKV YSKEDQDLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGSWQWEDGSILSPNLLTIIE MQKGDCALYASSFKGYIENCSTPNTYICMQRTV
15	p502__NKG2D__CD3イプシロン細胞外ドメイン二量体（ECD）	NSLFNQEVQIPLTESYCGPCPKNWICYKNNCYQFFDESKNWYESQ ASCMSQNASLLKVYSKEDQDLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGSWQW EDGSILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSFKGYIENCSTPNTYICMQRT VGGGGSGGGGSGGGGSLENSLFNQEVQIPLTESYCGPCPKNWICY KNNCYQFFDESKNWYESQASCMSQNASLLKVYSKEDQDLLKLVKS YHWMGLVHIPTNGSWQWEDGSILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSFK GYIENCSTPNTYICMQRTVAAAGGGGSGGGGSGGGGSLEDGNEEM GGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNI GSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCEN CMEMDVMS
16	p502__NKG	NSLFNQEVQIPLTESYCGPCPKNWICYKNNCYQFFDESKNWYESQ ASCMSQNASLLKVYSKEDQDLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGSWQW

【０６３７】

【表３－３】

	２Ｄ＿ＣＤ３イプシロンＯＲＦ、二量体（アミノ酸配列）	EDGSILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSFKGYIENCSTPNTYICMQRT VGGGGSGGGGSGGGGSLENSLFNQEVQIPLTESYCGPCPKNWICY KNNCYQFFDESKNWYESQASCMSQNASLLKVYSKEDQDLLKLVKS YHWMGLVHIPTNGSWQWEDGSILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSFK GYIENCSTPNTYICMQRTVAAAGGGGSGGGGSGGGGSLEDGNEEM GGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNI GSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCEN CMEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAG AGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRI*
17	ｐ５０２ＮＫＧ２Ｄ単量体ＤＮＡ配列	ACGCGTGTAGTCTTATGCAATACTCTGTAGTCTTGCAACATGGTAA CGATGAGTTAGCAACATGCCTTACAAGGAGAGAAAAAGCACCGTG CATGCCGATTGGTGGAAGTAAGGTGGTACGATCGTGCCTTATTAG GAAGGCAACAGACGGGTCTGACATGGATTGGACGAACCACTGAAT TGCCGCATTGCAGAGATATTGTATTTAAGTGCCTAGCTCGATACAT AAACGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTC TGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCT TGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGT AACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTA GCAGTGGCGCCCGAACAGGGACTTGAAAGCGAAAGGGAAACCAG AGGAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGCGCACG GCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCCAAAAATTTT GACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCA GTATTAAGCGGGGGAGAATTAGATCGCGATGGGAAAAAATTCGGT TAAGGCCAGGGGGAAAGAAAAAATATAAATTAAAACATATAGTATG GGCAAGCAGGGAGCTAGAACGATTCGCAGTTAATCCTGGCCTGTT AGAAACATCAGAAGGCTGTAGACAAATACTGGGACAGCTACAACC ATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAACTTAGATCATTATATAATACA GTAGCAACCCTCTATTGTGTGCATCAAAGGATAGAGATAAAAGACA CCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAGCAAAACAAAAGTA AGACCACCGCACAGCAAGCGGCCACTGATCTTCAGACCTGGAGGA GGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATAAAG TAGTAAAAATTGAACCATTAGGAGTAGCACCCACCAAGGCAAAGA GAAGAGTGGTGCAGAGAGAAAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCT TTGTTCCTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCA GCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGT ATAGTGCAGCAGCAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAA CAGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAG GCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTC

【０６３８】

【表３－４】

		CTGGGGATTTGGGGTTGCTCTGGAAAACTCATTTGCACCACTGCT GTGCCTTGGAATGCTAGTTGGAGTAATAAATCTCTGGAACAGATTT GGAATCACACGACCTGGATGGAGTGGGACAGAGAAATTAACAATT ACACAAGCTTAATACACTCCTTAATTGAAGAATCGCAAAACCAGCA AGAAAAGAATGAACAAGAATTATTGGAATTAGATAAATGGGCAAGT TTGTGGAATTGGTTTAACATAACAAATTGGCTGTGGTATATAAAATT ATTCATAATGATAGTAGGAGGCTTGGTAGGTTTAAGAATAGTTTTT GCTGTACTTTCTATAGTGAATAGAGTTAGGCAGGGATATTCACCAT TATCGTTTCAGACCCACCTCCCAACCCCGAGGGGACCCGACAGGC CCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGAGAGAGAGACAGAGACAGA TCCATTCGATTAGTGAACGGATCTCGACGGTATCGGTTAACTTTTA AAAGAAAAGGGGGGATTGGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATA GTAGACATAATAGCAACAGACATACAAACTAAAGAATTACAAAAAC AAATTACAAAATTCAAAATTTTATCGATACTAGTGGATCTGCGATCG CTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC CGAGAAGTTGGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACGGGTGCCTAGA GAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGG CTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCA GTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGA ACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCC CGCCGCCCTACCTGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTT CTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTCCTGAACTGCGTCCGCCGTC TAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTCCGGCG CTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGC CTGACCCTGCTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTC TGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGTGACCGGCGCCTACTCTAGAGC CGCCACCATGCTTCTCCTGGTGACAAGCCTTCTGCTCTGTGAGTTA CCACACCCAGCATTCCTCCTGATCCCAAACTCCCTCTTCAACCAGG AGGTGCAGATCCCCCTCACAGAGAGCTACTGCGGGCCCTGTCCAA AGAATTGGATATGTTACAAGAACAATTGCTACCAGTTCTTCGATGA GTCAAAAAATTGGTATGAGAGCCAAGCTTCCTGCATGTCTCAGAAT GCCAGCCTTCTGAAGGTGTACTCAAAAGAAGACCAGGACTTGCTG AAACTGGTCAAGTCTTACCACTGGATGGGGCTCGTGCACATTCCA ACGAACGGTAGCTGGCAGTGGGAAGATGGCTCCATATTGTCTCCT AACCTTCTCACCATAATAGAGATGCAGAAGGGTGATTGCGCTCTGT ACGCTAGTAGCTTCAAGGGCTATATTGAGAATTGTAGTACACCCAA CACATACATTTGTATGCAGAGAACCGTGGGAGGTGGTGGCAGCGG TGGCGGTGGAAGTGGTGGCGGCGGTTCTCTCGAGGATGGTAATGA

【０６３９】

【表３－５】

		AGAAATGGGTGGTATTACACAGACACCATATAAAGTCTCCATCTCT GGAACCACAGTAATATTGACATGCCCTCAGTATCCTGGATCTGAAA TACTATGGCAACACAATGATAAAAACATAGGCGGTGATGAGGATGA TAAAAACATAGGCAGTGATGAGGATCACCTGTCACTGAAGGAATTT TCAGAATTGGAGCAAAGTGGTTATTATGTCTGCTACCCCAGAGGAA GCAAACCAGAAGATGCGAACTTTTATCTCTACCTGAGGGCAAGAG TGTGTGAGAACTGCATGGAGATGGATGTGATGTCGGTGGCCACAA TTGTCATAGTGGACATCTGCATCACTGGGGGCTTGCTGCTGCTGG TTTACTACTGGAGCAAGAATAGAAAGGCCAAGGCCAAGCCTGTGA CACGAGGAGCGGGTGCTGGCGGCAGGCAAAGGGGACAAAACAAG GAGAGGCCACCACCTGTTCCCAACCCAGACTATGAGCCCATCCGG AAAGGCCAGCGGGACCTGTATTCTGGCCTGAATCAGAGACGCATC TGATAAGAATTCGAATTTAAATCGGATCCGCGGCCGCGTCGACAAT CAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTA ACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCT TTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTT GTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTT GTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACC CCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGG ACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACTCATCGCCG CCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTG ACAATTCCGTGGTGTTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTTGGCT GCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTG CTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGG CCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCC TCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCCTGGTAC CTTTAAGACCAATGACTTACAAGGCAGCTGTAGATCTTAGCCACTT TTTAAAAGAAAAGGGGGGACTGGAAGGGCTAATTCACTCCCAACG AAGATAAGATCTGCTTTTTGCTTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGAC CAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTG CTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTG CCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTT TTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGCAGTAGTAGTTCATGTCATCTT ATTATTCAGTATTTATAACTTGCAAAGAAATGAATATCAGAGAGTGA GAGGAACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAAT AGCATCACAAATTTCACAAATAAAGCATTTTTTTCACTGCATTCTAG TTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCATGTCTGGCTCT AGCTATCCCGCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCCTAACTCCGCCC

【０６４０】

【表３－６】

		AGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTA TGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTA GTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGACTTTTGCAGAGACGGCCC AAATTCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGAAATTGTTATC CGCTCACAATTCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTA AAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTT GCGCTCACTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCT GCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCGTAT TGGGCGCTCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGT CGTTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAAT ACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTG AGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGT TGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCCTGACGAGCATCACA AAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTAT AAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTC CTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCC TTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTC AGTTCGGTGTAGGTCGTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAA CCCCCCGTTCAGCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTC TTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAG CCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTA CAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGA CAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAA AAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAG CGGTGGTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAA AGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCT CAGTGGAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTAT CAAAAAGGATCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAAAAATGAAGTTT TAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCTGACAGTTACC AATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCG TTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATA CGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGA GACCCACGCTCACCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACCAGCCA GCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCC TCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTT CGCCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCAT CGTGGTGTCACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTCAGCTCCGG TTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCCATGTTGTGCAAA

【０６４１】

【表３－７】

		AAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAG TTGGCCGCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATT CTCTTACTGTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGA GTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAG TTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGC AGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGA AAACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAAC CCACTCGTGCACCCAACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTCACCAG CGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAA GGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTT TTTCAATATTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGG ATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAAACAAATAGGGGTTCCGC GCACATTTCCCCGAAAAGTGCCACCTGACGTCTAAGAAACCATTAT TATCATGACATTAACCTATAAAAATAGGCGTATCACGAGGCCCTTT CGTCTCGCGCGTTTCGGTGATGACGGTGAAAACCTCTGACACATG CAGCTCCCGGAGACGGTCACAGCTTGTCTGTAAGCGGATGCCGGG AGCAGACAAGCCCGTCAGGGCGCGTCAGCGGGTGTTGGCGGGTG TCGGGGCTGGCTTAACTATGCGGCATCAGAGCAGATTGTACTGAG AGTGCACCATATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATGCGTAAGGAG AAAATACCGCATCAGGCGCCATTCGCCATTCAGGCTGCGCAACTG TTGGGAAGGGCGATCGGTGCGGGCCTCTTCGCTATTACGCCAGCT GGCGAAAGGGGGATGTGCTGCAAGGCGATTAAGTTGGGTAACGCC AGGGTTTTCCCAGTCACGACGTTGTAAAACGACGGCCAGTGCCAA GCTG
18	ｐ５０２＿ＮＫＧ２Ｄ二量体＿ＣＤ３イプシロン（ＤＮＡ配列）	ACGCGTGTAGTCTTATGCAATACTCTGTAGTCTTGCAACATGGTAA CGATGAGTTAGCAACATGCCTTACAAGGAGAGAAAAAGCACCGTG CATGCCGATTGGTGGAAGTAAGGTGGTACGATCGTGCCTTATTAG GAAGGCAACAGACGGGTCTGACATGGATTGGACGAACCACTGAAT TGCCGCATTGCAGAGATATTGTATTTAAGTGCCTAGCTCGATACAT AAACGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTC TGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCT TGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGT AACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTA GCAGTGGCGCCCGAACAGGGACTTGAAAGCGAAAGGGAAACCAG AGGAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGCGCACG GCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCCAAAAATTTT GACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCA GTATTAAGCGGGGGAGAATTAGATCGCGATGGGAAAAAATTCGGT

【０６４２】

【表３－８】

		TAAGGCCAGGGGGAAAGAAAAAATATAAATTAAAACATATAGTATG GGCAAGCAGGGAGCTAGAACGATTCGCAGTTAATCCTGGCCTGTT AGAAACATCAGAAGGCTGTAGACAAATACTGGGACAGCTACAACC ATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAACTTAGATCATTATATAATACA GTAGCAACCCTCTATTGTGTGCATCAAAGGATAGAGATAAAAGACA CCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAGCAAAACAAAAGTA AGACCACCGCACAGCAAGCGGCCACTGATCTTCAGACCTGGAGGA GGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATAAAG TAGTAAAAATTGAACCATTAGGAGTAGCACCCACCAAGGCAAAGA GAAGAGTGGTGCAGAGAGAAAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCT TTGTTCCTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCA GCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGT ATAGTGCAGCAGCAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAA CAGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAG GCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTC CTGGGGATTTGGGGTTGCTCTGGAAAACTCATTTGCACCACTGCT GTGCCTTGGAATGCTAGTTGGAGTAATAAATCTCTGGAACAGATTT GGAATCACACGACCTGGATGGAGTGGGACAGAGAAATTAACAATT ACACAAGCTTAATACACTCCTTAATTGAAGAATCGCAAAACCAGCA AGAAAAGAATGAACAAGAATTATTGGAATTAGATAAATGGGCAAGT TTGTGGAATTGGTTTAACATAACAAATTGGCTGTGGTATATAAAATT ATTCATAATGATAGTAGGAGGCTTGGTAGGTTTAAGAATAGTTTTT GCTGTACTTTCTATAGTGAATAGAGTTAGGCAGGGATATTCACCAT TATCGTTTCAGACCCACCTCCCAACCCCGAGGGGACCCGACAGGC CCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGAGAGAGAGACAGAGACAGA TCCATTCGATTAGTGAACGGATCTCGACGGTATCGGTTAACTTTTA AAAGAAAAGGGGGGATTGGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATA GTAGACATAATAGCAACAGACATACAAACTAAAGAATTACAAAAAC AAATTACAAAATTCAAAATTTTATCGATACTAGTGGATCTGCGATCG CTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC CGAGAAGTTGGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACGGGTGCCTAGA GAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGG CTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCA GTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGA ACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCC CGCCGCCCTACCTGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTT CTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTCCTGAACTGCGTCCGCCGTC TAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTCCGGCG

【０６４３】

【表３－９】

		CTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGC CTGACCCTGCTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTC TGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGTGACCGGCGCCTACTCTAGAGC CGCCACCATGCTTCTCCTGGTGACAAGCCTTCTGCTCTGTGAGTTA CCACACCCAGCATTCCTCCTGATCCCAAACTCCCTCTTCAACCAGG AGGTGCAGATCCCCCTCACAGAGAGCTACTGCGGGCCCTGTCCAA AGAATTGGATATGTTACAAGAACAATTGCTACCAGTTCTTCGATGA GTCAAAAAATTGGTATGAGAGCCAAGCTTCCTGCATGTCTCAGAAT GCCAGCCTTCTGAAGGTGTACTCAAAAGAAGACCAGGACTTGCTG AAACTGGTCAAGTCTTACCACTGGATGGGGCTCGTGCACATTCCA ACGAACGGTAGCTGGCAGTGGGAAGATGGCTCCATATTGTCTCCT AACCTTCTCACCATAATAGAGATGCAGAAGGGTGATTGCGCTCTGT ACGCTAGTAGCTTCAAGGGCTATATTGAGAATTGTAGTACACCCAA CACATACATTTGTATGCAGAGAACCGTGGGAGGTGGTGGCAGCGG TGGCGGTGGAAGTGGTGGCGGTGGCAGTCTCGAGAACTCATTATT CAACCAAGAAGTTCAAATTCCCTTGACCGAAAGTTACTGTGGCCC ATGTCCTAAAAACTGGATATGTTACAAAAATAACTGCTACCAATTTT TTGATGAGAGTAAAAACTGGTATGAGAGCCAGGCTTCTTGTATGTC TCAAAATGCCAGCCTTCTGAAAGTATACAGCAAAGAGGACCAGGA TTTACTTAAACTGGTGAAGTCATATCATTGGATGGGACTAGTACAC ATTCCAACAAATGGATCTTGGCAGTGGGAAGATGGCTCCATTCTCT CACCCAACCTACTAACAATAATTGAAATGCAGAAGGGAGACTGTG CACTCTATGCCTCTAGCTTTAAAGGCTATATAGAAAACTGTTCAAC TCCAAATACATACATCTGCATGCAAAGGACTGTGGCGGCCGCAGG TGGCGGCGGTTCTGGTGGCGGCGGTTCTGGTGGCGGCGGTTCTC TCGAGGATGGTAATGAAGAAATGGGTGGTATTACACAGACACCATA TAAAGTCTCCATCTCTGGAACCACAGTAATATTGACATGCCCTCAG TATCCTGGATCTGAAATACTATGGCAACACAATGATAAAAACATAG GCGGTGATGAGGATGATAAAAACATAGGCAGTGATGAGGATCACC TGTCACTGAAGGAATTTTCAGAATTGGAGCAAAGTGGTTATTATGT CTGCTACCCCAGAGGAAGCAAACCAGAAGATGCGAACTTTTATCT CTACCTGAGGGCAAGAGTGTGTGAGAACTGCATGGAGATGGATGT GATGTCGGTGGCCACAATTGTCATAGTGGACATCTGCATCACTGG GGGCTTGCTGCTGCTGGTTTACTACTGGAGCAAGAATAGAAAGGC CAAGGCCAAGCCTGTGACACGAGGAGCGGGTGCTGGCGGCAGGC AAAGGGGACAAAACAAGGAGAGGCCACCACCTGTTCCCAACCCA GACTATGAGCCCATCCGGAAAGGCCAGCGGGACCTGTATTCTGGC CTGAATCAGAGACGCATCTGATAAGAATTCGAATTTAAATCGGATC

【０６４４】

【表３－１０】

		CGCGGCCGCGTCGACAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAA AGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGG ATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGG CTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTAT GAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCAC TGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCAC CTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCC ACGGCGGAACTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGG GCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTTGTCGGGGAAA TCATCGTCCTTTCCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTC TGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAG CGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTC CGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGG CCGCCTCCCCGCCTGGTACCTTTAAGACCAATGACTTACAAGGCA GCTGTAGATCTTAGCCACTTTTTAAAAGAAAAGGGGGGACTGGAA GGGCTAATTCACTCCCAACGAAGATAAGATCTGCTTTTTGCTTGTA CTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTG GCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTG AGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAA CTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGC AGTAGTAGTTCATGTCATCTTATTATTCAGTATTTATAACTTGCAAA GAAATGAATATCAGAGAGTGAGAGGAACTTGTTTATTGCAGCTTAT AATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTCACAAATAAAG CATTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAAT GTATCTTATCATGTCTGGCTCTAGCTATCCCGCCCCTAACTCCGCC CATCCCGCCCCTAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCAT GGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGG CCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCC TAGACTTTTGCAGAGACGGCCCAAATTCGTAATCATGGTCATAGCT GTTTCCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACAATTCCACACAACATA CGAGCCGGAAGCATAAAGTGTAAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTG AGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTTTCCAGT CGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCG CGGGGAGAGGCGGTTTGCGTATTGGGCGCTCTTCCGCTTCCTCGC TCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCGGCTGCGGCGAGCGGTAT CAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGG ATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCA GGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCC

【０６４５】

【表３－１１】

		GCCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGT GGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTG GAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCG GATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTC ATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTCGCTC CAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTCAGCCCGACCGCTG CGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACAC GACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGA GCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCT AACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGC TGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCG GCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGTTTGCAAGC AGCAGATTACGCGCAGAAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGA TCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAACGAAAACTCACGTT AAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAGAT CCTTTTAAATTAAAAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATG AGTAAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACC TATCTCAGCGATCTGTCTATTTCGTTCATCCATAGTTGCCTGACTCC CCGTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCC CCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCACCGGCTCCAG ATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAA GTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTG CCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAA CGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTCACGCTCGTCGTTT GGTATGGCTTCATTCAGCTCCGGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTT ACATGATCCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTC CTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGGCCGCAGTGTTATCACTCAT GGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGCCATCCGTA AGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAG AATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATAC GGGATAATACCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCAT TGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACTCTCAAGGATCTTACCGCT GTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGATCT TCAGCATCTTTTACTTTCACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAG GAAGGCAAAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAAT GTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTAT CAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGA AAAATAAACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGC

