

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-527689

(P2021-527689A)

(43) 公表日 令和3年10月14日(2021.10.14)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 14/715 (2006.01)	C07K 14/715	4B065
C07K 19/00 (2006.01)	C07K 19/00 ZNA	4C084
C12N 15/24 (2006.01)	C12N 15/24	4C085
C12N 15/63 (2006.01)	C12N 15/63 Z	4C086
C12N 15/861 (2006.01)	C12N 15/861 Z	4C087

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 116 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2020-570911 (P2020-570911)
 (86) (22) 出願日 令和1年6月21日 (2019.6.21)
 (85) 翻訳文提出日 令和3年1月26日 (2021.1.26)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2019/038547
 (87) 国際公開番号 WO2019/246563
 (87) 国際公開日 令和1年12月26日 (2019.12.26)
 (31) 優先権主張番号 62/688,810
 (32) 優先日 平成30年6月22日 (2018.6.22)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 514266932
 カイト ファーマ インコーポレイテッド
 Kite Pharma, Inc
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 90
 404 サンタモニカ ブロードウェイ
 2400
 (74) 代理人 110000796
 特許業務法人三枝国際特許事務所
 (72) 発明者 エムテージ ピーター
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 90
 404 サンタモニカ ブロードウェイ
 2400 シー/オー カイト ファーマ
 インコーポレイテッド

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 キメラ膜貫通タンパク質及びその使用

(57) 【要約】

1つ以上の修飾を有するインターロイキン - 7 受容体の鎖の膜貫通ドメインを含むキメラ膜貫通タンパク質が本明細書で提供される。これらのキメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸、並びにこれらの核酸を含有する哺乳動物細胞、並びにこれらの哺乳動物細胞を作製及び使用する方法も本明細書で提供される。

【選択図】 図 1

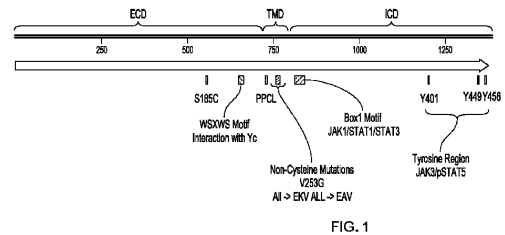


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

1つ以上の修飾を有するインターロイキン - 7 受容体の 鎖の膜貫通ドメインを含むタンパク質であって、前記1つ以上の修飾を有する膜貫通ドメインが配列番号2、4、6又は8の配列を有する、タンパク質。

【請求項 2】

インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞内ドメインを更に含む、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項 3】

前記細胞内ドメインが配列番号45の配列を含む、請求項2に記載のタンパク質。

10

【請求項 4】

インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞外ドメインを更に含む、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項 5】

前記細胞外ドメインが配列番号11の配列を含む、請求項4に記載のタンパク質。

【請求項 6】

細胞外インターロイキン - 15 ドメインと、
インターロイキン - 15 受容体の 鎖に由来する細胞外 s u s h i ドメインと、
を更に含む、請求項1に記載のタンパク質。

【請求項 7】

前記細胞外インターロイキン - 15 ドメインが配列番号22又は配列番号24の配列を含む、請求項6に記載のタンパク質。

20

【請求項 8】

前記インターロイキン - 15 受容体の 鎖の細胞外 s u s h i ドメインが配列番号36又は配列番号37を含む、請求項6に記載のタンパク質。

【請求項 9】

請求項1に記載のタンパク質をコードする核酸。

【請求項 10】

請求項9に記載の核酸を含むベクター。

【請求項 11】

前記核酸に操作可能に連結したプロモーター、及び任意に、前記核酸に操作可能に連結したエンハンサー配列を更に含む、請求項10に記載のベクター。

30

【請求項 12】

腫瘍抗原に特異的に結合するキメラ抗原受容体をコードする配列を更に含む、請求項10に記載のベクター。

【請求項 13】

前記腫瘍抗原がグリピカン - 3、BCMA、MAGE、MUC16、CD19、WT - 1、CD22、LI - CAM、ROR - 1、CEA、4 - 1BB、ETA、5T4、腺癌抗原、
 - フェトプロテイン (AFP)、BAFF、Bリンパ腫細胞、C242抗原、CA - 125、炭酸脱水酵素9 (CA - IX)、C - MET、CCR4、CD152、CD20、CD125、CD200、CD221、CD23 (IgE受容体)、CD28、CD30 (TNFRSF8)、CD33、CD4、CD40、CD44 v6、CD51、CD52、CD56、CD74、CD80、CEA、CNT0888、CTLA - 4、DR5、EGFR、EpCAM、CD3、FAP、フィブロネクチンエクストラドメイン - B、葉酸受容体1、GD2、GD3ガングリオシド、糖タンパク質75、GPNMB、HER2/neu、HGF、ヒト散乱因子受容体キナーゼ、IGF - 1受容体、IGF - I、IgG1、IL - 13、IL - 6、インスリン様成長因子I受容体、インテグリン 51、インテグリン 3、MORAb - 009、MS4A1、MUC1、ムチンCanAg、N - グリコシルノイラミン酸、NPC - 1C、PDGF - R a、PDL192、ホスファチジルセリン、前立腺癌細胞、RANKL、RON、SCH 900105、

40

50

S D C 1、S L A M F 7、T A G - 7 2、テネイシン C、T G F 2、T G F - 、T R A I L - R 1、T R A I L - R 2、腫瘍抗原 C T A A 1 6 . 8 8、V E G F - A、V E G F R - 1、V E G F R 2 及びビメンチンからなる群から選択される、請求項 1 2 に記載のベクター。

【請求項 1 4】

前記キメラ抗原受容体が 4 - 1 B B、C D 2 7、O X 4 0、C D 4 0、C D 2 8、G I T R、C D 2、C D 5、I C A M - 1、C D 1 1 a、L c k、T N F R - I、T N F R - I I、F a s R、C D 3 0、I C O S、L I G H T、N K G 2 C、B 7 - H 3、D A P - 1 0 及び D A P - 1 2 からなる群から選択される 1 つ以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含む、請求項 1 0 に記載のベクター。

10

【請求項 1 5】

レンチウイルスベクター又はアデノウイルスベクターである、請求項 1 0 に記載のベクター。

【請求項 1 6】

請求項 1 0 に記載のベクターを含む哺乳動物細胞。

【請求項 1 7】

免疫細胞である、請求項 1 6 に記載の哺乳動物細胞。

【請求項 1 8】

前記免疫細胞が C D 4 + T 細胞、C D 8 + T 細胞、B 細胞、単球、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、マクロファージ、制御性 T 細胞及びヘルパー T 細胞からなる群から選択される、請求項 1 7 に記載の哺乳動物細胞。

20

【請求項 1 9】

請求項 1 0 に記載のベクターと薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物。

【請求項 2 0】

請求項 1 6 に記載の哺乳動物細胞を含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

[関連出願の相互参照]

本出願は、2 0 1 8 年 6 月 2 2 日付で出願された米国仮特許出願第 6 2 / 6 8 8 , 8 1 0 号に対する優先権を主張するものであり、その開示全体が引用することにより本明細書の一部をなす。

30

【0 0 0 2】

[配列表]

本出願は、A S C I I フォーマットで電子的に提出された配列表を含み、その全体が引用することにより本明細書の一部をなす。2 0 1 9 年 6 月 2 1 日付けで作成された上記 A S C I I コピーの名前は C D L - 7 0 0 _ P F - 4 3 1 5 9 - 0 0 7 2 W O 1 _ S L . t x t であり、1 7 6 3 1 7 バイトのサイズである。

【0 0 0 3】

本開示は、バイオテクノロジーの分野に関し、より具体的にはキメラ膜貫通タンパク質及びその使用に関する。

40

【背景技術】

【0 0 0 4】

インターロイキン - 7 (I L - 7) 受容体は、ナイーブ T 細胞及び記憶 T 細胞を含む様々な細胞型の細胞表面上に発現される (一時的又は恒久的)。I L - 7 受容体は、I L - 7 に結合すると、ヤヌスキナーゼ J A K 1 及び J A K 3 の活性化によりシグナルを細胞内に伝達する (非特許文献 1)。

【0 0 0 5】

第二世代キメラ抗原受容体 (C A R) T 細胞において二次増殖シグナルを生成するために多くの改善が行われているが (キメラ抗原受容体に C D 2 8 及び 4 - 1 B B 等の共刺激

50

シグナル伝達ドメインを組み込むことによる)、このシグナルは抗原依存性のままであり、腫瘍関連抗原レベルが低い固形腫瘍において十分な共刺激活性を有しないことが多い。

【0006】

CAR T細胞において十分な共刺激活性を得るための別の試みでは、共通 (c) 鎖受容体ファミリーに属するサイトカインの同時投与が用いられている。しかしながら、IL-2等の組み換え増殖促進性サイトカインの長時間の使用は、重大な副作用を伴うことが多く、投与期間及び投与量が制限される。上記の点を考慮すると、CAR T細胞に共刺激シグナルを与える、改善された代替方法が所望される。

【先行技術文献】

【非特許文献】

10

【0007】

【非特許文献1】Palmer et al., Cell. Mol. Immunol. 5(2):79-89, 2008

【発明の概要】

【0008】

本開示は、以下の修飾：(i)配列番号1のアミノ酸位置15～17のアラニン-ロイシン-ロイシンがグルタミン酸-リシン-バリン又はグルタミン酸-リシン-アラニンに置き換えられた修飾、(ii)システイン-プロリン-トレオニンが配列番号1のアミノ酸位置5及び6の間に挿入された修飾、並びに(iii)プロリン-プロリン-システイン-ロイシンが配列番号1のアミノ酸位置4及び5の間に挿入された修飾の1つ以上(例えば、2つ、3つ又は4つ)を有するPILLTISILSFFSVALLVILACVLLW(配列番号1)の配列を含むインターロイキン-7受容体の鎖の膜貫通ドメインを含むタンパク質が、インターロイキン-7受容体の鎖の野生型膜貫通ドメインを含む対応するタンパク質又は配列番号1の配列を含む対応するタンパク質と比較して下流シグナル伝達の増大を示すという発見に少なくとも一部基づく。代表的な修飾膜貫通ドメインは、配列番号2、4、6又は8の配列を有する。

20

【0009】

また、本開示は、細胞外インターロイキン-15ドメインと、インターロイキン-15受容体の鎖に由来する細胞外sushidドメインと、インターロイキン-7受容体の鎖に由来する膜貫通ドメインとを含むキメラ膜貫通タンパク質が、キメラ抗原受容体(CAR)T細胞の抗原非依存性共刺激をもたらすという発見に少なくとも一部基づく。

30

【0010】

この発見を考慮すると、細胞外IL-15ドメインと、インターロイキン-15受容体の鎖に由来する細胞外sushidドメインと、インターロイキン-7受容体の鎖の膜貫通ドメインとを含むキメラ膜貫通タンパク質が本明細書で提供される。以下の修飾：(i)配列番号1のアミノ酸位置15～17のアラニン-ロイシン-ロイシンがグルタミン酸-リシン-バリン又はグルタミン酸-リシン-アラニンに置き換えられた修飾、(ii)システイン-プロリン-トレオニンが配列番号1のアミノ酸位置5及び6の間に挿入された修飾、並びに(iii)プロリン-プロリン-システイン-ロイシンが配列番号1のアミノ酸位置4及び5の間に挿入された修飾の1つ以上(例えば、2つ、3つ又は4つ)を有するPILLTISILSFFSVALLVILACVLLW(配列番号1)の配列を含むインターロイキン-7受容体の鎖の膜貫通ドメインを含むタンパク質も提供される。代表的な修飾膜貫通ドメインは、配列番号2、4、6又は8の配列を有する。

40

【0011】

これらのキメラ膜貫通タンパク質又はこれらのタンパク質をコードする核酸、これらの核酸のいずれかを含むベクター、及びこれらの核酸又はベクターのいずれかを含む哺乳動物細胞も提供される。本明細書に記載される哺乳動物細胞のいずれかを被験体に投与することを含む、癌の治療を必要とする被験体において癌を治療する方法、癌細胞における細胞死(例えば、アポトーシス及び/又は壊死)を誘導する方法、及び転移又は付加的な転移を起こすリスクを低下させる方法も本明細書で提供される。

【0012】

50

幾つかの実施の形態では、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の膜貫通ドメインを含むタンパク質であって、膜貫通ドメインが、以下の修飾：(i) 配列番号 1 のアミノ酸位置 15 ~ 17 のアラニン - ロイシン - ロイシンがグルタミン酸 - リシン - バリン又はグルタミン酸 - リシン - アラニンに置き換えられた修飾、(i i) システイン - プロリン - トレオニンが配列番号 1 のアミノ酸位置 5 及び 6 の間に挿入された修飾、並びに (i i i) プロリン - プロリン - システイン - ロイシンが配列番号 1 のアミノ酸位置 4 及び 5 の間に挿入された修飾の 1 つ以上を有する P I L L T I S I L S F F S V A L L V I L A C V L W (配列番号 1) の配列を含む、タンパク質が本明細書で提供される。代表的な修飾膜貫通ドメインは、配列番号 2、4、6 又は 8 の配列を有する。

【 0 0 1 3 】

幾つかの実施の形態では、タンパク質は、インターロイキン - 7 受容体の 鎖 (例えば、限定されるものではないが、インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト 鎖等のインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖) の細胞内ドメインを更に含む。幾つかの実施の形態では、タンパク質は、配列番号 45 の配列、又はインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞内ドメインの配列 (例えば、インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト 鎖、例えば配列番号 45) と少なくとも 80 % 同一の配列を含む細胞内ドメインを更に含む。幾つかの実施の形態では、細胞内ドメインは、配列番号 45 と少なくとも 90 % 又は 95 % 同一である。幾つかの実施の形態では、タンパク質は、(i) インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞内ドメインの配列 (例えば、インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト 鎖、例えば配列番号 45) の N 末端からの 1 個 ~ 10 個のアミノ酸の欠失、及び (i i) インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞内ドメインの配列 (例えば、インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト 鎖、例えば配列番号 45) の C 末端からの 1 個 ~ 10 個のアミノ酸の欠失の一方又は両方を有するインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞内ドメインを更に含む。

【 0 0 1 4 】

幾つかの実施の形態では、タンパク質は、インターロイキン - 7 受容体の 鎖 (例えば、限定されるものではないが、インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト 鎖等のインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖) の細胞外ドメインを更に含む。幾つかの実施の形態では、タンパク質は、配列番号 11 の配列、又はインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞外ドメインの配列 (例えば、インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト 鎖、例えば配列番号 11) と少なくとも 80 % 同一の配列を含む細胞外ドメインを更に含む。幾つかの実施の形態では、細胞外ドメインは、配列番号 11 と少なくとも 90 % 又は 95 % 同一である。幾つかの実施の形態では、タンパク質は、(i) インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞外ドメインの配列 (例えば、インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト 鎖、例えば配列番号 11) の N 末端からの 1 個 ~ 10 個のアミノ酸の欠失、及び (i i) インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞外ドメインの配列 (例えば、インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト 鎖、例えば配列番号 11) の C 末端からの 1 個 ~ 10 個のアミノ酸の欠失の一方又は両方を有するインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞外ドメインを更に含む。

【 0 0 1 5 】

本明細書に記載される様々なタンパク質のいずれかをコードする核酸も本明細書で提供される。本明細書に記載される様々なタンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含むベクターも本明細書で提供される。幾つかの実施の形態では、本明細書に記載される様々なタンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含むベクターは、核酸に操作可能に連結したプロモーター、及び任意に、核酸に操作可能に連結したエンハンサー配列を含む。幾つかの実施の形態では、本明細書に記載される様々なタンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含むベクターは、核酸に操作可能に連結したポリ (A) 配列を含む。幾つかの実施の形態では、本明細書に記載される様々なタンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含むベクターは、レンチウイルスベクター又はアデノウイルスベクターである。

10

20

30

40

50

【0016】

幾つかの実施の形態では、本明細書に記載される様々なタンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含むベクターは、キメラ抗原受容体をコードする配列を含む。幾つかの実施の形態では、キメラ抗原受容体は、腫瘍抗原に特異的に結合する（例えば、腫瘍抗原は、グリピカン - 3、BCMA、MAGE、MUC16、CD19、WT-1、CD22、LI-CAM、ROR-1、CEA、4-1BB、ETA、5T4、腺癌抗原、
 - フェトプロテイン (AFP)、BAFF、Bリンパ腫細胞、C242抗原、CA-125、炭酸脱水酵素9 (CA-IX)、C-MET、CCR4、CD152、CD20、CD125、CD200、CD221、CD23 (IgE受容体)、CD28、CD30 (TNFRSF8)、CD33、CD4、CD40、CD44 v6、CD51、CD52
 10、CD56、CD74、CD80、CEA、CNT0888、CTLA-4、DR5、EGFR、EpCAM、CD3、FAP、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、葉酸受容体1、GD2、GD3ガングリオシド、糖タンパク質75、GPNMB、HER2/neu、HGF、ヒト散乱因子受容体キナーゼ (human scatter factor receptor kinase)、IGF-1受容体、IGF-I、IgG1、IL-13、IL-6、インスリン様成長因子I受容体、インテグリン 5 1、インテグリン 3、MORAb-009、MS4A1、MUC1、ムチンCanAg、N-グリコシルノイラミン酸、NPC-1C、PDGF-R a、PDL192、ホスファチジルセリン、前立腺癌細胞、RANKL、RON、SCH 900105、SDC1、SLAMF7、TAG-72、テネイシンC、TGF 2、TGF-、TRAIL-R1、TRAIL-R2、腫瘍抗原CTAA
 20 16.88、VEGF-A、VEGFR-1、VEGFR2及びビメンチンからなる群から選択される)。幾つかの実施の形態では、キメラ抗原受容体は、4-1BB、CD27、OX40、CD40、CD28、GITR、CD2、CD5、ICAM-1、CD11a、Lck、TNFR-I、TNFR-II、FasR、CD30、ICOS、LIGHT、NKG2C、B7-H3、DAP-10及びDAP-12からなる群から選択される1つ以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含む。

10

20

【0017】

本明細書に記載される様々なタンパク質のいずれかをコードする様々な核酸のいずれか、又は本明細書に記載される、かかる核酸を含むベクターを含む哺乳動物細胞も本明細書で提供される。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞は免疫細胞である。幾つかの実施
 30の形態では、免疫細胞は、CD4+T細胞、CD8+T細胞、B細胞、単球、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、マクロファージ、制御性T細胞及びヘルパーT細胞からなる群から選択される。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞は、以前に被験体から得られたものであるか、又は以前に被験体から得られた哺乳動物細胞の娘細胞である。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞はヒト細胞である。

30

【0018】

本明細書に記載される様々なタンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含む様々なベクターのいずれかと、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物も本明細書で提供される。本明細書に記載される様々なタンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含むベクターを含む様々な哺乳動物細胞のいずれかを含む医薬組成物も本明細書で
 40提供される。

40

【0019】

本明細書に記載される様々なタンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含む第1のベクターと、キメラ抗原受容体をコードする配列を含む第2のベクターとを含むベクターのセットも本明細書で提供される。かかるベクターのセットの幾つかの実施の形態では、キメラ抗原受容体は、腫瘍抗原に特異的に結合する（例えば、腫瘍抗原は、グリピカン - 3、BCMA、MAGE、MUC16、CD19、WT-1、CD22、LI-CAM、ROR-1、CEA、4-1BB、ETA、5T4、腺癌抗原、
 - フェトプロテイン (AFP)、BAFF、Bリンパ腫細胞、C242抗原、CA-125、炭酸脱水酵素9 (CA-IX)、C-MET、CCR4、CD152、CD20、CD125、CD
 50

