

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成29年11月9日(2017.11.9)

【公表番号】特表2016-534995(P2016-534995A)

【公表日】平成28年11月10日(2016.11.10)

【年通号数】公開・登録公報2016-063

【出願番号】特願2016-522791(P2016-522791)

【国際特許分類】

C 0 7 K	16/28	(2006.01)
C 1 2 N	15/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/02	(2006.01)
A 6 1 P	37/04	(2006.01)
A 6 1 K	47/50	(2017.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)

【F I】

C 0 7 K	16/28	Z N A
C 1 2 N	15/00	
A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	37/04	
A 6 1 K	47/48	
A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	43/00	1 0 7
A 6 1 K	37/02	

【手続補正書】

【提出日】平成29年9月27日(2017.9.27)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

キメラ抗原受容体-エフェクター細胞(CAR-EC)を活性化するためのスイッチであって、

a. 前記CAR-EC上のキメラ抗原受容体と相互作用するキメラ抗原受容体相互作用ドメイン(CAR-ID)と、

b. 非天然アミノ酸を含む標的相互作用ドメイン(TID)であって、標的細胞上の表面分子と相互作用するTIDとを含むスイッチ。

【請求項2】

a. 前記CAR-IDが、前記TIDに結合しているか、あるいは

b. 前記CAR-IDが、前記非天然アミノ酸を介して前記TIDに結合しているか、あるいは

c. 前記CAR-IDが、前記TIDの前記非天然アミノ酸に部位特異的に結合しているか、あるいは

d. リンカーをさらに含み、

(i) 前記リンカーが、好ましくは、前記CAR-IDを前記TIDに結合させているか、または

(ii) 前記リンカーが、好ましくは、前記非天然アミノ酸を介して前記CAR-IDを前記TIDに結合させているか、または

(iii) 前記リンカーが、好ましくは、前記CAR-IDを前記TIDの前記非天然アミノ酸に部位特異的に結合させているか、または

(iv) 前記リンカーが、好ましくは、1つまたは複数の末端に、アミノオキシ基、アジド基、シクロオクチン基、またはこれらの組合せを含むか、あるいは

e. 前記CAR-IDが、低分子を含み、

(i) 前記低分子が、好ましくは、ハプテンであるか、または

(ii) 前記低分子が、好ましくは、フルオレセインイソチオシアネート(FITC)であり、前記TIDが、好ましくは、FITCのイソチオシアネートにコンジュゲートしているか、もしくは、好ましくは、FITCのイソチオシアネートにコンジュゲートしたリンカーをさらに含むか、または

(iii) 前記低分子が、好ましくは、ビオチンである、

請求項1に記載のスイッチ。

【請求項3】

a. 前記TIDが、抗体の少なくとも一部に基づくか、またはこれに由来するか、あるいは

b. 前記TIDが、単鎖可変断片(scFv)の少なくとも一部に基づくか、またはこれに由来するか、あるいは

c. 前記TIDが、抗CD19抗体の少なくとも一部に基づくか、またはこれに由来するか、あるいは

d. 前記TIDが、抗CD19抗体の単鎖可変ドメイン(scFv)の少なくとも一部に基づくか、またはこれに由来するか、あるいは

e. 前記TIDが、抗CD20、抗CD22、抗CD33、抗BMSA、抗CEA、抗CLL1、抗CS1、抗EGFR、および抗Her2からなる群から選択される抗体の少なくとも一部に基づくか、またはこれに由来するか、あるいは

f. 前記TIDが、抗CD20、抗CD22、抗CD33、抗BMSA、抗CEA、抗CLL1、抗CS1、抗EGFR、および抗Her2からなる群から選択される抗体の単鎖可変ドメイン(scFv)の少なくとも一部に基づくか、またはこれに由来し、

ここで、

(i) 前記非天然アミノ酸が、好ましくは、前記抗体の一部に挿入されており、前記TIDが前記抗体に基づくかまたはそれに由来するか、あるいは

(ii) 前記非天然アミノ酸が、好ましくは、前記抗体のアミノ酸と置き換わり、前記TIDが前記抗体に基づくかまたはそれに由来する、

請求項1に記載のスイッチ。

【請求項4】

キメラ抗原受容体-エフェクター細胞(CAR-EC)を活性化させるための複数のスイッチを含む組成物であって、前記複数のスイッチのうちの1つのスイッチが、(a)前記CAR-EC上のキメラ抗原受容体と相互作用するキメラ抗原受容体相互作用ドメイン(CAR-ID)と、(b)標的細胞上の表面分子と相互作用する標的相互作用ドメイン(TID)とを含み、前記スイッチの少なくとも約60%が、構造的に相同である組成物。