【０６４６】

【表３－１２】

		CACCTGACGTCTAAGAAACCATTATTATCATGACATTAACCTATAAA AATAGGCGTATCACGAGGCCCTTTCGTCTCGCGCGTTTCGGTGAT GACGGTGAAAACCTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTCACA GCTTGTCTGTAAGCGGATGCCGGGAGCAGACAAGCCCGTCAGGG CGCGTCAGCGGGTGTTGGCGGGTGTCGGGGCTGGCTTAACTATGC GGCATCAGAGCAGATTGTACTGAGAGTGCACCATATGCGGTGTGA AATACCGCACAGATGCGTAAGGAGAAAATACCGCATCAGGCGCCA TTCGCCATTCAGGCTGCGCAACTGTTGGGAAGGGCGATCGGTGCG GGCCTCTTCGCTATTACGCCAGCTGGCGAAAGGGGGATGTGCTGC AAGGCGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCCCAGTCACGACG TTGTAAAACGACGGCCAGTGCCAAGCTG
20	ヒトROR１アイソフォーム１（標準形） UniProtアクセッション番号 Q０１９７３－１	MHRPRRRGTRPPLLALLAALLLAARGAAAQETELSVSAELVPTSSW NISSELNKDSYLTLDEPMNNITTSLGQTAELHCKVSGNPPPTIRWF KNDAPVVQEPRRLSFRSTIYGSRLRIRNLDTTDTGYFQCVATNGKE VVSSTGVLFVKFGPPPTASPGYSDEYEEDGFCQPYRGIACARFIGNR TVYMESLHMQGEIENQITAAFTMIGTSSHLSDKCSQFAIPSLCHYAF PYCDETSSVPKPRDLCRDECEILENVLCQTEYIFARSNPMILMRLKL PNCEDLPQPESPEAANCIRIGIPMADPINKNHKCYNSTGVDYRGTV SVTKSGRQCQPWNSQYPHTHTFTALRFPELNGGHSYCRNPGNQKE APWCFTLDENFKSDLCDIPACDSKDSKEKNKMEILYILVPSVAIPLAI ALLFFFICVCRNNQKSSSAPVQRQPKHVRGQNVEMSMLNAYKPKS KAKELPLSAVRFMEELGECAFGKIYKGHLYLPGMDHAQLVAIKTLK DYNNPQQWTEFQQEASLMAELHHPNIVCLLGAVTQEQPVCMLFEY INQGDLHEFLIMRSPHSDVGCSSDEDGTVKSSLDHGDFLHIAIQIAA GMEYLSSHFFVHKDLAARNILIGEQLHVKISDLGLSREIYSADYYRV QSKSLLPIRWMPPEAIMYGKFSSDSDIWSFGVVLWEIFSFGLQPYY GFSNQEVIEMVRKRQLLPCSEDCPPRMYSLMTECWNEIPSRRPRF KDIHVRLRSWEGLSSHTSSTTPSGGNATTQTTSLSASPVSNLSNPRY PNYMFPSQGITPQGQIAGFIGPPIPQNQRFIPINGYPIPPGYAAFPAA HYQPTGPPRVIQHCPPPKSRSPSSASGSTSTGHVTSLPSSGSNQEAN IPLLPHMSIPNHPGGMGITVFGNKSQKPYKIDSKQASLLGDANIHG HTESMISAEL
21	ヒトROR１アイソフォーム２	MHRPRRRGTRPPLLALLAALLLAARGAAAQETELSVSAELVPTSSW NISSELNKDSYLTLDEPMNNITTSLGQTAELHCKVSGNPPPTIRWF KNDAPVVQEPRRLSFRSTIYGSRLRIRNLDTTDTGYFQCVATNGKE VVSSTGVLFVKFGPPPTASPGYSDEYEEDGFCQPYRGIACARFIGNR TVYMESLHMQGEIENQITAAFTMIGTSSHLSDKCSQFAIPSLCHYAF PYCDETSSVPKPRDLCRDECEILENVLCQTEYIFARSNPMILMRLKL

【０６４７】

【表３－１３】

		PNCEDLPQPESPEAANCIRIGIPMADPINKNHKCYNSTGVDYRGTV SVTKSGRQCQPWNSQYPHTHTFTALRFPELNGGHSYCRNPGNQKE APWCFTLDENFKSDLCDIPACGK
22	ヒトＲＯＲ１アイソフォーム３	MNNITTSLGQTAELHCKVSGNPPPTIRWFKNDAPVVQEPRRLSF RSTIYGSRLRIRNLDTTDTGYFQCVATNGKEVVSSTGVLFVKFGPPP TASPGYSDEYEEDGFCQPYRGIACARFIGNRTVYMESLHMQGEIEN QITAAFTMIGTSSHLSDKCSQFAIPSLCHYAFPYCDETSSVPKPRDLC RDECEILENVLCQTEYIFARSNPMILMRLKLPNCEDLPQPESPEAA NCIRIGIPMADPINKNHKCYNSTGVDYRGTVSVTKSGRQCQPWNS QYPHTHTFTALRFPELNGGHSYCRNPGNQKEAPWCFTLDENFKSD LCDIPACDSKDSKEKNKMEILYILVPSVAIPLAIALLFFFICVCRNNQ KSSSAPVQRQPKHVRGQNVEMSMLNAYKPKSKAKELPLSAVRFME ELGECAFGKIYKGHLYLPGMDHAQLVAIKTLKDYNNPQQWTEFQQ EASLMAELHHPNIVCLLGAVTQEQPVCMLFEYINQGDLHEFLIMRS PHSDVGCSSDEDGTVKSSLDHGDFLHIAIQIAAGMEYLSSHFFVHK DLAARNILIGEQLHVKISDLGLSREIYSADYYRVQSKSLLPIRWMPP EAIMYGKFSSDSDIWSFGVVLWEIFSFGLQPYYGFSNQEVIEMVRK RQLLPCSEDCPPRMYSLMTECWNEIPSRRPRFKDIHVRLRSWEGLS SHTSSTTPSGGNATTQTTSLSASPVSNLSNPRYPNYMFPSQGITPQG QIAGFIGPPIPQNQRFIPINGYPIPPGYAAFPAAHYQPTGPPRVIQHC PPPKSRSPSSASGSTSTGHVTSLPSSGSNQEANIPLLPHMSIPNHPG GMGITVFGNKSQKPYKIDSKQASLLGDANIHGHTESMISAEL
23	ＣＤ１６アイソフォームＡ、ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ０８６３７	MWQLLLPTALLLLVSAGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTL KCQGAYSPEDNSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQT NLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPRWVFKEEDPIHLRCHSWKNTAL HKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGLFGSKNV SSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQVSFCLVMVLLFAVDTGLYFSV KTNIRSSTRDWKDHKFKWRKDPQDK
24	配列番号２３のＣＤ１６Ｖ１５８バリアント	MWQLLLPTALLLLVSAGMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTL KCQGAYSPEDNSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQT NLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPRWVFKEEDPIHLRCHSWKNTAL HKVTYLQNGKGRKYFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGLVGSKNV SSETVNITITQGLAVSTISSFFPPGYQVSFCLVMVLLFAVDTGLYFSV KTNIRSSTRDWKDHKFKWRKDPQDK
25	抗ＣＤ１	AGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAA

【０６４８】

【表３－１４】

	９軽鎖ＣＤＲ１（ＤＮＡ）	
26	抗ＣＤ１９軽鎖ＣＤＲ１（タンパク質）	RASQDISK
27	抗ＣＤ１９軽鎖ＣＤＲ２（ＤＮＡ）	ATCTACCATACATCAAGATTA
28	抗ＣＤ１９軽鎖ＣＤＲ２（タンパク質）	IYHTSRL
29	抗ＣＤ１９軽鎖ＣＤＲ３（ＤＮＡ）	CAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACG
30	抗ＣＤ１９軽鎖ＣＤＲ３（タンパク質）	QQGNTLPYT
31	抗ＣＤ１９重鎖ＣＤＲ１（ＤＮＡ）	GGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGC
32	抗ＣＤ１９重鎖ＣＤＲ１（タンパク質）	GVSLPDYGVS
33	抗ＣＤ１９重鎖ＣＤＲ２（ＤＮＡ）	GTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTC
34	抗ＣＤ１９重鎖ＣＤＲ２（タ	VIWGSETTYYNSAL

【０６４９】

【表３－１５】

	ンパク質）	
35	抗ＣＤ１９重鎖ＣＤＲ３（ＤＮＡ）	CATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTAC
36	抗ＣＤ１９重鎖ＣＤＲ３（タンパク質）	HYYYGGSYAMDY
37	抗ＣＤ１９軽鎖可変領域（ＤＮＡ）	GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACTAAGTTGGAAATAACA
38	抗ＣＤ１９軽鎖可変領域（タンパク質）	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEIT
39	抗ＣＤ１９重鎖可変領域（ＤＮＡ）	GAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTCGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
40	抗ＣＤ１９重鎖可変領域（タンパク質）	EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS
41	抗ＢＣＭＡ軽鎖ＣＤＲ１（ＤＮＡ）	AAAAGCAGCCAGAGCCTGGTGCATAGCAACGGCAACACCTATCTGCAT
42	抗ＢＣＭ	KSSQSLVHSNGNTYLH

【０６５０】

【表３－１６】

	ＡＢＣＭＡ軽鎖ＣＤＲ１（タンパク質）	
43	抗ＢＣＭＡ軽鎖ＣＤＲ２（ＤＮＡ）	AAAGTGAGCAACCGCTTTAGC
44	抗ＢＣＭＡ軽鎖ＣＤＲ２（タンパク質）	KVSNRFS
45	抗ＢＣＭＡ軽鎖ＣＤＲ３（ＤＮＡ）	GCGGAAACCAGCCATGTGCCGTGGACC
46	抗ＢＣＭＡ軽鎖ＣＤＲ３（タンパク質）	AETSHVPWT
47	抗ＢＣＭＡ重鎖ＣＤＲ１（ＤＮＡ）	AAAGCGAGCGGCTATAGCTTTCCGGATTATTATATTAAC
48	抗ＢＣＭＡ重鎖ＣＤＲ１（タンパク質）	KASGYSFPDYYIN
49	抗ＢＣＭＡ重鎖ＣＤＲ２（ＤＮＡ）	TGGATTTATTTTGCGAGCGGCAACAGCGAATATAACCAGAAATTTACCGGC
50	抗ＢＣＭＡ重鎖ＣＤＲ２（タンパク質）	WIYFASGNSEYNQKFTG
51	抗ＢＣＭＡ重鎖ＣＤＲ３（Ｄ	CTGTATGATTATGATTGGTATTTTGATGTG

【０６５１】

【表３－１７】

	ＮＡ）	
52	抗ＢＣＭＡ重鎖ＣＤＲ３（タンパク質）	LYDYDWYFDV
53	抗ＢＣＭＡ重鎖可変領域（ＤＮＡ）	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGG CGCGAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAGCGAGCGGCTATAGCTTTCC GGATTATTATATTAACTGGGTGCGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCT GGAATGGATGGGCTGGATTTATTTTGCGAGCGGCAACAGCGAATA TAACCAGAAATTTACCGGCCGCGTGACCATGACCCGCGATACCAG CAGCAGCACCGCGTATATGGAACTGAGCAGCCTGCGCAGCGAAGA TACCGCGGTGTATTTTTGCGCGAGCCTGTATGATTATGATTGGTAT TTTGATGTGTGGGGCCAGGGCACCATGGTGACCGTGAGCAGC
54	抗ＢＣＭＡ重鎖可変領域（タンパク質）	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGL EWMGWIYFASGNSEYNQKFTGRVTMTRDTSSSTAYMELSSLRSED TAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMVTVSS
55	抗ＢＣＭＡ軽鎖可変領域（ＤＮＡ）	GATATTGTGATGACCCAGACCCCGCTGAGCCTGAGCGTGACCCCG GGCGAACCGGCGAGCATTAGCTGCAAAAGCAGCCAGAGCCTGGT GCATAGCAACGGCAACACCTATCTGCATTGGTATCTGCAGAAACCG GGCCAGAGCCCGCAGCTGCTGATTTATAAAGTGAGCAACCGCTTT AGCGGCGTGCCGGATCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCGCGGA TTTTACCCTGAAAATTAGCCGCGTGGAAGCGGAAGATGTGGGCGT GTATTATTGCGCGGAAACCAGCCATGTGCCGTGGACCTTTGGCCA GGGCACCAAACTGGAAATTAAAAGC
56	抗ＢＣＭＡ軽鎖可変領域（タンパク質）	DIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPG QSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYC AETSHVPWTFGQGTKLEIKS
57	抗ＣＤ２２軽鎖ＣＤＲ１	QDIHGY
58	抗ＣＤ２２軽鎖ＣＤＲ２	YTS
59	抗ＣＤ２２軽鎖ＣＤＲ３	QQGNTLPWT

【０６５２】

【表３－１８】

60	抗ＣＤ２２重鎖ＣＤＲ１	GFAFSIYD
61	抗ＣＤ２２重鎖ＣＤＲ２	ISSGGGTT
62	抗ＣＤ２２重鎖ＣＤＲ３	ARHSGYGTHWGVLFAY
63	抗ＣＤ２２軽鎖可変領域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTIWSYLNWYQQRPGKAPNL LIYAASSLQSGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSLQAEDFATYYCQQSYSI PQTFGQGTKLEIKEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFAFSIYD MSWVRQTPEKRLEWVAYISSGGGTTYYPDTVKGRFTISRDNAKNTL YLQMSSLKSEDTAMYYCARHSGYGTHWGVLFAYWQGTLVTVSA
64	抗ＣＤ２２重鎖可変領域	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRG LEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPE DTAVYYCAREVTGDLEDAFDIWGQGTMVTVSSGGSLAALTAHQAC HLPLETFTRHRQPRGWEQLEQCGYPVQRLVALYLAARLSWNQVDQ VIRNALASPGSGGDLGEAIREQPEQARLALTLAAAESERFVRQGTG NDEAGAANGPADSGDALLERNYPTGAEFLGDGGDVSFSTRGTQN WTVERLLQAHRQLEERGYVFVGYHGTFLEAAQSIVFGGVRARSQD LDAIWRGFYIAGDPALAYGYAQDQEPDAAGRIRNGALLRVYVPRSSL PGFYRTSLTLAAPEAAGEVERLIGHPLPLRLDAITGPEEEGGRLETI LGWPLAERTVVIPSAIPTDPRNVGGDLDPSSIPDKEQAISALPDYAS QPGKPPREDLK
65	抗ＲＯＲ１ｓｃＦｖ２－７ＶＨ＿リンカー４＿抗ＲＯＲ１２－７ＶＬ（ＤＮＡ）	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGTGGTCTGGTTCAGCCGGG TGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGTGCGGCGAGCGGCTTTACCTTTAG CAGCTATGCCATGAGCTGGGTGCGTCAGGCACCGGGTAAAGGCCT GGAATGGGTGAGCGCGATTAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTATTA TGCGGATAGCGTGAAAGGCCGTTTTACCATTAGCCGTGATAACAG CAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGA TACCGCGGTGTATTATTGCGCGAAAGATAAGGGTTGGTTTAACTGG CAATTCGATTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTTACCGTTAGCAGC GGTGGAGGCGGTTCTGGTGGAGGCGGTTCGGATGGCGGAGGTTC AGAAATTGTGCTGACCCAGAGCCCGGGCACGCTGTCTCTGAGCCC GGGTGAACGTGCGACCCTGAGCTGTCGTGCGAGCCAAAGCGTGA GCAGCAGCTATCTGGCCTGGTATCAgCAGAAACCGGGCCAGGCAC CGCGTCTGCTGATTTATGGCGCGAGCAGCCgTGCGACCGGCATTC

【０６５３】

【表３－１９】

		CGGATCGTTTTAGCGGCAGCGGTAGCGGCACCGATTTTACCCTGA CCATTAGCCGTCTGGAACCGGAAGATTTTGCGGTGTATTATTGCCA GCAGTATGGCAGCAGCCCGTGGACCTTTGGCCAGGGCACCAAAGT GGAAATTAAA
66	リンカー４（ＤＮＡ）	GGTGGAGGCGGTTCTGGTGGAGGCGGTTCGGATGGCGGAGGTTC A
67	抗ＲＯＲ１ｓｃＦｖ２－７ＶＨ（ＤＮＡ）	GAAGTGCAACTTCTCGAGAGCGGTGGGGGACTCGTCCAGCCGGG AGGTTCCCTGCGACTCAGCTGTGCAGCCTCAGGCTTTACCTTTTC CAGTTACGCAATGAGTTGGGTCCGGCAGGCGCCTGGTAAAGGACT CGAGTGGGTGAGTGCAATCAGCGGAAGTGGCGGGTCTACATACTA TGCGGACTCTGTTAAAGGCAGGTTCACTATTTCAAGGGACAATTCC AAGAACACGCTCTACCTGCAGATGAATAGCCTTAGAGCTGAAGAC ACGGCCGTGTACTATTGTGCCAAAGACAAGGGATGGTTCAACTGG CAGTTCGACTACTGGGGGCAGGGAACTCTCGTCACCGTGAGCTCC
68	抗ＲＯＲ１ｓｃＦｖ２－７ＶＬ（ＤＮＡ）	GAAATTGTTCTCACACAGTCACCCGGAACCCTTTCATTGTCCCCCG GCGAGCGCGCCACCCTCAGCTGTCGGGCCAGTCAGAGCGTGTCTA GCTCTTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGGCAAGCTCCCA GACTCCTGATATATGGGGCCAGCAGCCGGGCCACTGGCATTCCGG ACAGGTTTAGTGGATCAGGCTCTGGCACTGATTTTACACTGACGAT TTCAAGGTTGGAACCCGAAGACTTCGCAGTGTACTATTGTCAGCA GTATGGGTCTAGCCCGTGGACTTTCGGGCAAGGCACCAAGGTGGA AATCAAG
69	抗ＲＯＲ１２－９ＶＨ＿リンカー４＿抗ＲＯＲ１２－９ＶＬ	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGTGGTCTGGTTCAGCCGGG TGGCAGCCTGCGTCTGAGCTGTGCGGCGAGCGGCTTTACCTTTAG CAGCTATGCCATGAGCTGGGTGCGTCAGGCACCGGGTAAAGGCCT GGAATGGGTGAGCGCGATTAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTATTA TGCGGATAGCGTGAAAGGCCGTTTTACCATTAGCCGTGATAACAG CAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGA TACCGCGGTGTATTATTGCGCGAAAAAACAATATCACTTCGATTAT TGGGGCCAGGGCACCCTGGTTACCGTTAGCAGCGGTGGAGGCGG TTCTGGTGGAGGCGGTTCGGGTGGCGGAGGTTCAGAAATTGTGCT GACCCAGAGCCCGGGCACGCTGTCTCTGAGCCCGGGTGAACGTG CGACCCTGAGCTGTCGTGCGAGCCAGAGCGTGAGCAGCAGCTATC TGGCCTGGTATCAGCAGAAACCGGGCCAGGCACCGCGTCTGCTGA TTTATGGCGCGAGCAGCCGTGCGACCGGCATTCCGGATCGTTTTA GCGGCAGCGGTAGCGGCACCGATTTTACCCTGACCATTAGCCGTC TGGAACCGGAAGATTTTGCGGTGTATTATTGCCAGCAGTATGGCA

【０６５４】

【表３－２０】

		GCAGCCCGTGGACCTTTGGCCAGGGCACCAAAGTGGAAATTAAA
70	抗ＲＯＲ１ｓｃＦｖ２－９ＶＨ（ＤＮＡ）	GAAGTGCAACTTCTCGAGAGCGGTGGGGGACTCGTCCAGCCGGG AGGTTCCCTGCGACTCAGCTGTGCAGCCTCAGGCTTTACCTTTTC CAGTTACGCAATGAGTTGGGTCCGGCAGGCGCCTGGTAAAGGACT CGAGTGGGTGAGTGCAATCAGCGGAAGTGGCGGGTCTACATACTA TGCGGACTCTGTTAAAGGCAGGTTCACTATTTCAAGGGACAATTCC AAGAACACGCTCTACCTGCAGATGAATAGCCTTAGAGCTGAAGAC ACGGCCGTGTACTATTGTGCCAAAAAGCAGTACCATTTCGACTACT GGGGGCAGGGAACTCTCGTCACCGTGAGCTCC
71	抗ＲＯＲ１ｓｃＦｖ２－９ＶＬ（ＤＮＡ）	GAAATTGTTCTCACACAGTCACCCGGAACCCTTTCATTGTCCCCCG GCGAGCGCGCCACCCTCAGCTGTCGGGCCAGTCAGAGCGTGTCTA GCTCTTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGGCAAGCTCCCA GACTCCTGATATATGGGGCCAGCAGCCGGGCCACTGGCATTCCGG ACAGGTTTAGTGGATCAGGCTCTGGCACTGATTTTACACTGACGAT TTCAAGGTTGGAACCCGAAGACTTCGCAGTGTACTATTGTCAGCA GTATGGGTCTAGCCCGTGGACTTTCGGGCAAGGCACCAAGGTGGA AATCAAG
72	抗ＲＯＲ１ｓｃＦｖ３－６（ＤＮＡ）	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGA CAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGT GGTTATAACTATGTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCCC CCAAAGTCATGATTTATGATGTCAGTAATCGGCCCTCAGGGGTTTC TGATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGAC CATCTCTGGGCTCCAGGTTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCAG CTCATATTCAACCAGCATCACCCCAGTTTTCGGCGGGGGGACCAA GCTCACCGTCCTAGGAGAGGGTAAATCTTCCGGATCTGGTTCCGA AAGCAAGGCTAGCCAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGG TGAAAAAGCCCGGGGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTGAGGCTTCTG GATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGCTGGGTGCGCCAGATGC CCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGACT CTGATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTC AGCCGACAAGTCCATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGAGCAGCCT GAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTACTGTGCGAGACTGGAACT CGGTTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGAACCAC GGTCACCGTCTCCTCA
73	リンカー５（ＤＮＡ）	GGAGAGGGTAAATCTTCCGGATCTGGTTCCGAAAGCAAGGCTAGC
74	抗ＲＯＲ	CAGTCAGCTCTGACCCAACCTGCCTCCGTCTCTGGGAGTCCAGGC