50

200、CD221、CD23 (I g E 受容体)、CD28、CD30 (T N F R S F 8)、CD33、CD4、CD40、CD44 v6、CD51、CD52、CD56、CD74、CD80、CEA、CNT0888、CTLA-4、DR5、EGFR、EPCAM、CD3、FAP、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、葉酸受容体1、GD2、GD3ガングリオシド、糖タンパク質75、GPNMB、HER2/neu、HGF、ヒト散乱因子受容体キナーゼ、IGF-1受容体、IGF-I、IgG1、IL-13、IL-6、インスリン様成長因子I受容体、インテグリン 5 1、インテグリン 3、MORAb-009、MS4A1、MUC1、ムチンCanAg、N-グリコリルノイラミン酸、NPC-1C、PDGF-R a、PDL192、ホスファチジルセリン、前立腺癌細胞、RANKL、RON、SCH 900105、SDC1、SLAMF7、TAG-72、テネニンC、TGF 2、TGF-、TRAIL-R1、TRAIL-R2、腫瘍抗原CTAA16.88、VEGF-A、VEGFR-1、VEGFR2及びビメンチンからなる群から選択される)。かかるベクターのセットの幾つかの実施の形態では、キメラ抗原受容体は、4-1BB、CD27、OX40、CD40、CD28、GITR、CD2、CD5、ICAM-1、CD11a、Lck、TNFR-I、TNFR-II、FasR、CD30、ICOS、LIGHT、NKG2C、B7-H3、DAP-10及びDAP-12からなる群から選択される1つ以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含む。かかるベクターのセットの幾つかの実施の形態では、第1のベクター及び第2のベクターの両方がレンチウイルスベクター又はアデノウイルスベクターである。本明細書で提供されるベクターのセットの幾つかの実施の形態では、第2のベクターは、キメラ抗原受容体をコードする配列に操作可能に連結したプロモーター、及び任意に、キメラ抗原受容体をコードする配列に操作可能に連結したエンハンサーを更に含む。かかるベクターのセットの幾つかの実施の形態では、第2のベクターは、キメラ抗原受容体をコードする配列に操作可能に連結したポリ(A)配列を更に含む。

10

20

30

40

50

【0020】

本明細書に記載される様々なタンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含有第1のベクターと、キメラ抗原受容体をコードする配列を含む第2のベクターとを含む、本明細書で提供される様々なベクターのセットのいずれかを含有哺乳動物細胞も本明細書で提供される。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞は免疫細胞である。幾つかの実施の形態では、免疫細胞は、CD4+T細胞、CD8+T細胞、B細胞、単球、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、マクロファージ、制御性T細胞及びヘルパーT細胞からなる群から選択される。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞は、以前に被験体から得られたものであるか、又は以前に被験体から得られた哺乳動物細胞の娘細胞である。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞はヒト細胞である。

【0021】

本明細書で提供される様々なベクターのセットのいずれか(例えば、本明細書に記載される様々なタンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含有第1のベクターと、キメラ抗原受容体をコードする配列を含む第2のベクターとを含むベクターのセット)と、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物も本明細書で提供される。かかるベクターのセットを含む様々な哺乳動物細胞のいずれかを含有医薬組成物も本明細書で提供される。

【0022】

細胞外インターロイキン-15ドメインと、インターロイキン-15受容体の鎖に由来する細胞外sushiドメインと、インターロイキン-7受容体の鎖に由来する膜貫通ドメインとを含むキメラ膜貫通タンパク質も本明細書で提供される。幾つかの実施の形態では、細胞外インターロイキン-15ドメインは、野生型インターロイキン-15タンパク質の配列を含む。幾つかの実施の形態では、野生型インターロイキン-15タンパク質は、野生型ヒトインターロイキン-15タンパク質(例えば、配列番号22又は配列番号24の配列を有する野生型ヒトインターロイキン-15タンパク質)である。幾つかの実施の形態では、細胞外インターロイキン-15ドメインは、野生型インターロイキン-

15タンパク質（例えば、限定されるものではないが、配列番号22又は配列番号24の配列を有する野生型インターロイキン-15タンパク質等の野生型インターロイキン-15タンパク質）の配列と少なくとも80%同一の配列を含む。幾つかの実施の形態では、細胞外インターロイキン-15ドメインは、野生型インターロイキン-15タンパク質（例えば、限定されるものではないが、配列番号22又は配列番号24の配列を有する野生型インターロイキン-15タンパク質等の野生型インターロイキン-15タンパク質）の配列と少なくとも95%同一の配列を含む。幾つかの実施の形態では、細胞外インターロイキン-15ドメインは、(i)野生型インターロイキン-15タンパク質（例えば、限定されるものではないが、配列番号22又は配列番号24の配列を有する野生型インターロイキン-15タンパク質等の野生型インターロイキン-15タンパク質）の配列のN末端からの1個~10個のアミノ酸の除去、及び(ii)野生型インターロイキン-15タンパク質（例えば、限定されるものではないが、配列番号22又は配列番号24の配列を有する野生型インターロイキン-15タンパク質等の野生型インターロイキン-15タンパク質）の配列のC末端からの1個~10個のアミノ酸の除去の一方又は両方を有する野生型インターロイキン-15タンパク質の配列である。

10

【0023】

幾つかの実施の形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、細胞外インターロイキン-15ドメインと細胞外sushidメインとの間に位置するリンカー配列を更に含む。幾つかの実施の形態では、リンカー配列は、約2アミノ酸~約50アミノ酸である。幾つかの実施の形態では、リンカー配列は、約4アミノ酸~約40アミノ酸である。幾つかの実施の形態では、リンカーは、自然発生アミノ酸配列である。幾つかの実施の形態では、リンカー配列は、自然発生アミノ酸配列ではない。幾つかの実施の形態では、リンカー配列は、配列番号92の配列を含む。幾つかの実施の形態では、リンカー配列は、配列番号92の配列からなる。

20

【0024】

幾つかの実施の形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、細胞外sushidメインと膜貫通ドメインとの間の付加的なリンカー配列を更に含む。幾つかの実施の形態では、付加的なリンカー配列は、約2アミノ酸~約50アミノ酸である。幾つかの実施の形態では、付加的なリンカー配列は、約4アミノ酸~約40アミノ酸である。幾つかの実施の形態では、付加的なリンカーは、自然発生アミノ酸配列である。幾つかの実施の形態では、付加的なリンカー配列は、自然発生アミノ酸配列ではない。

30

【0025】

細胞外sushidメインを有するキメラ膜貫通タンパク質の幾つかの実施の形態では、細胞外sushidメインは、インターロイキン-15受容体の野生型鎖に由来するsushidメインを含む。幾つかの実施の形態では、インターロイキン-15受容体の野生型鎖は、インターロイキン-15受容体の野生型ヒト鎖である。幾つかの実施の形態では、インターロイキン-15受容体の野生型ヒト鎖の細胞外sushidメインは、配列番号36又は配列番号37を含む。幾つかの実施の形態では、細胞外sushidメインは、インターロイキン-15受容体の野生型鎖の細胞外sushidメインの配列（例えば、限定されるものではないが、配列番号36又は配列番号37の配列を有するインターロイキン-15受容体の野生型ヒト鎖等のインターロイキン-15受容体の野生型ヒト鎖）と少なくとも80%同一である。幾つかの実施の形態では、細胞外sushidメインは、インターロイキン-15受容体の野生型鎖の細胞外sushidメインの配列（例えば、限定されるものではないが、配列番号36又は配列番号37の配列を有するインターロイキン-15受容体の野生型ヒト鎖等のインターロイ

40

50

キン - 15 受容体の野生型ヒト 鎖) の N 末端からの 1 個 ~ 5 個のアミノ酸の除去、及び (i i) インターロイキン - 15 受容体の野生型 鎖の細胞外 s u s h i ドメインの配列 (例えば、限定されるものではないが、配列番号 36 又は配列番号 37 の配列を有するインターロイキン - 15 受容体の野生型ヒト 鎖等のインターロイキン - 15 受容体の野生型ヒト 鎖) の C 末端からの 1 個 ~ 5 個のアミノ酸の除去の一方又は両方を有するインターロイキン - 15 受容体の野生型 鎖の細胞外 s u s h i ドメインの配列である。

【 0 0 2 6 】

インターロイキン - 7 受容体の 鎖に由来する膜貫通ドメインを有するキメラ膜貫通タンパク質の幾つかの実施の形態では、膜貫通ドメインは、インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖に由来する膜貫通ドメインを含む。幾つかの実施の形態では、インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖は、ヒトインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖である。幾つかの実施の形態では、ヒトインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメインは、P I L L T I S I L S F F S V A L L V I L A C V L W (配列番号 1) の配列を含む。幾つかの実施の形態では、ヒトインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメインは、以下の修飾：(i) 配列番号 1 のアミノ酸位置 15 ~ 17 のアラニン - ロイシン - ロイシンがグルタミン酸 - リシン - パリン又はグルタミン酸 - リシン - アラニンに置き換えられた修飾、(i i) システイン - プロリン - トレオニンが配列番号 1 のアミノ酸位置 5 及び 6 の間に挿入された修飾、並びに (i i i) プロリン - プロリン - システイン - ロイシンが配列番号 1 のアミノ酸位置 4 及び 5 の間に挿入された修飾の 1 つ以上を有する P I L L T I S I L S F F S V A L L V I L A C V L W (配列番号 1) の配列を含む。代表的な修飾膜貫通ドメインは、配列番号 2、4、6 又は 8 の配列を有する。幾つかの実施の形態では、膜貫通ドメインは、インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメインの配列 (例えば、限定されるものではないが、配列番号 1 の配列を有するヒトインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメイン等のインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメイン) と少なくとも 80 % 同一である。幾つかの実施の形態では、膜貫通ドメインは、インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメインの配列 (例えば、限定されるものではないが、配列番号 1 の配列を有するヒトインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメイン等のインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメイン) と少なくとも 95 % 同一である。幾つかの実施の形態では、膜貫通ドメインは、(i) インターロイキン - 2 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメインの配列 (例えば、限定されるものではないが、配列番号 1 の配列を有するヒトインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメイン等のインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメイン) の N 末端からの 1 個 ~ 3 個のアミノ酸の除去、及び (i i) インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメインの配列 (例えば、限定されるものではないが、配列番号 1 の配列を有するヒトインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメイン等のインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメイン) の C 末端からの 1 個 ~ 3 個のアミノ酸の除去の一方又は両方を有するインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の膜貫通ドメインの配列である。

【 0 0 2 7 】

本明細書で提供されるキメラ膜貫通タンパク質の幾つかの実施の形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞内ドメインを更に含む。幾つかの実施の形態では、インターロイキン - 7 受容体の 鎖は、インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖である。幾つかの実施の形態では、インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖は、インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト 鎖である。幾つかの実施の形態では、細胞内ドメインは、配列番号 45 の配列を含む。幾つかの実施の形態では、細胞内ドメインは、インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞内ドメインの配列 (例えば、インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト 鎖、例えば配列番号 45) と少なくとも 80 % 同一の配列を含む。幾つかの実施の形態では、細胞内ドメインは、配列番号 45 と少なくとも 90 % 又は 95 % 同一である。幾つかの実施の形態では、細胞内ドメインは、(i) インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞内ドメインの配列 (例えば、インターロ

10

20

30

40

50

イキン - 7 受容体の野生型ヒト鎖、例えば配列番号 45) の N 末端からの 1 個 ~ 10 個のアミノ酸の欠失、及び (i i) インターロイキン - 7 受容体の野生型鎖の細胞内ドメインの配列 (例えば、インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト鎖、例えば配列番号 45) の C 末端からの 1 個 ~ 10 個のアミノ酸の欠失の一方又は両方を有するインターロイキン - 7 受容体の野生型鎖の細胞内ドメインの配列である。

【 0 0 2 8 】

本明細書に記載される様々なキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする核酸も本明細書で提供される。本明細書に記載される様々なキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含まれるベクターも本明細書で提供される。幾つかの実施の形態では、本明細書に記載される様々なキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含まれるベクターは、核酸に操作可能に連結したプロモーター、及び任意に、核酸に操作可能に連結したエンハンサー配列を含む。幾つかの実施の形態では、本明細書に記載される様々なキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含まれるベクターは、核酸に操作可能に連結したポリ (A) 配列を含む。幾つかの実施の形態では、本明細書に記載される様々なキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含まれるベクターは、レンチウイルスベクター又はアデノウイルスベクターである。

10

【 0 0 2 9 】

幾つかの実施の形態では、本明細書に記載される様々なキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含まれるベクターは、キメラ抗原受容体をコードする配列を含む。幾つかの実施の形態では、キメラ抗原受容体は、腫瘍抗原に特異的に結合する (例えば、腫瘍抗原は、グリピカン - 3、BCMA、MAGE、MUC16、CD19、WT-1、CD22、LI-CAM、ROR-1、CEA、4-1BB、ETA、5T4、腺癌抗原、 - フェトプロテイン (AFP)、BAFF、Bリンパ腫細胞、C242抗原、CA-125、炭酸脱水酵素 9 (CA-IX)、C-MET、CCR4、CD152、CD20、CD125、CD200、CD221、CD23 (IgE 受容体)、CD28、CD30 (TNFRSF8)、CD33、CD4、CD40、CD44 v6、CD51、CD52、CD56、CD74、CD80、CEA、CNT0888、CTLA-4、DR5、EGFR、EpCAM、CD3、FAP、フィブロネクチンエクストラドメイン - B、葉酸受容体 1、GD2、GD3 ガングリオシド、糖タンパク質 75、GPNMB、HER2/neu、HGF、ヒト散乱因子受容体キナーゼ、IGF-1 受容体、IGF-1、IgG1、IL-13、IL-6、インスリン様成長因子 I 受容体、インテグリン 5 1、インテグリン 3、MORAb-009、MS4A1、MUC1、ムチン CanAg、N-グリコシルノイラミン酸、NPC-1C、PDGF-R a、PDL1 92、ホスファチジルセリン、前立腺癌細胞、RANKL、RON、SCH 900105、SDC1、SLAMF7、TAG-72、テネイシン C、TGF 2、TGF-、TRAIL-R1、TRAIL-R2、腫瘍抗原 CTA A16.88、VEGF-A、VEGFR-1、VEGFR2 及びピメンチンからなる群から選択される)。幾つかの実施の形態では、キメラ抗原受容体は、4-1BB、CD27、OX40、CD40、CD28、GITR、CD2、CD5、ICAM-1、CD11a、Lck、TNFR-I、TNFR-II、FasR、CD30、ICOS、LIGHT、NKG2C、B7-H3、DAP-10 及び DAP-12 からなる群から選択される 1 つ以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含む。

20

30

40

【 0 0 3 0 】

本明細書に記載される様々なキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする様々な核酸のいずれか、又は本明細書に記載される、かかる核酸を含むベクターを含む哺乳動物細胞も本明細書で提供される。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞は免疫細胞である。幾つかの実施の形態では、免疫細胞は、CD4 + T 細胞、CD8 + T 細胞、B 細胞、単球、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、マクロファージ、制御性 T 細胞及びヘルパー T 細胞からなる群から選択される。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞は、以前に被験体から得られたものであるか、又は以前に被験体から得られた哺乳動物細胞の娘細胞である。

50

幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞はヒト細胞である。

【0031】

本明細書に記載される様々なキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含む様々なベクターのいずれかと、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物も本明細書で提供される。本明細書に記載される様々なキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含むベクターを含む様々な哺乳動物細胞のいずれかを含む医薬組成物も本明細書で提供される。

【0032】

本明細書に記載される様々なキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含むベクターのいずれかである第1のベクターと、キメラ抗原受容体をコードする配列を含む第2のベクターとを含むベクターのセットも本明細書で提供される。かかるベクターのセットの幾つかの実施の形態では、キメラ抗原受容体は、腫瘍抗原に特異的に結合する(例えば、腫瘍抗原は、グリピカン-3、BCMA、MAGE、MUC16、CD19、WT-1、CD22、LI-CAM、ROR-1、CEA、4-1BB、ETA、5T4、腺癌抗原、 α -フェトプロテイン(AFP)、BAFF、Bリンパ腫細胞、CD242抗原、CA-125、炭酸脱水酵素9(CA-IX)、C-MET、CCR4、CD152、CD20、CD125、CD200、CD221、CD23(IgE受容体)、CD28、CD30(TNFRSF8)、CD33、CD4、CD40、CD44v6、CD51、CD52、CD56、CD74、CD80、CEA、CNT0888、CTLA-4、DR5、EGFR、EpCAM、CD3、FAP、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、葉酸受容体1、GD2、GD3ガングリオシド、糖タンパク質75、GPNMB、HER2/neu、HGF、ヒト散乱因子受容体キナーゼ、IGF-1受容体、IGF-I、IgG1、IL-13、IL-6、インスリン様成長因子I受容体、インテグリン α 5 β 1、インテグリン α 3 β 3、MORAb-009、MS4A1、MUC1、ムチンCanAg、N-グリコシルノイラミン酸、NPC-1C、PDGF-R α 、PDL192、ホスファチジルセリン、前立腺癌細胞、RANKL、RON、SCH900105、SDC1、SLAMF7、TAG-72、テネイシンC、TGF β 2、TGF β 、TRAIL-R1、TRAIL-R2、腫瘍抗原CTAA16.88、VEGF-A、VEGFR-1、VEGFR2及びビメンチンからなる群から選択される)。かかるベクターのセットの幾つかの実施の形態では、キメラ抗原受容体は、4-1BB、CD27、OX40、CD40、CD28、GITR、CD2、CD5、ICAM-1、CD11a、Lck、TNFR-I、TNFR-II、FasR、CD30、ICOS、LIGHT、NKG2C、B7-H3、DAP-10及びDAP-12からなる群から選択される1つ以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含む。かかるベクターのセットの幾つかの実施の形態では、第1のベクター及び第2のベクターの両方がレンチウイルスベクター又はアデノウイルスベクターである。かかるベクターのセットの幾つかの実施の形態では、第2のベクターは、キメラ抗原受容体をコードする配列に操作可能に連結したプロモーター、及び任意に、キメラ抗原受容体をコードする配列に操作可能に連結したエンハンサーを更に含む。かかるベクターのセットの幾つかの実施の形態では、第2のベクターは、キメラ抗原受容体をコードする配列に操作可能に連結したポリ(A)配列を更に含む。

【0033】

本明細書に記載される様々なキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含む第1のベクターと、キメラ抗原受容体をコードする配列を含む第2のベクターとを含む、本明細書に記載される様々なベクターのセットのいずれかを含む哺乳動物細胞も本明細書で提供される。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞は免疫細胞である。幾つかの実施の形態では、免疫細胞は、CD4+T細胞、CD8+T細胞、B細胞、単球、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、マクロファージ、制御性T細胞及びヘルパーT細胞からなる群から選択される。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞は、以前に被験体から得られたものであるか、又は以前に被験体から得られた哺乳動物細胞の娘細胞である。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞はヒト細胞である。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 4 】

本明細書に記載される様々なベクターのセットのいずれか（例えば、本明細書に記載される様々なキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含む第1のベクターと、キメラ抗原受容体をコードする配列を含む第2のベクターとを含むベクターのセット）と、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物も本明細書で提供される。かかるベクターのセットを含む様々な哺乳動物細胞のいずれかを含む医薬組成物も本明細書で提供される。

【 0 0 3 5 】

本明細書に記載される様々な医薬組成物のいずれか（例えば、本明細書に記載される様々なベクター又はベクターのセットのいずれかを含む医薬組成物）を含むキットも本明細書で提供される。

10

【 0 0 3 6 】

癌の治療を必要とする被験体において癌を治療する方法であって、本明細書に記載される様々な哺乳動物細胞のいずれか（例えば、本明細書に記載される様々な核酸、ベクター又はベクターのセットのいずれかを含む哺乳動物細胞）を治療有効量投与することを含む、方法も本明細書で提供される。幾つかの実施の形態では、被験体がヒトであり、哺乳動物細胞がヒト細胞である。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞は、以前に被験体から得られたものであるか、又は以前に被験体から得られた細胞の娘細胞である。