【請求項5】

前記スイッチの少なくとも約80%が、構造的に相同である、請求項4に記載の組成物。

【請求項6】

キメラ抗原受容体-エフェクター細胞(CAR-EC)を活性化させるための複数のスイッチを含む組成物であって、前記複数のスイッチのうちの1つのスイッチが、(a)前

記 C A R - E C 上のキメラ抗原受容体と相互作用するキメラ抗原受容体相互作用ドメイン ( C A R - I D ) と、 ( b ) ポリペプチドを含む標的相互作用ドメイン ( T I D ) とを含み、前記 C A R - I D が、前記スイッチの少なくとも 60 % において、前記 T I D 内の同じ所定の部位に結合している、組成物。

【請求項 7】

a . 前記 C A R - I D が、低分子を含み、前記低分子が、好ましくは、フルオレセインイソチオシアネート ( F I T C ) であるか、あるいは

b . 前記 T I D が、低分子を含み、前記低分子が、好ましくは、2 - [ 3 - ( 1 , 3 - デカルボキシプロピル ) ウレイド ] ペンタン二酸、葉酸、またはこれらの誘導体からなる群から選択されるか、あるいは

c . 前記複数のスイッチのうちの前記 1 つのスイッチが、リンカーをさらに含み、前記リンカーが、好ましくは、前記 C A R - I D を前記 T I D に結合させている、請求項 4 または 6 に記載の組成物。

【請求項 8】

a . 前記 C A R - I D が、前記スイッチの少なくとも約 80 % において、前記 T I D 内の同じ所定の部位に結合しているか、あるいは

b . 前記 T I D 内の前記所定の部位が、アミノ酸残基であり、前記アミノ酸残基が、好ましくは、非天然アミノ酸である、

請求項 6 に記載の組成物。

【請求項 9】

キメラ抗原受容体 - エフェクター細胞 ( C A R - E C ) を活性化させるためのスイッチ中間体であって、

a . 低分子を含むキメラ抗原受容体相互作用ドメイン ( C A R - I D ) であって、前記 C A R - E C 上のキメラ抗原受容体と相互作用する C A R - I D と、

b . 前記 C A R - I D に接続されたリンカーであって、前記 C A R - E C と相互作用する領域を含まず、標的細胞上の表面分子と相互作用する領域を含まないリンカーとを含むスイッチ中間体。

【請求項 10】

a . 前記リンカーが、シクロオクチンを含むか、あるいは

b . 前記リンカーが、 P E G - シクロオクチルリンカーであるか、あるいは

c . 前記リンカーが、トリアゾールを含み、前記トリアゾールが、好ましくは、 1 , 2 , 3 - トリアゾールまたは 1 , 2 , 4 - トリアゾールであるか、あるいは

d . 前記 C A R - I D が、フルオレセインイソチオシアネート ( F I T C ) を含む、請求項 9 に記載のスイッチ中間体。

【請求項 11】

キメラ抗原受容体 - エフェクター細胞 ( C A R - E C ) を活性化させるためのスイッチ中間体であって、

a . 非天然アミノ酸を含む標的相互作用ドメイン ( T I D ) であって、標的細胞上の表面分子と相互作用する T I D と、

b . 前記 T I D に接続されたリンカーであって、前記 C A R - E C と直接相互作用する領域を含まず、前記標的細胞と直接相互作用する領域を含まないリンカーとを含むスイッチ中間体。

【請求項 12】

a . 前記リンカーが、二官能性リンカーであるか、あるいは

b . 前記リンカーが、ヘテロ二官能性リンカーであるか、あるいは

c . 前記リンカーが、ポリエチレンギリコール ( P E G ) を含む、

請求項 9 または請求項 11 に記載のスイッチ中間体。

【請求項 13】

a . 前記リンカーが、一方の端部に、アジドを含むか、あるいは

b . 前記リンカーが、一方の端部に、アミノオキシを含むか、あるいは

- c . 前記リンカーが、アジド - P E G - アミノオキシリンカーであるか、あるいは  
d . 前記リンカーが、オキシムライゲーションを介して前記 T I D に結合しているか、  
あるいは  
e . 前記 T I D が、抗体または抗体断片に基づくか、またはこれに由来するか、あるいは  
は  
f . 前記 T I D が、1つまたは複数の非天然アミノ酸を含む、