【０６５５】

【表３－２１】

	１　ｓｃＦｖ３－６　ＶＬ（ＤＮＡ）	CAGAGTATCACAATTTCTTGTACAGGCACCTCATCTGATGTCGGCG GTTACAATTACGTTAGTTGGTATCAGCAACATCCAGGTAAGGCTCC AAAGGTGATGATCTATGACGTCTCAAATAGACCCTCTGGCGTCAGC GACAGGTTTAGTGGTAGCAAATCCGGGAACACAGCTTCACTTACA ATTAGCGGCCTCCAAGTAGAAGACGAAGCTGACTATTACTGCTCTA GTTATTCAACGTCAATTACCCCTGTGTTTGGTGGCGGTACAAAACT CACAGTGCTT
75	抗ＲＯＲ１　ｓｃＦｖ３－６　ＶＨ（ＤＮＡ）	CAAGTGCAACTTGTGCAATCAGGAGCTGAAGTCAAAAAGCCGGGA GAATCCCTGAAAATAAGCTGCGAAGCAAGTGGTTACTCTTTTACTT CTTACTGGATTGGATGGGTTCGGCAGATGCCCGGAAAGGGACTCG AGTGGATGGGAATTATTTACCCTGGAGACAGCGACACAAGATACA GCCCTTCATTCCAGGGGCAGGTGACCATTTCTGCTGACAAATCAAT CAGTACAGCCTATCTGCAATGGAGTTCCCTCAAAGCCAGTGACAC TGCTATGTATTACTGCGCGCGACTGGAACTGGGATACTACTACTAC GGAATGGACGTATGGGGACAGGGAACCACCGTTACTGTTAGTAGC
76	ｐＬＲＰＯ＿抗ＲＯＲ１　Ｒ２－７ＣＤ３イプシロン＿Ｔ２Ａ－ｅＧＦＰ	CCAATTAACCAATTCTGAttagaaaaactcatcgagcatcaaatgaaactgcaatttat tcacatcaggattatcaataccatatttttgaaaaagccgtttctgtaatgaaggagaaaactcacc gaggcagttccataggatggcaagatcctggtatcggtctgcgattccgactcgtccaacatcaatac aacctattaatttcccctcgtcaaaaataaggttatcaagtgagaaatcaccatgagtgacgactga atccggtgagaatggcaaaagtttatgcatttctttccagacttgttcaacaggccagccattacgctc gtcatcaaaatcactcgcatcaaccaaaccgttattcattcgtgattgcgcctgagcaagacgaaata cgcgatcgctgttaaaaggacaattacaaacaggaatcgaatgcaaccggcgcaggaacactgcc agcgcatcaacaatattttcacctgaatcaggatattcttctaatacctggaatgctgtttttccgggg atcgcagtggtgagtaaccatgcatcatcaggagtacggataaaatgcttgatggtcggaagaggc ataaattccgtcagccagtttagtctgaccatctcatctgtaacatcattggcaacgctacctttgccat gtttcagaaacaactctggcgcatcgggcttcccatacaagcgatagattgtcgcacctgattgcccg acattatcgcgagcccatttatacccatataaatcagcatccatgttggaatttaatcgcggcctcgac gtttcccgttgaatatggctcatAACACCCCTTGTATTACTGTTTATGTAAGCA GACAGTTTTATTGTTCATGATGATATATTTTTATCTTGTGCAATGTA ACATCAGAGATTTTGAGACACAACGTGGCTTTCCCCCCCCCCCCC ATGACATTAACCTATAAAAATAGGCGTATCACGAGGCCAGCTTGGG AAACCATAAGACCGAGATAGAGTTGAGTGTTGTTCCAGTTTGGAA CAAGAGTCCACTATTAAAGAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCG AAAAACCGTCTATCAGGGCGATGGCCCACTACGTGAACCATCACC CAAATCAAGTTTTTTGGGGTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCG GAACCCTAAAGGGAGCCCCCGATTTAGAGCTTGACGGGGAAAGCC GGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAGAAAGCGAAAGGAGCGG GCGCTAAGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTCACGCTGCGCGTAACCA

【０６５６】

【表３－２２】

		CCACACCCGCCGCGCTTAATGCGCCGCTACAGGGCGCGTACTATG GTTGCTTTGACGTATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATGCGTAAG GAGAAAATACCGCATCAGGCGccattcgccattcaggctgcgcaactgttgggaagg gcgatcggtgcgggcctcttcgctattacgccaGCTGGCGAAAGGGGGATGTGCTG CAAGGCGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCCCAGTCACGAC GTTGTAAAACGACGGCCAGTGAATTGATCGAGATCGTGATCCGGA TCAAGATCCAGATCGAATTGGAGGCTACAGTCAGTGGAGAGGACT TTCACTGACTGACTGACTGCGTCTCAACCTcctaggggacattgattattgact agttattaatagtaatcaattacggggtcattagttcatagcccatatatggagttccgcgttacata acttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgt atgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaact gcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaa atggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgt attagtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttg actcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaa cgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggt gggaggtctatataagcagagctcgtttagtgaaccgggtctctctggttagaccagatctgagcctg ggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgctcaaag tagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtgga aaatctctagcagtggcgcccgaacagggacttgaaagcgaaagtaaagccagaggagatctctc gacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgaggggcggcgactggtgagtacg ccaaaaattttgactagcggaggctagaaggagagagtagggtgcgagagcgtcggtattaagcg ggggagaattagataaatgggaaaaaattcggttaaggccaggggaaagaaacaatataaact aaaacatatagttagggcaagcagggagctagaacgattcgcagttaatcctggccttttagagac atcagaaggctgtagacaaatactgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaact tagatcattatataatacaatagcagtcctctattgtgtgcatcaaaggatagatgtaaaagacacc aaggaagccttagataagatagaggaagagcaaaacaaaagtaagaaaaaggcacagcaagc gatcttcagacctggaggaggcaggaggcgatatgagggacaattggagaagtgaattatataaa tataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcacccaccaaggcaaagagaagagtggtgca gagagaaaaaagagcagtgggaataggagctttgttccttgggttcttgggagcagcaggaagca ctatgggcgcagcgtcaatgacgctgacggtacaggccagacaattattgtctgatatagtgcagca gcagaacaatttgctgagggctattgaggcgcaacagcatctgttgcaactcacagtctggggcatc aaacagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagatacctaaaggatcaacagctcctggggatt tggggttgctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgccttggaatgctagttggagtaataaatct ctggaacagatttggaataacatgacctggatggagtgggacagagaaattaacaattacacaag cttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaattattgg aattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataacaaattggctgtggtatataaaatt attcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagtttttgctgtactttctatagtgaata

【０６５７】

【表３－２３】

		gagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaatcccgaggggaccacgcgta caaatggcagtattcatccacaattttaaaagaaaaggggggattgggggtacagtgcaggggа aagaatagtagacataatagcaacagacatacaaactaaagaattacaaaaacaaattacaaaa attcaaaattttcgggtttattacagggacagcagaaatccactttggaaagctgagcatccggctcc ggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggaggggtcggc aattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctc cgccttttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttcgc aacgggtttgccgccagaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctctttacggg ttatggcccttgcgtgccttgaattacttccacgcccctggctgcagtacgtgattcttgatcccgagctt cgggttggaagtgggtgggagagttcgaggccttgcgcttaaggagccccttcgcctcgtgcttgagt tgaggcctggcctgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggcaccttcgcgcctgtctcgctgc tttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcgacgctttttttctggcaagatagt cttgtaaatgcgggccaagatctgcacactggtatttcggttttggggccgcgggcggcgacggggc ccgtgcgtcccagcgcacatgttcggcgaggcggggcctgcgagcgcggccaccgagaatcggacg ggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtgcctggcctcgcgccgccgtgtatcgccccgccctg ggcggcaaggctggcccggtcggcaccagttgcgtgagcggaaagatggccgcttcccggccctgct gcagggagctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgggtgagtcacccacacaaa ggaaaagggcctttccgtcctcagccgtcgcttcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccagg cacctcgattagttctcgagcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggggaggggttttatgcgatg gagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttaggccagcttggcacttgatgtaattctcctt ggaatttgccctttttgagtttggatcttggttcattctcaagcctcagacagtggttcaaagttttttc ttccatttcaggtgtcgtgaaaactacccctctagagccgccaccATGCTCCTCCTCGTGA CTAGCCTTCTCCTGTGCGAGCTCCCACACCCTGCATTCCTCCTGAT CCCAGAAGTGCAACTTCTCGAGAGCGGTGGGGGACTCGTCCAGC CGGGAGGTTCCCTGCGACTCAGCTGTGCAGCCTCAGGCTTTACCT TTTCCAGTTACGCAATGAGTTGGGTCCGGCAGGCGCCTGGTAAAG GACTCGAGTGGGTGAGTGCAATCAGCGGAAGTGGCGGGTCTACAT ACTATGCGGACTCTGTTAAAGGCAGGTTCACTATTTCAAGGGACAA TTCCAAGAACACGCTCTACCTGCAGATGAATAGCCTTAGAGCTGAA GACACGGCCGTGTACTATTGTGCCAAAGACAAGGGATGGTTCAAC TGGCAGTTCGACTACTGGGGGCAGGGAACTCTCGTCACCGTGAGC TCCGGCGGAGGTGGAAGCGGGGGGAGGGGGCTCCGGTGGTGGGG GATCAGAAATTGTTCTCACACAGTCACCCGGAACCCTTTCATTGTC CCCCGGCGAGCGCGCCACCCTCAGCTGTCGGGCCAGTCAGAGCG TGTCTAGCTCTTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGGCAAG CTCCCAGACTCCTGATATATGGGGCCAGCAGCCGGGCCACTGGCA TTCCGGACAGGTTTAGTGGATCAGGCTCTGGCACTGATTTTACACT GACGATTTCAAGGTTGGAACCCGAAGACTTCGCAGTGTACTATTG

【０６５８】

【表３－２４】

		TCAGCAGTATGGGTCTAGCCCGTGGACTTTCGGGCAAGGCACCAA GGTGGAAATCAAGGCAGCTGCTGGAGGTGGGGGAAGTGGCGGTG GTGGCTCAGGCGGCGGGGGGAGCCTCGAGGACGGTAATGAAGAG ATGGGGGGCATTACACAAACCCCGTACAAGGTCTCTATCAGTGGG ACGACTGTGATTCTGACATGCCCACAGTATCCAGGTTCAGAAATCC TGTGGCAGCATAATGACAAGAACATCGGTGGGGATGAGGATGATA AGAATATCGGAAGCGACGAAGACCACCTGTCTCTCAAAGAGTTTA GCGAGCTGGAGCAGAGTGGGTATTATGTCTGCTATCCTAGAGGTA GCAAGCCAGAGGACGCAAACTTTTACCTTTACCTCAGAGCCAGGG TCTGCGAGAACTGCATGGAAATGGACGTGATGAGTGTTGCAACTA TAGTGATAGTTGACATTTGCATCACCGGGGGTCTGCTCCTGCTGGT TTACTATTGGAGCAAGAACCGCAAGGCTAAAGCCAAGCCAGTAAC ACGGGGCGCAGGCGCGGGAGGCAGGCAGCGAGGGCAGAATAAGG AGCGCCCCCCACCCGTCCCGAATCCGGATTACGAACCCATTCGGA AAGGCCAGAGGGACTTGTACTCAGGGCTCAACCAAAGACGGATCG AGGGGCGAGGATCCTTGCTGACATGTGGTGACGTGGAGGAGAATC CTGGTCCTTCTCGCgccgccaccATGGTGTCTAAAGGCGAAGAGCTGT TCACCGGTGTGGTGCCGATTCTTGTAGAGCTGGATGGAGATGTTA ATGGTCACAAGTTTTCAGTGTCTGGGGAGGGCGAAGGCGACGCG ACCTATGGTAAACTCACGCTTAAGTTTATCTGCACCACAGGGAAGC TCCCTGTTCCATGGCCAACCCTTGTGACAACACTTACTTACGGCGT GCAGTGTTTCAGCAGGTATCCTGACCATATGAAGCAGCACGATTTC TTCAAGTCTGCAATGCCCGAGGGGTACGTACAAGAGCGGACAATT TTCTTCAAGGACGACGGAAATTACAAAACTAGGGCAGAGGTTAAG TTCGAAGGGGATACACTTGTTAATAGGATCGAACTGAAAGGCATTG ATTTCAAGGAGGATGGAAACATACTCGGGCACAAACTGGAATATAA CTACAATTCACATAATGTGTATATCATGGCTGATAAGCAGAAAAAC GGTATCAAAGTGAACTTTAAGATCCGGCATAACATTGAAGACGGTA GCGTGCAGCTCGCTGACCACTACCAGCAGAACACTCCAATCGGGG ACGGGCCGGTCCTCCTGCCCGACAACCACTACCTCAGCACCCAGA GCGCACTTAGCAAAGACCCAAACGAGAAGAGAGACCATATGGTGC TGCTGGAGTTCGTTACCGCAGCCGGAATCACCTTGGGCATGGACG AGCTCTATAAATGAgaattcgaacggatatcgagcatcttaccgccatttatacccatattt gttctgtttttcttgatttgggtatacatttaaatgttaataaaacaaaatggtggggcaatcatttac atttttagggatatgtaattactagttcaggtgtattgccacaagacaaacatgttaagaaactttcc cgttatttacgctctgttcctgttaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaagattgactgatattc ttaactatgttgctccttttacgctgtgtggatatgctgctttatagcctctgtatctagctattgcttccc gtacggctttcgttttctcctccttgtataaatcctggttgctgtctcttttagaggagttgtggcccgttg

【０６５９】

【表３－２５】

		tccgtcaacgtggcgtggtgtgctctgtgtttgctgacgcaacccccactggctggggcattgccacca cctgtcaactcctttctgggactttcgctttccccctcccgatcgccacggcagaactcatcgccgcctgc cttgcccgctgctggacaggggctaggttgctgggcactgataattccgtggtgttgtcagtactggta cctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccacttttaaaagaaaaggggggac tggaagggctaattcactcccaaagaagacaagatctgcttttgcctgtactgggtctctctggttag accagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttg ccttgagtgcttcaatgatcataatcaagccatatcacatctgtagaggtttacttgctttaaaaaacc tccacacctccccctgaacctgaaacataaaatgaatgcaattgttgttgttaacttgtttattgcagc ttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcatt ctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatcttatcatgtctggatctgcgtcgacACGAAGA GACGACTGACTGACTGACTGGAAAGAGGAAGGGCTGGAAGAGGA AGGAGCTTGATCCAGATCCCGATCTCGATCCAGATCCGGATCGCA GCTTGGCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGAAATTGTTA TCCGCTCACAATTCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTG TAAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCG TTGCGCTCACTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAG CTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCGT ATTGGGCGCTCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCG GTCGTTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTA ATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATG TGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGC GTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCCTGACGAGCATCA CAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACT ATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTC TCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTC CCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTAT CTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCAC GAACCCCCCGTTCAGCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTAT CGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCA GCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGT GCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGA AGAACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCG GAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTG GTAGCGGTGGTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAA AAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGA CGCTCAGTGGAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAG ATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAAAAATGAA GTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCTGACAGT

【０６６０】

【表３－２６】

		TACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTAT TTCGTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTAC GATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACC GCAGCTTGGGAAACCATAAGAGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAA AAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAG CGGTGGTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAA AGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCT CAGTGGAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGCTTG CGCCGTCCCGTCAAGTCAGCGTAATGCTCTGCCAGTGTTACAA
77	ｅＧＦＰ	ATGGTGTCTAAAGGCGAAGAGCTGTTCACCGGTGTGGTGCCGATT CTTGTAGAGCTGGATGGAGATGTTAATGGTCACAAGTTTTCAGTGT CTGGGGAGGGCGAAGGCGACGCGACCTATGGTAAACTCACGCTTA AGTTTATCTGCACCACAGGGAAGCTCCCTGTTCCATGGCCAACCC TTGTGACAACACTTACTTACGGCGTGCAGTGTTTCAGCAGGTATCC TGACCATATGAAGCAGCACGATTTCTTCAAGTCTGCAATGCCCGAG GGGTACGTACAAGAGCGGACAATTTTCTTCAAGGACGACGGAAAT TACAAAACTAGGGCAGAGGTTAAGTTCGAAGGGGATACACTTGTT AATAGGATCGAACTGAAAGGCATTGATTTCAAGGAGGATGGAAAC ATACTCGGGCACAAACTGGAATATAACTACAATTCACATAATGTGT ATATCATGGCTGATAAGCAGAAAAACGGTATCAAAGTGAACTTTAA GATCCGGCATAACATTGAAGACGGTAGCGTGCAGCTCGCTGACCA CTACCAGCAGAACACTCCAATCGGGGACGGGCCGGTCCTCCTGCC CGACAACCACTACCTCAGCACCCAGAGCGCACTTAGCAAAGACCC AAACGAGAAGAGAGACCATATGGTGCTGCTGGAGTTCGTTACCGC AGCCGGAATCACCTTGGGCATGGACGAGCTCTATAAATGA
78	ｐＬＲＰＯ　抗ＲＯＲ１２－９ＣＤ３イプシロンＴ２Ａ＿ｅＧＦＰ	CCAATTAACCAATTCTGAttagaaaaactcatcgagcatcaaatgaaactgcaatttat tcacatcaggattatcaataccatatttttgaaaaagccgtttctgtaatgaaggagaaaactcacc gaggcagttccataggatggcaagatcctggtatcggtctgcgattccgactcgtccaacatcaatac aacctattaatttcccctcgtcaaaaataaggttatcaagtgagaaatcaccatgagtgacgactga atccggtgagaatggcaaaagtttatgcatttctttccagacttgttcaacaggccagccattacgctc gtcatcaaaatcactcgcatcaaccaaaccgttattcattcgtgattgcgcctgagcaagacgaaata cgcgatcgctgttaaaaggacaattacaaacaggaatcgaatgcaaccggcgcaggaacactgcc agcgcatcaacaatattttcacctgaatcaggatattcttctaatacctggaatgctgtttttccgggg atcgcagtggtgagtaaccatgcatcatcaggagtacggataaaatgcttgatggtcggaagaggc ataaattccgtcagccagtttagtctgaccatctcatctgtaacatcattggcaacgctacctttgccat gtttcagaaacaactctggcgcatcgggcttcccatacaagcgatagattgtcgcacctgattgcccg acattatcgcgagcccatttatacccatataaatcagcatccatgttggaatttaatcgcggcctcgac gtttcccgttgaatatggctcatAACACCCCTTGTATTACTGTTTATGTAAGCA

【０６６１】

【表３－２７】

		GACAGTTTTATTGTTCATGATGATATATTTTTATCTTGTGCAATGTA ACATCAGAGATTTTGAGACACAACGTGGCTTTCCCCCCCCCCCCC ATGACATTAACCTATAAAAATAGGCGTATCACGAGGCCAGCTTGGG AAACCATAAGACCGAGATAGAGTTGAGTGTTGTTCCAGTTTGGAA CAAGAGTCCACTATTAAAGAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCG AAAAACCGTCTATCAGGGCGATGGCCCACTACGTGAACCATCACC CAAATCAAGTTTTTTGGGGTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCG GAACCCTAAAGGGAGCCCCCGATTTAGAGCTTGACGGGGAAAGCC GGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAGAAAGCGAAAGGAGCGG GCGCTAAGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTCACGCTGCGCGTAACCA CCACACCCGCCGCGCTTAATGCGCCGCTACAGGGCGCGTACTATG GTTGCTTTGACGTATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATGCGTAAG GAGAAAATACCGCATCAGGCGccattcgccattcaggctgcgcaactgttgggaagg gcgatcggtgcgggcctcttcgctattacgccaGCTGGCGAAAGGGGGATGTGCTG CAAGGCGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCCCAGTCACGAC GTTGTAAAACGACGGCCAGTGAATTGATCGAGATCGTGATCCGGA TCAAGATCCAGATCGAATTGGAGGCTACAGTCAGTGGAGAGGACT TTCACTGACTGACTGACTGCGTCTCAACCTcctaggggacattgattattgact agttattaatagtaatcaattacggggtcattagttcatagcccatatatggagttccgcgttacata acttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgt atgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaact gcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaa atggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgt attagtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttg actcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaa cgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggt gggaggtctatataagcagagctcgtttagtgaaccgggtctctctggttagaccagatctgagcctg ggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgctcaaag tagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtgga aaatctctagcagtggcgcccgaacagggacttgaaagcgaaagtaaagccagaggagatctctc gacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgaggggcggcgactggtgagtacg ccaaaaattttgactagcggaggctagaaggagagagtagggtgcgagagcgtcggtattaagcg ggggagaattagataaatgggaaaaaattcggttaaggccaggggggaaagaaacaatataaact aaaacatatagttagggcaagcagggagctagaacgattcgcagttaatcctggccttttagagac atcagaaggctgtagacaaatactgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaact tagatcattatataatacaatagcagtcctctattgtgtgcatcaaaggatagatgtaaaagacacc aaggaagccttagataagatagaggaagagcaaaacaaaagtaagaaaaaggcacagcaagc gatcttcagacctggaggaggcaggaggcgatatgagggacaattggagaagtgaattatataaa