【 0 0 3 7 】

固形腫瘍の体積の減少を必要とする被験体において固形腫瘍の体積を減少させる方法であって、本明細書に記載される様々な哺乳動物細胞のいずれか（例えば、本明細書に記載される様々な核酸、ベクター又はベクターのセットのいずれかを含む哺乳動物細胞）を治療有効量投与することを含む、方法も本明細書で提供される。幾つかの実施の形態では、被験体がヒトであり、哺乳動物細胞がヒト細胞である。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞は、以前に被験体から得られたものであるか、又は以前に被験体から得られた細胞の娘細胞である。

20

【 0 0 3 8 】

癌細胞における細胞死の誘導を必要とする被験体において癌細胞における細胞死を誘導する方法であって、本明細書に記載される様々な哺乳動物細胞のいずれか（例えば、本明細書に記載される様々な核酸、ベクター又はベクターのセットのいずれかを含む哺乳動物細胞）を治療有効量投与することを含む、方法も本明細書で提供される。幾つかの実施の形態では、被験体がヒトであり、哺乳動物細胞がヒト細胞である。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞は、以前に被験体から得られたものであるか、又は以前に被験体から得られた細胞の娘細胞である。

30

【 0 0 3 9 】

癌を有する被験体において転移又は付加的な転移を起こすリスクを低下させる方法であって、本明細書に記載される様々な哺乳動物細胞のいずれか（例えば、本明細書に記載される様々な核酸、ベクター又はベクターのセットのいずれかを含む哺乳動物細胞）を治療有効量投与することを含む、方法も本明細書で提供される。幾つかの実施の形態では、被験体がヒトであり、哺乳動物細胞がヒト細胞である。幾つかの実施の形態では、哺乳動物細胞は、以前に被験体から得られたものであるか、又は以前に被験体から得られた細胞の娘細胞である。

40

【 0 0 4 0 】

免疫細胞におけるS T A T 5シグナル伝達を活性化する方法であって、本明細書に記載される様々な核酸のいずれか（例えば、本明細書に記載される様々なタンパク質又はキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする核酸）を免疫細胞に導入することを含む、方法も本明細書で提供される。幾つかの実施の形態では、免疫細胞は被験体から得られる。幾つかの実施の形態では、被験体は、癌を有すると識別されている。幾つかの実施の形態では、免疫細胞は、C D 4 + T細胞、C D 8 + T細胞、B細胞、単球、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、マクロファージ、制御性T細胞及びヘルパーT細胞からなる群から選択

50

される。

【0041】

名詞の前の「a」という用語の使用は、その特定の名詞の「1つ以上」を意味する。例えば、「哺乳動物細胞(a mammalian cell)」の句は、「1つ以上の哺乳動物細胞」を意味する。幾つかの例では、「a」という用語は、その特定の名詞の単一単位を意味し得る。

【0042】

「キメラ抗原受容体」及び「CAR」という用語は、本明細書において同じ意味で使用され、概して、しかしながら排他的でなく、細胞外ドメイン(例えばリガンド/抗原結合ドメイン)と、膜貫通ドメインと、1つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、免疫細胞の活性化を誘発又は阻害することができる人工的な多重モジュール分子を指す。CAR分子及びその誘導体(例えばCAR変異体)は、例えば、国際出願PCT/US2014/016527号; Fedorov et al., *Sci Transl Med* (2013); 5(215):215ra172; Glienke et al., *Front Pharmacol* (2015) 6:21; Kakarla & Gottschalk, *Cancer J* (2014) 20(2):151-5; Riddell et al., *Cancer J* (2014) 20(2):141-4; Pegram et al., *Cancer J* (2014) 20(2):127-33; Cheadle et al., *Immunol Rev* (2014) 257(1):91-106; Barrett et al., *Annu Rev Med* (2014) 65:333-47; Sadelain et al., *Cancer Discov* (2013) 3(4):388-98; Cartellieri et al., *J Biomed Biotechnol* (2010) 956304に記載され、それらの開示は、それらの全体を引用することにより本明細書の一部をなす。CARは、単鎖キメラ抗原受容体又は多重鎖キメラ抗原受容体であり得る。

10

20

【0043】

「膜貫通ドメイン」という用語は、哺乳動物細胞において発現される際、対応する内因性ポリペプチド中に存在する場合に脂質二重層を横断する少なくとも1つの連続アミノ酸配列を含むポリペプチドのドメインを意味する。例えば、哺乳動物細胞において発現される際、対応する内因性ポリペプチド中に存在する場合に膜貫通ドメインは、各々が脂質二重層を横断する1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、又は10個の連続アミノ酸配列を含む場合がある。当該技術分野で知られているように、膜貫通ドメインは、例えば、脂質二重層中に α -ヘリックス二次構造を有する(哺乳動物細胞において発現される際、対応する内因性ポリペプチド中に存在する場合に、脂質二重層を横断する)少なくとも1個(例えば2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個)の連続アミノ酸配列を含んでもよい。幾つかの実施の形態では、膜貫通ドメインは、脂質二重層中に β -バレル二次構造を形成する(哺乳動物細胞において発現される際、対応する内因性ポリペプチド中に存在する場合に、各々が脂質二重層を横断する)2個以上の連続アミノ酸配列を含んでもよい。膜貫通ドメインの非限定的な例が本明細書に記載される。膜貫通ドメインの付加的な例が当該技術分野で既知である。

30

【0044】

「抗原結合ドメイン」という用語は、標的抗原に特異的に結合するドメインを意味する。幾つかの例では、抗原結合ドメインは、単鎖ポリペプチド内に存在するアミノ酸から形成され得る。他の例では、抗原結合ドメインは、第1の単鎖ポリペプチド内に存在するアミノ酸、及び1つ以上の追加の単鎖ポリペプチド(例えば第2の単鎖ポリペプチド)中に存在するアミノ酸から形成され得る。抗原結合ドメインの非限定的な例は、限定されるものではないが、scFv又は成長因子のリガンド結合ドメイン(LBD)を含めて本明細書に記載される。抗原結合ドメインの付加的な例が当該技術分野で既知である。

40

【0045】

本明細書で使用される場合、「抗原」という用語は、概して、本明細書に記載される抗原結合ドメインによって特異的に認識される結合パートナーを指す。例示的な抗原としては、限定されるものではないが、ポリペプチド及びそのペプチドフラグメント、低分子、脂質、炭水化物、及び核酸等の種々のクラスの分子が挙げられる。抗原結合ドメインのいずれかによって特異的に結合され得る抗原(単数又は複数)の非限定的な例が本明細書に記載される。抗原結合ドメインのいずれかによって特異的に結合され得る抗原(単数又は

50

複数)の付加的な例が当該技術分野で既知である。

【0046】

「細胞内シグナル伝達ドメイン」という用語は、下流の免疫細胞シグナル伝達(例えば、T細胞受容体シグナル伝達)及び/又は免疫細胞活性化(例えば、T細胞活性化)を促進する免疫細胞(例えば、Tリンパ球)において発現される内因性シグナル伝達膜貫通ポリペプチドに由来する細胞内シグナル伝達ドメインを意味する。細胞内シグナル伝達ドメインの非限定的な例が本明細書に記載される。細胞内シグナル伝達ドメインの付加的な例が当該技術分野で既知である。例えば、Chen et al., Nature Reviews Immunol. 13:227-242, 2013を参照されたい。

【0047】

「免疫受容活性化チロシンモチーフ(immunoreceptor tyrosine-based activation motif)」すなわち「ITAM」という用語は、チロシンが2個の他のアミノ酸によってロイシン又はイソロイシンと隔てられた4個のアミノ酸コンセンサス配列(YxxL/I)を含むアミノ酸モチーフを意味する。4アミノ酸コンセンサス配列中のチロシン残基は、シグナル伝達経路キナーゼ(例えばリンパ球シグナル伝達経路キナーゼ)の相互作用の後、リン酸化された状態になる。ITAMの非限定的な例が本明細書に記載される。ITAMの付加的な例が当該技術分野で既知である。

【0048】

「癌の治療」という句は、癌を有する被験体における癌の1つ以上(例えば、2つ、3つ、4つ又は5つ)の症状の数、頻度又は重症度の減少、被験体に存在する癌細胞及び/又は腫瘍の数の減少、及び/又は被験体に存在する1つ以上の固形腫瘍の大きさの減少を意味する。

【0049】

本明細書で使用される場合、「細胞外ドメイン」は、ポリペプチドが哺乳動物細胞(例えば、ヒト細胞)において発現される場合に細胞外空間に存在するポリペプチドの一部(例えば、ドメイン)を表す。

【0050】

別段の定義がない限り、本明細書で使用される技術用語及び科学用語はいずれも本発明が属する技術分野の当業者によって通常理解されるものと同じ意味を有する。方法及び材料は、本発明における使用に関して記載され、当該技術分野で知られているその他の好適な方法及び材料も使用され得る。材料、方法、及び実施例は実例に過ぎず、限定を意図するものではない。出版物、特許出願、特許、配列、データベースエントリー、及び本明細書で言及されるその他の引用文献はいずれも、それらの全体が参照することにより本明細書の一部をなす。矛盾が生じる場合には、定義を含めて、本明細書が優先される。

【0051】

本発明のその他の特徴及び利点は、以下の詳細な説明及び図面、並びに特許請求の範囲から明らかとなる。

【図面の簡単な説明】

【0052】

【図1】IL7Rの概略図である。ECD=細胞外ドメイン。TMD=膜貫通ドメイン。ICD=細胞内ドメイン。関連の領域、モチーフ及びアミノ酸修飾を示す。

【図2】関連モチーフ及びシグナル伝達活性化の機構を示すIL7Rの概略図である。

【図3】初代T細胞の表面上での修飾IL7Rタンパク質の発現を示すフローサイトメトリーデータのセットを示す図である。活性化の6日後のデータを示す。

【図4】例示的なキメラ膜貫通タンパク質の概略図である。シグナル伝達活性化の機構と共に関連モチーフを示す。IL15R sushidメインを矢印で示す。

【図5】初代T細胞の表面上でのキメラ膜貫通タンパク質の発現を示すフローサイトメトリーデータのセットを示す図である。活性化の6日後のデータを示す。

【図6A】初代ヒトT細胞を、示される特定のIL7Rタンパク質の1つ又は特定のキメラ膜タンパク質の1つを発現するようにレンチウイルスベクターを用いて形質導入した

10

20

30

40

50

場合の異なる種類のCD8⁺T細胞のパーセンテージを示すグラフである。

【図6B】活性化の15日後の初代ヒトT細胞における、種々のIL7R 変異タンパク質及びキメラ膜貫通タンパク質を発現する初代ヒトT細胞のPD-1（左のグラフ）又はCD25（右のグラフ）の発現を示すフローサイトメトリーデータの2つのグラフのセットである。

【図7A】形質導入しないままにするか（「UT」）、又は示される特定のIL7R タンパク質の1つ若しくは特定のキメラ膜タンパク質の1つをコードするレンチウイルスを用いて形質導入した初代ヒトT細胞におけるリン酸化STAT5のレベルを示す免疫プロットを示す図である。

【図7B】活性化の15日後の初代ヒトT細胞における様々なIL7R 変異タンパク質及びキメラ膜貫通タンパク質の発現を示す2つの棒グラフのセットである。

【図8A】初代T細胞の同時感染に使用したIL7R 突然変異体発現構築物及び1928zキメラ抗原受容体発現構築物の概略図を示す。

【図8B】EKV若しくはIns__CPT IL7R 変異タンパク質、mbIL15-17R Ins__PPCLキメラ膜貫通タンパク質、又はmbIL15キメラ膜貫通タンパク質と共にT細胞表面に同時発現される1928zキメラ抗原受容体を図式的に示す図である。

【図8C】初代T細胞の表面上での1928zキメラ抗原受容体、EKV又はIns__CPT IL7R 変異タンパク質、mbIL15-17R Ins__PPCLキメラ膜貫通タンパク質及びmbIL15タンパク質の発現を示すフローサイトメトリーデータのセットを示す図である。活性化の6日後のデータを示す。

【図8D】mbIL15-IL7R __Ins__PPCL及びmbIL15を発現する細胞の数が培養6日目から14日目までに減少し、IL7R __EKV、IL7R __Ins__CPT及び1928zキメラ抗原受容体を発現する細胞の数が同期間に比較的一定のままであったことを示す2つのグラフのセットである。

【図9】様々なIL7Ra突然変異体及びキメラ膜貫通タンパク質を発現するCAR T細胞が活性化の14日後に低分化（less differentiated）記憶表現型を維持することを示す2つのグラフのセットである。

【図10】CAR（1928z）を有する及び有しない、形質導入しないままにするか、又は特定のIL7R タンパク質の1つ若しくは特定のキメラ膜貫通タンパク質の1つをコードするレンチウイルスベクターを用いて形質導入した初代ヒトT細胞におけるリン酸化STAT5及びSTAT3のレベル、並びにBCL-XLの総タンパク質レベルを示す免疫プロットのセットを示す図である。

【図11】図11Aは、様々なIL7R 突然変異体を発現する細胞の増殖を示す折れ線グラフであり、図11Bは、Na1m6標的細胞との21日間の連続遭遇（encounter）にわたるCAR-T細胞の増殖倍数（fold expansion）を示す棒グラフである。図11A及び図11Bを合わせると、IL7R 突然変異体を発現するCAR T細胞が、1:1の比率のエフェクター対標的（E:T）比での抗原への連続曝露後に対照CARと比較して優勢な増殖を示すことが示される。

【図12A】ルシフェラーゼベースの一晚死滅アッセイにおけるCD19+ Na1m6 B細胞の溶解（%）を示す折れ線グラフである。

【図12B】ルシフェラーゼベースの一晚死滅アッセイにおけるCD19-K562細胞の溶解（%）を示す折れ線グラフである。

【図13】IL7R 突然変異体を発現するCAR T細胞が抗原への連続曝露の14日後に低分化記憶表現型を維持することを示す棒グラフのセットである。

【図14】図14Aは、様々なIL7R 突然変異体を発現する細胞の増殖を示す折れ線グラフであり、図14Bは、1:3のE:T比での抗原との単回遭遇後の21日間にわたるCAR-T細胞の増殖倍数を示す棒グラフである。図14A及び図14Bを合わせると、IL7R 突然変異体を発現するCAR T細胞が、標的への単回曝露後に対照CARと比較して優勢な増殖を示すことが示される。

10

20

30

40

50

【図15】IL7R 突然変異体を発現するCAR T細胞が抗原への単回曝露の14日後に低分化記憶表現型を維持することを示す棒グラフのセットである。

【図16】1日目に 0.5×10^6 個のNa1m6_luc細胞を投与し、続いて 0.1×10^6 細胞の非形質導入T細胞、又はCD19 CAR単独、CD19 CAR+IL7RaCPT、CD19 CAR+IL7RaMCP若しくはCD19 CAR+IL7RaPpCLを保有するT細胞を投与したNOD-SCID IL2R^{nu/nu}マウスにおいて経時的に測定された光束(光子数/秒)を示す図である。示されるデータは、平均±標準偏差である。

【図17】1日目に 0.5×10^6 個のNa1m6_luc細胞を投与し、続いて 0.1×10^6 細胞の非形質導入T細胞、又はCD19 CAR単独、CD19 CAR+IL7RaCPT、CD19 CAR+IL7RaMCP若しくはCD19 CAR+IL7RaPpCLを保有するT細胞を投与したNOD-SCID IL2R^{nu/nu}マウスにおける経時的な体重の変化を示す図である。示されるデータは、平均±標準偏差である。

【図18】非形質導入T細胞、又はCD19 CAR単独、CD19 CAR+IL7RaCPT、CD19 CAR+IL7RaMCP若しくはCD19 CAR+IL7RaPpCLを保有するT細胞におけるpSTAT5a, b及びpSTAT3の相対平均蛍光強度(MFI)を示す図である。平均蛍光強度データを非形質導入T細胞において測定される平均蛍光強度と比較する。

【図19】American Type Culture Company(ATCC, Manassas, VA)からのHep3B標的細胞と共培養したGPC3 CAR陽性T細胞及びGPC3 CAR+IL7RaCPT陽性T細胞(0.5×10^6 個のHep3B標的細胞と共培養した 0.5×10^6 個のCAR T細胞)の経時的な増殖倍数(実施例9に記載)を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0053】

インターロイキン-7受容体の鎖の膜貫通ドメインを含むタンパク質であって、膜貫通ドメインが以下の修飾:(i)配列番号1のアミノ酸位置15~17のアラニン-ロイシン-ロイシンがグルタミン酸-リシン-バリン又はグルタミン酸-リシン-アラニンに置き換えられた修飾、(ii)システイン-プロリン-トレオニンが配列番号1のアミノ酸位置5及び6の間に挿入された修飾、並びに(iii)プロリン-プロリン-システイン-ロイシンが配列番号1のアミノ酸位置4及び5の間に挿入された修飾の1つ以上(例えば、2つ、3つ又は4つ)を有するPILLTISILSFFSVALLVILACVLLW(配列番号1)の配列を含む、タンパク質が本明細書で提供される。代表的な修飾膜貫通ドメインは、配列番号2、4、6又は8の配列を有する。

【0054】

細胞外IL-15ドメインと、インターロイキン-15受容体の鎖に由来する細胞外sushドメインと、インターロイキン-7受容体の鎖の膜貫通ドメインとを含むキメラ膜貫通タンパク質も本明細書で提供される。

【0055】

これらのキメラ膜貫通タンパク質及びタンパク質のいずれかをコードする核酸、これらの核酸のいずれかを含有するベクター、及びこれらの核酸又はベクターのいずれかを含有する哺乳動物細胞も提供される。本明細書に記載される哺乳動物細胞のいずれかを被験体に投与することを含む、癌の治療を必要とする被験体において癌を治療する方法、癌細胞における細胞死(例えば、アポトーシス及び/又は壊死)を誘導する方法、及び転移又は付加的な転移を起こすリスクを低下させる方法も本明細書で提供される。

【0056】

本明細書で提供されるキメラ膜貫通タンパク質及びタンパク質を使用して、外因性サイトカイン支持又は抗原刺激の非存在下でCAR T細胞を維持し、サイトカイン、例えば可溶性組み換えIL-2の長期投与と関連する用量制限毒性なしにT細胞刺激効果をもたらすことができる。

10

20

30

40

50

ミノ酸、約300アミノ酸～約400アミノ酸、約300アミノ酸～約350アミノ酸、約350アミノ酸～約800アミノ酸、約350アミノ酸～約750アミノ酸、約350アミノ酸～約700アミノ酸、約350アミノ酸～約650アミノ酸、約350アミノ酸～約600アミノ酸、約350アミノ酸～約550アミノ酸、約350アミノ酸～約500アミノ酸、約350アミノ酸～約450アミノ酸、約350アミノ酸～約400アミノ酸、約400アミノ酸～約800アミノ酸、約400アミノ酸～約750アミノ酸、約400アミノ酸～約700アミノ酸、約400アミノ酸～約650アミノ酸、約400アミノ酸～約600アミノ酸、約400アミノ酸～約550アミノ酸、約400アミノ酸～約500アミノ酸、約400アミノ酸～約450アミノ酸、約450アミノ酸～約800アミノ酸、約450アミノ酸～約750アミノ酸、約450アミノ酸～約700アミノ酸、約450アミノ酸～約650アミノ酸、約450アミノ酸～約600アミノ酸、約450アミノ酸～約550アミノ酸、約450アミノ酸～約500アミノ酸、約500アミノ酸～約800アミノ酸、約500アミノ酸～約750アミノ酸、約500アミノ酸～約700アミノ酸、約500アミノ酸～約650アミノ酸、約500アミノ酸～約600アミノ酸、約500アミノ酸～約550アミノ酸、約550アミノ酸～約800アミノ酸、約550アミノ酸～約750アミノ酸、約550アミノ酸～約700アミノ酸、約550アミノ酸～約650アミノ酸、約550アミノ酸～約600アミノ酸、約600アミノ酸～約800アミノ酸、約600アミノ酸～約750アミノ酸、約600アミノ酸～約700アミノ酸、約600アミノ酸～約650アミノ酸、約650アミノ酸～約800アミノ酸、約650アミノ酸～約750アミノ酸、約650アミノ酸～約700アミノ酸、約700アミノ酸～約800アミノ酸、約700アミノ酸～約750アミノ酸、又は約750アミノ酸～約800アミノ酸であり得る。