請求項 1 1 に記載のスイッチ中間体。

【請求項 1 4】

( a ) キメラ抗原受容体相互作用ドメイン ( C A R - I D ) と、( b ) 標的相互作用ドメイン ( T I D ) とを含むスイッチを生成する方法であって、

a . 第 1 のリンカーを、前記 T I D にカップリングさせて、前記 T I D にコンジュゲートした前記第 1 のリンカーを含む第 1 のスイッチ中間体を生成するステップと、

b . 前記第 1 のスイッチ中間体を、前記 C A R - I D にカップリングし、これにより、前記スイッチを生成するステップと  
を含む方法。

【請求項 1 5】

第 2 のリンカーを、前記 C A R - I D にカップリングさせて、前記 C A R - I D にコンジュゲートした前記第 2 のリンカーを含む第 2 のスイッチ中間体を生成するステップをさらに含む、請求項 1 4 に記載の方法であって、

a . 前記第 1 のスイッチ中間体を、前記 C A R - I D にカップリングさせることができ、好ましくは、前記第 1 のスイッチ中間体を、前記第 2 のスイッチ中間体にカップリングさせることを含むか、あるいは

b . 前記第 1 のリンカーを、前記 T I D にカップリングさせることができ、好ましくは、オキシムライゲーションを含み、前記第 2 のリンカーが、好ましくは、シクロオクチニンを含み、前記第 1 のスイッチ中間体を、前記第 2 のスイッチ中間体にカップリングさせることができ、好ましくは、付加環化反応を含み、

( i ) 前記第 1 のリンカーが、好ましくは、アジドを含み、前記付加環化反応が、好ましくは、前記第 2 のリンカーの前記シクロオクチニンを、前記第 1 のリンカーの前記アジドと反応させることを含むか、または

( i i ) 前記付加環化反応が、好ましくは、[ 3 + 2 ] 付加環化反応を含む、  
方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 7】

本明細書では、疾患または状態を処置する方法であって、キメラ抗原受容体相互作用ドメイン ( C A R - I D ) および標的相互作用ドメイン ( T I D ) を含む第 1 のキメラ抗原エフェクター細胞 ( C A R - E C ) スイッチを、それを必要とする被験体に投与するステップを含む方法が開示される。方法はさらに、C A R - E C スイッチの C A R - I D に結合するキメラ抗原受容体 ( C A R ) を含むキメラ抗原受容体エフェクター細胞 ( C A R - E C ) を、被験体に投与するステップを含みうる。C A R - E C スイッチと C A R - E C は、同時に投与することができる。C A R - E C スイッチと C A R - E C は、逐次的に投与することができる。方法はさらに、第 2 の C A R - E C スイッチを投与するステップを含みうる。第 1 の C A R - E C スイッチは、第 1 の標的上の第 1 の表面分子に結合することができる、第 2 の C A R - E C スイッチは、第 2 の標的上の第 2 の表面分子に結合しうる。第 1 のスイッチと第 2 のスイッチは、同時に投与することができる。第 1 のス