【０６６２】

【表３－２８】

		tataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcacccaccaaggcaaagagaagagtggtgca gagagaaaaaagagcagtgggaataggagctttgttccttgggttcttgggagcagcaggaagca ctatgggcgcagcgtcaatgacgctgacggtacaggccagacaattattgtctgatatagtgcagca gcagaacaatttgctgagggctattgaggcgcaacagcatctgttgcaactcacagtctggggcatc aaacagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagatacctaaaggatcaacagctcctggggatt tggggttgctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgccttggaatgctagttggagtaataaatct ctggaacagatttggaataacatgacctggatggagtgggacagagaaattaacaattacacaag cttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaattattgg aattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataacaaattggctgtggtatataaaatt attcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagtttttgctgtactttctatagtgaata gagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaatcccgaggggaccacgcgta caaatggcagtattcatccacaattttaaaagaaaaggggggattgggggtacagtgcaggggа aagaatagtagacataatagcaacagacatacaaactaaagaattacaaaaacaaattacaaaa attcaaaattttcgggtttattacagggacagcagaaatccactttggaaagctgagcatccggctcc ggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggaggggtcggc aattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctc cgccttttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttcgc aacgggtttgccgccagaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctctttacggg ttatggcccttgcgtgccttgaattacttccacgcccctggctgcagtacgtgattcttgatcccgagctt cgggttggaagtgggtgggagagttcgaggccttgcgcttaaggagccccttcgcctcgtgcttgagt tgaggcctggcctgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggcaccttcgcgcctgtctcgctgc tttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcgacgctttttttctggcaagatagt cttgtaaatgcgggccaagatctgcacactggtatttcggttttggggccgcgggcggcgacggggc ccgtgcgtcccagcgcacatgttcggcgaggcggggcctgcgagcgcggccaccgagaatcggacg ggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtgcctggcctcgcgccgccgtgtatcgccccgccctg ggcggcaaggctggcccggtcggcaccagttgcgtgagcggaaagatggccgcttcccggccctgct gcagggagctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgggtgagtcacccacacaaa ggaaaagggcctttccgtcctcagccgtcgcttcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccagg cacctcgattagttctcgagcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggggagggttttatgcgatg gagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttaggccagcttggcacttgatgtaattctcctt ggaatttgccctttttgagtttggatcttggttcattctcaagcctcagacagtggttcaaagttttttc ttccatttcaggtgtcgtgaaaactacccctctagagcgccaccATGCTCCTCCTCGTGA CTAGCCTTCTCCTGTGCGAGCTCCCACACCCTGCATTCCTCCTGAT CCCAGAAGTGCAACTTCTCGAGAGCGGTGGGGGACTCGTCCAGC CGGGAGGTTCCCTGCGACTCAGCTGTGCAGCCTCAGGCTTTACCT TTTCCAGTTACGCAATGAGTTGGGTCCGGCAGGCGCCTGGTAAAG GACTCGAGTGGGTGAGTGCAATCAGCGGAAGTGGCGGGTCTACAT ACTATGCGGACTCTGTTAAAGGCAGGTTCACTATTTCAAGGGACAA

【０６６３】

【表３－２９】

		TTCCAAGAACACGCTCTACCTGCAGATGAATAGCCTTAGAGCTGAA GACACGGCCGTGTACTATTGTGCCAAAAAGCAGTACCATTTCGACT ACTGGGGGCAGGGAACTCTCGTCACCGTGAGCTCCGGCGGAGGT GGAAGCGGGGGAGGGGGCTCCGGTGGTGGGGGATCAGAAATTGT TCTCACACAGTCACCCGGAACCCTTTCATTGTCCCCCGGCGAGCG CGCCACCCTCAGCTGTCGGGCCAGTCAGAGCGTGTCTAGCTCTTA CCTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGGCAAGCTCCCAGACTCCT GATATATGGGGCCAGCAGCCGGGCCACTGGCATTCCGGACAGGTT TAGTGGATCAGGCTCTGGCACTGATTTTACACTGACGATTTCAAGG TTGGAACCCGAAGACTTCGCAGTGTACTATTGTCAGCAGTATGGG TCTAGCCCGTGGACTTTCGGGCAAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG GCAGCTGCTGGAGGTGGGGGAAGTGGCGGTGGTGGCTCAGGCGG CGGGGGGAGCCTCGAGGACGGTAATGAAGAGATGGGGGGCATTA CACAAACCCCGTACAAGGTCTCTATCAGTGGGACGACTGTGATTC TGACATGCCCACAGTATCCAGGTTCAGAAATCCTGTGGCAGCATAA TGACAAGAACATCGGTGGGGATGAGGATGATAAGAATATCGGAAG CGACGAAGACCACCTGTCTCTCAAAGAGTTTAGCGAGCTGGAGCA GAGTGGGTATTATGTCTGCTATCCTAGAGGTAGCAAGCCAGAGGA CGCAAACTTTTACCTTTACCTCAGAGCCAGGGTCTGCGAGAACTG CATGGAAATGGACGTGATGAGTGTTGCAACTATAGTGATAGTTGAC ATTTGCATCACCGGGGGTCTGCTCCTGCTGGTTTACTATTGGAGCA AGAACCGCAAGGCTAAAGCCAAGCCAGTAACACGGGGCGCAGGC GCGGGAGGCAGGCAGCGAGGGCAGAATAAGGAGCGCCCCCCACC CGTCCCGAATCCGGATTACGAACCCATTCGGAAAGGCCAGAGGGA CTTGTACTCAGGGCTCAACCAAAGACGGATCGAGGGGCGAGGATC CTTGCTGACATGTGGTGACGTGGAGGAGAATCCTGGTCCTTCTCG CgccgccaccATGGTGTCTAAAGGCGAAGAGCTGTTCACCGGTGTGGT GCCGATTCTTGTAGAGCTGGATGGAGATGTTAATGGTCACAAGTTT TCAGTGTCTGGGGAGGGCGAAGGCGACGCGACCTATGGTAAACTC ACGCTTAAGTTTATCTGCACCACAGGGAAGCTCCCTGTTCCATGGC CAACCCTTGTGACAACACTTACTTACGGCGTGCAGTGTTTCAGCA GGTATCCTGACCATATGAAGCAGCACGATTTCTTCAAGTCTGCAAT GCCCGAGGGGTACGTACAAGAGCGGACAATTTTCTTCAAGGACGA CGGAAATTACAAAACTAGGGCAGAGGTTAAGTTCGAAGGGGATAC ACTTGTTAATAGGATCGAACTGAAAGGCATTGATTTCAAGGAGGAT GGAAACATACTCGGGCACAAACTGGAATATAACTACAATTCACATA ATGTGTATATCATGGCTGATAAGCAGAAAAACGGTATCAAAGTGAA CTTTAAGATCCGGCATAACATTGAAGACGGTAGCGTGCAGCTCGC

【０６６４】

【表３－３０】

		TGACCACTACCAGCAGAACACTCCAATCGGGGACGGGCCGGTCCT CCTGCCCGACAACCACTACCTCAGCACCCAGAGCGCACTTAGCAA AGACCCAAACGAGAAGAGAGACCATATGGTGCTGCTGGAGTTCGT TACCGCAGCCGGAATCACCTTGGGCATGGACGAGCTCTATAAATG Agaattcgaacggatatcgagcatcttaccgccatttatacccatatttgttctgtttttcttgatttgg gtatacatttaaatgttaataaaacaaaatggtggggcaatcatttacatttttagggatatgtaatt actagttcaggtgtattgccacaagacaaacatgttaagaaactttcccgttatttacgctctgttcct gttaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaagattgactgatattcttaactatgttgctccttta cgctgtgtggatatgctgctttatagcctctgtatctagctattgcttcccgtacggctttcgttttctcct ccttgtataaatcctggttgctgtctcttttagaggagttgtggcccgttgtccgtcaacgtggcgtggt gtgctctgtgtttgctgacgcaacccccactggctggggcattgccaccacctgtcaactcctttctggg actttcgctttcccctcccgatcgccacggcagaactcatcgccgcctgccttgcccgctgctggacag gggctaggttgctgggcactgataattccgtggtgttgtcagtactggtacctttaagaccaatgactt acaaggcagctgtagatcttagccacttttttaaaagaaaaggggggactggaagggctaattcact cccaaagaagacaagatctgcttttgcctgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctgg gagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaatg atcataatcaagccatatcacatctgtagaggtttacttgctttaaaaaacctccacacctccccctga acctgaaacataaaatgaatgcaattgttgttgttaacttgtttattgcagcttataatggttacaaat aaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcattctagttgtggtttgtcca aactcatcaatgtatcttatcatgtctggatctgcgtcgacACGAAGAGACGACTGACT GACTGACTGGAAAGAGGAAGGGCTGGAAGAGGAAGGAGCTTGAT CCAGATCCCGATCTCGATCCAGATCCGGATCGCAGCTTGGCGTAAT CATGGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACAAT TCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTAAAGCCTGGGG TGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTG CCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAATGA ATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCGTATTGGGCGCTCT TCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCGGCTG CGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCC ACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGC CAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTT TTCCATAGGCTCCGCCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGC TCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAG GCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACC CTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGC GTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGT AGGTCGTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTC AGCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAA

【０６６５】

【表３－３１】

		CCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAA CAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTT GAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGG TATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGG TAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTT TTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAAGGATCTCA AGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAA CGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGG ATCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAAAAATGAAGTTTTAAATCAAT CTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTA ATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTCGTTCATCCA TAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGG GCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCAGCTTGGGA AACCATAAGAGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTA GCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTT TTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAAGGATCTCAAG AAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAACG AAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGCTTGCGCCGTCCCG TCAAGTCAGCGTAATGCTCTGCCAGTGTTACAA
79	ｐＬＲＰＯ＿抗ＲＯＲ１３－６ＣＤ３ｅＴ２ＡｅＧＦＰ	CCAATTAACCAATTCTGAttagaaaaactcatcgagcatcaaatgaaactgcaatttat tcacatcaggattatcaataccatatttttgaaaaagccgtttctgtaatgaaggagaaaactcacc gaggcagttccataggatggcaagatcctggtatcggtctgcgattccgactcgtccaacatcaatac aacctattaatttcccctcgtcaaaaataaggttatcaagtgagaaatcaccatgagtgacgactga atccggtgagaatggcaaaagtttatgcatttctttccagacttgttcaacaggccagccattacgctc gtcatcaaaatcactcgcatcaaccaaaccgttattcattcgtgattgcgcctgagcaagacgaaata cgcgatcgctgttaaaaggacaattacaaacaggaatcgaatgcaaccggcgcaggaacactgcc agcgcatcaacaatattttcacctgaatcaggatattcttctaatacctggaatgctgtttttccgggg atcgcagtggtgagtaaccatgcatcatcaggagtacggataaaatgcttgatggtcggaagaggc ataaattccgtcagccagtttagtctgaccatctcatctgtaacatcattggcaacgctacctttgccat gtttcagaaacaactctggcgcatcgggcttcccatacaagcgatagattgtcgcacctgattgcccg acattatcgcgagcccatttatacccatataaatcagcatccatgttggaatttaatcgcggcctcgac gtttcccgttgaatatggctcatAACACCCCTTGTATTACTGTTTATGTAAGCA GACAGTTTTATTGTTCATGATGATATATTTTTATCTTGTGCAATGTA ACATCAGAGATTTTGAGACACAACGTGGCTTTCCCCCCCCCCCCC ATGACATTAACCTATAAAAATAGGCGTATCACGAGGCCAGCTTGGG AAACCATAAGACCGAGATAGAGTTGAGTGTTGTTCCAGTTTGGAA CAAGAGTCCACTATTAAAGAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCG AAAAACCGTCTATCAGGGCGATGGCCCACTACGTGAACCATCACC

【０６６６】

【表３－３２】

		CAAATCAAGTTTTTTGGGGTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCG GAACCCTAAAGGGAGCCCCCGATTTAGAGCTTGACGGGGAAAGCC GGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAGAAAGCGAAAGGAGCGG GCGCTAAGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTCACGCTGCGCGTAACCA CCACACCCGCCGCGCTTAATGCGCCGCTACAGGGCGCGTACTATG GTTGCTTTGACGTATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATGCGTAAG GAGAAAATACCGCATCAGGCGccattcgccattcaggctgcgcaactgttgggaagg gcgatcggtgcgggcctcttcgctattacgccaGCTGGCGAAAGGGGGATGTGCTG CAAGGCGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCCCAGTCACGAC GTTGTAAAACGACGGCCAGTGAATTGATCGAGATCGTGATCCGGA TCAAGATCCAGATCGAATTGGAGGCTACAGTCAGTGGAGAGGACT TTCACTGACTGACTGACTGCGTCTCAACCTcctaggggacattgattattgact agttattaatagtaatcaattacggggtcattagttcatagcccatatatggagttccgcgttacata acttacggtaaatggcccgcctggctgaccgcccaacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgt atgttcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaact gcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaa atggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttatgggactttcctacttggcagtacatctacgt attagtcatcgctattaccatggtgatgcggttttggcagtacatcaatgggcgtggatagcggtttg actcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtttgttttggcaccaaaatcaa cgggactttccaaaatgtcgtaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacggt gggaggtctatataagcagagctcgtttagtgaaccgggtctctctggttagaccagatctgagcctg ggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgctcaaag tagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtgga aaatctctagcagtggcgcccgaacagggacttgaaagcgaaagtaaagccagaggagatctctc gacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgaggggcggcgactggtgagtacg ccaaaaattttgactagcggaggctagaaggagagagtagggtgcgagagcgtcggtattaagcg ggggagaattagataaatgggaaaaaattcggttaaggccaggggaaagaaacaatataaact aaaacatatagttagggcaagcagggagctagaacgattcgcagttaatcctggccttttagagac atcagaaggctgtagacaaatactgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaact tagatcattatataatacaatagcagtcctctattgtgtgcatcaaaggatagatgtaaaagacacc aaggaagccttagataagatagaggaagagcaaaacaaaagtaagaaaaaggcacagcaagc gatcttcagacctggaggaggcaggaggcgatatgagggacaattggagaagtgaattatataaa tataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcacccaccaaggcaaagagaagagtggtgca gagagaaaaaagagcagtgggaataggagctttgttccttgggttcttgggagcagcaggaagca ctatgggcgcagcgtcaatgacgctgacggtacaggccagacaattattgtctgatatagtgcagca gcagaacaatttgctgagggctattgaggcgcaacagcatctgttgcaactcacagtctggggcatc aaacagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagatacctaaaggatcaacagctcctggggatt tggggttgctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgccttggaatgctagttggagtaataaatct

【０６６７】

【表３－３３】

		ctggaacagatttggaataacatgacctggatggagtgggacagagaaattaacaattacacaag cttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaattattgg aattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataacaaattggctgtggtatataaaatt attcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagtttttgctgtactttctatagtgaata gagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaatcccgaggggaccacgcgta caaatggcagtattcatccacaattttaaaagaaaaggggggattgggggtacagtgcaggggа aagaatagtagacataatagcaacagacatacaaactaaagaattacaaaaacaaattacaaaa attcaaaattttcgggtttattacagggacagcagaaatccactttggaaagctgagcatccggctcc ggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggaggggtcggc aattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctc cgccttttttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttttcgc aacgggtttgccgccagaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctctttacggg ttatggcccttgcgtgccttgaattacttccacgcccctggctgcagtacgtgattcttgatcccgagctt cgggttggaagtgggtgggagagttcgaggccttgcgcttaaggagccccttcgcctcgtgcttgagt tgaggcctggcctgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggcaccttcgcgcctgtctcgctgc tttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcgacgctttttttctggcaagatagt cttgtaaatgcgggccaagatctgcacactggtatttcggttttggggccgcgggcggcgacggggc ccgtgcgtcccagcgcacatgttcggcgaggcggggcctgcgagcgcggccaccgagaatcggacg ggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtgcctggcctcgcgccgccgtgtatcgccccgccctg ggcggcaaggctggcccggtcggcaccagttgcgtgagcggaaagatggccgcttcccggccctgct gcagggagctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgggtgagtcacccacacaaa ggaaaagggcctttccgtcctcagccgtcgcttcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccagg cacctcgattagttctcgagcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggggaggggttttatgcgatg gagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttaggccagcttggcacttgatgtaattctcctt ggaatttgccctttttgagtttggatcttggttcattctcaagcctcagacagtggttcaaagttttttc ttccatttcaggtgtcgtgaaaactacccctctagagccgccaccATGCTTCTCCTTGTTA CATCACTGTTGCTTTGTGAACTGCCCCACCCCGCGTTTCTTTTGAT CCCTCAGTCAGCTCTGACCCAACCTGCCTCCGTCTCTGGGAGTCC AGGCCAGAGTATCACAATTTCTTGTACAGGCACCTCATCTGATGTC GGCGGTTACAATTACGTTAGTTGGTATCAGCAACATCCAGGTAAGG CTCCAAAGGTGATGATCTATGACGTCTCAAATAGACCCTCTGGCGT CAGCGACAGGTTTAGTGGTAGCAAATCCGGGAACACAGCTTCACT TACAATTAGCGGCCTCCAAGTAGAAGACGAAGCTGACTATTACTGC TCTAGTTATTCAACGTCAATTACCCCTGTGTTTGGTGGCGGTACAA AACTCACAGTGCTTGGCGGAGGCGGGTCTGGAGGTGGAGGTTCT GGAGGCGGAGGTTCCCAAGTGCAACTTGTGCAATCAGGAGCTGAA GTCAAAAAGCCGGGAGAATCCCTGAAAATAAGCTGCGAAGCAAGT GGTTACTCTTTTACTTCTTACTGGATTGGATGGGTTCGGCAGATGC

【０６６８】

【表３－３４】

		CCGGAAAGGGACTCGAGTGGATGGGAATTATTTACCCTGGAGACA GCGACACAAGATACAGCCCTTCATTCCAGGGGCAGGTGACCATTT CTGCTGACAAATCAATCAGTACAGCCTATCTGCAATGGAGTTCCCT CAAAGCCAGTGACACTGCTATGTATTACTGCGCGCGACTGGAACT GGGATACTACTACTACGGAATGGACGTATGGGGACAGGGAACCAC CGTTACTGTTAGTAGCGCCGCCGCTGGAGGGGGAGGATCCGGAG GAGGGGGGAGCGGAGGAGGAGGATCATTGGAGGATGGAAATGAA GAGATGGGCGGCATCACTCAGACACCGTACAAAGTGAGTATTTCT GGAACCACCGTCATTTTGACTTGTCCTCAGTACCCAGGAAGCGAG ATTCTGTGGCAGCATAACGACAAGAACATCGGGGGCGACGAGGAC GATAAAAATATAGGGTCTGACGAGGACCACCTTAGCCTTAAGGAGT TTAGCGAGCTGGAACAGTCCGGATACTATGTATGCTATCCACGCGG CAGCAAACCCGAGGATGCTAACTTTTACTTGTACTTGAGGGCGCG CGTTTGTGAGAACTGCATGGAGATGGATGTTATGTCCGTAGCTACC ATTGTTATCGTCGACATTTGTATTACCGGTGGATTGCTGCTGTTGG TCTACTATTGGTCCAAAAATCGGAAAGCCAAGGCCAAACCCGTAA CGAGAGGTGCCGGCGCTGGAGGAAGACAGAGGGGCCAGAATAAA GAGAGGCCGCCGCCAGTTCCCAATCCTGATTATGAACCCATTCGA AAAGGGCAGAGGGACCTCTATTCCGGGCTCAACCAGAGGAGGATC GAAGGAAGGGGATCCTTGCTTACCTGTGGCGACGTAGAAGAGAAT CCAGGCCCCTCAAGGgccgccaccATGGTGTCAAAGGGCGAAGAGTTG TTTACTGGAGTCGTACCCATCCTGGTGGAATTGGACGGGGACGTG AACGGCCACAAGTTCTCTGTGTCTGGAGAAGGCGAGGGCGACGC TACTTATGGAAAACTGACTCTGAAATTTATTTGCACTACAGGAAAA CTGCCTGTCCCATGGCCCACGCTGGTTACAACCCTCACATATGGTG TTCAATGTTTCTCTCGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCATGACTT TTTCAAGTCCGCGATGCCCGAAGGGTACGTTCAAGAACGCACTAT ATTTTTCAAGGATGATGGCAACTACAAGACAAGAGCTGAGGTGAA ATTCGAAGGTGATACACTTGTAAACAGAATCGAACTCAAGGGAATC GACTTCAAGGAAGACGGAAATATCCTCGGGCACAAACTGGAATAT AACTACAATAGCCACAACGTATATATCATGGCCGACAAACAGAAGA ATGGGATCAAGGTAAATTTTAAGATAAGACACAATATAGAAGACGG ATCTGTGCAATTGGCCGACCATTATCAGCAGAATACCCCCATTGGA GATGGCCCAGTGCTCCTTCCAGACAATCACTACCTTTCAACACAGT CCGCGTTGTCTAAAGACCCCAATGAGAAGAGGGACCACATGGTGT TGCTCGAATTTGTTACTGCCGCTGGGATCACTCTGGGCATGGATG AGTTGTATAAATGAgaattcgaacggatatcgagcatcttaccgccatttatacccatattt gttctgtttttcttgatttgggtatacatttaaatgttaataaaacaaaatggtggggcaatcatttac