10

20

30

40

50

【0061】

幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号2（下に示す）を含むか又は配列番号2である。

例示的なタンパク質（配列番号2）（IL7RA EKAタンパク質；EKA配列を下線で示す）

PILLTISILSFFSVEKAVILACVLW

IL7RA EKAをコードする核酸（配列番号3；EKA配列をコードする核酸配列を下線で示す）

cccatcctgctgaccatcagcatcctgagcttcttcagcgtggaagggtggatcctggcctgcgtgctgtgg

【0062】

幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号2と少なくとも60%同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号2と1個～20個のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個のアミノ酸）が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、本明細書で提供されるタンパク質のいずれかは、例えば配列番号2に加えて、1個以上の付加的なアミノ酸（例えば、1個のアミノ酸～300個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約100個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約50個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約100個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約50個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、約10個のアミノ酸

～約200個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約100個のアミノ酸又は約10個のアミノ酸～約50個のアミノ酸)を更に含み得る。付加的又は代替的には、タンパク質は、配列番号2のN末端から1個～20個(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個)のアミノ酸が欠如していても、及び/又は配列番号2のC末端から1個～20個(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個)のアミノ酸が欠如していてもよい。

【0063】

幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、配列番号3と少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、配列番号3と1個～60個のヌクレオチド(例えば、1個～60個のヌクレオチド、1個～55個のヌクレオチド、1個～50個のヌクレオチド、1個～45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～35個のヌクレオチド、1個～30個のヌクレオチド、1個～25個のヌクレオチド、1個～20個のヌクレオチド、1個～15個のヌクレオチド、1個～10個のヌクレオチド又は1個～5個のヌクレオチド)が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、例えば配列番号3に加えて、1個以上の付加的なヌクレオチド(例えば、1個～約900個のヌクレオチド、1個～約850個のヌクレオチド、1個～約800個のヌクレオチド、1個～約750個のヌクレオチド、1個～約700個のヌクレオチド、1個～約650個のヌクレオチド、1個～約600個のヌクレオチド、1個～約550個のヌクレオチド、1個～約500個のヌクレオチド、1個～約450個のヌクレオチド、1個～約400個のヌクレオチド、1個～約350個のヌクレオチド、1個～約300個のヌクレオチド、1個～約250個のヌクレオチド、1個～約200個のヌクレオチド、1個～約150個のヌクレオチド、1個～約100個のヌクレオチド又は1個～約50個のヌクレオチド)を更に含み得る。付加的又は代替的には、タンパク質をコードする核酸は、配列番号3の5'末端から1個～60個のヌクレオチド(例えば、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約55個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、1個～約45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～約35個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約25個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約15個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド又は1個～約5個のヌクレオチド)が欠如していても、及び/又は配列番号3の3'末端から1個～60個のヌクレオチド(例えば、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約55個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、1個～約45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～約35個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約25個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約15個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド又は1個～約5個のヌクレオチド)が欠如していてもよい。

【0064】

幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号4(下に示す)を含むか又は配列番号4である。

例示的なタンパク質(配列番号4)(IL7RA EKVタンパク質; EKV配列を下線で示す)

PILLTISILSFFSVEKVVILACVLW

IL7RA EKVをコードする核酸(配列番号5; EKV配列をコードする核酸配列を下線で示す)

10

20

30

40

50

cccatcctgctgaccatcagcatcctgagcttcttcagcgtggagaagggtggtgatcctggcctgcgtgctgtgg

【 0 0 6 5 】

幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号4と少なくとも60%同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号4と1個～20個のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個のアミノ酸）が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、本明細書で提供されるタンパク質のいずれかは、例えば配列番号4に加えて、1個以上の付加的なアミノ酸（例えば、1個のアミノ酸～300個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約100個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約50個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約100個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約50個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約100個のアミノ酸又は約10個のアミノ酸～約50個のアミノ酸）を更に含み得る。付加的又は代替的には、タンパク質は、配列番号4のN末端から1個～20個（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個）のアミノ酸が欠如していても、及び/又は配列番号4のC末端から1個～20個（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個）のアミノ酸が欠如していてもよい。

10

20

【 0 0 6 6 】

幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、配列番号5と少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、配列番号5と1個～60個のヌクレオチド（例えば、1個～60個のヌクレオチド、1個～55個のヌクレオチド、1個～50個のヌクレオチド、1個～45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～35個のヌクレオチド、1個～30個のヌクレオチド、1個～25個のヌクレオチド、1個～20個のヌクレオチド、1個～15個のヌクレオチド、1個～10個のヌクレオチド又は1個～5個のヌクレオチド）が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、例えば配列番号5に加えて、1個以上の付加的なヌクレオチド（例えば、1個～約900個のヌクレオチド、1個～約850個のヌクレオチド、1個～約800個のヌクレオチド、1個～約750個のヌクレオチド、1個～約700個のヌクレオチド、1個～約650個のヌクレオチド、1個～約600個のヌクレオチド、1個～約550個のヌクレオチド、1個～約500個のヌクレオチド、1個～約450個のヌクレオチド、1個～約400個のヌクレオチド、1個～約350個のヌクレオチド、1個～約300個のヌクレオチド、1個～約250個のヌクレオチド、1個～約200個のヌクレオチド、1個～約150個のヌクレオチド、1個～約100個のヌクレオチド又は1個～約50個のヌクレオチド）を更に含み得る。付加的又は代

30

40

50

替的には、タンパク質をコードする核酸は、配列番号5の5'末端から1個～60個のヌクレオチド（例えば、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約55個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、1個～約45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～約35個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約25個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約15個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド又は1個～約5個のヌクレオチド）が欠如していても、及び/又は配列番号5の3'末端から1個～60個のヌクレオチド（例えば、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約55個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、1個～約45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～約35個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約25個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約15個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド又は1個～約5個のヌクレオチド）が欠如していてもよい。

10

【0067】

幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号6（下に示す）を含むか又は配列番号6である。

例示的なタンパク質（配列番号6）（IL7RA CPTインサートタンパク質；CPT配列を下線で示す）

PILLTCPTISILSFFSVALLVILACVLW

IL7RA CPTインサートをコードする核酸（配列番号7；CPT配列をコードする核酸配列を下線で示す）

20

cccatcctgctgacctgccccaccatcagcatcctgagcttcttcagcgtggccctgctggatcctggcctgctgctgtgg

【0068】

幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号6と少なくとも60%同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号6と1個～20個のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個のアミノ酸）が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、本明細書で提供されるタンパク質のいずれかは、例えば配列番号6に加えて、1個以上の付加的なアミノ酸（例えば、1個のアミノ酸～300個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約100個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約50個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約100個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約50個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約100個のアミノ酸又は約10個のアミノ酸～約50個のアミノ酸）を更に含む得る。付加的又は代替的には、タンパク質は、配列番号6のN末端から1個～20個（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個）のアミノ酸が欠如していても、及び/又は配列番号6のC末端から1個～20個（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個）のアミノ酸が欠如していてもよい。

30

40

50

【 0 0 6 9 】

幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、配列番号7と少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、配列番号7と1個～60個のヌクレオチド（例えば、1個～60個のヌクレオチド、1個～55個のヌクレオチド、1個～50個のヌクレオチド、1個～45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～35個のヌクレオチド、1個～30個のヌクレオチド、1個～25個のヌクレオチド、1個～20個のヌクレオチド、1個～15個のヌクレオチド、1個～10個のヌクレオチド又は1個～5個のヌクレオチド）が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、例えば配列番号7に加えて、1個以上の付加的なヌクレオチド（例えば、1個～約900個のヌクレオチド、1個～約850個のヌクレオチド、1個～約800個のヌクレオチド、1個～約750個のヌクレオチド、1個～約700個のヌクレオチド、1個～約650個のヌクレオチド、1個～約600個のヌクレオチド、1個～約550個のヌクレオチド、1個～約500個のヌクレオチド、1個～約450個のヌクレオチド、1個～約400個のヌクレオチド、1個～約350個のヌクレオチド、1個～約300個のヌクレオチド、1個～約250個のヌクレオチド、1個～約200個のヌクレオチド、1個～約150個のヌクレオチド、1個～約100個のヌクレオチド又は1個～約50個のヌクレオチド）を更に含み得る。付加的又は代替的には、タンパク質をコードする核酸は、配列番号7の5'末端から1個～60個のヌクレオチド（例えば、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約55個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、1個～約45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～約35個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約25個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約15個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド又は1個～約5個のヌクレオチド）が欠如していても、及び/又は配列番号7の3'末端から1個～60個のヌクレオチド（例えば、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約55個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、1個～約45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～約35個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約25個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約15個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド又は1個～約5個のヌクレオチド）が欠如していてもよい。

【 0 0 7 0 】

幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号8（下に示す）を含むか又は配列番号8である。

例示的なタンパク質（配列番号8）（I L 7 R A P P C L インサートタンパク質；P P C L 配列を下線で示す）

PILLPPCLTISILSFFSVALLVILACVLW

I L 7 R A P P C L インサートをコードする核酸（配列番号9；P P C L 配列をコードする核酸配列を下線で示す）

cccatcctgctgccaccctgtttaaccatcagcatcctgagcttcttcagcgtggccctgctggatcctggcctgcgtgctgtgg

【 0 0 7 1 】

幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号8と少なくとも60%同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含むか又はそ

の配列である。幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号 8 と 1 個 ~ 20 個のアミノ酸（例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個又は 20 個のアミノ酸）が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、本明細書で提供されるタンパク質のいずれかは、例えば配列番号 8 に加えて、1 個以上の付加的なアミノ酸（例えば、1 個のアミノ酸 ~ 300 個のアミノ酸、1 個のアミノ酸 ~ 約 250 個のアミノ酸、1 個のアミノ酸 ~ 約 200 個のアミノ酸、1 個のアミノ酸 ~ 約 150 個のアミノ酸、1 個のアミノ酸 ~ 約 100 個のアミノ酸、1 個のアミノ酸 ~ 約 50 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸 ~ 約 300 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸 ~ 約 250 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸 ~ 約 200 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸 ~ 約 150 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸 ~ 約 100 個のアミノ酸、約 5 個のアミノ酸 ~ 約 50 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸 ~ 約 300 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸 ~ 約 250 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸 ~ 約 200 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸 ~ 約 150 個のアミノ酸、約 10 個のアミノ酸 ~ 約 100 個のアミノ酸又は約 10 個のアミノ酸 ~ 約 50 個のアミノ酸）を更に含み得る。付加的又は代替的には、タンパク質は、配列番号 8 の N 末端から 1 個 ~ 20 個（例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個又は 20 個）のアミノ酸が欠如していても、及び / 又は配列番号 8 の C 末端から 1 個 ~ 20 個（例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個又は 20 個）のアミノ酸が欠如していてもよい。

【0072】

幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、配列番号 9 と少なくとも 80 % 同一、少なくとも 82 % 同一、少なくとも 84 % 同一、少なくとも 86 % 同一、少なくとも 88 % 同一、少なくとも 90 % 同一、少なくとも 91 % 同一、少なくとも 92 % 同一、少なくとも 94 % 同一、少なくとも 95 % 同一、少なくとも 96 % 同一、少なくとも 97 % 同一、少なくとも 98 % 同一、少なくとも 99 % 同一又は 100 % 同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、配列番号 9 と 1 個 ~ 60 個のヌクレオチド（例えば、1 個 ~ 60 個のヌクレオチド、1 個 ~ 55 個のヌクレオチド、1 個 ~ 50 個のヌクレオチド、1 個 ~ 45 個のヌクレオチド、1 個 ~ 40 個のヌクレオチド、1 個 ~ 35 個のヌクレオチド、1 個 ~ 30 個のヌクレオチド、1 個 ~ 25 個のヌクレオチド、1 個 ~ 20 個のヌクレオチド、1 個 ~ 15 個のヌクレオチド、1 個 ~ 10 個のヌクレオチド又は 1 個 ~ 5 個のヌクレオチド）が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、例えば配列番号 9 に加えて、1 個以上の付加的なヌクレオチド（例えば、1 個 ~ 約 900 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 850 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 800 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 750 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 700 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 650 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 600 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 550 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 500 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 450 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 400 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 350 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 300 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 250 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 200 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 150 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 100 個のヌクレオチド又は 1 個 ~ 約 50 個のヌクレオチド）を更に含み得る。付加的又は代替的には、タンパク質をコードする核酸は、配列番号 9 の 5' 末端から 1 個 ~ 60 個のヌクレオチド（例えば、1 個 ~ 約 60 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 55 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 50 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 45 個のヌクレオチド、1 個 ~ 40 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 35 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 30 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 25 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 20 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 15 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 10 個のヌクレオチド又は 1 個 ~ 約 5 個のヌクレオチド）が欠如していても、及び / 又は配列番号 9 の 3' 末端から 1 個 ~ 60 個のヌクレオチド（例えば、1 個 ~ 約 60 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 55 個のヌクレオチド、1 個 ~ 約 50 個のヌクレオチド、1 個

～約45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～約35個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約25個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約15個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド又は1個～約5個のヌクレオチド)が欠如していてもよい。

【0073】

幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号79(下に示す)を含むか又は配列番号79である。

例示的なタンパク質(配列番号79)(IL7RA MCPインサートタンパク質; MCP配列を下線で示す)

PILLTMCPISILSFFSVALLVILACVLW

IL7RA MCPインサートをコードする核酸(配列番号80; MCP配列をコードする核酸配列を下線で示す)

cccatcctgctgaccatgtgccccatcagcatcctgagcttcttcagcgtggccctgctggatcctggcctgctgctgtgg

【0074】

幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号79と少なくとも60%同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、タンパク質は、配列番号79と1個～20個のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個のアミノ酸)が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、本明細書で提供されるタンパク質のいずれかは、例えば配列番号79に加えて、1個以上の付加的なアミノ酸(例えば、1個のアミノ酸～300個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約100個のアミノ酸、1個のアミノ酸～約50個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約100個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約50個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約300個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約250個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約200個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約150個のアミノ酸、約10個のアミノ酸～約100個のアミノ酸又は約10個のアミノ酸～約50個のアミノ酸)を更に含み得る。付加的又は代替的には、タンパク質は、配列番号79のN末端から1個～20個(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個)のアミノ酸が欠如していても、及び/又は配列番号79のC末端から1個～20個(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個)のアミノ酸が欠如していてもよい。

【0075】

幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、配列番号80と少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、配列番号80と1個～60個のヌクレオチド(例えば、1個～60個のヌクレオチド、1個～

10

20

30

40

50

55個のヌクレオチド、1個～50個のヌクレオチド、1個～45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～35個のヌクレオチド、1個～30個のヌクレオチド、1個～25個のヌクレオチド、1個～20個のヌクレオチド、1個～15個のヌクレオチド、1個～10個のヌクレオチド又は1個～5個のヌクレオチド)が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、タンパク質をコードする核酸は、例えば配列番号80に加えて、1個以上の付加的なヌクレオチド(例えば、1個～約900個のヌクレオチド、1個～約850個のヌクレオチド、1個～約800個のヌクレオチド、1個～約750個のヌクレオチド、1個～約700個のヌクレオチド、1個～約650個のヌクレオチド、1個～約600個のヌクレオチド、1個～約550個のヌクレオチド、1個～約500個のヌクレオチド、1個～約450個のヌクレオチド、1個～約400個のヌクレオチド、1個～約350個のヌクレオチド、1個～約300個のヌクレオチド、1個～約250個のヌクレオチド、1個～約200個のヌクレオチド、1個～約150個のヌクレオチド、1個～約100個のヌクレオチド又は1個～約50個のヌクレオチド)を更に含み得る。付加的又は代替的には、タンパク質をコードする核酸は、配列番号80の5'末端から1個～60個のヌクレオチド(例えば、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約55個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、1個～約45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～約35個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約25個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約15個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド又は1個～約5個のヌクレオチド)が欠如していても、及び/又は配列番号80の3'末端から1個～60個のヌクレオチド(例えば、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約55個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、1個～約45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～約35個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約25個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約15個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド又は1個～約5個のヌクレオチド)が欠如していてもよい。

10

20

30

40

50

【0076】

本明細書に記載されるタンパク質のいずれかの幾つかの実施形態は、インターロイキン-7受容体の鎖の細胞内ドメイン(例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知のインターロイキン-7受容体の鎖の例示的な細胞内ドメインのいずれか)を更に含み得る。

【0077】

本明細書に記載されるタンパク質のいずれかの幾つかの実施形態は、インターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメイン(例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知のインターロイキン-7受容体の鎖の例示的な細胞外ドメインのいずれか)を更に含み得る。

【0078】

本明細書に記載されるタンパク質のいずれかの幾つかの実施形態は、インターロイキン-7受容体の鎖の膜貫通ドメインとインターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメイン(例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知のインターロイキン-7受容体の鎖の例示的な細胞外ドメインのいずれか)との間に位置するリンカー配列(例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のいずれか)を更に含み得る。

【0079】

本明細書に記載されるタンパク質のいずれかの幾つかの実施形態は、インターロイキン-7受容体の鎖の膜貫通ドメインとインターロイキン-7受容体の鎖の細胞内ドメイン(例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知のインターロイキン-7受容体の鎖の例示的な細胞内ドメインのいずれか)との間に位置する付加的なリンカー配列(例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知の例示的な付加的なリンカー配列のいずれか)を更に含み得る。

【0080】

幾つかの実施形態では、タンパク質は、そのN末端にシグナル配列を更に含む。幾つかの実施形態では、シグナル配列は、配列 M L L L V T S L L L C E L P H P A F L L I P (配列番号10)を含むか又はこの配列である。幾つかの実施形態では、シグナル配列をコードする核酸は、配列 a t g c t c c t g c t c g t g a c t t c a c t t c t t c t c t g t g a a c t c c c a c a c c c c g c g t t t t t g c t t a t c c c t (配列番号81)を含むか又はこの配列である。シグナル配列の付加的な例が当該技術分野で既知である。例えば、シグナル配列は、約5アミノ酸～約30アミノ酸、約5アミノ酸～約28アミノ酸、約5アミノ酸～約26アミノ酸、約5アミノ酸～約24アミノ酸、約5アミノ酸～約22アミノ酸、約5アミノ酸～約20アミノ酸、約5アミノ酸～約18アミノ酸、約5アミノ酸～約16アミノ酸、約5アミノ酸～約14アミノ酸、約5アミノ酸～約12アミノ酸、約5アミノ酸～約10アミノ酸、約5アミノ酸～約8アミノ酸、約6アミノ酸～約30アミノ酸、約6アミノ酸～約28アミノ酸、約6アミノ酸～約26アミノ酸、約6アミノ酸～約24アミノ酸、約6アミノ酸～約22アミノ酸、約6アミノ酸～約20アミノ酸、約6アミノ酸～約18アミノ酸、約6アミノ酸～約16アミノ酸、約6アミノ酸～約14アミノ酸、約6アミノ酸～約12アミノ酸、約6アミノ酸～約10アミノ酸、約6アミノ酸～約8アミノ酸、約8アミノ酸～約30アミノ酸、約8アミノ酸～約28アミノ酸、約8アミノ酸～約26アミノ酸、約8アミノ酸～約24アミノ酸、約8アミノ酸～約22アミノ酸、約8アミノ酸～約20アミノ酸、約8アミノ酸～約18アミノ酸、約8アミノ酸～約16アミノ酸、約8アミノ酸～約14アミノ酸、約8アミノ酸～約12アミノ酸、約8アミノ酸～約10アミノ酸、約10アミノ酸～約30アミノ酸、約10アミノ酸～約28アミノ酸、約10アミノ酸～約26アミノ酸、約10アミノ酸～約24アミノ酸、約10アミノ酸～約22アミノ酸、約10アミノ酸～約20アミノ酸、約10アミノ酸～約18アミノ酸、約10アミノ酸～約16アミノ酸、約10アミノ酸～約14アミノ酸、約10アミノ酸～約12アミノ酸、約12アミノ酸～約30アミノ酸、約12アミノ酸～約28アミノ酸、約12アミノ酸～約26アミノ酸、約12アミノ酸～約24アミノ酸、約12アミノ酸～約22アミノ酸、約12アミノ酸～約20アミノ酸、約12アミノ酸～約18アミノ酸、約12アミノ酸～約16アミノ酸、約12アミノ酸～約14アミノ酸、約14アミノ酸～約30アミノ酸、約14アミノ酸～約28アミノ酸、約14アミノ酸～約26アミノ酸、約14アミノ酸～約24アミノ酸、約14アミノ酸～約22アミノ酸、約14アミノ酸～約20アミノ酸、約14アミノ酸～約18アミノ酸、約14アミノ酸～約16アミノ酸、約16アミノ酸～約30アミノ酸、約16アミノ酸～約28アミノ酸、約16アミノ酸～約26アミノ酸、約16アミノ酸～約24アミノ酸、約16アミノ酸～約22アミノ酸、約16アミノ酸～約20アミノ酸、約16アミノ酸～約18アミノ酸、約18アミノ酸～約30アミノ酸、約18アミノ酸～約28アミノ酸、約18アミノ酸～約26アミノ酸、約18アミノ酸～約24アミノ酸、約18アミノ酸～約22アミノ酸、約18アミノ酸～約20アミノ酸、約20アミノ酸～約30アミノ酸、約20アミノ酸～約28アミノ酸、約20アミノ酸～約26アミノ酸、約20アミノ酸～約24アミノ酸、約20アミノ酸～約22アミノ酸、約22アミノ酸～約30アミノ酸、約22アミノ酸～約28アミノ酸、約22アミノ酸～約26アミノ酸、約22アミノ酸～約24アミノ酸、約24アミノ酸～約30アミノ酸、約24アミノ酸～約28アミノ酸、約24アミノ酸～約26アミノ酸、約26アミノ酸～約30アミノ酸、約26アミノ酸～約28アミノ酸、又は約28アミノ酸～約30アミノ酸の長さであり得る。