イッチと第2のスイッチは、逐次的に投与することができる。第1の表面分子と第2の表面分子は、異なりうる。第1の表面分子と第2の表面分子は、同じでありうる。第1の標的と第2の標的は、異なりうる。第1の標的と第2の標的は、同じでありうる。第1の表面分子と第2の表面分子は、異なる標的上にありうる。第1の表面分子と第2の表面分子は、同じ標的でありうる。第1のCAR-ECスイッチと第2のCAR-ECスイッチは、CAR-EC上の同じキメラ抗原受容体(CAR)に結合しうる。方法はさらに、1つまたは複数のさらなるCAR-ECを投与するステップを含みうる。CAR-ECは、同じでありうる。CAR-ECは、異なりうる。CAR-ECは、T細胞、エフェクターB細胞、ナチュラルキラー細胞、マクロファージ、およびこれらの前駆体から選択することができる。CAR-ECは、T細胞でありうる。T細胞は、ナイーブT細胞、メモリーT幹細胞、セントラルメモリーT細胞、エフェクターメモリーT細胞、ヘルパーT細胞、CD4+T細胞、CD8+T細胞、CD8/CD4+T細胞、T細胞、T細胞、細胞傷害性T細胞、ナチュラルキラーティ細胞、ナチュラルキラー細胞、マクロファージから選択することができる。CAR-ECのCARは、抗体またはその断片を含みうる。抗体は、抗FITC抗体またはその断片を含みうる。その断片は、scFvでありうる。CAR-ECのCARは、配列番号1～4から選択される、1つまたは複数のポリヌクレオチドによりコードされうる。CARは、配列番号1～4から選択される、1つまたは複数のポリヌクレオチドと少なくとも約70%同一なポリヌクレオチドによりコードされうる。状態は、がんでありうる。がんは、再発性がん、難治性がん、神経膠芽細胞腫、卵巣がん、前立腺がん、ホルモン不応性前立腺がん、および乳がんから選択することができる。がんは、液性腫瘍または固形腫瘍から選択される腫瘍を含みうる。がんは、異種腫瘍(heterogeneous tumor)を含みうる。がんは、血液悪性腫瘍でありうる。血液悪性腫瘍は、急性リンパ芽球性白血病、B細胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、B細胞前リンパ性白血病、びまん性大細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、および多発性骨髄腫から選択することができる。血液悪性腫瘍は、B細胞悪性腫瘍でありうる。血液悪性腫瘍は、CD19陽性血液悪性腫瘍でありうる。状態は、感染症でありうる。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目1)

キメラ抗原受容体-エフェクター細胞(CAR-EC)を活性化するためのスイッチであって、

a. 前記CAR-EC上のキメラ抗原受容体と相互作用するキメラ抗原受容体相互作用ドメイン(CAR-ID)と、

b. 非天然アミノ酸を含む標的相互作用ドメイン(TID)であって、標的細胞上の表面分子と相互作用するTIDと

を含むスイッチ。

(項目2)

前記CAR-IDが、前記TIDに結合している、項目1に記載のスイッチ。

(項目3)

前記CAR-IDが、前記非天然アミノ酸を介して前記TIDに結合している、項目1に記載のスイッチ。

(項目4)

前記CAR-IDが、前記TIDの前記非天然アミノ酸に部位特異的に結合している、項目1に記載のスイッチ。

(項目5)

リンカーをさらに含む、項目1に記載のスイッチ。

(項目6)

前記リンカーが、前記CAR-IDを前記TIDに結合させている、項目5に記載のスイッチ。

(項目7)

前記リンカーが、前記非天然アミノ酸を介して前記CAR-IDを前記TIDに結合さ

せている、項目 5 に記載のスイッチ。

(項目 8)

前記リンカーが、前記 C A R - I D を前記 T I D の前記非天然アミノ酸に部位特異的に結合させている、項目 5 に記載のスイッチ。

(項目 9)

前記リンカーが、1つまたは複数の末端に、アミノオキシ基、アジド基、シクロオクチン基、またはこれらの組合せを含む、項目 5 に記載のスイッチ。

(項目 10)

前記 C A R - I D が、低分子を含む、項目 1 に記載のスイッチ。

(項目 11)

前記低分子が、ハプテンである、項目 10 に記載のスイッチ。

(項目 12)

前記低分子が、フルオレセインイソチオシアネート ( F I T C ) である、項目 10 に記載のスイッチ。

(項目 13)

前記 T I D が、F I T C のイソチオシアネートにコンジュゲートしている、項目 12 に記載のスイッチ。

(項目 14)

F I T C のイソチオシアネートにコンジュゲートしたリンカーをさらに含む、項目 12 に記載のスイッチ。

(項目 15)

前記低分子が、ビオチンである、項目 10 に記載のスイッチ。

(項目 16)

前記 T I D が、抗体の少なくとも一部に基づくか、またはこれに由来する、項目 1 に記載のスイッチ。

(項目 17)

前記 T I D が、単鎖可変断片 ( s c F v ) の少なくとも一部に基づくか、またはこれに由来する、項目 1 に記載のスイッチ。

(項目 18)

前記 T I D が、抗 C D 1 9 抗体の少なくとも一部に基づくか、またはこれに由来する、項目 1 に記載のスイッチ。

(項目 19)

前記 T I D が、抗 C D 1 9 抗体の単鎖可変ドメイン ( s c F v ) の少なくとも一部に基づくか、またはこれに由来する、項目 1 に記載のスイッチ。

(項目 20)