【０６６９】

【表３－３５】

		attttttagggatatgtaattactagttcaggtgtattgccacaagacaaacatgttaagaaactttcc cgttatttacgctctgttcctgttaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaagattgactgatattc ttaactatgttgctccttttacgctgtgtggatatgctgctttatagcctctgtatctagctattgcttccc gtacggctttcgttttctcctccttgtataaatcctggttgctgtctcttttagaggagttgtggcccgttg tccgtcaacgtggcgtggtgtgctctgtgtttgctgacgcaacccccactggctggggcattgccacca cctgtcaactcctttctgggactttcgctttcccctcccgatcgccacggcagaactcatcgccgcctgc cttgcccgctgctggacaggggctaggttgctgggcactgataattccgtggtgttgtcagtactggta cctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccacttttaaaagaaaaggggggac tggaagggctaattcactcccaaagaagacaagatctgcttttgcctgtactgggtctctctggttag accagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttg ccttgagtgcttcaatgatcataatcaagccatatcacatctgtagaggtttacttgctttaaaaaacc tccacacctccccctgaacctgaaacataaaatgaatgcaattgttgttgttaacttgtttattgcagc ttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttcactgcatt ctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatcttatcatgtctggatctgcgtcgacACGAAGA GACGACTGACTGACTGACTGGAAAGAGGAAGGGCTGGAAGAGGA AGGAGCTTGATCCAGATCCCGATCTCGATCCAGATCCGGATCGCA GCTTGGCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGAAATTGTTA TCCGCTCACAATTCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTG TAAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCG TTGCGCTCACTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAG CTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCGT ATTGGGCGCTCTTCCGCTTCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCG GTCGTTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCGGTA ATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATG TGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGC GTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCCTGACGAGCATCA CAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACT ATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTC TCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTC CCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTAT CTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCAC GAACCCCCCGTTCAGCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTAT CGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCA GCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGT GCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGA AGAACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCG GAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTG GTAGCGGTGGTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAA

【０６７０】

【表３－３６】

		AAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGA CGCTCAGTGGAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAG ATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAAAAATGAA GTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCTGACAGT TACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTAT TTCGTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTAC GATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACC GCAGCTTGGGAAACCATAAGAGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAA AAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAG CGGTGGTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAA AGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCT CAGTGGAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGCTTG CGCCGTCCCGTCAAGTCAGCGTAATGCTCTGCCAGTGTTACAA
80	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ１（ＤＮＡ）	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGCCTTGGTGCAGGCTGG GGGATCTCTGAGACTCTCCTGTGAAGCCTCTGGAAGCAGCTTCAG CCTCTATACCATGGCCTGGTACCGCCAGACTCCAGGAAAGCAGCG GGAGTTGGTCGCAACGATTACTAGTGGTTACCACACAAACTATGCC GACTCCGCGAAGGACCGATTCACCATTTCTAGAGACAACGCCAAG AACACGGCCTATCTGCAATTGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACA GCCGTCTATTACTGTGCAGCGAAGAGGGTTTGGAGCGCAGAGTAT AACTACTGGGGCCAGGGGACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
81	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ４（ＤＮＡ）	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG GGGCTCTCTGAAACTCTCCTGTGCAACCTCTGGAGGCACCTTCAG TAGCTATCGTGTAGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGCCGCG TGAGACTGTAGCCACTATTAGTAGGAATGGTGGAGGCACACACTAT GCGGACTCCGTGAAGGGTCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCC AAGAACATGGCGTATCTACAAATGAACGGCCTGAAACCTGAGGAC ACGGCCATTTATTACTGTGCAGCAGATTCCCTCTTCTGGCCTGGCC CAGGCCATTATGACAACTTGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCT CCTCA
82	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ５（ＤＮＡ）	GATGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG GGGCTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCTCCTTCAA TAGCTATACCTTGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGAGCG TGAGTTTGTAGCTTATGCCATTTACTATCCAGACTCTGTGAAGGGC CGATTCACCATCGTCAGAGACAACGCCAGGAACACGGTGTATCTG CAAATGAATAGCCTCAAATCTGAGGATACGGCCATTTATTACTGTG CAGCAGCGGACATACGTACTAGGCGCTCTAGTACCTGGTACAGGG AGACGATGGAGTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCTGGTCACCG

【０６７１】

【表３－３７】

		TCTCCTCA
83	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ１０（ＤＮＡ）	GATGTTCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG GGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAAGCATCTTCGC AGTCGATGCCATGGGCTGGTACCGCCAGGCTCCAGGGAAGCAGC GCGAGTTGGTCGCACGTATTAGTCGTACTAATTTGGGAGCAAGCTA TTTAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACACCGG CAAGAACACGGTGTATCTGCAAATGGTCAGCCTGGAACCTGAGGA CACAGCCGTTTATTACTGTGCAGCAGCGACAAGACCGACCCTCGC GCTCGTGGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTC A
84	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ１１（ＤＮＡ）	GATGTCCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGG GGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCGGA TTATTATGTCATAGGCTGGTTCCGCCAGGCCCCAGGGAAGGAGCG CGAGGGGGTATCATGTATTAGTAGTAGGTATGCGAACACAAACTAT GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCCAGTCCAGAGGTGCTGCT AAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACGCCCTGAAACCTGAGGAC ACGGCCGTTTATTACTGCGCGGCAGATACGAGGCGGTATACATGC CCGGATATAGCGACTATGGAGAGGAACTTTGATTCCTGGGGCCAG GGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA
85	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ１２（ＤＮＡ）	GATGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG GGACTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCTTCAG TAGCTATGCCATGGCCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCG TGAGTTAGTAGCAGCTTTGAGCAGTAGTGGTGCTAGCACATCGTAT CCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCC AAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGAC ACGGCCGTTTATTACTGTGCAGCGAGACTTTATACCTACGGGTTGA CAGAAAGAGCGTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACC GTCTCCTCA
86	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ１３（ＤＮＡ）	GATGTCCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG GGACTCTCTGAGGCTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCTTCAG AGACTATGCCATGGCCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCG TGGGATTGTAGCAGCTTTGAGCAAGAGTGGTGGTAGTACATCGTA TCTAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGC CAAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGA CACGGCCGTTTATTACTGTGCAGCGAGATTGTATACCTACGGGTTG ACAGAAAGGGCGTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCAC CGTCTCCTCA
87	ＲＯＲ１	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG

【０６７２】

【表３－３８】

	ｓｄＡｂ１４（ＤＮＡ）	GGGCTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTACGGACACCTTCAC TGGCTATACCATGGGCTGGTTCCGCCAGACTCCAGGGAAGGAGCG ACAATTTGTAGCGTCCATGAGCTGGAATGGTGGTTTCATAAAGTAT GCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCC GAGAACATGGTGTATCTTGAAATGAACAACCTGAAATCTGAGGAC ACGGCCGTTTATTCCTGTGCAGCAGACAACATCTATTGGACTGCGT CCGAGCGCCCCGGAGACTATAACTACTGGGGCCAGGGGACCCAG GTCACCGTCTCCTCA
88	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ１９（ＤＮＡ）	GAGGTCCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGG GGGGTCTCTGAGACTCTCCTGCACTGCCTCTGGAACCATGTCCAC CATCAACGCCATGGCCTGGTACCGCCAGGCTCCAGAGAAGCAGCG CGAGTTGGTCGCTCGCATTTGGAATGATGGAGAGACTAACTATGC AGACTCCGTGAGGGGCCGATTCGCCGTCTCTAGAGACAACGCAAA GAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACAC GGCCGTCTATTACTGTAATGCGTATATACCTACTACTCAGCGTATGA ATAAAATAGCTAGTTATTGGGGCCAGGGGACCCTGGTCACCGTCT CCTCA
89	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ２０（ＤＮＡ）	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG GGACTCTCTGAGGGTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCTTCAG TAGCTATGCCATGGCCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCG TGAGTTTGTAGCAGCTTTGAGCAGTAGTGGTGTTAGCACATCGTAT TCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACACGGCC AAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCCGAGGAC ACGGCCGTTTATTACTGTGCAGCGAGACTATATACCTACGGGTTGA CAGAAAGGGCGTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACC GTCTCCTCA
90	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ２２（ＤＮＡ）	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGG GGGGTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAAGCTTCCTCGA CATCAATGCCATGGGCTGGTACCGCCAGGCTCCAGGAAAGCAGCG CGAGTTGGTCGCAATGATGCCTAGTGGTGGCCGCACAAACTATCA TGACTCCGTTGAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAA GAACACAGTGTATCTGCAAATGGACAGCCTGAAACCTGAGGACAC GGCCGTCTATTACTGTGTTGCAGATGCGACCCGGTACTCCGGTTTC CGTACTAACTTCTGGGGCCGGGGAACCCAGGTCACCGTCTCCTCA
91	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ２６（ＤＮＡ）	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCACGGTGCAGGCTGG GGGGTCTCTGCGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGCGGTATCTTCAG CATCTATGTCATGGGCTGGCATCGCCAGGCTCCAGGGAAGCAGCG CGAATTGGTCGCAGCTATTACTCCTGGTTTTAACACAAACTATGCA

【０６７３】

【表３－３９】

		GACCCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCAAGAGACAACGCCAAG AGCACGGTGTACCTGGAAATGAACAGCCTCGAACCTGAGGATACG GCCGTTTATTACTGTTCAGCTAAACGAATCTATGAGTACGAGTACT ATTATTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA
92	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ２７（ＤＮＡ）	GATGTTCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG GGACTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCTTCAG TGAATATGCCATGGCCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCG TGAGTTTGTAGCAGCTATGAGCAAGAGTGGTGCTAGCACATCGTAT AGTGACTCCGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGCCAACGCC AAGAACACGGTGTATCTCGAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGAC ACGGCCGGTTACTACTGTGCAGCGAGACTATACACCTACGGGTTG ACAGAAAGGGCGTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCAC CGTCTCCTCA
93	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ２９（ＤＮＡ）	GATGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG GGACTCTCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCTTCAG TGACTATGCCATGGCCTGGTTCCGCCAGGGTCCAGGGAAGGAGCG TGAGCTTGTAGCAGCTTTGAGCAAGAGTGGTGCTAGCACATCGTA TGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGC CAAGAACACGGTGTATCTGCATATGAACAGCCTGAAACCTGAGGA CACGGCCATTTATTACTGTGCAGCGAGACTTTATACCTACGGGTTG ACAGAAAGGGCGTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCAC CGTCTCCTCA
94	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ３０（ＤＮＡ）	GATGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGG GGGCTCTCTGAGCCTCTCCTGTGCATCCTCTGGACGCACCTCCAG TATCTATGGCATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCG TGAGTTTGTAGCGGCTATTAGGTGGAGTGATAGTAACACAAACTAT GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCGGAGACAACGCC AAGAACGCGGTGCATCTGCAAATGCACAGCCTGAAACCTGAGGAC ACGGCCGTTTATTACTGTGCAGCCAAAGGGACCCCTTATTATTATA CCGACTTCCGGACGTATCCGTACTGGGGCCAGGGGACCCTGGTCA CCGTCTCCTCA
95	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ３１（ＤＮＡ）	GATGTCCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGG GGGGTCTCTGAGACTCACCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCGGA TTATTATGTCATAGGCTGGTTCCGCCAGGCCCCAGGGAAGGAGCG CGAGGGGGTATCATGTATTAGTAGTAGGTATGCGAACACAAACTAT GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCCAGTCCAGAGGTGCTGCT AAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACGCCCTGAAACCTGGGGAC ACGGCCGTTTATTACTGCGCGGCAGATACGAGGCGGTATACATGC

【０６７４】

【表３－４０】

		CCGGATATAGCGACTATGCACAGGAACTTTGATTCCTGGGGCCAG GGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA
96	ＲＯＲ１ｓｄＡｂ３２（ＤＮＡ）	GATGTCCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGG GGGGTCTCTGAGACTCACCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCGGA TTATTATGTCATAGGCTGGTTCCGCCAGGCCCCAGGGAAGGAGCG CGAGGGGGTATCATGTATTAGTAGTAGGTATGCGAACACAAACTAT GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCCAGTCCAGAGGTGCTGCT AAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACGCCCTGAAACCTGGGGAC ACGGCCGTTTTATTACTGCGCGGCAGATACGAGGCGGTATACATGC CCGGATATAGCGACTATGCACAGGAACTTTGATTCCTGGGGCCAG GGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA
97	ＴＦＰに使用したヒトＣＤ３ε断片	DGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGG DEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYL RARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVYYWSKNRKAKAK PVTRGAGAGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQR RI
98	ｐ５０２＿ＮＫＧ２Ｄ＿ＣＤ３イプシロンＯＲＦ、単量体（アミノ酸配列）	NSLFNQEVQIPLTESYCGPCPKNWICYKNNCYQFFDESKNWYESQ ASCMSQNASLLKVYSKEDQDLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGSWQW EDGSILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSFKGYIENCSTPNTYICMQRT V GGGGSGGGGSGGGGSLEDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQ YPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYY VCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMS
99	ｐ５０２＿ＣＤ１６　ＥＣＤ＿ＣＤ３イプシロン（ＤＮＡ）	acgcgtGTAGTCTTATGCAATACTCTGTAGTCTTGCAACATGGTAACG ATGAGTTAGCAACATGCCTTACAAGGAGAGAAAAAGCACCGTGCA TGCCGATTGGTGGAAGTAAGGTGGTACGATCGTGCCTTATTAGGA AGGCAACAGACGGGTCTGACATGGATTGGACGAACCACTGAATTG CCGCATTGCAGAGATATTGTATTTAAGTGCCTAGCTCGATACATAA ACGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTG GCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTG AGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAA CTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGC AGTGGCGCCCGAACAGGGACTTGAAAGCGAAAGGGAAACCAGAG GAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGCGCACGGC AAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCCAAAAATTTTGA CTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGatgggtgcgagagcgtcagtattaagcggg ggagaattAGATCGCGATGGGAAAAAATTCGGTTAAGGCCAGGGGGA

【０６７５】

【表３－４１】

		AAGAAAAAATATAAATTAAAACATATAGTATGGGCAAGCAGGGAGC TAGAACGATTCGCAGTTAATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAGAAGG CTGTAGACAAATACTGGGACAGCTACAACCATCCCTTCAGACAGG ATCAGAAGAACTTAGATCATTATATAATACAGTAGCAACCCTCTATT GTGTGCATCAAAGGATAGAGATAAAAGACACCAAGGAAGCTTTAG ACAAGATAGAGGAAGAGCAAAACAAAAGTAAGACCACCGCACAGC AAGCGGCCACTGATCTTCAGACCTGGAGGAGGAGATATGAGGGAC AATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATAAAGTAGTAAAAATTGAACC ATTAGGAGTAGCACCCACCAAGGCAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAG AGAAAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCCTTGGGTTCTT GGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCAGCGTCAATGACGCTGA CGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAGCAGCAGA ACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAACAGCATCTGTTGCAAC TCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTG TGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCCTGGGGATTTGGGGTT GCTCTGGAAAACTCATTTGCACCACTGCTGTGCCTTGGAATGCTA GTTGGAGTAATAAATCTCTGGAACAGATTTGGAATCACACGACCTG GATGGAGTGGGACAGAGAAATTAACAATTACACAAGCTTAATACAC TCCTTAATTGAAGAATCGCAAAACCAGCAAGAAAAGAATGAACAA GAATTATTGGAATTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTTA ACATAACAAATTGGCTGTGGTATATAAAATTATTCATAATGATAGTA GGAGGCTTGGTAGGTTTAAGAATAGTTTTTGCTGTACTTTCTATAG TGAATAGAGTTAGGCAGGGATATTCACCATTATCGTTTCAGACCCA CCTCCCAACCCCGAGGGGACCCGACAGGCCCGAAGGAATAGAAG AAGAAGGTGGAGAGAGAGACAGAGACAGATCCATTCGATTAGTGA ACGGATCTCGACGGTATCGGTTAACTTTTAAAAGAAAAGGGGGGA TTGGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAA CAGACATACAAACTAAAGAATTACAAAAACAAATTACAAAATTCAA AATTTTATCGATACTAGTGGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCA GTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGG GAGGGGTCGGCAATTGAACGGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGG GTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCC GAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAAC GTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGCTGAAGCTT CGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACCTGA GGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCC TGTGGTGCCTCCTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAG CTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTCCGGCGCTCCCTTGGAGCCTA

【０６７６】

【表３－４２】

		CCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTGCTTGCT CAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGAT CCAAGCTGTGACCGGCGCCTACTCTAGAgccgccaccATGGCCCTGCC TGTGACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTCCATGCCGC CAGACCCCCCAAGGCTGTAGTATTCCTCGAACCGCAGTGGTATCG GGTACTCGAAAAAGACAGTGTAACGCTGAAGTGCCAGGGGGCCTA TAGTCCCGAGGATAACTCAACCCAATGGTTCCACAATGAAAGCCTC ATCTCTTCACAAGCAAGTTCTTATTTCATAGATGCCGCCACTGTAG ATGACTCCGGAGAATATCGGTGTCAAACGAATTTGTCTACTCTGAG CGACCCGGTTCAGCTTGAGGTACACATAGGGTGGTTGCTTCTCCA AGCCCCCCGGTGGGTATTTAAGGAGGAAGATCCAATCCACTTGCG GTGTCACAGCTGGAAGAACACAGCCCTTCACAAGGTAACATACTT GCAAAACGGCAAGGGTAGGAAATACTTCCATCACAACAGCGATTT CTACATACCAAAAGCAACCCTCAAGGACTCCGGGAGTTATTTCTGC CGCGGGCTCTTCGGTTCTAAGAATGTAAGCAGTGAAACGGTCAAT ATAACCATTACACAGGGTCTCGCGGTTTCTACCATCTCAAGTTTCT TCCCTCCCGGTTATCAAgcggccgcGGGCGGTGGTGGTTCTGGGGGC GGGGGGTCTGGAGGAGGGGGAAGTctcgagGATGGAAATGAAGAAA TGGGAGGGATAACCCAAACTCCATACAAGGTCTCTATCAGCGGTA CGACCGTAATTTTGACCTGTCCCCAGTATCCTGGTTCCGAAATACT TTGGCAACACAATGATAAGAATATCGGTGGAGACGAGGATGATAA GAACATTGGGTCTGATGAAGACCACCTCTCTCTCAAGGAATTTAGC GAGCTTGAACAGTCAGGTTACTACGTGTGTTACCCACGGGGCAGC AAGCCCGAGGATGCCAACTTTTACCTGTACCTGCGGGCAAGGGTC TGTGAAAACTGTATGGAGATGGATGTGATGAGCGTAGCTACGATT GTAATAGTGGACATCTGCATCACCGGGGGTTTGTTGTTGCTTGTTT ACTACTGGAGTAAAAACAGAAAAGCGAAAGCTAAGCCTGTTACCC GGGGAGCCGGGGCTGGCGGAAGGCAGAGGGGTCAAAATAAAGAG CGCCCCCCGCCTGTTCCGAATCCAGACTACGAACCCATCCGGAAA GGGCAACGGGATCTCTACTCCGGCTTGAATCAGCGAAGAATTTAG TAAGAATTCGAATTTAAATCGGATCCGCGGCCGCGTCGACAATCAA CCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACT ATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTT GTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGT ATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGT CAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCC CACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGAC TTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACTCATCGCCGCC

【０６７７】

【表３－４３】

		TGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGAC AATTCCGTGGTGTTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTTGGCTGC TCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCT ACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCC TGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTC AGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCCTGGTACCT TTAAGACCAATGACTTACAAGGCAGCTGTAGATCTTAGCCACTTTT TAAAAGAAAAGGGGGGACTGGAAGGGCTAATTCACTCCCAACGAA GATAAGATCTGCTTTTTGCTTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCA GATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCT TAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCC CGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTT AGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGCAGTAGTAGTTCATGTCATCTTAT TATTCAGTATTTATAACTTGCAAAGAAATGAATATCAGAGAGTGAG AGGAACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATA GCATCACAAATTTCACAAATAAAGCATTTTTTTCACTGCATTCTAGT TGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCATGTCTGGCTCTA GCTATCCCGCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCCTAACTCCGCCCA GTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTAT GCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAG TGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGACTTTTGCagagacggcccaaattcg taatcatggtcatagctgtttcctgtgtgaaattgttatccgctcacaattccacacaacatacgagcc ggaagcataaagtgtaaagcctggggtgcctaatgagtgagctaactcacattaattgcgttgcgct cactgcccgctttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcggccaacgcgcgggg agaggcggtttgcgtattgggcgctcttccgcttcctcgctcactgactcgctgcgctcggtcgttcggc tgcggcgagcggtatcagctcactcaaaggcggtaatacggttatccacagaatcaggggataacg caggaaagaacatgtgagcaaaaggccagcaaaaggccaggaaccgtaaaaaggccgcgttgct ggcgtttttccataggctccgccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagaggtggc gaaacccgacaggactataaagataccaggcgtttccccctggaagctccctcgtgcgctctcctgttc cgaccctgccgcttaccggatacctgtccgcctttctcccttcgggaagcgtggcgctttctcatagctc acgctgtaggtatctcagttcggtgtaggtcgttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaacccccgt tcagcccgaccgctgcgccttatccggtaactatcgtcttgagtccaacccggtaagacacgacttatc gccactggcagcagccactggtaacaggattagcagagcgaggtatgtaggcggtgctacagagtt cttgaagtggtggcctaactacggctacactagaaggacagtatttggtatctgcgctctgctgaagc cagttaccttcggaaaaagagttggtagctcttgatccggcaaacaaaccaccgctggtagcggtgg ttttttttgtttgcaagcagcagattacgcgcagaaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttt ctacggggtctgacgctcagtggaacgaaaactcacgttaagggattttggtcatgagattatcaaa aaggatcttcacctagatccttttaaattaaaaatgaagttttaaatcaatctaaagtatatatgagt