【0081】

幾つかの実施形態では、タンパク質は、ペプチドタグを更に含み得る。例えば、タグを用いてキメラ膜貫通タンパク質の精製、作製及び/又は特定を容易にするのを助けることができる。幾つかの実施形態では、タグは、少なくとも6個のヒスチジン残基を含むヒスチジンタグである。タグの付加的な例が当該技術分野で既知である。

【0082】

本明細書で提供されるタンパク質のいずれかの非限定的な態様を以下に記載する。

【0083】

10

20

30

40

50

インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞外ドメイン

本明細書に記載されるタンパク質の幾つかの実施形態は、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞外ドメイン（例えば、本明細書に記載されるインターロイキン - 7 受容体の 鎖の例示的なドメインのいずれか）を更に含み得る。例えば、本明細書に記載されるタンパク質は、ヒト、マウス、ラット、サル、チンパンジー、ブタ、イヌ、ネコ又は任意の他の適切な種に由来するインターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞外ドメインを含み得る。インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞外ドメインの非限定的な例を以下に記載する。インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞外ドメインの付加的な例が当該技術分野で既知である。

【 0 0 8 4 】

幾つかの実施形態では、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞外ドメインは、インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞外ドメインであるか、又はこの細胞外ドメインを含む。例えば、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞外ドメインは、インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト 鎖の細胞外ドメイン（例えば、配列番号 1 1、配列番号 1 3 又は配列番号 1 5）を含むか、又はこの細胞外ドメインである。

インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト 鎖の例示的な細胞外ドメイン（配列番号 1 1）

GESGYAQNGLDEDAELDDYSFSCYSQLEVNGSQHSLTCAFEDPDVNI TNLEFE I CGALVEVKCLNFRKLQE I YF I ETKKF LL I GKSN I CVKVGESLTKCK I DLTT I VKPEAPFDLSVVYREGANDFVWTFNTSHLQKKYVKVLMHVDVAYRQEKDENKWT HVNLSSTKLTL LQRKLQPAAMYE I K VRS I PDHYFKGFWSEWSPSYFRTPE I NNSSGEMD

インターロイキン - 7 受容体の 鎖の野生型ヒト細胞外ドメインをコードする核酸（配列番号 1 2）

ggcgagagcggctacgcccagaacggcgacctggaggacgcccagactggacgactacagcttcagctgctacagccagctggagggaacggcagccagcacagctgacctgcgccctcgaggaccccagcgtgaacatcaccaacctggagttcgagatctgcgggcgccctgggtggagggaagtgcctgaacttcaggaagctgcaggagatctacttcatcgagaccaagaagttctgctgatcggcaagagcaacatctgctgaaggtggcgagaagagcctgacctgcaagaagatcgacctgaccacatcgatgaagcccaggcccccttcgacctgagcgtgggttacagggaggggcgccaacgacttcgtggtgaccttaacacacagccacctgcagaagaagtacgtgaaggtgctgatgcacgacgtggcctacagggcaggagaaggacgagaacaagtggaccacagtgaaacctgagcagcaccaagctgacctgctgcagaggaagctgcagcccggccatgtacgagatcaaggtgaggagcatccccgaccactacttcaagggcttctggagcgagtgaggccccagctactacttcaggacccccgagatcaacaacagcagcggcgagatggac

【 0 0 8 5 】

幾つかの実施形態では、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞外ドメインは、インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞外ドメインの配列（例えば、インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト 鎖の細胞外ドメインの配列、例えば配列番号 1 1）と少なくとも 6 0 % 同一、少なくとも 6 5 % 同一、少なくとも 7 0 % 同一、少なくとも 7 5 % 同一、少なくとも 8 0 % 同一、少なくとも 8 2 % 同一、少なくとも 8 4 % 同一、少なくとも 8 6 % 同一、少なくとも 8 8 % 同一、少なくとも 9 0 % 同一、少なくとも 9 1 % 同一、少なくとも 9 2 % 同一、少なくとも 9 4 % 同一、少なくとも 9 5 % 同一、少なくとも 9 6 % 同一、少なくとも 9 7 % 同一、少なくとも 9 8 % 同一、少なくとも 9 9 % 同一又は 1 0 0 % 同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞外ドメインは、配列番号 1 1 と 1 個 ~ 4 0 個のアミノ酸（例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、1 0 個、1 1 個、1 2 個、1 3 個、1 4 個、1 5 個、1 6 個、1 7 個、1 8 個、1 9 個、2 0 個、2 1 個、2 2 個、2 3 個、2 4 個、2 5 個、2 6 個、2 7 個、2 8 個、2 9 個、3 0 個、3 1 個、3 2 個、3 3 個、3 4 個、3 5 個、3 6 個、3 7 個、3 8 個、3 9 個又は 4 0 個のアミノ酸）が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞外ドメインは、例えば配列番号 1 1 に加えて、1 個 ~ 約 2 5 0 個の付加的なアミノ酸（例えば、1 個 ~ 約 2 0 0 個のアミノ酸、1 個 ~ 約 1 5 0 個のアミノ酸、1 個 ~ 約 1 0 0 個のアミノ酸、1 個 ~ 約 5 0 個のアミノ酸、約 5 個 ~ 約 2 5 0 個のアミノ酸、約 5 個 ~ 約 2 0 0 個のア

10

20

30

40

50

ミノ酸、約5個～約150個のアミノ酸、約5個～約100個のアミノ酸、約5個～約50個のアミノ酸、約10個～約250個のアミノ酸、約10個～約200個のアミノ酸、約10個～約150個のアミノ酸、約10個～約100個のアミノ酸又は約10個～約50個のアミノ酸)を更に含み得る。付加的又は代替的には、インターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメインは、インターロイキン-7受容体の野生型鎖の細胞外ドメインの配列のN末端からの1個～10個のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個のアミノ酸)の欠失、及び(i i)インターロイキン-7受容体の野生型鎖の細胞外ドメインの配列のC末端からの1個～10個(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個)のアミノ酸の欠失の一方又は両方を有するインターロイキン-7受容体の野生型鎖の細胞外ドメインの配列(例えば、インターロイキン-7受容体の野生型ヒト鎖の細胞外ドメインの配列、例えば配列番号11)である。

10

【0086】

幾つかの実施形態では、インターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメインをコードする核酸は、配列番号12と少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、インターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメインをコードする核酸は、配列番号12と1個～60個のヌクレオチド(例えば、1個～55個のヌクレオチド、1個～50個のヌクレオチド、1個～45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～35個のヌクレオチド、1個～30個のヌクレオチド、1個～25個のヌクレオチド、1個～20個のヌクレオチド、1個～15個のヌクレオチド、1個～10個のヌクレオチド又は1個～5個のヌクレオチド)が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、インターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメインをコードする核酸は、例えば配列番号12に加えて1個以上の付加的なヌクレオチド(例えば、1個～約900個のヌクレオチド、1個～約850個のヌクレオチド、1個～約800個のヌクレオチド、1個～約750個のヌクレオチド、1個～約700個のヌクレオチド、1個～約650個のヌクレオチド、1個～約600個のヌクレオチド、1個～約550個のヌクレオチド、1個～約500個のヌクレオチド、1個～約450個のヌクレオチド、1個～約400個のヌクレオチド、1個～約350個のヌクレオチド、1個～約300個のヌクレオチド、1個～約250個のヌクレオチド、1個～約200個のヌクレオチド、1個～約150個のヌクレオチド、1個～約100個のヌクレオチド又は1個～約50個のヌクレオチド)を更に含み得る。付加的又は代替的には、インターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメインをコードする核酸は、配列番号12の5'末端から1個～60個のヌクレオチド(例えば、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約55個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、1個～約45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～約35個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約25個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約15個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド又は1個～約5個のヌクレオチド)が欠如していても、及び/又は配列番号12の3'末端から1個～60個のヌクレオチド(例えば、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約55個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、1個～約45個のヌクレオチド、1個～40個のヌクレオチド、1個～約35個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約25個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約15個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド又は1個～約5個のヌクレオチド)が欠如していてもよい。

20

30

40

【0087】

インターロイキン-7受容体の野生型鎖の付加的な例示的な細胞外ドメインを以下に提示する。

50

インターロイキン - 7 受容体アイソフォーム 1 の 鎖の例示的な野生型マウス細胞外ドメイン (配列番号 1 3)

ESGNAQDGDLEDADADDHSFWCHSQLEVDGSQHLLTCAFNDSDINTANLEFQICGALLRVKCLTLNKLQDIYFIKTSEFL
LIGSSNICVKLGQKNLTCKNMAINTIVKAEAPSDLKVYRKEANDFLVTFNAPHLKKKYLKKVKHVDVAYRPARGESNWT
VSLFHTRTTIPQRKLRPKAMYIEIKVRSIPHNDYFKGFVSEWSPSSTFETPEPKNQGGWD

インターロイキン - 7 受容体アイソフォーム 1 の 鎖の野生型マウス細胞外ドメインをコードする核酸 (配列番号 1 4)

gaaagtggaaatgccaggatggagacctagaagatgcagacgcggacgatcactccttctggtgccacagccagttgga
agtggatggaagtcaacatttatgacttgtgcttttaagtactcagacatcaacacagctaactctggaatttcaaatat
gtggggctcttttacgagtgaaatgcctaactcttaacaagctgcaagatatataatttataaagacatcagaattctta
ctgattggtagcagcaataatgtgtgaagcttggacaaaagaatttaacttgcaaaaatatggctataaacacaatagt
taaagccgaggctccctctgacctgaaagtcgtttatcgcaaagaagcaaatgattttttggtgacatttaatgcacctc
acttgaaaaagaaatatttaaaaaaagtaaagcatgatgtggcctaccgcccagcaaggggtgaaagcaactggacgcat
gtatctttattccacacaagaacaacaatcccacagagaaaactacgacccaaaagcaatgtatgaaatcaaagtcgatc
catccccataacgatfacttcaaaggcttctggagcgagtggagtccaagttctaccttcgaaactccagaaccaaga
atcaaggaggatgggat

10

インターロイキン - 7 受容体アイソフォーム 2 の 鎖の例示的な野生型マウス細胞外ドメイン (配列番号 1 5)

ESGNAQDGDLEDADADDHSFWCHSQLEVDGSQHLLTCAFNDSDINTANLEFQICGALLRVKCLTLNKLQDIYFIKTSEFL
LLIGSSNICVKLGQKNLTCKNMAINTIVKAEAPSDLKVYRKEANDFLVTFNAPHLKKKYLKKVKHVDVAYRPARGESNWT
HVSLFHTRTTIPQRKLRPKAMYIEIKVRSIPHNDYFKGFVSEWSPSSTFETPEPKNQGGWD

20

インターロイキン - 7 受容体変異体 2 の 鎖の野生型マウス細胞外ドメインをコードする核酸 (配列番号 1 6)

gaaagtggaaatgccaggatggagacctagaagatgcagacgcggacgatcactccttctggtgccacagccagttgga
agtggatggaagtcaacatttatgacttgtgcttttaagtactcagacatcaacacagctaactctggaatttcaaatat
gtggggctcttttacgagtgaaatgcctaactcttaacaagctgcaagatatataatttataaagacatcagaattctta
ctgattggtagcagcaataatgtgtgaagcttggacaaaagaatttaacttgcaaaaatatggctataaacacaatagt
taaagccgaggctccctctgacctgaaagtcgtttatcgcaaagaagcaaatgattttttggtgacatttaatgcacctc
acttgaaaaagaaatatttaaaaaaagtaaagcatgatgtggcctaccgcccagcaaggggtgaaagcaactggacgcat
gtatctttattccacacaagaacaacaatcccacagagaaaactacgacccaaaagcaatgtatgaaatcaaagtcgatc
catccccataacgatfacttcaaaggcttctggagcgagtggagtccaagttctaccttcgaaactccagaaccaaga
atcaaggaggatgggat

30

【 0 0 8 8 】

幾つかの実施形態では、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞外ドメインは、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の野生型細胞外ドメインの配列の N 末端から 1 個 ~ 1 0 個 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個又は 1 0 個) のアミノ酸が除去されたインターロイキン - 7 受容体の 鎖の野生型細胞外ドメインの配列 (例えば、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の成熟野生型細胞外ドメイン、例えば本明細書に記載されるインターロイキン - 7 受容体の 鎖の成熟野生型細胞外ドメインのいずれか、例えば配列番号 1 1、配列番号 1 3 又は配列番号 1 5) である。幾つかの実施形態では、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞外ドメインは、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の野生型細胞外ドメインの配列の C 末端から 1 個 ~ 1 0 個 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個又は 1 0 個) のアミノ酸が除去されたインターロイキン - 7 受容体の 鎖の野生型細胞外ドメインの配列 (例えば、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の成熟野生型細胞外ドメイン、例えば本明細書に記載されるインターロイキン - 7 受容体の 鎖の成熟野生型細胞外ドメインのいずれか、例えば配列番号 1 1、配列番号 1 3 又は配列番号 1 5) である。幾つかの実施形態では、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞外ドメインは、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の野生型細胞外ドメインの配列の N 末端からの 1 個 ~ 1 0 個 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個又は 1 0 個) のアミノ酸の除去、及びインターロイキン - 7 受容体

40

50

の鎖の野生型細胞外ドメインの配列のC末端からの1個～10個(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個)のアミノ酸の除去の両方を有するインターロイキン-7受容体の鎖の野生型細胞外ドメインの配列(例えば、インターロイキン-7受容体の鎖の成熟野生型細胞外ドメイン、例えば本明細書に記載されるインターロイキン-7受容体の鎖の成熟野生型細胞外ドメインのいずれか、例えば配列番号11、配列番号13又は配列番号15)である。

【0089】

当業者に理解されるように、インターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメインをコードする核酸が配列番号12、配列番号14又は配列番号16と比較して1つ以上の付加的なヌクレオチドを含むか又は欠いている場合、ナンセンスコドンが導入されず、完全なタンパク質が翻訳され得るように翻訳リーディングフレームを依然として維持する必要がある(例えば、インターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメインをコードする核酸は、3つ又はその倍数のヌクレオチドを含むか又は欠くことができる)。

10

【0090】

当業者が理解し得るように、異なる種に由来するインターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメイン間で保存されていないアミノ酸が突然変異する(例えば、異なるアミノ酸で置換される)場合、それらがインターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメインの1つ以上の活性のレベルの低下を引き起こす可能性はより低い。対照的に、異なる種に由来するインターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメイン間で保存されているアミノ酸が突然変異する(例えば、異なるアミノ酸で置換される)場合、それらがインターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメインの1つ以上の活性のレベルの低下を引き起こす可能性はより高い。この知識を考慮して、当業者は、インターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメインの活性を低下させることなく置換することができるインターロイキン-7受容体の鎖の細胞外ドメイン中のアミノ酸位置(例えば、非保存アミノ酸)を選択することができる。

20

【0091】

キメラ膜貫通タンパク質

細胞外IL-15ドメイン(例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知の例示的な細胞外IL-15ドメインのいずれか)と、インターロイキン-15受容体の鎖に由来する細胞外sushiドメイン(例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知のインターロイキン-15受容体の鎖に由来する例示的な細胞外sushiドメインのいずれかの1つ以上)と、インターロイキン-7受容体の鎖の膜貫通ドメイン(例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知のインターロイキン-7受容体の鎖の例示的な膜貫通ドメインのいずれか)とを含むキメラ膜貫通タンパク質が本明細書で提供される。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、細胞外IL-15ドメインとインターロイキン-15受容体の鎖に由来する細胞外sushiドメインとの間に位置するリンカー配列(例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のいずれか)を含む。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、インターロイキン-15受容体の鎖に由来する細胞外sushiドメインとインターロイキン-7受容体の鎖の膜貫通ドメインとの間に位置する付加的なリンカー(例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知の例示的なリンカー配列のいずれか)を更に含む。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、インターロイキン-7受容体の鎖の細胞内ドメイン(例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知のインターロイキン-7受容体の鎖の例示的な細胞内ドメインのいずれか)を更に含み得る。

30

40

【0092】

幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、配列番号17(下に示す)を含むか又は配列番号17である。

例示的なキメラ膜貫通タンパク質(配列番号17)

NWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVLSLESGDASIHDTVENLII LANNSLSSNGNV

50

TESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHI VQMF I NTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSLQ I TCPPPMSVEHAD I WVKSYS
 LYSRERY I CNSGFKRKAGTSSSLTECVLNKATNVAHWTTTSLKCI RDPALVHQRPAAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPA
 ASSPSSNNTAATTAI VPGSQLMPSKSPSTGTTE I SSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTP I LLT
 I SLLSFFSVALLV I LACVLWKKR I KP I VWPSLPDHKKTLEHLCKKPRKLNLSFNPEFLDCQ I HRVDD I QARDEVEGFL
 QDTPPQLEESEKQRLGGDVQSPNCPSEDVVI TPESFGRDSSLTCLAGNVSACDAP I LSSSRSLDCRESGKNGPHVYQDL
 LLSLGTNTSTLPPPFSLQSG I LTLNPVAQQQP I LTSLGSNQEEAYVTMSSFYQNNQ

キメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸（配列番号18）

aactgggtgaatgtgatcagcgacctgaagaagatcgaggatctgatccagagcatgcacattgatgccaccctgtacac
 agaattctgatgtgcaccctagctgtaaagtgaccgccaatgaagtgttttctgctggagctgcaggtgatttctctggaaa
 gcggagatgctctatccacgacacagtgagaaatctgatcatctggccaacaatagcctgagcagcaatggcaatgtg 10
 acagagtctggctgtaaggagtgtgaggagctggaggagaagaacatcaaggagtttctgcagagctttgtgcacatcgt
 gcagatgttcatcaatacaagcagcggggggctcaggcggaggaggctctggcggaggcgaagcgggggagggggct
 caggcggcgggtccttgcatatfacaatgcccctcctccaatgtctgtggagcagcggcatatttgggtgaagtcctacagc
 ctgtacagcagagagagatacatctgcaacagcggctttaagagaaaggccggcacctcttctctgacagagtgctgtct
 gaataaggccacaaaatgtggcccactggacaacacctagcctgaagtgcattagagatcctgcccctggccaccagaggg
 ctgcccctccatctacagtgacaacagccggagtgcacctcagcctgaatctctgagcccctctggaaaagaacctgcc
 gccagctctccctagctctaaataataccgcccacacaacagccgccaatgtgctggatctcagctgatgcctagcaagtc
 tcttagcacaggcacaacagagatcagcagccacgaatcttctcacggaacaccttctcagaccaccgccaagaattggg
 agctgacagcctctgctctcaccagcctccaggagtgtatcctcaggggcactctgatacaaacaccatcctgctgacc
 atcagcatcctgagcttcttcagcgtggcccctgctgggtgatcctggcctgctgctgtggaagaaggaggatcaagccat 20
 cgtgtggcccagcctgcccgaccacaagaagacctggagcaccctgtgtaagaagcccaggaagaacctgaacgtgagct
 tcaaccccagagagcttctggactgccagatccacaggggtggacgacatccaggccagggacgaggtggagggcttctg
 caggacaccttccccagcagctggaggagagcgagaagcagagggctgggcgggcagctgcagagccccaactgcccag
 cgaggacgtgggtgatacccccgagagcttccggcagggacagcagcctgacctgctggccggcaactgagcgcctgag
 acgcccccatcctgagcagcagcaggagcctggactgcaggagagcggcaagaacggccccccacgtgtaccaggacctg
 ctgctgagcctgggaccaccaacagcaccctgccaccccccttccagcctgcagagcggcatcctgacctgaacccgt
 ggcccagggccagcccatcctgaccagcctgggcagcaaccaggaggaggcctacgtgaccatgagcagcttctaccaga
 accag

【0093】

幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、配列番号17と少なくとも60% 30
 同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくと
 も80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、
 少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92
 %同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なく
 とも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列
 を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、配列
 番号17と1個～約100個のアミノ酸（例えば、1個～約95個のアミノ酸、1個～約
 90個のアミノ酸、1個～約80個のアミノ酸、1個～約75個のアミノ酸、1個～約7
 0個のアミノ酸、1個～約65個のアミノ酸、1個～約60個のアミノ酸、1個～約55
 個のアミノ酸、1個～約50個のアミノ酸、1個～約45個のアミノ酸、1個～約40個 40
 のアミノ酸、1個～約35個のアミノ酸、1個～約30個のアミノ酸、1個～約25個の
 アミノ酸、1個～約20個のアミノ酸、1個～約15個のアミノ酸、1個～約10個のア
 ミノ酸、1個～約5個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約100個のアミノ酸、約5個の
 アミノ酸～約95個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約90個のアミノ酸、約5個のアミ
 ノ酸～約85個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約80個のアミノ酸、約5個のアミノ酸
 ～約75個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約70個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約
 65個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約60個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約55
 個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約50個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約45個の
 アミノ酸、約5個のアミノ酸～約40個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約35個のアミ
 ノ酸、約5個のアミノ酸～約30個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約25個のアミノ酸 50

、約5個のアミノ酸～約20個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約15個のアミノ酸、又は約5個のアミノ酸～約10個のアミノ酸)が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、例えば、配列番号17の配列に加えて、1個～約300個の付加的なアミノ酸(例えば、1個～約250個のアミノ酸、1個～約200個のアミノ酸、1個～約150個のアミノ酸、1個～約100個のアミノ酸、1個～約50個のアミノ酸、1個～約25個のアミノ酸、約5個～約300個のアミノ酸、約5個～約250個のアミノ酸、約5個～約200個のアミノ酸、約5個～約150個のアミノ酸、約5個～約100個のアミノ酸、約5個～約50個のアミノ酸、約10個～約300個のアミノ酸、約10個～約250個のアミノ酸、約10個～約200個のアミノ酸、約10個～約150個のアミノ酸、約10個～約100個のアミノ酸、又は約10個～約50個のアミノ酸)を含む。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、配列番号17のN末端から1個～20個のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個のアミノ酸)が除去され、及び/又は配列番号17のC末端から1個～20個のアミノ酸(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個のアミノ酸)が除去された配列番号17の配列を含む。

10

【0094】

幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸は、配列番号18と少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸は、配列番号18と1個～約300個のヌクレオチド(例えば、1個～約250個のヌクレオチド、1個～約200個のヌクレオチド、1個～約150個のヌクレオチド、1個～約100個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約300個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約250個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約200個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約150個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約100個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約50個のヌクレオチド、約10個のヌクレオチド～約300個のヌクレオチド、約10個のヌクレオチド～約250個のヌクレオチド、約10個のヌクレオチド～約200個のヌクレオチド、約10個のヌクレオチド～約150個のヌクレオチド、約10個のヌクレオチド～約100個のヌクレオチド又は約10個のヌクレオチド～約50個のヌクレオチド)が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸は、例えば配列番号18に加えて、1個以上の付加的なヌクレオチド(例えば、1個～約900個のヌクレオチド、1個～約850個のヌクレオチド、1個～約800個のヌクレオチド、1個～約750個のヌクレオチド、1個～約700個のヌクレオチド、1個～約650個のヌクレオチド、1個～約600個のヌクレオチド、1個～約550個のヌクレオチド、1個～約500個のヌクレオチド、1個～約450個のヌクレオチド、1個～約400個のヌクレオチド、1個～約350個のヌクレオチド、1個～約300個のヌクレオチド、1個～約250個のヌクレオチド、1個～約200個のヌクレオチド、1個～約150個のヌクレオチド、1個～約100個のヌクレオチド又は1個～約50個のヌクレオチド)を含む。付加的又は代替的には、キメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸は、配列番号18の5'末端から1個～60個のヌクレオチド(例えば、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約55個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、1個～約45個のヌクレオチド、1個～約40個のヌクレオチド、1個～約35個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約25個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約15個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド又は1個～約5個のヌクレオチド)が欠如していても、及び/又は配列番号18の

20

30

40

50

3'末端から1個~60個のヌクレオチド(例えば、1個~約60個のヌクレオチド、1個~約55個のヌクレオチド、1個~約50個のヌクレオチド、1個~約45個のヌクレオチド、1個~40個のヌクレオチド、1個~約35個のヌクレオチド、1個~約30個のヌクレオチド、1個~約25個のヌクレオチド、1個~約20個のヌクレオチド、1個~約15個のヌクレオチド、1個~約10個のヌクレオチド又は1個~約5個のヌクレオチド)が欠如していてもよい。

【0095】

幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、配列番号19、83、85、87又は89の1つ(下に示す)を含むか又はその配列である。

例示的なキメラ膜貫通タンパク質(配列番号19)

NWNVN|SDLKK|EDL|QSMH|DATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQV|SLESGDAS|HDTVENL|LANNSLSSNGNV
TESGCKECEELK|KEFLQSFVH|VQMF|NTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQ|TCPPMSVEHAD|WVKSYS
LYSRERY|CNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKC|IRDPALVHQRAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPA
ASSPSSNNTAATTA|VPGSQLMPSKSPSTGTTE|SSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTP|LLP
PCLT|S|LSFFSVALLV|LACVLWKKR|KP|VWPSLPDHKKTLEHLCKKPRKLNVSFNPEFLDCQ|HRVDD|QARDEV
EGFLQDTFFPQQLEESEKQRLGGDVQSPNCPSEDV|TPESFGRDSSLTCLAGNVSACDAP|LSSSRSLDCRESGKNGPHV
YQDLLLSLGTNSTLPPPFSLQSG|LTLPVAQGGP|LTSLSGNQEEAYVTMSSFYQNNQ

例示的なキメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸(配列番号20)

aactgggtgaatgtgatacagcagaccgaagaagatcgaggatctgatccagagcatgcacattgatgccaccctgtacac
agaatctgatgtgcaccctagctgtaaagtgaccgccaatgaagtgtttctgctggagctgcaggatgttctctggaaa
gaggagatgacctatccacgacacagtgagaatctgatcatcctggccaacaatagcctgagcagcaatggcaatgtg
acagagctcggcgttaaggagctgaggagcggaggagaagaacatcaaggagtctctgcagagcttctgtcacatcgt
gcagatgttcatcaatacaagcagcggggggctcaggcggaggaggctctggcggaggcggaaagcgggggagggggct
caggcggcgggtccttgagatatacagcctcctccaatgtctgtggagcagcggatattgggtgaagctctacagc
ctgtacagcagagagagatacattgcaacagcggctttaagagaaaggccggcaccctctctgcagagatgctgtct
gaaataaggccacaaaatgtggccacatggacaacaccatagcctgaagtgcattagagatcctgcccctggccaccagaggc
ctgccccctcatctacagtgacaacagccggagtgacaccctcagcctgaatctctgagccctctggaaaagaacctgcc
gccagctctcctagctctaaataaccgcccacacaacagccgccaatgtgacctggatctcagctgatgacctagcaagctc
tcttagcacaggcacaacagagatcagcagccacgaatctctcacggaacaccctctcagaccaccgccaagaattggg
agctgacagcctctgacctcaccagcctccaggagtgatcctcaggggccactctgatacaaacaccatcctgctgcca
cccgtttaaccatcagcatcctgagctctctcagcgtggccctgctggtgatcctggcctgctgctgtggaagaagag
gatcaagcccatcgtgtggccagcctgcccgaccacaagaagacctggagcaccctgtgtaagaagcccaggaagaacc
tgaacgtgagcttcaaccccgagagcttcttgacctgacagatccacagggggagcagacatccaggccaggagcagaggtg
gagggcttctgcaggacaccctccccagcagctggaggagagcgagaagcagagggctggcggcgacgtgcagagccc
caactgcccagcagggagctggatgacccccagagcttcggcagggacagcagcctgacctgacctggccggcaacg
tgagcggctgagcagcccccatcctgagcagcagcagggagcctggactgcagggagagcggcaagaacggccccacgtg
taccaggacctgctgctgagcctggcaccaccaacagcaccctgccacccccctcagcctgcagagcggcatcctgac
cctgaaccccggtggccaggccagccatcctgaccagcctgggcagcaaccaggaggaggcctacgtgacctgagca
gcttctaccagaaccag

例示的なキメラ膜貫通タンパク質(配列番号83)

NWNVN|SDLKK|EDL|QSMH|DATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQV|SLESGDAS|HDTVENL|LANNSLSSNGNV
TESGCKECEELK|KEFLQSFVH|VQMF|NTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQ|TCPPMSVEHAD|WVKSYS
LYSRERY|CNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKC|IRDPALVHQRAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPA
ASSPSSNNTAATTA|VPGSQLMPSKSPSTGTTE|SSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTP|LLT
CPT|S|LSFFSVALLV|LACVLWKKR|KP|VWPSLPDHKKTLEHLCKKPRKLNVSFNPEFLDCQ|HRVDD|QARDEVE
GFLQDTFFPQQLEESEKQRLGGDVQSPNCPSEDV|TPESFGRDSSLTCLAGNVSACDAP|LSSSRSLDCRESGKNGPHVY
QDLLLSLGTNSTLPPPFSLQSG|LTLPVAQGGP|LTSLSGNQEEAYVTMSSFYQNNQ

例示的なキメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸(配列番号84)

aactgggtgaatgtgatacagcagaccgaagaagatcgaggatctgatccagagcatgcacattgatgccaccctgtacac
agaatctgatgtgcaccctagctgtaaagtgaccgccaatgaagtgtttctgctggagctgcaggatgttctctggaaa

10

20

30

40

50

gcggagatgcctctatccacgacacagtgagaaatctgatcatcctggccaacaatagcctgagcagcaatggcaatgtg
 acagagctggcgtgtaaggagtgtgaggagctggaggagaagaacatcaaggagtttctgcagagctttgtgcacatcgt
 gcagatgttcatcaatacaagcagcgggggggctcaggcggaggaggctctggcggaggcgaagcgggggagggggct
 caggcggcgggtccttgcagatfacaatgccccctccaatgtctgtggagcacgccgatatttgggtgaagtcctacagc
 ctgtacagcagagagagatacatctgcaacagcggctttaagagaaaggccggcacctcttctctgacagagtgctgtct
 gaataaggccacaaaatgtggcccactggacaacacctagcctgaagtgcattagagatcctgccccgttccaccagaggc
 ctgccccccaatctacagtgacaacagccggagtgcacctcagcctgaatctctgagccccctctggaaaagaacctgcc
 gccagctctcctagctctaaataataccgcccacacaacagccgccaatgtgcttggatctcagctgatgcttagcaagtc
 tccctagcacaggcacaacagagatcagcagccacgaatcttctcacggaacaccttctcagaccaccgccaagaattggg
 agctgacagcctctgctctcaccagcctccaggagtgtatcctcaggggccactctgatacaacacccatcctgctgacc
 tggccccacatcagcatcctgagcttctcagcgtggccccctgctgggtgatcctggcctgctgtctgtggaagaagaggat
 caagcccatcgtgtggcccagcctgcccgaccacaagaagacctggagcaccctgtgtaagaagcccaggaagaacctga
 acgtgagcttcaaccccgagagcttccctggactgccagatccacaggggtggacgacatccaggccagggacgagggtggag
 ggcctctctgacggacaccttccccagcagctggaggagagcgagaagcagaggctgggcccgcagctgcagagccccaa
 ctgccccagcagggacgtgggtgatccccccgagagcttccggcagggacagcagcctgacctgcttggccggcaacgtga
 gcgctgagcagcccccaatcctgagcagcagcaggagcctggactgcagggagagcggcaagaacggccccccacgtgtac
 caggacctgctgctgagcctgggaccaccaacagcaccctgccaccccccttccagcctgcagagcggcatcctgacct
 gaaccccggtggcccaggccagcccaatcctgaccagcctgggcagcaaccaggaggaggcctacgtgaccatgagcagct
 tctaccagaaccag

10

例示的なキメラ膜貫通タンパク質 (配列番号 85)

20

NWNVN|SDLKK|EDL|QSMH|DATLYTESDVHPSCCKVTAMKCFLELQV|SLESGDAS|HDTVENL|LANNSLSSNGNV
 TESGCKECEELK|KEFLQSFVH|VQMF|NTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQ|TCPPPMSEHAD|WVKSYS
 LYRERY|CNSGFKRKAGTSSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKC|IRDPALVHQRAPPSTVTTAGV|TPQPESLSPSGKEPA
 ASSPSSNNTAATTA|VPGSQLMPSKSPSTGTTE|SSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTP|LLM
 CPTIS|LSFFSVALLV|LACVLWKKR|KPVWPSLPDHKKTLLEHLCKKPRKLNLSFNPEFLDCQ|HRVDD|QARDEVE
 GFLQDTPFQQLLESEKQRLGGDVQSPNCPSEDV|TPESFGRDSSLTCLAGNV|SACDAP|LSSSRSLDCRESGKNGPHVY
 QDLLLLSLGTTNSTLPPFSLQSG|LTLNPVAQGGP|LTLGSLNQEAYVTMSSFYQNN

例示的なキメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸 (配列番号 86)

aactgggtgaaatgtgatcagcagacctgaagaagatcgaggatctgatccagagcatgcacattgatgccacctgtacac
 agaattctgatgtgcacctagctgtaaagtgaccgccaatgaagtgttttctgctggagctgcaggtgatcttctctggaaa
 gcggagatgccctatccacgacacagtgagaaatctgatcatcctggccaacaatagcctgagcagcaatggcaatgtg
 acagagcttggcgtgtaaggagtgtgaggagctggaggagaagaacatcaaggagtttctgcagagctttgtgcacatcgt
 gcagatgttcatcaatacaagcagcgggggggctcaggcggaggaggctctggcggaggcgaagcgggggagggggct
 caggcggcgggtccttgcagatfacaatgccccctccaatgtctgtggagcacgccgatatttgggtgaagtcctacagc
 ctgtacagcagagagagatacatctgcaacagcggctttaagagaaaggccggcacctcttctctgacagagtgctgtct
 gaataaggccacaaaatgtggcccactggacaacacctagcctgaagtgcattagagatcctgccccgttccaccagaggc
 ctgccccccaatctacagtgacaacagccggagtgcacctcagcctgaatctctgagccccctctggaaaagaacctgcc
 gccagctctcctagctctaaataataccgcccacacaacagccgccaatgtgcttggatctcagctgatgcttagcaagtc
 tccctagcacaggcacaacagagatcagcagccacgaatcttctcacggaacaccttctcagaccaccgccaagaattggg
 agctgacagcctctgctctcaccagcctccaggagtgtatcctcaggggccactctgatacaacacccatcctgctgatg
 tggccccacatcagcatcctgagcttctcagcgtggccccctgctgggtgatcctggcctgctgtctgtggaagaagaggat
 caagcccatcgtgtggcccagcctgcccgaccacaagaagacctggagcaccctgtgtaagaagcccaggaagaacctga
 acgtgagcttcaaccccgagagcttccctggactgccagatccacaggggtggacgacatccaggccagggacgagggtggag
 ggcctctctgacggacaccttccccagcagctggaggagagcgagaagcagaggctgggcccgcagctgcagagccccaa
 ctgccccagcagggacgtgggtgatccccccgagagcttccggcagggacagcagcctgacctgcttggccggcaacgtga
 gcgctgagcagcccccaatcctgagcagcagcaggagcctggactgcagggagagcggcaagaacggccccccacgtgtac
 caggacctgctgctgagcctgggaccaccaacagcaccctgccaccccccttccagcctgcagagcggcatcctgacct
 gaaccccggtggcccaggccagcccaatcctgaccagcctgggcagcaaccaggaggaggcctacgtgaccatgagcagct
 tctaccagaaccag

30

40

例示的なキメラ膜貫通タンパク質 (配列番号 87)

50

NWNV | SDLKK | EDL | QSMH | DATLYTESDVHPSCKV | TAMKCFLELQV | SLESGDAS | HDTVENL | LANNSLSSNGNV
 TEGCKECEEELEEKN | KEFLQSFVH | VQMF | INTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSLQ | TCPPPMSVEHAD | WVKSYS
 LYRERY | CNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPLK | RDPALVHQRAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPA
 ASSPSSNNTAATTA | VPGSQLMPSKSPSTGTTE | SSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTP | LLT
 | S | LSFFSVEKAV | LACVLWKKR | KP | VWPSLPDHKKTLEHLCKKPRKLNLSFNPEFLDCQ | HRVDD | QARDEVEGFL
 QDTPPQLEESEKQRLGGDVQSPNCPSEDVV | TPESFGRDSSLTCLAGNVSACDAP | LSSSRSLDCRESGKNGPHVYQDL
 LLSLGTNSTLPPPFSLQSG | LTLNPVAQGQP | LTSLGSNQEEAYVTMSSFYQNNQ