前記 T I D が、抗 C D 2 0 、抗 C D 2 2 、抗 C D 3 3 、抗 B M S A 、抗 C E A 、抗 C L L 1 、抗 C S 1 、抗 E G F R 、および抗 H e r 2 からなる群から選択される抗体の少なくとも一部に基づくか、またはこれに由来する、項目 1 に記載のスイッチ。

(項目 21)

前記 T I D が、抗 C D 2 0 、抗 C D 2 2 、抗 C D 3 3 、抗 B M S A 、抗 C E A 、抗 C L L 1 、抗 C S 1 、抗 E G F R 、および抗 H e r 2 からなる群から選択される抗体の単鎖可変ドメイン ( s c F v ) の少なくとも一部に基づくか、またはこれに由来する、項目 1 に記載のスイッチ。

(項目 22)

前記非天然アミノ酸が、前記抗体の一部に挿入されており、前記 T I D が前記抗体に基づくかまたはそれに由来する、項目 16 に記載のスイッチ。

(項目 23)

前記非天然アミノ酸が、前記抗体のアミノ酸と置き換わり、前記 T I D が前記抗体に基づくかまたはそれに由来する、項目 16 に記載のスイッチ。

(項目 24)

キメラ抗原受容体 - エフェクター細胞 ( C A R - E C ) を活性化させるための複数のスイッチを含む組成物であって、前記複数のスイッチのうちの 1 つのスイッチが、( a ) 前記 C A R - E C 上のキメラ抗原受容体と相互作用するキメラ抗原受容体相互作用ドメイン ( C A R - I D ) と、( b ) 標的細胞上の表面分子と相互作用する標的相互作用ドメイン ( T I D ) とを含み、前記スイッチの少なくとも約 60 % が、構造的に相同である組成物。

( 項目 25 )

前記スイッチの少なくとも約 80 % が、構造的に相同である、項目 24 に記載の組成物。

( 項目 26 )

キメラ抗原受容体 - エフェクター細胞 ( C A R - E C ) を活性化させるための複数のスイッチを含む組成物であって、前記複数のスイッチのうちの 1 つのスイッチが、( a ) 前記 C A R - E C 上のキメラ抗原受容体と相互作用するキメラ抗原受容体相互作用ドメイン ( C A R - I D ) と、( b ) ポリペプチドを含む標的相互作用ドメイン ( T I D ) とを含み、前記 C A R - I D が、前記スイッチの少なくとも 60 % において、前記 T I D 内の同じ所定の部位に結合している、組成物。

( 項目 27 )

前記 C A R - I D が、前記スイッチの少なくとも約 80 % において、前記 T I D 内の同じ所定の部位に結合している、項目 26 に記載の組成物。

( 項目 28 )

前記 C A R - I D が、低分子を含む、項目 24 または 26 に記載の組成物。

( 項目 29 )

前記低分子が、フルオレセインイソチオシアネート ( F I T C ) である、項目 28 に記載の組成物。

( 項目 30 )

前記 T I D が、低分子を含む、項目 24 または 26 に記載の組成物。

( 項目 31 )

前記低分子が、2 - [ 3 - ( 1 , 3 - ジカルボキシプロピル ) ウレイド ] ペンタン二酸、葉酸、またはこれらの誘導体からなる群から選択される、項目 30 に記載の組成物。

( 項目 32 )

前記複数のスイッチのうちの前記 1 つのスイッチが、リンカーをさらに含む、項目 24 または 26 に記載の組成物。

( 項目 33 )

前記リンカーが、前記 C A R - I D を前記 T I D に結合させている、項目 32 に記載の組成物。

( 項目 34 )

前記 T I D 内の前記所定の部位が、アミノ酸残基である、項目 26 に記載の組成物。

( 項目 35 )

前記アミノ酸残基が、非天然アミノ酸である、項目 34 に記載の組成物。

( 項目 36 )

キメラ抗原受容体 - エフェクター細胞 ( C A R - E C ) を活性化させるためのスイッチ中間体であって、

a . 低分子を含むキメラ抗原受容体相互作用ドメイン ( C A R - I D ) であって、前記 C A R - E C 上のキメラ抗原受容体と相互作用する C A R - I D と、

b . 前記 C A R - I D に接続されたリンカーであって、前記 C A R - E C と相互作用する領域を含まず、標的細胞上の表面分子と相互作用する領域を含まないリンカーとを含むスイッチ中間体。