【０６７８】

【表３－４４】

		aaacttggtctgacagttaccaatgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgatctgtctatttcgttc atccatagttgcctgactccccgtcgtgtagataactacgatacgggagggcttaccatctggcccca gtgctgcaatgataccgcgagacccacgctcaccggctccagatttatcagcaataaaccagccagc cggaagggccgagcgcagaagtggtcctgcaactttatccgcctccatccagtctattaattgttgcc gggaagctagagtaagtagttcgccagttaatagtttgcgcaacgttgttgccattgctacaggcatc gtggtgtcacgctcgtcgtttggtatggcttcattcagctccggttcccaacgatcaaggcgagttaca tgatcccccatgttgtgcaaaaaagcggttagctccttcggtcctccgatcgttgtcagaagtaagttg gccgcagtgttatcactcatggttatggcagcactgcataattctcttactgtcatgccatccgtaaga tgcttttctgtgactggtgagtactcaaccaagtcattctgagaatagtgtatgcggcgaccgagttgc tcttgcccggcgtcaatacgggataataccgcgccacatagcagaactttaaaagtgctcatcattgg aaaacgttcttcggggcgaaaactctcaaggatcttaccgctgttgagatccagttcgatgtaaccca ctcgtgcacccaactgatcttcagcatcttttactttcaccagcgtttctgggtgagcaaaaacaggaa ggcaaaatgccgcaaaaaagggaataagggcgacacggaaatgttgaatactcatactcttccttt ttcaatattattgaagcatttatcagggttattgtctcatgagcggatacatatttgaatgtatttaga aaaataaacaaatagggttccgcgcacatttccccgaaaagtgccacctgacgtctaagaaacca ttattatcatgacattaacctataaaaataggcgtatcacgaggccctttcgtctcgcgcgtttcggtg atgacggtgaaaacctctgacacatgcagctcccggagacggtcacagcttgtctgtaagcggatgc cgggagcagacaagcccgtcagggcgcgtcagcgggtgttggcgggtgtcggggctggcttaactat gcggcatcagagcagattgtactgagagtgcaccatatgcggtgtgaaataccgcacagatgcgta aggagaaaataccgcatcaggcgccattcgccattcaggctgcgcaactgttgggaagggcgatcg gtgcgggcctcttcgctattacgccagctggcgaaaggggatgtgctgcaaggcgattaagttggg taacgccagggttttcccagtcacgacgttgtaaaacgacggccagtgccaagctg
100	ｐ５０２＿抗ＣＤ２２＿ＣＤ３イプシロン	acgcgtGTAGTCTTATGCAATACTCTGTAGTCTTGCAACATGGTAACG ATGAGTTAGCAACATGCCTTACAAGGAGAGAAAAAGCACCGTGCA TGCCGATTGGTGGAAGTAAGGTGGTACGATCGTGCCTTATTAGGA AGGCAACAGACGGGTCTGACATGGATTGGACGAACCACTGAATTG CCGCATTGCAGAGATATTGTATTTAAGTGCCTAGCTCGATACATAA ACGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTG GCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTG AGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAA CTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGC AGTGGCGCCCGAACAGGGACTTGAAAGCGAAAGGGAAACCAGAG GAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGCGCACGGC AAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCCAAAAATTTTGA CTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGatgggtgcgagagcgtcagtattaagcggg ggagaattAGATCGCGATGGGAAAAAATTCGGTTAAGGCCAGGGGGA AAGAAAAAATATAAATTAAAACATATAGTATGGGCAAGCAGGGAGC TAGAACGATTCGCAGTTAATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAGAAGG

【０６７９】

【表３－４５】

		CTGTAGACAAATACTGGGACAGCTACAACCATCCCTTCAGACAGG ATCAGAAGAACTTAGATCATTATATAATACAGTAGCAACCCTCTATT GTGTGCATCAAAGGATAGAGATAAAAGACACCAAGGAAGCTTTAG ACAAGATAGAGGAAGAGCAAAACAAAAGTAAGACCACCGCACAGC AAGCGGCCACTGATCTTCAGACCTGGAGGAGGAGATATGAGGGAC AATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATAAAGTAGTAAAAATTGAACC ATTAGGAGTAGCACCCACCAAGGCAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAG AGAAAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCCTTGGGTTCTT GGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCAGCGTCAATGACGCTGA CGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAGCAGCAGA ACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAACAGCATCTGTTGCAAC TCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTG TGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCCTGGGGATTTGGGGTT GCTCTGGAAAACTCATTTGCACCACTGCTGTGCCTTGGAATGCTA GTTGGAGTAATAAATCTCTGGAACAGATTTGGAATCACACGACCTG GATGGAGTGGGACAGAGAAATTAACAATTACACAAGCTTAATACAC TCCTTAATTGAAGAATCGCAAAACCAGCAAGAAAAGAATGAACAA GAATTATTGGAATTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTTA ACATAACAAATTGGCTGTGGTATATAAAATTATTCATAATGATAGTA GGAGGCTTGGTAGGTTTAAGAATAGTTTTTGCTGTACTTTCTATAG TGAATAGAGTTAGGCAGGGATATTCACCATTATCGTTTCAGACCCA CCTCCCAACCCCGAGGGGACCCGACAGGCCCGAAGGAATAGAAG AAGAAGGTGGAGAGAGAGACAGAGACAGATCCATTCGATTAGTGA ACGGATCTCGACGGTATCGGTTAACTTTTAAAAGAAAAGGGGGGA TTGGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAA CAGACATACAAACTAAAGAATTACAAAAACAAATTACAAAATTCAA AATTTTATCGATACTAGTGGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCA GTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGG GAGGGGTCGGCAATTGAACGGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGG GTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCC GAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAAC GTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGCTGAAGCTT CGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACCTGA GGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCC TGTGGTGCCTCCTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAG CTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTCCGGCGCTCCCTTGGAGCCTA CCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTGCTTGCT CAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGAT

【０６８０】

【表３－４６】

		CCAAGCTGTGACCGGCGCCTACTCTAGAgccgccaccatgcttctcctggtgaca agccttctgctctgtgagttaccacacccagcattcctcctgatcccaCAGGTCCAACTTCA ACAATCAGGACCAGGGCTCGTGAAGCCGTCCCAAACGCTTAGTCT CACATGCGCCATTAGTGGGGACTCCGTGAGTTCAAATTCCGCCGC CTGGAATTGGATTAGGCAAAGTCCATCTAGGGGTCTTGAGTGGCT CGGCCGCACTTACTACAGATCCAAGTGGTATAACGACTACGCAGTA TCCGTAAAATCAAGAATAACAATTAATCCAGATACTTCTAAGAACC AATTTAGTCTTCAACTGAACAGCGTGACCCCGGAGGATACAGCGG TGTATTATTGTGCGCGAGAAGTTACCGGGGATCTGGAGGATGCTTT TGATATCTGGGGCCAAGGAACAATGGTAACCGTTAGTTCAGGCGG TGGTGGTTCTGGGGGCGGGGGGTCTGGAGGAGGGGGAAGTGATA TACAAATGACACAGAGCCCTAGTTCCCTTAGTGCCTCAGTTGGGG ATAGGGTAACAATCACTTGCCGAGCATCACAGACGATATGGTCCTA TCTCAACTGGTATCAACAACGCCCTGGCAAGGCACCCAACCTGCT GATCTACGCCGCTAGTAGTTTGCAAAGTGGGGTACCTAGTAGATTC TCCGGCAGAGGTTCTGGCACTGACTTTACCTTGACAATCAGCAGC CTCCAAGCAGAAGACTTCGCGACATACTACTGTCAGCAAAGTTACT CTATACCTCAGACGTTCGGTCAGGGGACCAAGCTCGAGATCAAGgc ggccgcgGGCGGTGGAGGCAGTGGTGGTGGCGGCTCTGGCGGTGGT GGTAGCCTCGAGGACGGGAACGAAGAGATGGGAGGCATAACTCA AACGCCGTATAAAGTTAGTATAAGTGGAACAACGGTTATATTGACG TGCCCACAATATCCAGGATCAGAGATCCTTTGGCAGCATAACGATA AAAACATCGGCGGCGACGAAGACGACAAAAACATTGGCAGCGAC GAAGACCACCTCAGCCTTAAAGAGTTCTCTGAGTTGGAACAAAGC GGGTACTACGTCTGCTATCCACGGGGGTCTAAACCCGAGGATGCA AATTTCTACCTGTATCTCAGAGCTAGGGTATGCGAAAACTGTATGG AAATGGACGTGATGAGCGTGGCGACTATCGTCATAGTAGATATTTG TATTACCGGGGGGCTTCTCCTTCTGGTTTATTATTGGTCTAAGAAT CGGAAAGCGAAAGCGAAACCCGTAACACGAGGGGCTGGTGCTGG GGGCAGGCAAAGGGGTCAAAATAAGGAAAGGCCCCCTCCAGTCC CTAATCCTGATTACGAGCCGATAAGGAAAGGTCAGCGGGACTTGT ACAGCGGTTTGAACCAGCGGAGGATCTGATAAGAATTCGAATTTA AATCGGATCCGCGGCCGCGTCGACAATCAACCTCTGGATTACAAA ATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTAC GCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTT CCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTG TCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTG GTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATT

【０６８１】

【表３－４７】

		GCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCC CTATTGCCACGGCGGAACTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCT GGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTTGT CGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCA CCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCC TCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGC GGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCT CCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCCTGGTACCTTTAAGACCAATGACTT ACAAGGCAGCTGTAGATCTTAGCCACTTTTTAAAAGAAAAGGGGG GACTGGAAGGGCTAATTCACTCCCAACGAAGATAAGATCTGCTTTT TGCTTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGA GCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGC TTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGAC TCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAA TCTCTAGCAGTAGTAGTTCATGTCATCTTATTATTCAGTATTTATAA CTTGCAAAGAAATGAATATCAGAGAGTGAGAGGAACTTGTTTATTG CAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTCAC AAATAAAGCATTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAA CTCATCAATGTATCTTATCATGTCTGGCTCTAGCTATCCCGCCCCTA ACTCCGCCCATCCCGCCCCTAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTC CGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGC CGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTT TGGAGGCCTAGACTTTTGCagagacggcccaaattcgtaatcatggtcatagctgtttc ctgtgtgaaattgttatccgctcacaattccacacaacatacgagccggaagcataaagtgtaaagc ctggggtgcctaatgagtgagctaactcacattaattgcgttgcgctcactgcccgctttccagtcggg aaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcggccaacgcgcggggagaggcggtttgcgtattggg cgctcttccgcttcctcgctcactgactcgctgcgctcggtcgttcggctgcggcgagcggtatcagctc actcaaaggcggtaatacggttatccacagaatcaggggataacgcaggaaagaacatgtgagca aaaggccagcaaaaggccaggaaccgtaaaaaggccgcgttgctggcgtttttccataggctccgcc cccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagaggtggcgaaacccgacaggactataa agataccaggcgtttcccccctggaagctccctcgtgcgctctcctgttccgaccctgccgcttaccggat acctgtccgcctttctcccttcgggaagcgtggcgctttctatagctcacgctgtaggtatctcagttcg gtgtaggtcgttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaaccccccgttcagcccgaccgctgcgccttа tccggtaactatcgtcttgagtccaacccggtaagacacgacttatcgccactggcagcagccactgg taacaggattagcagagcgaggtatgtaggcggtgctacagagttcttgaagtggtggcctaactac ggctacactagaaggacagtatttggtatctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaagag ttggtagctcttgatccggcaaacaaaccaccgctggtagcggtggttttttgtttgcaagcagcag attacgcgcagaaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttctacggggtctgacgctcagtg

【０６８２】

【表３－４８】

		gaacgaaaactcacgttaagggattttggtcatgagattatcaaaaaggatcttcacctagatcctttt taaattaaaaatgaagttttaaatcaatctaaagtatatatgagtaaacttggtctgacagttacca atgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgatctgtctatttcgttcatccatagttgcctgactcccc gtcgtgtagataactacgatacgggagggcttaccatctggccccagtgctgcaatgataccgcgag acccacgctcaccggctccagatttatcagcaataaaccagccagccggaagggccgagcgcagaa gtggtcctgcaactttatccgcctccatccagtctattaattgttgccgggaagctagagtaagtagtt cgccagttaatagtttgcgcaacgttgttgccattgctacaggcatcgtggtgtcacgctcgtcgtttg gtatggcttcattcagctccggttcccaacgatcaaggcgagttacatgatcccccatgttgtgcaaa aaagcggttagctccttcggtcctccgatcgttgtcagaagtaagttggccgcagtgttatcactcatg gttatggcagcactgcataattctcttactgtcatgccatccgtaagatgcttttctgtgactggtgagt actcaaccaagtcattctgagaatagtgtatgcggcgaccgagttgctcttgcccggcgtcaatacgg gataataccgcgccacatagcagaactttaaaagtgctcatcattggaaaacgttcttcggggcgaa aactctcaaggatcttaccgctgttgagatccagttcgatgtaacccactcgtgcacccaactgatctt cagcatcttttactttcaccagcgtttctgggtgagcaaaaacaggaaggcaaaatgccgcaaaaa agggaataagggcgacacggaaatgttgaatactcatactcttccttttcaatattattgaagcatt tatcagggttattgtctcatgagcggatacatatttgaatgtatttagaaaaataaacaaatagggg ttccgcgcacatttccccgaaaagtgccacctgacgtctaagaaaccattattatcatgacattaacct ataaaaataggcgtatcacgaggccctttcgtctcgcgcgtttcggtgatgacggtgaaaacctctga cacatgcagctcccggagacggtcacagcttgtctgtaagcggatgccgggagcagacaagcccgtc agggcgcgtcagcgggtgttggcgggtgtcggggctggcttaactatgcggcatcagagcagattgt actgagagtgcaccatatgcggtgtgaaataccgcacagatgcgtaaggagaaaataccgcatca ggcgccattcgccattcaggctgcgcaactgttgggaagggcgatcggtgcgggcctcttcgctatta cgccagctggcgaaaggggatgtgctgcaaggcgattaagttgggtaacgccagggttttcccagt cacgacgttgtaaaacgacggccagtgccaagctg
101	リンカー６（アミノ酸）	GGGGSGGGGS
102	リンカー６（ＤＮＡ）	GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC
103	ｈＢＣＭＡポリペプチド標準配列ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVT NSVKGTNAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFKNTG SGLLGMANIDLEKSRTGDEIILPRGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVDS DHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSISAR

【０６８３】

【表３－４９】

	Ｑ０２２２３－１	
104	ｈＣＤ１９ポリペプチド標準配列ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ１５３９１	MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGP TQQLTWSRESPLKPFLKLSLGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMG GFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLGGLGCGL KNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNQ SLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSL ELKDDRPARDMWVMETGLLLPRATAQDAGKYYCHRGNLTMSFHL EITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVL RRKRKRMTDPTRRFFKVTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGRA QRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPEEEEGEGY EEPDSEEDSEFYENDSNLGQDQLSQDGSGYENPEDEPLGPEDEDS FSNAESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGSAWDPSREATSLGSQSY EDMRGILYAAPQLRSIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWG GGGRMGTWSTR
105	ｈＣＤ２２ベータアイソフォームポリペプチド標準配列　ＵｎｉＰｒｏｔアクセッション番号Ｐ２０２７３－１	MHLLGPWLLLLVLEYLAFSDSSKWVFEHPETLYAWEGACVWIPCT YRALDGDLESFILFHNPEYNKNTSKFDGTRLYESTKDGKVPSEQKR VQFLGDKNKNCTLSIHPVHLNDSGQLGLRMESKTEKWMERIHLN VSERPFPPHIQLPPEIQESQEVTLTCLLNFSCYGYPIQLQWLLEGVP MRQAAVTSTSLTIKSVFTRSELKFSPQWSHHGKIVTCQLQDADGKF LSNDTVQLNVKHTPKLEIKVTPSDAIVREGDSVTMTCEVSSSNPEY TTVSWLKDGTSLKKQNTFTLNLREVTKDQSGKYCCQVSNDVGPGR SEEVFLQVQYAPEPSTVQILHSPAVEGSQVEFLCMSLANPLPTNYT WYHNGKEMQGRTEEKVHIPKILPWHAGTYSCVAENILGTGQRGPG AELDVQYPPKKVTTVIQNPMPIREGDTVTLSCNYNSSNPSVTRYEW KPHGAWEEPSLGVLKIQNVGWDNTTIACAACNSWCSWASPVALNV QYAPRDVRVRKIKPLSEIHSGNSVSLQCDFSSSHPKEVQFFWEKNG RLLGKESQLNFDSISPEDAGSYSCWVNNSIGQTASKAWTLEVLYAP RRLRVSMSPGDQVMEGKSATLTCESDANPPVSHYTWFDWNNQSL PYHSQKLRLEPVKVQHSGAYWCQGTNSVGKGRSPLSTLTVYYSPET IGRRVAVGLGSCLAILILAICGLKLQRRWKRTQSQQGLQENSSGQSF FVRNKKVRRAPLSEGPHSLGCYNPMMEDGISYTTLRFPEMNIPRT GDAESSEMQRPPPDCDDTVTYSALHKRQVGDYENVIPDFPEDEGI HYSELIQFGVGERPQAQENVDYVILKH

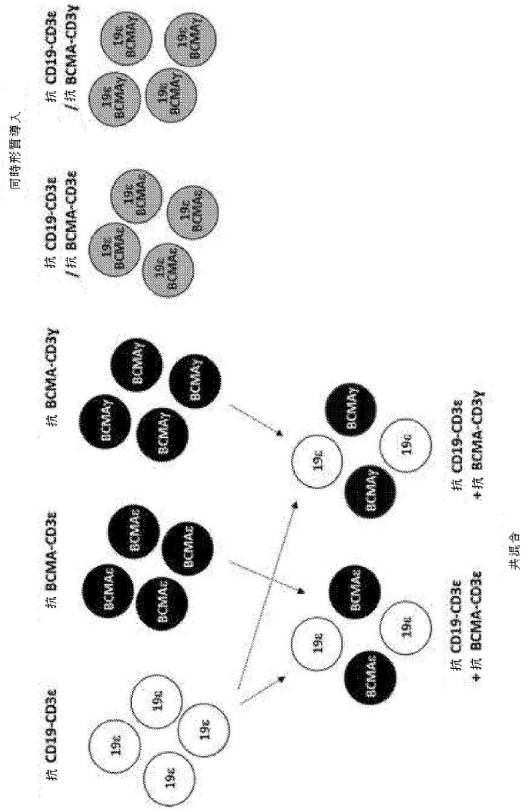
【０６８４】

【表３－５０】

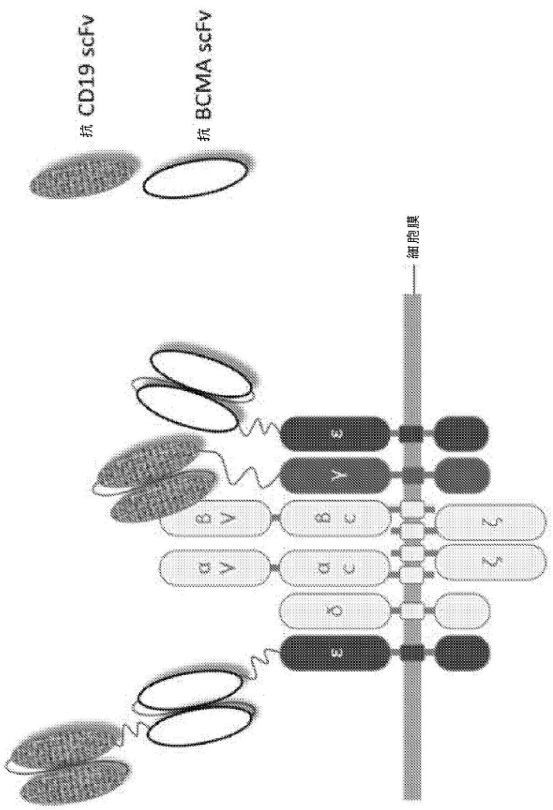
106	ＣＤ１６ＥＣＤ（ＤＮＡ）	CCCAAGGCTGTAGTATTCCTCGAACCGCAGTGGTATCGGGTACTC GAAAAAGACAGTGTAACGCTGAAGTGCCAGGGGGCCTATAGTCCC GAGGATAACTCAACCCAATGGTTCCACAATGAAAGCCTCATCTCTT CACAAGCAAGTTCTTATTTCATAGATGCCGCCACTGTAGATGACTC CGGAGAATATCGGTGTCAAACGAATTTGTCTACTCTGAGCGACCC GGTTCAGCTTGAGGTACACATAGGGTGGTTGCTTCTCCAAGCCCC CCGGTGGGTATTTAAGGAGGAAGATCCAATCCACTTGCGGTGTCA CAGCTGGAAGAACACAGCCCTTCACAAGGTAACATACTTGCAAAA CGGCAAGGGTAGGAAATACTTCCATCACAACAGCGATTTCTACATA CCAAAAGCAACCCTCAAGGACTCCGGGAGTTATTTCTGCCGCGGG CTCTTCGGTTCTAAGAATGTAAGCAGTGAAACGGTCAATATAACCA TTACACAGGGTCTCGCGGTTTCTACCATCTCAAGTTTCTTCCCTCC CGGTTATCAA
107	ＴＦＰに使用したヒトＣＤ３γ断片	FKIPIEELEDRVFVNCNTSITWVEGTVGTLLSDITRLDLGKRILDPR GIYRCNGTDIYKDKESTVQVHYRMCQSCVELDPATVAGIIVTDVIAT LLLALGVFCFAGHETGRLSGAADTQALLRNDQVYQPLRDRDDAQY SHLGGNWARNK
108	ＴＦＰに使用したヒトＣＤ３δ断片	FKIPIEELEDRVFVNCNTSITWVEGTVGTLLSDITRLDLGKRILDPR GIYRCNGTDIYKDKESTVQVHYRMCQSCVELDPATVAGIIVTDVIAT LLLALGVFCFAGHETGRLSGAADTQALLRNDQVYQPLRDRDDAQY SHLGGNWARNK
109	ＴＦＰに使用したヒトＣＤ３ζ断片	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDG LYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
110	ＴＦＰに使用したヒトＩＩ型ＮＫＧ２Ｄ内在性膜タンパク質断片（ＥＤＣ）	NSLFNQEVQIPLTESYCGPCPKNWICYKNNCYQFFDESKNWYESQ ASCMSQNASLLKVYSKEDQDLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGSWQW EDGSILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSFKGYIENCSTPNTYICMQRT V

【図面】

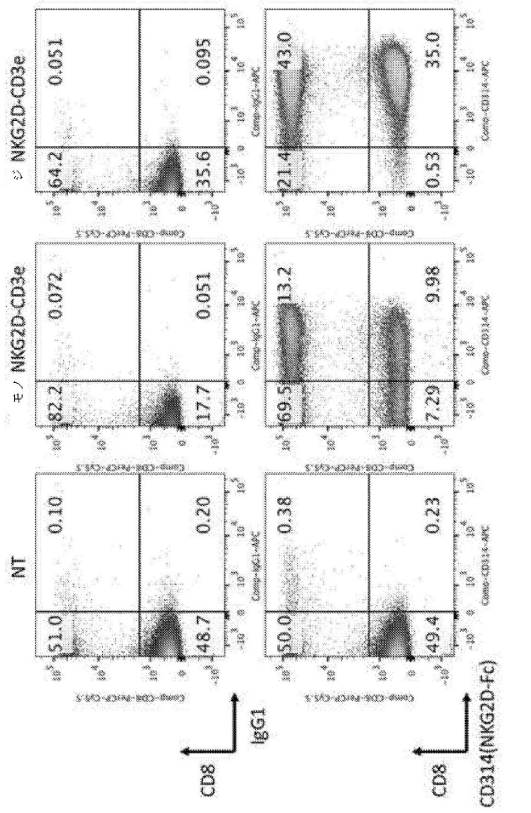
【図１Ａ】



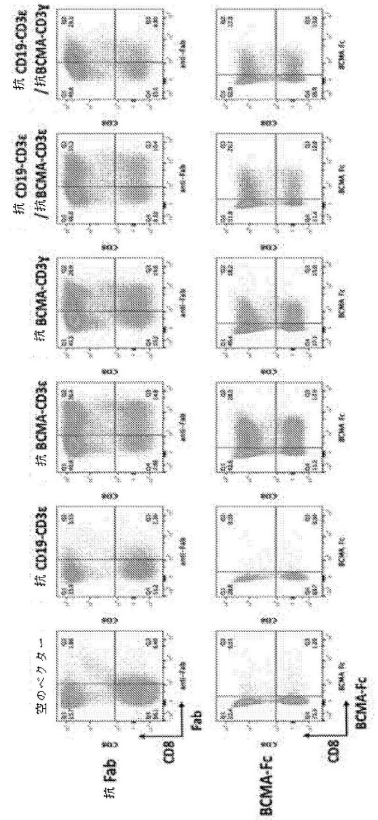
【図１Ｂ】



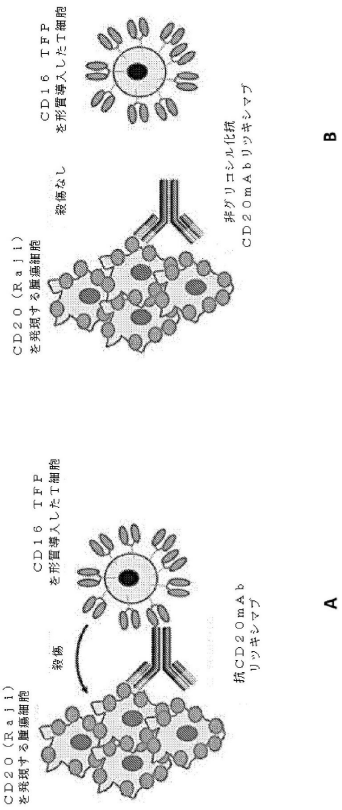
【図２Ａ】



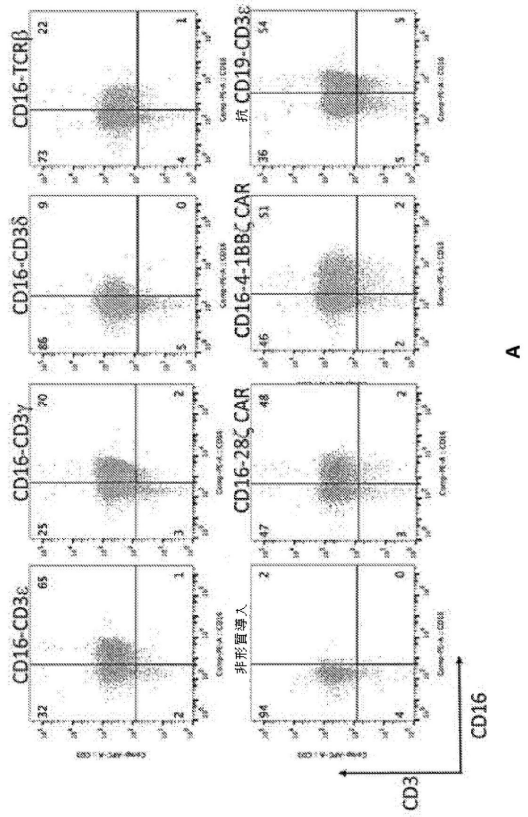
【図２Ｂ】



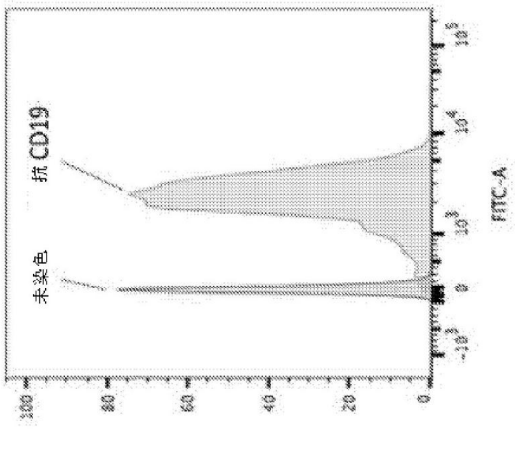
【図３】



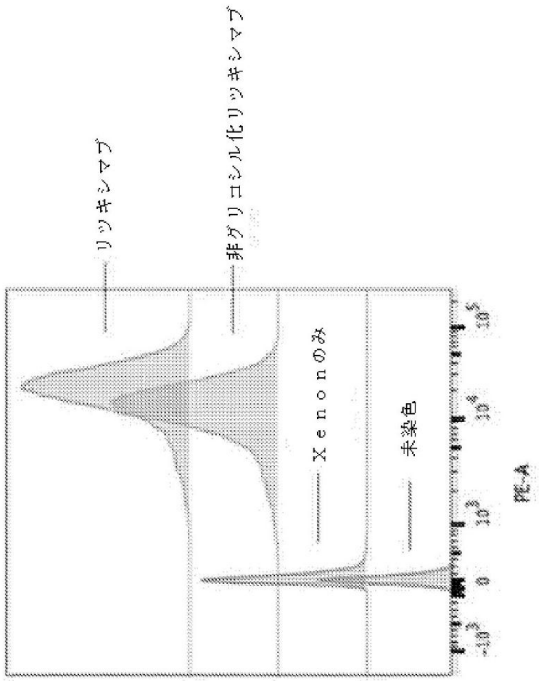
【図４Ａ】



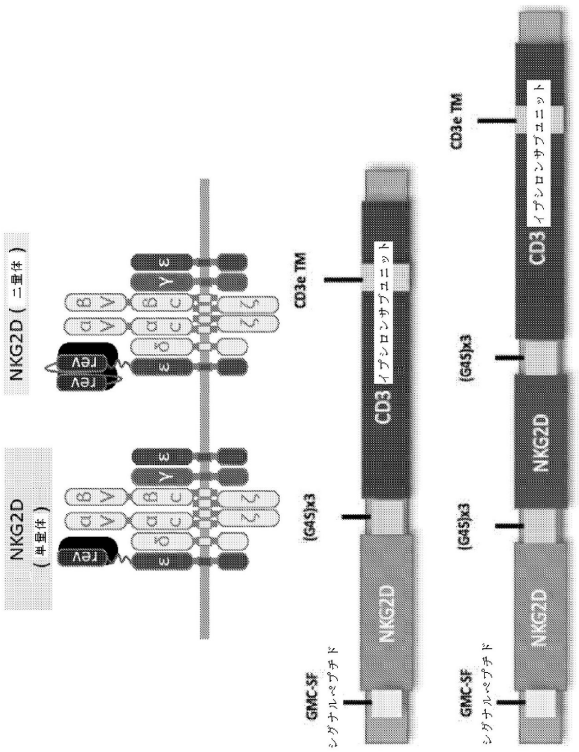
【図４Ｂ】



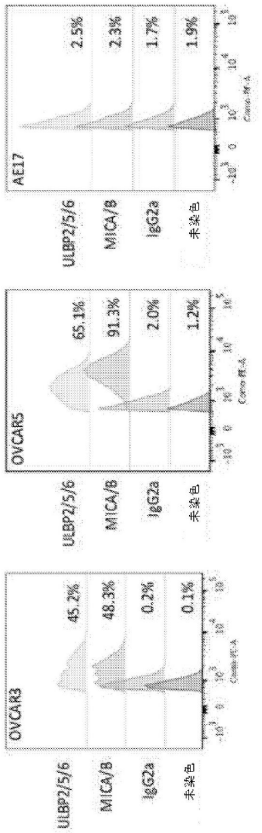
【図４Ｃ】



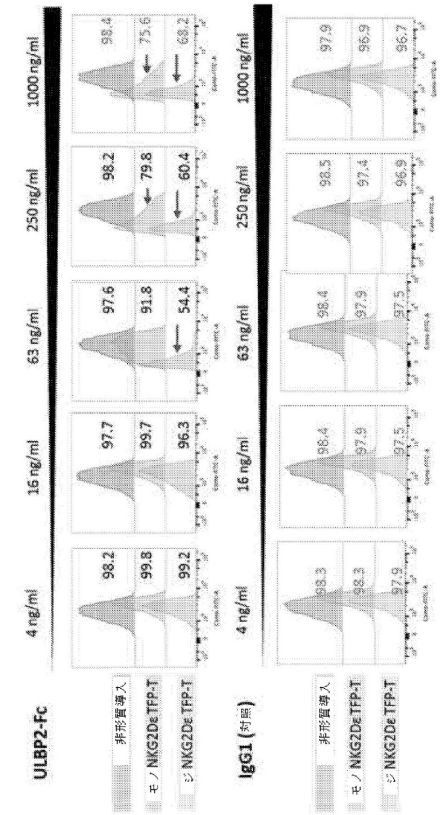
【図５】



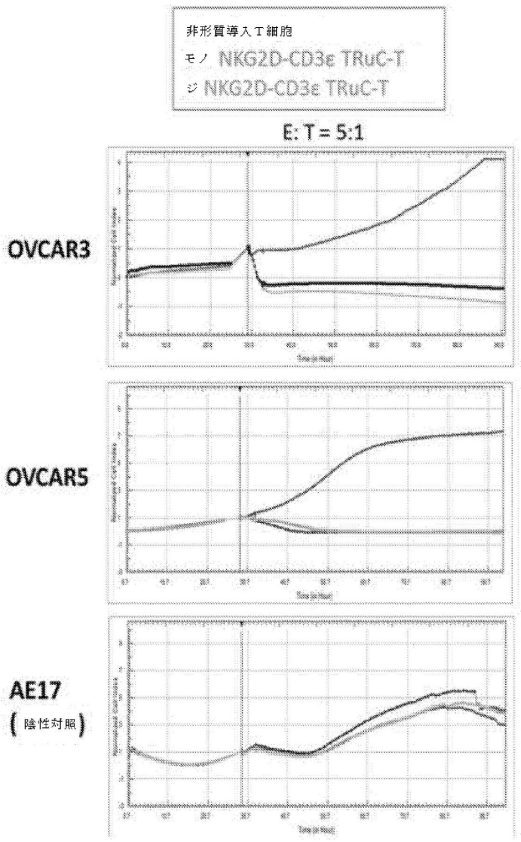
【図６Ａ】



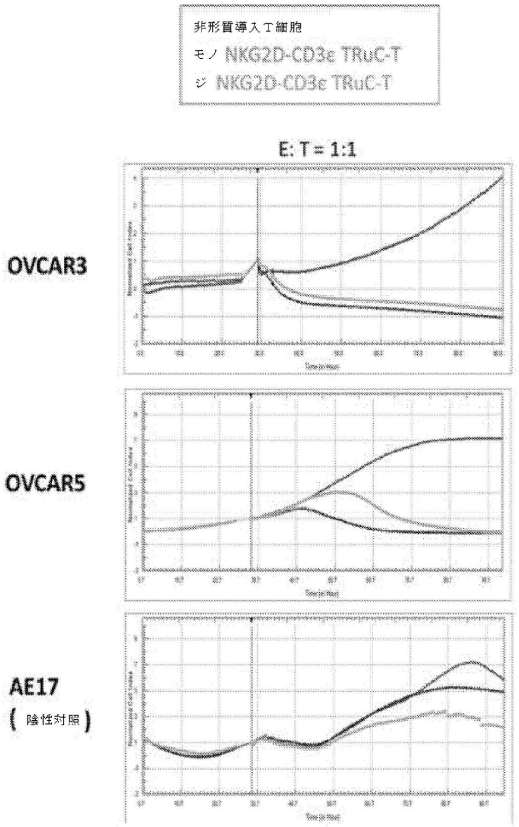
【図６Ｂ】



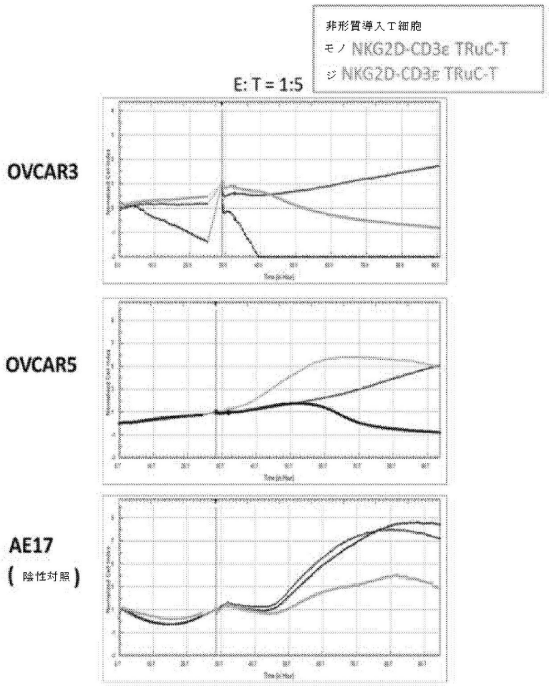
【図７Ａ】



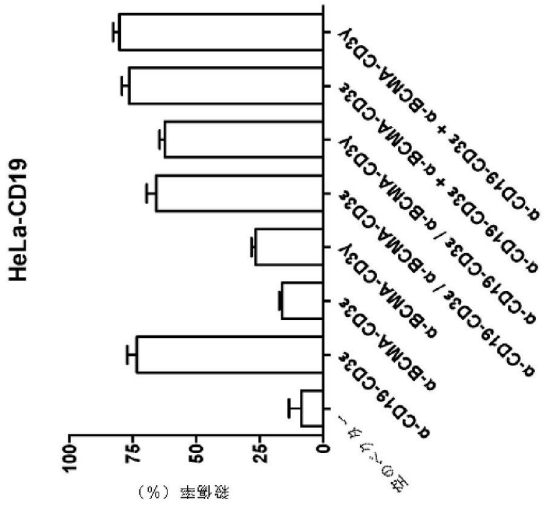
【図７Ｂ】



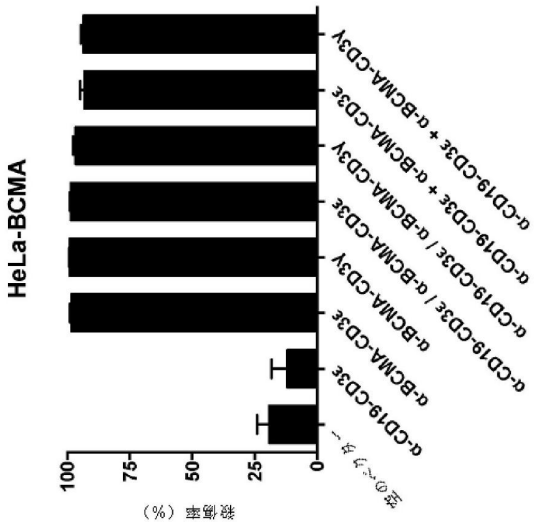
【図７Ｃ】



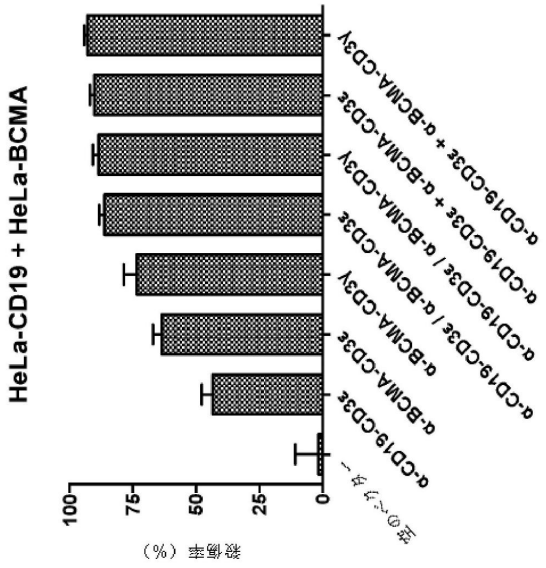
【図８Ａ】



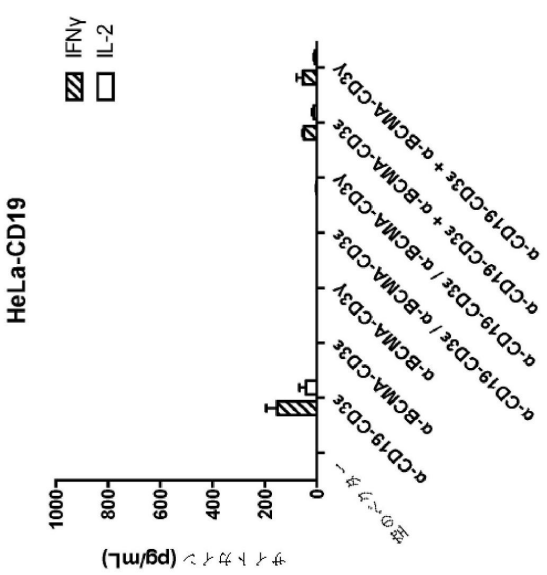
【図８Ｂ】



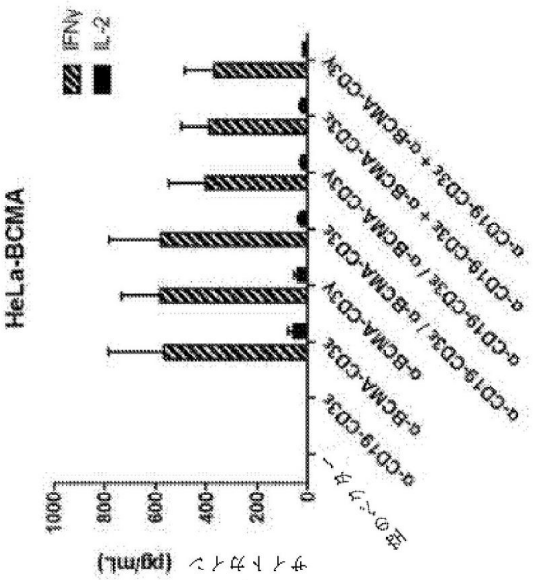
【図８Ｃ】



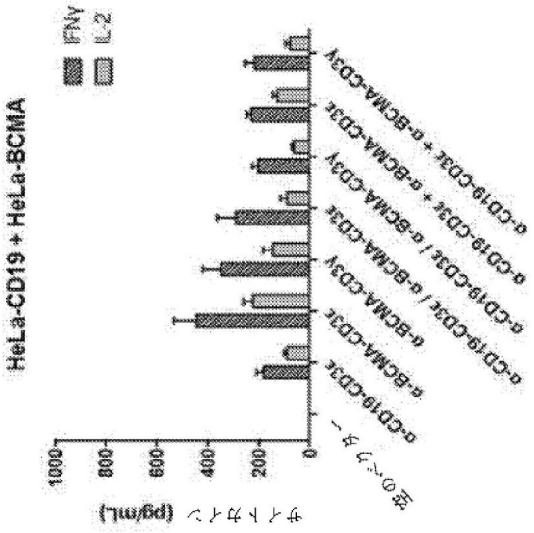
【図９Ａ】



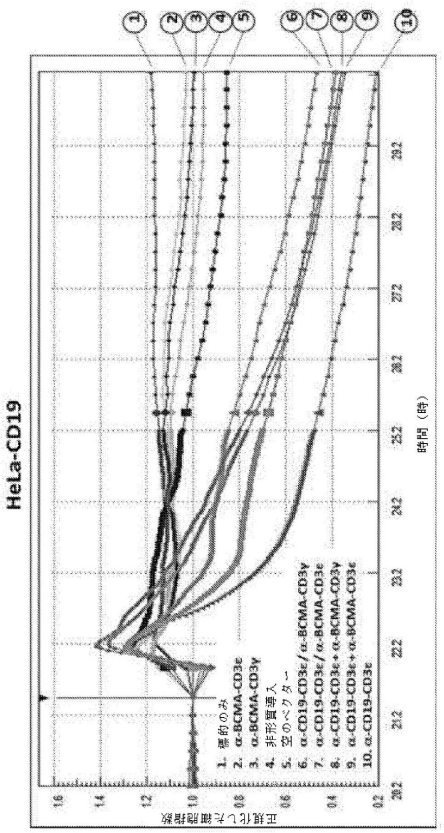
【図９Ｂ】



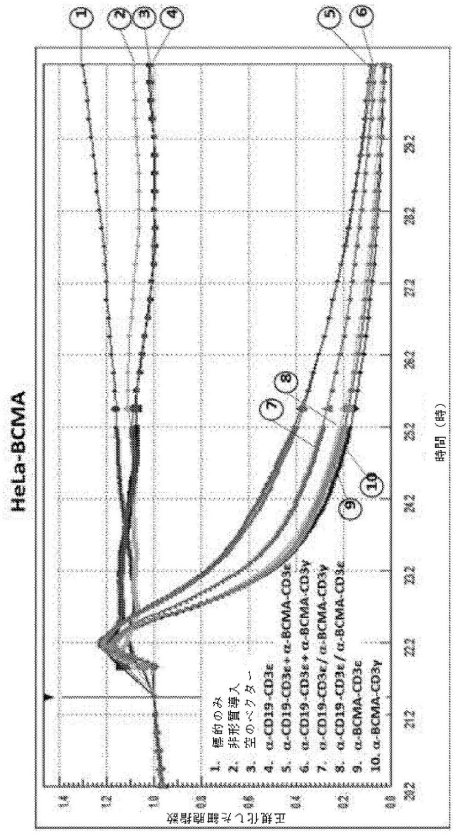
【図９Ｃ】



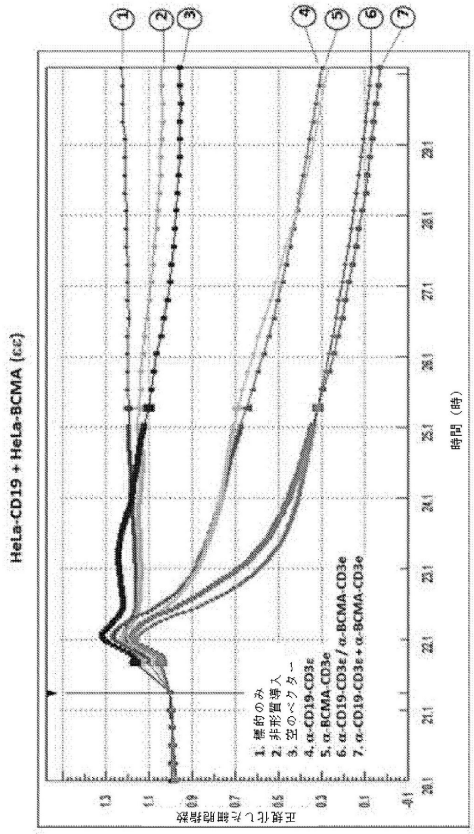
【図１０Ａ】



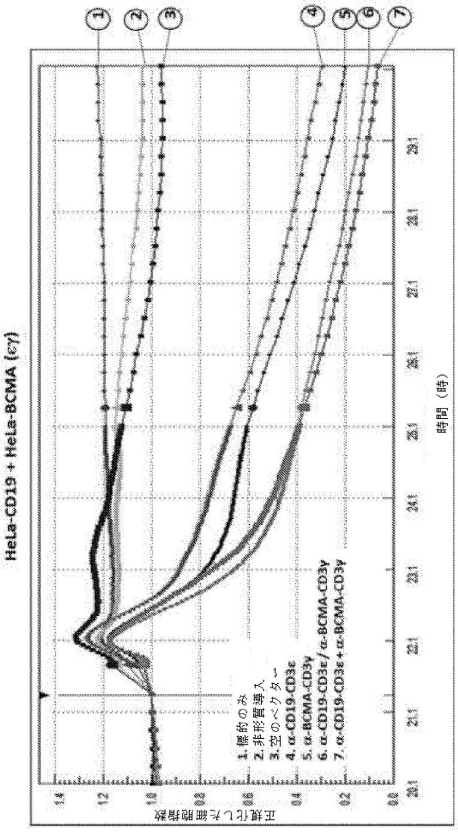
【図１０Ｂ】



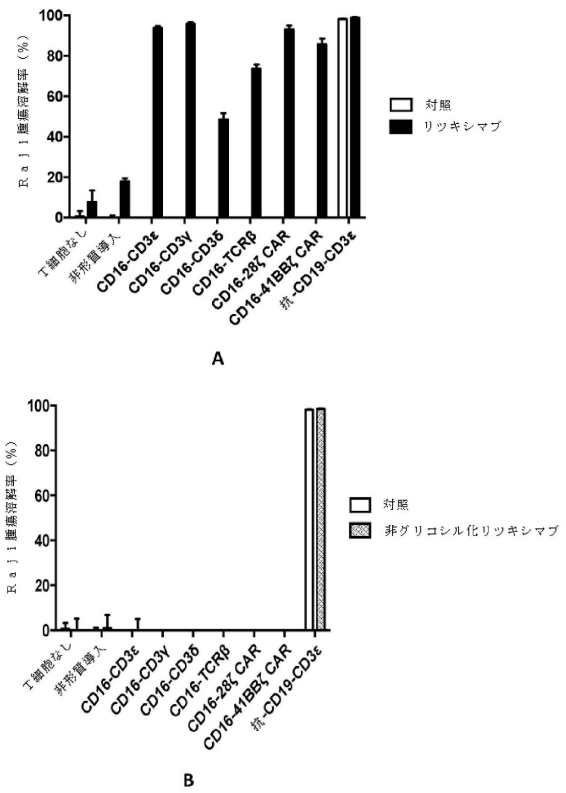
【図１０Ｃ】



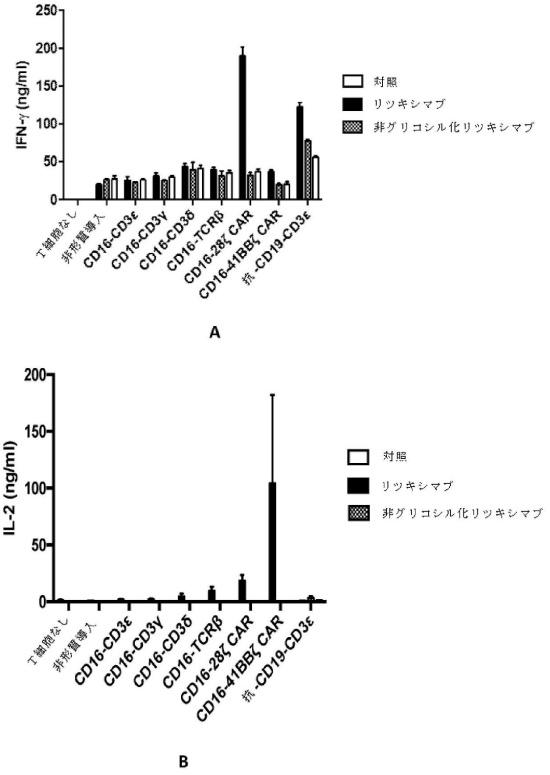
【図１０Ｄ】



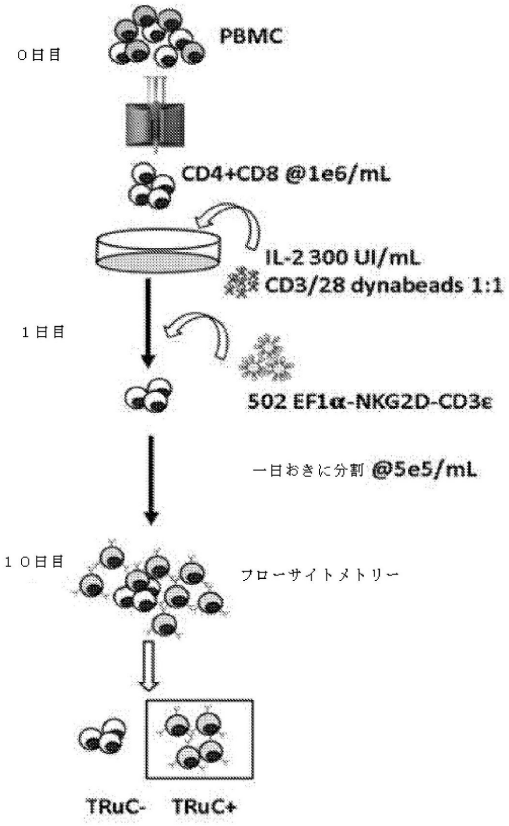
【図１１】



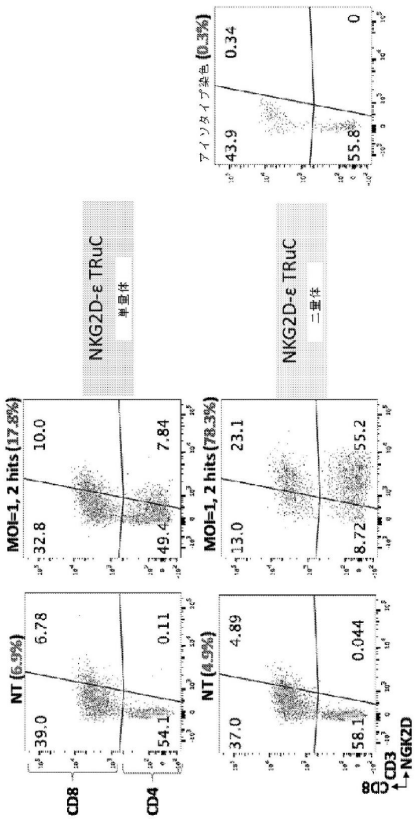
【図１２】



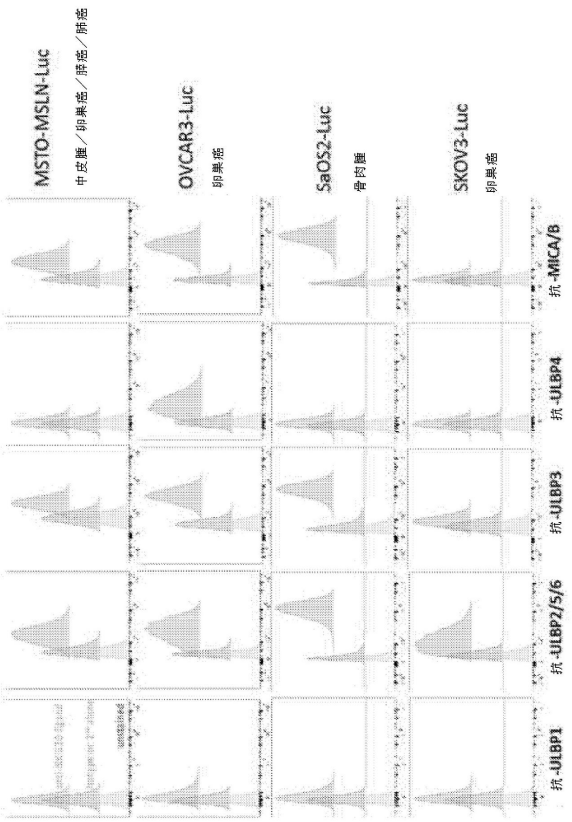
【図１３Ａ】



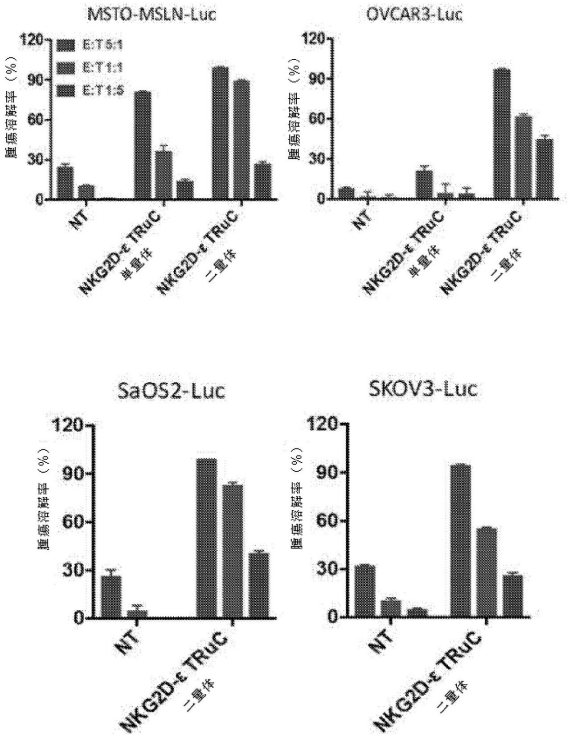
【図１３Ｂ】



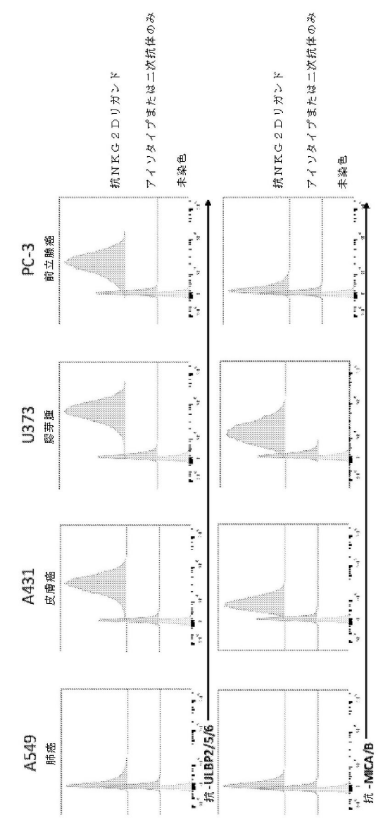
【図１４Ａ】



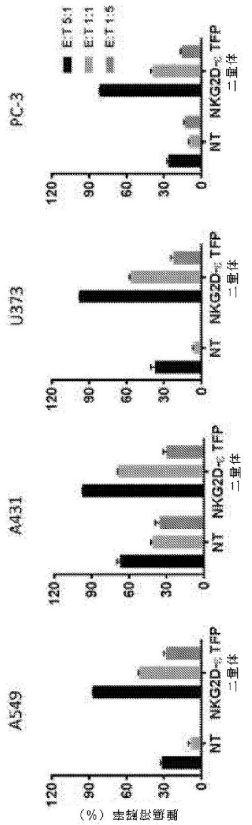
【図１４Ｂ】



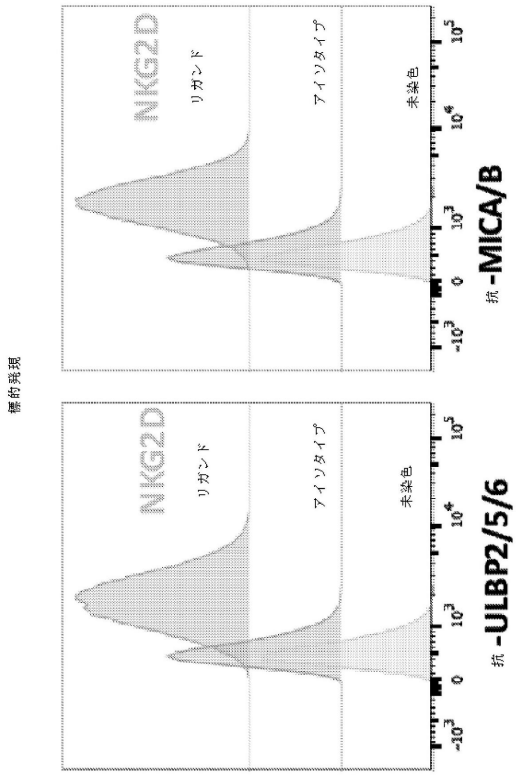