例示的なキメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸 (配列番号 88)

aac tgggt gaa t g t g a t c a g c g a c c t g a a g a a g a t c g a g g a t c t g a t c c a g a g c a t g c a c a t t g a t g c c a c c c t g t a c a c
 a g a a t c t g a t g t g c a c c c t a g c t g t a a a g t g a c c g c c a t g a a g t g t t t c t g c t g g a g c t g c a g g t g a t t t c t c t g g a a a
 g c g g a g a t g c c t c t a t c c a c g a c a c a g t g g a g a a t c t g a t c a t c c t g g c c a a c a a t a g c c t g a g c a g c a a t g g c a a t g t g
 a c a g a g t c t g g c t g t a a g g a g t g t g a g g a g c t g g a g g a g a a g a a c a t c a a g g a g t t t c t g c a g a g c t t t g t g c a c a t c g t
 g c a g a t g t t c a t c a a t a c a a g c a g c g g t g g g g g c t c a g g c g g a g g a g g c t c t g g c g g a g g c g g a a g c g g g g g a g g g g g c t
 c a g g c g g c g g g t c c t t g c a g a t t a c a t g c c c t c c t c c a a t g t c t g t g g a g c a c g c c g a t a t t t g g g t g a a g t c c t a c a g c
 c t g t a c a g c a g a g a g a t a c a t c t g c a a c a g c g g c t t a a g a g a a a g g c c g g c a c c t c t t c t c t g a c a g a g t g c g t g c t
 g a a t a a g g c c a c a a a t g t g g c c c a c t g g a c a a c a c c t a g c c t g a a g t g c a t t a g a g a t c c t g c c c t g g t c c a c c a g a g g c
 c t g c c c c t c c a t c t a c a g t g a c a a c a g c c g g a g t g a c a c c t c a g c c t g a a t c t c t g a g c c c t t c t g g a a a g a a c c t g c c
 g c c a g c t c t c c t a g c t c t a a t a a t a c c g c c g c c a c a a c a g c c g c c a t t g t g c c t g g a t c t c a g c t g a t g c c t a g c a a g t c
 t c c t a g c a c a g g c a c a a c a g a g a t c a g c a g c c a c g a a t c t t c t c a c g g a a c a c c t t c t c a g a c c a c c g c c a a g a a t t g g g
 a g c t g a c a g c c t c t g c c t c t c a c c a g c c t c c a g g a g t g t a t c c t c a g g g c c a c t c t g a t a c a a c a c c c a t c c t g c t g a c c
 a t c a g c a t c c t g a g c t t c t t c a g c g t g g a g a a g g c c g t g a t c c t g g c c t g c g t g c t g t g g a a g a a g a g g a t c a a g c c c a t
 c g t g t g g c c c a g c c t g c c c g a c c a c a a g a a g a c c c t g g a g c a c c t g t g t a a g a a g c c c a g g a a g a a c c t g a a c g t g a g c t
 t c a a c c c c g a g a g c t t c c t g g a c t g c c a g a t c c a c a g g g t g g a c g a c a t c c a g g c c a g g g a c g a g g t g g a g g g c t t c c t g
 c a g g a c a c c t t c c c c c a g c a g c t g g a g g a g a g c g a g a a g c a g a g g c t g g g c g g c g a c g t g c a g a g c c c c a a c t g c c c c a g
 c g a g g a c g t g g t g a t c a c c c c c g a g a g c t t c g g c a g g a c a g c a g c c t g a c c t g c c t g g c c g g c a a c g t g a g c g c c t g c g
 a c g c c c c a t c c t g a g c a g c a g c a g g a g c c t g g a c t g c a g g g a g a g c g g c a a g a a c g g c c c c a c g t g t a c c a g g a c c t g
 c t g c t g a g c c t g g g c a c c a c a a c a g c a c c c t g c c a c c c c c t t c a g c c t g c a g a g c g g c a t c c t g a c c c t g a a c c c g t
 g g c c a g g g c c a g c c c a t c c t g a c c a g c c t g g g c a g c a a c c a g g a g g a g g c c t a c g t g a c c a t g a g c a g c t t c t a c c a g a
 a c c a g

10

20

例示的なキメラ膜貫通タンパク質 (配列番号 89)

NWNV | SDLKK | EDL | QSMH | DATLYTESDVHPSCKV | TAMKCFLELQV | SLESGDAS | HDTVENL | LANNSLSSNGNV
 TEGCKECEEELEEKN | KEFLQSFVH | VQMF | INTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSLQ | TCPPPMSVEHAD | WVKSYS
 LYRERY | CNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPLK | RDPALVHQRAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPA
 ASSPSSNNTAATTA | VPGSQLMPSKSPSTGTTE | SSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTP | LLT
 | S | LSFFSVEKVV | LACVLWKKR | KP | VWPSLPDHKKTLEHLCKKPRKLNLSFNPEFLDCQ | HRVDD | QARDEVEGFL
 QDTPPQLEESEKQRLGGDVQSPNCPSEDVV | TPESFGRDSSLTCLAGNVSACDAP | LSSSRSLDCRESGKNGPHVYQDL
 LLSLGTNSTLPPPFSLQSG | LTLNPVAQGQP | LTSLGSNQEEAYVTMSSFYQNNQ

例示的なキメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸 (配列番号 90)

aac tgggt gaa t g t g a t c a g c g a c c t g a a g a a g a t c g a g g a t c t g a t c c a g a g c a t g c a c a t t g a t g c c a c c c t g t a c a c
 a g a a t c t g a t g t g c a c c c t a g c t g t a a a g t g a c c g c c a t g a a g t g t t t c t g c t g g a g c t g c a g g t g a t t t c t c t g g a a a
 g c g g a g a t g c c t c t a t c c a c g a c a c a g t g g a g a a t c t g a t c a t c c t g g c c a a c a a t a g c c t g a g c a g c a a t g g c a a t g t g
 a c a g a g t c t g g c t g t a a g g a g t g t g a g g a g c t g g a g g a g a a g a a c a t c a a g g a g t t t c t g c a g a g c t t t g t g c a c a t c g t
 g c a g a t g t t c a t c a a t a c a a g c a g c g g t g g g g g c t c a g g c g g a g g a g g c t c t g g c g g a g g c g g a a g c g g g g g a g g g g g c t
 c a g g c g g c g g g t c c t t g c a g a t t a c a t g c c c t c c t c c a a t g t c t g t g g a g c a c g c c g a t a t t t g g g t g a a g t c c t a c a g c
 c t g t a c a g c a g a g a g a t a c a t c t g c a a c a g c g g c t t a a g a g a a a g g c c g g c a c c t c t t c t c t g a c a g a g t g c g t g c t
 g a a t a a g g c c a c a a a t g t g g c c c a c t g g a c a a c a c c t a g c c t g a a g t g c a t t a g a g a t c c t g c c c t g g t c c a c c a g a g g c
 c t g c c c c t c c a t c t a c a g t g a c a a c a g c c g g a g t g a c a c c t c a g c c t g a a t c t c t g a g c c c t t c t g g a a a g a a c c t g c c
 g c c a g c t c t c c t a g c t c t a a t a a t a c c g c c g c c a c a a c a g c c g c c a t t g t g c c t g g a t c t c a g c t g a t g c c t a g c a a g t c
 t c c t a g c a c a g g c a c a a c a g a g a t c a g c a g c c a c g a a t c t t c t c a c g g a a c a c c t t c t c a g a c c a c c g c c a a g a a t t g g g
 a g c t g a c a g c c t c t g c c t c t c a c c a g c c t c c a g g a g t g t a t c c t c a g g g c c a c t c t g a t a c a a c a c c c a t c c t g c t g a c c

40

50

atcagcatcctgagcttcttcagcgtggagaaggaggatcctggcctgctgctgtggaagaaggatcaagccat
 cgtgtggcccagcctgcccaccacaagaagaccctggagcacctgtgtaagaagcccaggaagaacctgaacgtgagct
 tcaaccccgagagcttcttgactgccagatccacagggaggacgacatccaggccagggacgaggtggagggcttctg
 caggacaccttccccagcagctggaggagagcgagaagcagagggctgggcgggcagctgcagagccccaactgccccag
 cgaggacgtgggtgacaccccgagagcttcggcagggacagcagcctgacctgcctggccggcaacgtgagcgcctgag
 acgcccccatcctgagcagcagcaggagcctggactgcagggagagcggcaagaacggccccccacgtgtaccaggacctg
 ctgctgagcctgggaccaccaacagcaccttccaccccccttcagcctgcagagcggcatcctgacctgaaccccg
 ggcccagggccagcccatcctgaccagcctgggagcaaccaggaggagcctacgtgacctgagcagcttctaccaga
 accag

【 0 0 9 6 】

10

幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、配列番号19、83、85、87
 又は89と少なくとも60%同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少な
 くとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同
 一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも
 91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少
 なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%
 同一又は100%同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、キ
 メラ膜貫通タンパク質は、配列番号19、83、85、87、又は89と1個～約100個
 のアミノ酸（例えば、1個～約95個のアミノ酸、1個～約90個のアミノ酸、1個～約
 80個のアミノ酸、1個～約75個のアミノ酸、1個～約70個のアミノ酸、1個～約6
 5個のアミノ酸、1個～約60個のアミノ酸、1個～約55個のアミノ酸、1個～約50
 個のアミノ酸、1個～約45個のアミノ酸、1個～約40個のアミノ酸、1個～約35個
 のアミノ酸、1個～約30個のアミノ酸、1個～約25個のアミノ酸、1個～約20個の
 アミノ酸、1個～約15個のアミノ酸、1個～約10個のアミノ酸、1個～約5個のアミ
 ノ酸、約5個のアミノ酸～約100個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約95個のアミ
 ノ酸、約5個のアミノ酸～約90個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約85個のアミ
 ノ酸、約5個のアミノ酸～約80個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約75個のアミ
 ノ酸、約5個のアミノ酸～約70個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約65個のアミ
 ノ酸、約5個のアミノ酸～約60個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約55個のアミ
 ノ酸、約5個のアミノ酸～約50個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約45個のアミ
 ノ酸、約5個のアミノ酸～約40個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約35個のアミ
 ノ酸、約5個のアミノ酸～約30個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約25個のアミ
 ノ酸、約5個のアミノ酸～約20個のアミノ酸、約5個のアミノ酸～約15個のアミ
 ノ酸、又は約5個のアミノ酸～約10
 個のアミノ酸）が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は
 、例えば、配列番号19、83、85、87、又は89の配列に加えて、1個～約300
 個の付加的なアミノ酸（例えば、1個～約250個のアミノ酸、1個～約200個のアミ
 ノ酸、1個～約150個のアミノ酸、1個～約100個のアミノ酸、1個～約50個のア
 ミノ酸、1個～約25個のアミノ酸、約5個～約300個のアミノ酸、約5個～約250
 個のアミノ酸、約5個～約200個のアミノ酸、約5個～約150個のアミノ酸、約5個
 ～約100個のアミノ酸、約5個～約50個のアミノ酸、約10個～約300個のアミノ
 酸、約10個～約250個のアミノ酸、約10個～約200個のアミノ酸、約10個～約
 150個のアミノ酸、約10個～約100個のアミノ酸、又は約10個～約50個のアミ
 ノ酸）を含む。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、配列番号19、83
 、85、87又は89のN末端から1個～20個のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個
 、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、1
 5個、16個、17個、18個、19個又は20個のアミノ酸）が除去され、及び/又は
 配列番号19、83、85、87又は89のC末端から1個～20個のアミノ酸（例えば
 、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、
 13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個のアミノ酸）が除
 去された配列番号19、83、85、97又は89の配列を含む。

20

30

40

50

【 0 0 9 7 】

幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸は、配列番号 20、84、86、88 又は 90 と少なくとも 80% 同一、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 91% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 95% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 97% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一又は 100% 同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸は、配列番号 20、84、86、88 又は 90 と 1 個～約 300 個のヌクレオチド（例えば、1 個～約 250 個のヌクレオチド、1 個～約 200 個のヌクレオチド、1 個～約 150 個のヌクレオチド、1 個～約 100 個のヌクレオチド、1 個～約 50 個のヌクレオチド、約 5 個のヌクレオチド～約 300 個のヌクレオチド、約 5 個のヌクレオチド～約 250 個のヌクレオチド、約 5 個のヌクレオチド～約 200 個のヌクレオチド、約 5 個のヌクレオチド～約 150 個のヌクレオチド、約 5 個のヌクレオチド～約 100 個のヌクレオチド、約 5 個のヌクレオチド～約 50 個のヌクレオチド、約 10 個のヌクレオチド～約 300 個のヌクレオチド、約 10 個のヌクレオチド～約 250 個のヌクレオチド、約 10 個のヌクレオチド～約 200 個のヌクレオチド、約 10 個のヌクレオチド～約 150 個のヌクレオチド、約 10 個のヌクレオチド～約 100 個のヌクレオチド又は約 10 個のヌクレオチド～約 50 個のヌクレオチド）が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸は、例えば配列番号 20、84、86、88 又は 90 に加えて、1 個以上の付加的なヌクレオチド（例えば、1 個～約 900 個のヌクレオチド、1 個～約 850 個のヌクレオチド、1 個～約 800 個のヌクレオチド、1 個～約 750 個のヌクレオチド、1 個～約 700 個のヌクレオチド、1 個～約 650 個のヌクレオチド、1 個～約 600 個のヌクレオチド、1 個～約 550 個のヌクレオチド、1 個～約 500 個のヌクレオチド、1 個～約 450 個のヌクレオチド、1 個～約 400 個のヌクレオチド、1 個～約 350 個のヌクレオチド、1 個～約 300 個のヌクレオチド、1 個～約 250 個のヌクレオチド、1 個～約 200 個のヌクレオチド、1 個～約 150 個のヌクレオチド、1 個～約 100 個のヌクレオチド又は 1 個～約 50 個のヌクレオチド）を含む。付加的又は代替的には、キメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸は、配列番号 20、84、86、88 又は 90 の 5' 末端から 1 個～60 個のヌクレオチド（例えば、1 個～約 60 個のヌクレオチド、1 個～約 55 個のヌクレオチド、1 個～約 50 個のヌクレオチド、1 個～約 45 個のヌクレオチド、1 個～約 40 個のヌクレオチド、1 個～約 35 個のヌクレオチド、1 個～約 30 個のヌクレオチド、1 個～約 25 個のヌクレオチド、1 個～約 20 個のヌクレオチド、1 個～約 15 個のヌクレオチド、1 個～約 10 個のヌクレオチド又は 1 個～約 5 個のヌクレオチド）が欠如していても、及び/又は配列番号 20、84、86、88 又は 90 の 3' 末端から 1 個～60 個のヌクレオチド（例えば、1 個～約 60 個のヌクレオチド、1 個～約 55 個のヌクレオチド、1 個～約 50 個のヌクレオチド、1 個～約 45 個のヌクレオチド、1 個～約 40 個のヌクレオチド、1 個～約 35 個のヌクレオチド、1 個～約 30 個のヌクレオチド、1 個～約 25 個のヌクレオチド、1 個～約 20 個のヌクレオチド、1 個～約 15 個のヌクレオチド、1 個～約 10 個のヌクレオチド又は 1 個～約 5 個のヌクレオチド）が欠如していてもよい。

10

20

30

40

【 0 0 9 8 】

幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質（例えば、成熟又は前駆タンパク質）は、約 210 アミノ酸～約 650 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 640 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 620 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 600 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 580 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 560 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 540 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 520 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 500 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 480 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 460 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 440 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 420 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 400 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 380 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 360 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 340 アミノ酸、約 210 アミノ酸～約 32

50

酸、約500アミノ酸～約640アミノ酸、約500アミノ酸～約620アミノ酸、約500アミノ酸～約600アミノ酸、約500アミノ酸～約580アミノ酸、約500アミノ酸～約560アミノ酸、約500アミノ酸～約540アミノ酸、約500アミノ酸～約520アミノ酸、約520アミノ酸～約650アミノ酸、約520アミノ酸～約640アミノ酸、約520アミノ酸～約620アミノ酸、約520アミノ酸～約600アミノ酸、約520アミノ酸～約580アミノ酸、約520アミノ酸～約560アミノ酸、約520アミノ酸～約540アミノ酸、約540アミノ酸～約650アミノ酸、約540アミノ酸～約640アミノ酸、約540アミノ酸～約620アミノ酸、約540アミノ酸～約600アミノ酸、約540アミノ酸～約580アミノ酸、約540アミノ酸～約560アミノ酸、約560アミノ酸～約650アミノ酸、約560アミノ酸～約640アミノ酸、約560アミノ酸～約620アミノ酸、約560アミノ酸～約600アミノ酸、約560アミノ酸～約580アミノ酸、約580アミノ酸～約650アミノ酸、約580アミノ酸～約640アミノ酸、約580アミノ酸～約620アミノ酸、約580アミノ酸～約600アミノ酸、約600アミノ酸～約650アミノ酸、約600アミノ酸～約640アミノ酸、約600アミノ酸～約620アミノ酸、約620アミノ酸～約650アミノ酸、約620アミノ酸～約640アミノ酸、又は約630アミノ酸～約650アミノ酸の長さであり得る。

10

【0099】

幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、そのN末端にシグナル配列を更に含む。幾つかの実施形態では、シグナル配列は、配列MDWTWILFLVAAATRVHS（配列番号21）を含むか又はこの配列である。幾つかの実施形態では、シグナル配列をコードする核酸は、配列atggattggacctggattctgtttctgtgtggccgctgccaagaagtgcacagc（配列番号91）を含むか又はこの配列である。シグナル配列の付加的な例が当該技術分野で既知である。例えば、シグナル配列は、約5アミノ酸～約30アミノ酸、約5アミノ酸～約28アミノ酸、約5アミノ酸～約26アミノ酸、約5アミノ酸～約24アミノ酸、約5アミノ酸～約22アミノ酸、約5アミノ酸～約20アミノ酸、約5アミノ酸～約18アミノ酸、約5アミノ酸～約16アミノ酸、約5アミノ酸～約14アミノ酸、約5アミノ酸～約12アミノ酸、約5アミノ酸～約10アミノ酸、約5アミノ酸～約8アミノ酸、約6アミノ酸～約30アミノ酸、約6アミノ酸～約28アミノ酸、約6アミノ酸～約26アミノ酸、約6アミノ酸～約24アミノ酸、約6アミノ酸～約22アミノ酸、約6アミノ酸～約20アミノ酸、約6アミノ酸～約18アミノ酸、約6アミノ酸～約16アミノ酸、約6アミノ酸～約14アミノ酸、約6アミノ酸～約12アミノ酸、約6アミノ酸～約10アミノ酸、約6アミノ酸～約8アミノ酸、約8アミノ酸～約30アミノ酸、約8アミノ酸～約28アミノ酸、約8アミノ酸～約26アミノ酸、約8アミノ酸～約24アミノ酸、約8アミノ酸～約22アミノ酸、約8アミノ酸～約20アミノ酸、約8アミノ酸～約18アミノ酸、約8アミノ酸～約16アミノ酸、約8アミノ酸～約14アミノ酸、約8アミノ酸～約12アミノ酸、約8アミノ酸～約10アミノ酸、約10アミノ酸～約30アミノ酸、約10アミノ酸～約28アミノ酸、約10アミノ酸～約26アミノ酸、約10アミノ酸～約24アミノ酸、約10アミノ酸～約22アミノ酸、約10アミノ酸～約20アミノ酸、約10アミノ酸～約18アミノ酸、約10アミノ酸～約16アミノ酸、約10アミノ酸～約14アミノ酸、約10アミノ酸～約12アミノ酸、約12アミノ酸～約30アミノ酸、約12アミノ酸～約28アミノ酸、約12アミノ酸～約26アミノ酸、約12アミノ酸～約24アミノ酸、約12アミノ酸～約22アミノ酸、約12アミノ酸～約20アミノ酸、約12アミノ酸～約18アミノ酸、約12アミノ酸～約16アミノ酸、約12アミノ酸～約14アミノ酸、約14アミノ酸～約30アミノ酸、約14アミノ酸～約28アミノ酸、約14アミノ酸～約26アミノ酸、約14アミノ酸～約24アミノ酸、約14アミノ酸～約22アミノ酸、約14アミノ酸～約20アミノ酸、約14アミノ酸～約18アミノ酸、約14アミノ酸～約16アミノ酸、約16アミノ酸～約30アミノ酸、約16アミノ酸～約28アミノ酸、約16アミノ酸～約26アミノ酸、約16アミノ酸～約24アミノ酸、約16アミノ酸～約22アミノ酸、

20

30

40

50

AESGCKECEEELEKTFTEFLQSFIRIVQMFINTS

マウス IL - 15 変異体 A をコードする核酸 (配列番号 27)

aactggatagatgtaagatatgacctggagaaaattgaaagcctattcaatctattcatattgacaccactttatacac
tgacagtgactttcatcccagttgcaaagttactgcaatgaactgctttctcctggaattgcagggtatftttacatgagt
acagtaacatgactcttaataaagacagtaagaaacgtgctctaccttgcaaacagcactctgtcttctaacaagaatgta
gcagaatctggctgcaaggaaatgtaggagctggaggagaaaaccttcacagagtttttgcaaagctttatacgcatgtg
ccaaatgttcatcaacacgtcc

例示的なマウス IL - 15 変異体 B (配列番号 28)