( 項目 37 )

前記リンカーが、シクロオクチンを含む、項目 36 に記載のスイッチ中間体。

( 項目 38 )

前記リンカーが、PEG-シクロオクチルリンクマーである、項目36に記載のスイッチ中間体。

(項目39)

前記リンカーが、トリアゾールを含む、項目36に記載のスイッチ中間体。

(項目40)

前記トリアゾールが、1,2,3-トリアゾールまたは1,2,4-トリアゾールである、項目39に記載のスイッチ中間体。

(項目41)

前記CAR-IDが、フルオレセインイソチオシアネート( FITC )を含む、項目36に記載のスイッチ中間体。

(項目42)

キメラ抗原受容体-エフェクター細胞(CAR-EC)を活性化させるためのスイッチ中間体であって、

a. 非天然アミノ酸を含む標的相互作用ドメイン(TID)であって、標的細胞上の表面分子と相互作用するTIDと、

b. 前記TIDに接続されたリンカーであって、前記CAR-ECと直接相互作用する領域を含まず、前記標的細胞と直接相互作用する領域を含まないリンカーとを含むスイッチ中間体。

(項目43)

前記リンカーが、二官能性リンカーである、項目36または項目42に記載のスイッチ中間体。

(項目44)

前記リンカーが、ヘテロ二官能性リンカーである、項目36または項目42に記載のスイッチ中間体。

(項目45)

前記リンカーが、ポリエチレングリコール(PEG)を含む、項目36または項目42に記載のスイッチ中間体。

(項目46)

前記リンカーが、一方の端部に、アジドを含む、項目42に記載のスイッチ中間体。

(項目47)

前記リンカーが、一方の端部に、アミノオキシを含む、項目42に記載のスイッチ中間体。

(項目48)

前記リンカーが、アジド-PEG-アミノオキシリリンマーである、項目42に記載のスイッチ中間体。

(項目49)

前記リンマーが、オキシムライゲーションを介して前記TIDに結合している、項目42に記載のスイッチ中間体。

(項目50)

前記TIDが、抗体または抗体断片に基づくか、またはこれに由来する、項目42に記載のスイッチ中間体。

(項目51)

前記TIDが、1つまたは複数の非天然アミノ酸を含む、項目42に記載のスイッチ中間体。

(項目52)

(a) キメラ抗原受容体相互作用ドメイン(CAR-ID)と、(b) 標的相互作用ドメイン(TID)とを含むスイッチを生成する方法であって、

a. 第1のリンマーを、前記TIDにカップリングさせて、前記TIDにコンジュゲートした前記第1のリンマーを含む第1のスイッチ中間体を生成するステップと、

b. 前記第1のスイッチ中間体を、前記CAR-IDにカップリングし、これにより、

前記スイッチを生成するステップと  
を含む方法。

(項目 5 3 )

第 2 のリンカーを、前記 C A R - I D にカップリングさせて、前記 C A R - I D にコン  
ジュゲートした前記第 2 のリンカーを含む第 2 のスイッチ中間体を生成するステップをさ  
らに含む、項目 5 2 に記載の方法。

(項目 5 4 )

前記第 1 のスイッチ中間体を、前記 C A R - I D にカップリングさせることが、前記第  
1 のスイッチ中間体を、前記第 2 のスイッチ中間体にカップリングさせることを含む、項  
目 5 3 に記載の方法。

(項目 5 5 )

前記第 1 のリンカーを、前記 T I D にカップリングさせることが、オキシムライゲーシ  
ョンを含む、項目 5 3 に記載の方法。

(項目 5 6 )

前記第 2 のリンカーが、シクロオクチンを含む、項目 5 5 に記載の方法。

(項目 5 7 )

前記第 1 のスイッチ中間体を、前記第 2 のスイッチ中間体にカップリングさせることが  
、付加環化反応を含む、項目 5 6 に記載の方法。

(項目 5 8 )

前記第 1 のリンカーが、アジドを含む、項目 5 7 に記載の方法。

(項目 5 9 )

前記付加環化反応が、前記第 2 のリンカーの前記シクロオクチンを、前記第 1 のリンカ  
ーの前記アジドと反応させることを含む、項目 5 8 に記載の方法。

(項目 6 0 )

前記付加環化反応が、[ 3 + 2 ] 付加環化反応を含む、項目 5 7 に記載の方法。