【図１４Ｃ】



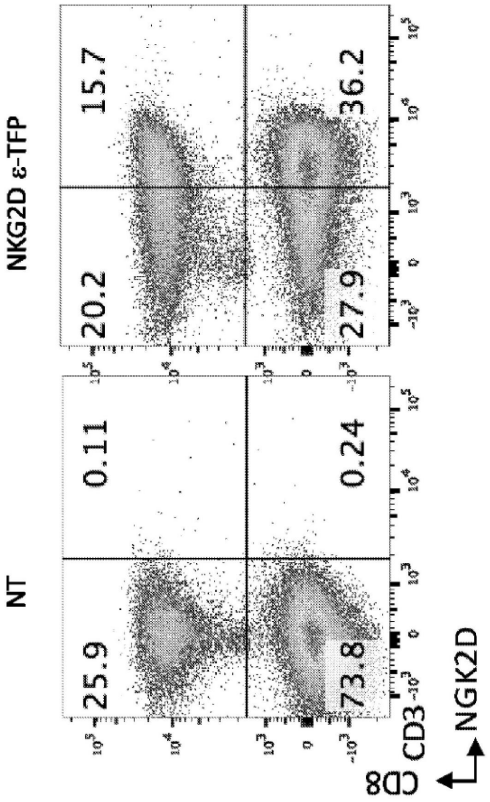
【図１４Ｄ】



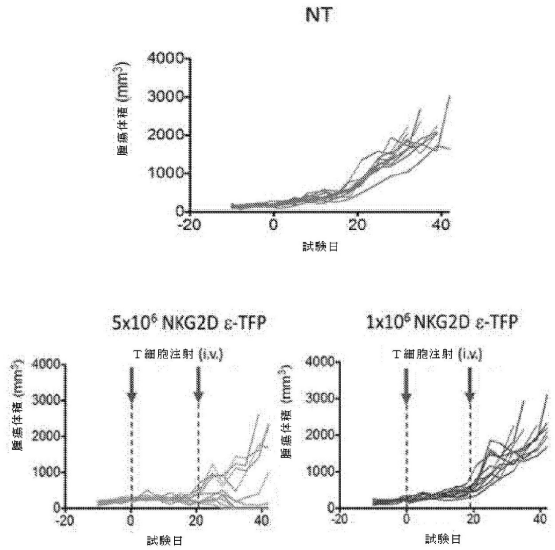
【図１５Ａ】



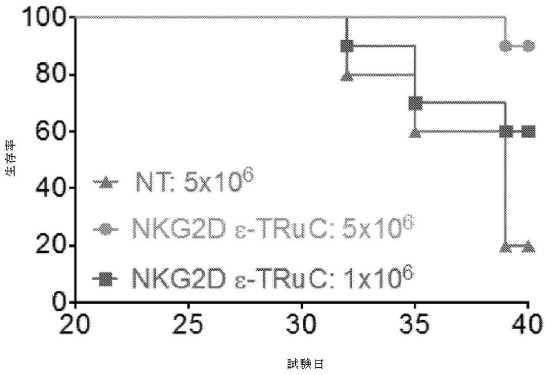
【図１５Ｂ】



【図１５Ｃ】



【図１５Ｄ】



【配列表】
0007291396000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		
C12N	*15/867(2006.01)*	C12N	15/867	Z
C12N	*5/10 (2006.01)*	C12N	5/10	
C12N	*5/0783(2010.01)*	C12N	5/0783	
A61K	*35/17 (2015.01)*	A61K	35/17	
A61K	*31/7105(2006.01)*	A61K	31/7105	
A61K	*31/712(2006.01)*	A61K	31/712	
A61K	*31/7125(2006.01)*	A61K	31/7125	
A61K	*35/76 (2015.01)*	A61K	35/76	
A61P	*35/00 (2006.01)*	A61P	35/00	
A61P	*35/02 (2006.01)*	A61P	35/02	
C07K	*16/28 (2006.01)*	C07K	16/28	
C07K	*19/00 (2006.01)*	C07K	19/00	

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/425,697
(32)優先日 平成28年11月23日(2016.11.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/425,884
(32)優先日 平成28年11月23日(2016.11.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

アメリカ合衆国 ０２１４２ マサチューセッツ州 ケンブリッジ ビニー・ストリート １００ スイート ７１０
(72)発明者 ホフマイスター，ロバート
アメリカ合衆国 ０２１４２ マサチューセッツ州 ケンブリッジ ビニー・ストリート １００ スイート ７１０

審査官 小田 浩代

(56)参考文献
米国特許出願公開第２０１１／０１８９１４１（ＵＳ，Ａ１）
特表平０７－５０５２８２（ＪＰ，Ａ）
特表２０１２－５０８１６４（ＪＰ，Ａ）
特表２００４－５２９６３６（ＪＰ，Ａ）
特表２０１４－５３４２４２（ＪＰ，Ａ）
特表２００７－５３６９０５（ＪＰ，Ａ）
Zah E. et al.，T Cells Expressing CD19/CD20 Bispecific Chimeric Antigen Receptors Prevent Antigen Escape by Malignant B Cells，Cancer Immunol Res.，2016年04月08日，4(6)，498-508

(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ１２Ｎ １／００－１５／９０
Ｃ０７Ｋ １／００－１９／００
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）
ＰｕｂＭｅｄ