NWIDVRYDLEKIESLIQSIIHIDTTLTYDSDTFHPSCKVTAMNCFLELQVILHEYSNMTLNETVRNVLYLANSTLSSNKNV
AESGCKECEEELEKTFTEFLQSFIRIVQMFINTS

マウス IL - 15 変異体 B をコードする核酸 (配列番号 29)

aactggatagatgtaagatatgacctggagaaaattgaaagcctattcaatctattcatattgacaccactttatacac
tgacagtgactttcatcccagttgcaaagttactgcaatgaactgctttctcctggaattgcagggtatftttacatgagt
acagtaacatgactcttaataaagacagtaagaaacgtgctctaccttgcaaacagcactctgtcttctaacaagaatgta
gcagaatctggctgcaaggaaatgtaggagctggaggagaaaaccttcacagagtttttgcaaagctttatacgcatgtg
ccaaatgttcatcaacacgtcc

【0103】

幾つかの実施形態では、細胞外 IL - 15 ドメインは、野生型 IL - 15 タンパク質 (例えば、野生型成熟 IL - 15 タンパク質、例えば配列番号 22、24、26 又は 28) と少なくとも 60% 同一、少なくとも 65% 同一、少なくとも 70% 同一、少なくとも 75% 同一、少なくとも 80% 同一、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 85% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 91% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 93% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 95% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 97% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一又は 100% 同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、細胞外 IL - 15 ドメインは、配列番号 22、24、26、又は 28 と 1 個 ~ 25 個のアミノ酸 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個、20 個、21 個、22 個、23 個、24 個又は 25 個のアミノ酸) が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、細胞外 IL - 15 ドメインは、例えば、配列番号 22、24、26、又は 28 の配列に加えて、1 つ以上の付加的なアミノ酸 (例えば、1 個 ~ 約 100 個のアミノ酸、1 個 ~ 約 80 個のアミノ酸、1 個 ~ 約 60 個のアミノ酸、1 個 ~ 約 40 個のアミノ酸、1 個 ~ 約 20 個のアミノ酸、1 個 ~ 約 10 個のアミノ酸、約 5 個 ~ 約 100 個のアミノ酸、約 5 個 ~ 約 80 個のアミノ酸、約 5 個 ~ 約 60 個のアミノ酸、約 5 個 ~ 約 40 個のアミノ酸、約 5 個 ~ 約 20 個のアミノ酸、約 10 個 ~ 約 100 個のアミノ酸、約 10 個 ~ 約 80 個のアミノ酸、約 10 個 ~ 約 60 個のアミノ酸、約 10 個 ~ 約 40 個のアミノ酸、又は約 10 個 ~ 約 20 個のアミノ酸) を含む。付加的又は代替的には、細胞外 IL - 15 ドメインは、配列番号 22、24、26 又は 28 の配列と比較して 1 個 ~ 約 25 個のアミノ酸 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個、20 個、21 個、22 個、23 個、24 個又は 25 個のアミノ酸) が欠如していてもよい。

【0104】

幾つかの実施形態では、細胞外 IL - 15 ドメインをコードする核酸は、配列番号 23、25、27 又は 29 と少なくとも 80% 同一、少なくとも 82% 同一、少なくとも 84% 同一、少なくとも 86% 同一、少なくとも 88% 同一、少なくとも 90% 同一、少なくとも 91% 同一、少なくとも 92% 同一、少なくとも 94% 同一、少なくとも 95% 同一、少なくとも 96% 同一、少なくとも 97% 同一、少なくとも 98% 同一、少なくとも 99% 同一又は 100% 同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、細胞外 IL - 15 ドメインをコードする核酸は、配列番号 23、25、27、又は 29 と

10

20

30

40

50

1個～約75個のヌクレオチド（例えば、1個～約70個のヌクレオチド、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、1個～約40個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約75個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約70個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約60個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約50個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約40個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約30個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約20個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約10個のヌクレオチド）が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、細胞外IL-15ドメインをコードする核酸は、例えば、配列番号23、25、27、又は29の配列に加えて、1つ以上の付加的なヌクレオチド（例えば、1個～約300個のヌクレオチド、1個～約250個のヌクレオチド、1個～約200個のヌクレオチド、1個～約150個のヌクレオチド、1個～約100個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約300個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約250個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約200個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約150個のヌクレオチド、約5個のヌクレオチド～約100個のヌクレオチド、又は約5個のヌクレオチド～約50個のヌクレオチド）を含む。付加的又は代替的には、細胞外IL-15ドメインをコードする核酸は、配列番号23、25、27又は29の5'末端から1個～75個のヌクレオチド（例えば、1個～約70個のヌクレオチド、1個～約65個のヌクレオチド、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約55個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、1個～約45個のヌクレオチド、1個～約40個のヌクレオチド、1個～約35個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約25個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約15個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド又は1個～約5個のヌクレオチド）が欠如していても、及び/又は配列番号23、25、27又は29の3'末端から1個～60個のヌクレオチド（例えば、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約55個のヌクレオチド、1個～約50個のヌクレオチド、1個～約45個のヌクレオチド、1個～約40個のヌクレオチド、1個～約35個のヌクレオチド、1個～約30個のヌクレオチド、1個～約25個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、1個～約15個のヌクレオチド、1個～約10個のヌクレオチド又は1個～約5個のヌクレオチド）が欠如していてもよい。

10

20

30

【0105】

当業者が理解し得るように、異なる種に由来する野生型IL-15タンパク質間で保存されていないアミノ酸が突然変異する（例えば、異なるアミノ酸で置換される）場合、それらがIL-15タンパク質の1つ以上の活性のレベルの低下を引き起こす可能性はより低い。対照的に、異なる種に由来する野生型IL-15タンパク質間で保存されているアミノ酸が突然変異する（例えば、異なるアミノ酸で置換される）場合、それらがIL-15タンパク質の1つ以上の活性のレベルの低下を引き起こす可能性はより高い。この知識を考慮して、当業者は、IL-15タンパク質の活性を低下させることなく置換することができる野生型IL-15タンパク質中のアミノ酸位置（例えば、非保存アミノ酸）を選択することができる。

40

【0106】

幾つかの実施形態では、細胞外IL-15ドメインは、1個～10個（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個）のアミノ酸が野生型IL-15タンパク質の配列のN末端から除去された野生型IL-15タンパク質の配列（例えば、成熟野生型IL-15タンパク質、例えば本明細書に記載される成熟野生型IL-15タンパク質のいずれか、例えば配列番号22、配列番号24、配列番号26又は配列番号28）である。幾つかの実施形態では、細胞外IL-15ドメインは、1個～10個（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個）のアミノ酸が野生型IL-15タンパク質の配列のC末端から除去された野生型IL-15タンパク質の配列（例えば、成熟野生型IL-15タンパク質、例えば本明細書に記載される

50

成熟野生型 I L - 1 5 タンパク質のいずれか、例えば成熟野生型ヒト I L - 1 5 タンパク質、配列番号 2 2、配列番号 2 4、配列番号 2 6 又は配列番号 2 8) である。幾つかの実施形態では、細胞外 I L - 1 5 ドメインは、野生型 I L - 1 5 タンパク質の配列の N 末端からの 1 個 ~ 1 0 個 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個又は 1 0 個) のアミノ酸の除去、及び野生型 I L - 1 5 タンパク質の配列の C 末端からの 1 個 ~ 1 0 個 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個又は 1 0 個) のアミノ酸の除去の両方を有する野生型 I L - 1 5 タンパク質の配列 (例えば、成熟野生型 I L - 1 5 タンパク質、例えば本明細書に記載される成熟野生型 I L - 1 5 タンパク質のいずれか、例えば成熟野生型ヒト I L - 1 5 タンパク質、例えば配列番号 2 2、配列番号 2 4、配列番号 2 6 又は配列番号 2 8) である。

10

【 0 1 0 7 】

当業者に理解されるように、細胞外 I L - 1 5 ドメインを有するキメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸が配列番号 2 3、配列番号 2 5、配列番号 2 7 又は配列番号 2 9 と比較して 1 つ以上の付加的なヌクレオチドを含むか又は欠いている場合、ナンセンスコドンが導入されず、完全なタンパク質が翻訳され得るように翻訳リーディングフレームを依然として維持する必要がある (例えば、細胞外 I L - 1 5 ドメインを有するキメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸は、キメラ膜貫通タンパク質の細胞外 I L - 1 5 部分において 3 つ又はその倍数のヌクレオチドを含むか又は欠くことができる) 。

【 0 1 0 8 】

I L - 7 受容体の 鎖

20

本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質の幾つかの実施形態は、I L - 7 受容体タンパク質の 鎖の配列又はその部分を更に含み得る。例えば、本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質は、ヒト、マウス、ラット、サル、チンパンジー、ブタ、イヌ、ネコ若しくは任意の他の適切な種に由来する I L - 7 受容体タンパク質の野生型 鎖の配列、又はその部分を含み得る。I L - 7 受容体の野生型 鎖の非限定的な例を以下に記載する。I L - 7 受容体の 鎖の付加的な例が当該技術分野で既知である。幾つかの実施形態では、I L - 7 受容体の 鎖の配列又はその部分を含むキメラ膜貫通タンパク質は、I L - 7 受容体の 鎖の膜貫通ドメイン (例えば、本明細書に記載の I L - 7 受容体の 鎖の膜貫通ドメインのいずれか) を含む。

例示的な野生型ヒト I L - 7 受容体 鎖 (配列番号 3 0)

30

ESGYAQNGDLEDAELDDYSFSCYSQLEVNGSQHSLTCAFEDPDVNI TNLEFEICGALVEVKCLNFRKLQEI YFI ETKKFL
LIGKSNICVKVGEKSLTCKKIDLTTIVKPEAPFDLSVVYREGANDFVVTFNSTHLQKQYVKVLMHDVAYRQEKDENKWITH
VNLSSTKLTLLQRKLQPAAMYIEKVRSDPHYFKGFVSEWSPSYFFRTPEINNSSGEMDPI LLTISILSFFSVALLVILA
CVLWKKRIKPIVWPSLPDHKKTLEHLCKKPRKLNVSFNPEFLDCQIHRVDDIQARDEVEGFLQDTFPPQLEESEKQRL
GGDVQSPNCPSEDVVI TPESFGRDSSLTCLAGNVSACDAPILSSSRSLDCRESGKNGPHVYQDLLLSLGTNTSTLPPPFSL
LQSGILTLNPVAQGGPILTSLGNSQEEAYVTMSSFYQNNQ

野生型ヒト I L - 7 受容体 鎖をコードする核酸 (配列番号 3 1)

gaaagtggctatgctcaaaatggagacttggagaatgcagaactggatgactactcatctcatgctatagccagttgga
agtgaatggatcgagcactcactgacctgtgcttttgaggaccagatgtcaacatcaccaatctggaatttgaaatat
gtggggccctcgtggaggtaaagtgcctgaatttcaggaaactacaagagatatattcatcgagacaaagaaattctta
ctgatfgaaaagacaaatatagtgtgaaggttggagaaaagagttcaacctgcaaaaaaatagacctaacctatatagt
taaacctgaggctccttttgacctgagtgctgctatcggaaggagccaatgactttgtgggtgacatttaatacatcac
actgcaaaagaagtatgtaaaagtttaatgcacgatgtagcttaccgccaggaaaaggatgaaaacaaatggacgcat
gtgaatttatccagcacaagctgacactcctgcagagaaaagctccaaccggcagcaatgtatgagatataaagttcgatc
catccctgatcactatftaaaggcttctggagtgaaaggagttcaagttatfacttcagaactccagagatcaataata
gctcaggggagatggatcctatcttactaacctcagcattttgagtttttctctgtcgtctgttggtcatcttggcc
tgtgtgttatggaaaaaaggattaaagcctatcgatggccagctctcccgatcataagaagactctggaacatctttg
taagaaaccaagaaaaaattfaaagtgtgagtttcaatcctgaaagtttctggactgccagattcatagggttggatgaca
ttcaagctagagatgaagtggaaggttttctgcaagatacgtttcctcagcaactagaagaatctgagaagcagaggctt
ggaggggagtgcagagcccaactgcccatctgaggatgtagtcactccagaaagctttggaagagattcatccct

40

50

cacatgcctggctgggaatgtcagtgcatgtgacgccccctattctctcctcttccagggtccctagactgcaggagagtg
 gcaagaaatgggacctcatgtgtaccaggacctcctgcttagccttgggactacaaacagcacgctgccccctccattttct
 ctccaatctggaaatcctgacatgaacccagttgctcagggtcagcccatcttacttccctgggatcaaatcaagaaga
 agcatatgtcaccaatgtccagcttctacaaaaaccag

例示的な野生型マウス I L - 7 受容体 鎖変異体 1 (配列番号 3 2)

ESGNAQDGDLEDADADDHSFWCHSQLEVDGSQHLLTCAFNDSDINTANLEFQICGALLRVKCLTLNKLQDIYFIKTSEFL
 LIGSSNICVKLGQKNLTCKNMAINTIVKAEAPSDLKVVYRKEANDFLVTFNAPHLKKKYLKKVKHDVAYRPARGESNWITH
 VSLFHTRTTIPQRKLRPKAMYIEIKVRSIPHNDYFKGFWEWSPSSTFETPEPKNQGGWDPVLPVSVTILSLFSVFLVILA
 HVLWKKRIKPVVWPSLPDHKKTLEQLCKPKTSLNVSFNPESFLDCQIHEVKGVEARDEVESFLPNDLPAQPEELETQGH
 RAAVHSANRSPETSVPPEVRRRESPLRCLARNLSTCNAPLLSSRSPDYRDGDRNRPPVYQDLLPNSGNTNVPVVPQP
 LPFQSGILIPVSQRQPISTSSVLNQEEAYVTMSSFYQNK

10

野生型マウス I L - 7 受容体 鎖変異体 1 をコードする核酸 (配列番号 3 3)

gaaagtggaaatgccaggatggagacctagaagatgcagacgcggacgatcactccttctggtgccacagccagttgga
 agtggatggaagtcaacatttatgtacttgtgcttttaagtactcagacatcaacacagctaacttggaaatttcaaatat
 gtggggctcttttacgagtgaatgaccttaactcttaacaagctgcaagatatattttataaagacatcagaattctta
 ctgattggtagcagcaatatagtgtgaagcttggacaaaagaatttaacttgcaaaaaataggctataaacacaatagt
 taaagccgaggctcccctgacctgaaagtcgtttatcgaaagaagcaaatgatttttggtgacattaatgcacctc
 acttgaaaaagaaatatttaaaaaaagtaagcatgatgtggcctaccgcccagcaaggggtgaaagcaactggacgcat
 gtaattttatccacacaagaacaacaatcccacagagaaaactacgaccaaagcaatgatatgaaatcaaagtcgatc
 cattccccataacgatfacttcaaaggcttctggagcgagtggagtccaagttctacctcgaaactccagaaccaaga
 atcaaggaggatgggaacctgtcttgccaaggtcaccaattctgagtttgttctctgtgtttttgttggcatcttagcc
 catgtgctatggaaaaaaggattaaacctgtcgatggcctagtctccccgatcataagaaaactctggaacaactatg
 taagaagccaaaaacgagcttgaaatgtgagtttcaatcccgaagtttcttgagctgccagattcatgaggtgaaaggcg
 ttgaagccaggagcagggtgaaagtttctgccaatgatcttctgcacagccagaggagtggagacacagggacac
 agagccgctgtacacagtgcaaacccgctcgctgagacttcagtcagcccaccagaaacagttagaagagagtcaccctt
 aagatgctggctagaaaactgagtagctgcaatgccccccactcctttcctctagggtccccctgactacagagatggtg
 acagaaaataggcctcctgtgtatcaagacttgcctgcaaacctctggaacacaaaatgtccctgtccctgtccctcaacca
 ttgaccttccagtcgggaatcctgataaccagtttctcagagacagcccatctccacttctcagtagtgaatcaagaaga
 agcgtatgtcaccaatgtctagtttttaccaaaacaaa

20

例示的な野生型マウス I L - 7 受容体 鎖変異体 2 (配列番号 3 4)

ESGNAQDGDLEDADADDHSFWCHSQLEVDGSQHLLTCAFNDSDINTANLEFQICGALLRVKCLTLNKLQDIYFIKTSEFL
 LIGSSNICVKLGQKNLTCKNMAINTIVKAEAPSDLKVVYRKEANDFLVTFNAPHLKKKYLKKVKHDVAYRPARGESNWITH
 VSLFHTRTTIPQRKLRPKAMYIEIKVRSIPHNDYFKGFWEWSPSSTFETPEPKNQGGWDPVLPVSVTILSLFSVFLVILA
 HVLWKKRIKPVVWPSLPDHKKTLEQL

30

マウス I L - 7 受容体 鎖変異体 2 をコードする核酸 (配列番号 3 5)

atgatggctctgggtagagcttctcgctatagtttctgcttaattcaagctgttctggagaaagtggaaatgccaggga
 tggagacctagaagatgcagacgcggacgatcactccttctggtgccacagccagttggaagtggatggaagtcaacatt
 tatgtacttgtgcttttaagtactcagacatcaacacagctaacttggaaatttcaaatatgtggggctcttttacgagtg
 aaatgaccttaactcttaacaagctgcaagatatattttataaagacatcagaattcttactgatggtagcagcaatata
 atgtgtgaagcttggacaaaagaatttaacttgcaaaaaataggctataaacacaatagttaaagccgaggctcccctctg
 acctgaaagtcgtttatcgaaagaagcaaatgatttttggtgacattaatgcacctcacttgaaaaagaaatattta
 aaaaaagtaagcatgatgtggcctaccgcccagcaaggggtgaaagcaactggacgcatgtatctttatccacacaag
 aacaacaatcccacagagaaaactacgaccaaagcaatgatatgaaatcaaagtcgatccattccccataacgatfact
 tcaaaggcttctggagcgagtggagtccaagttctacctcgaaactccagaaccaagaatcaaggaggatgggatcct
 gcttgccaaggtcaccaattctgagtttgttctctgtgtttttgttggcatcttagcccatgtgctatggaaaaaag
 gattaaacctgtcgatggcctagtctccccgatcataagaaaactctggaacaactatag

40

【 0 1 0 9 】

本明細書で提供されるキメラ膜貫通タンパク質のいずれかの幾つかの実施形態は、例え
 ば配列番号 3 0、3 2 若しくは 3 4 と少なくとも 6 0 % 同一、少なくとも 6 5 % 同一、少
 なくとも 7 0 % 同一、少なくとも 7 5 % 同一、少なくとも 8 0 % 同一、少なくとも 8 2 %

50

同一、少なくとも84%同一、少なくとも85%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも93%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一若しくは100%同一の配列、又はその部分を含み得る。本明細書で提供されるキメラ膜貫通タンパク質のいずれかの幾つかの実施形態は、例えば配列番号30、32又は34と1個～60個のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個又は60個のアミノ酸）が異なる配列を含み得る。本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質のいずれかの幾つかの実施形態は、例えば配列番号30、32又は34とは1個～60個のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個、40個、41個、42個、43個、44個、45個、46個、47個、48個、49個、50個、51個、52個、53個、54個、55個、56個、57個、58個、59個又は60個のアミノ酸）が欠如していることで異なる配列を更に含み得る。

10

20

【0110】

幾つかの実施形態では、IL-7受容体の鎖をコードする核酸は、配列番号31、33、又は35と少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、又は100%同一の配列を含むか、又はその配列である。幾つかの実施形態では、IL-7受容体の鎖をコードする核酸は、配列番号31、33、又は35と1個以上のヌクレオチド（例えば、1個～約180個のヌクレオチド、1個～約160個のヌクレオチド、1個～約140個のヌクレオチド、1個～約120個のヌクレオチド、1個～約100個のヌクレオチド、1個～約80個のヌクレオチド、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約40個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、約5個～約180個のヌクレオチド、約5個～約160個のヌクレオチド、約5個～約140個のヌクレオチド、約5個～約120個のヌクレオチド、約5個～約100個のヌクレオチド、約5個～約80個のヌクレオチド、約5個～約60個のヌクレオチド、約5個～約40個のヌクレオチド、又は約5個～約20個のヌクレオチド）が異なる配列を含む。付加的又は代替的には、IL-7受容体の鎖をコードする核酸は、配列番号31、33又は35の配列と比較して1個以上のヌクレオチド（例えば、1個～約180個のヌクレオチド、1個～約160個のヌクレオチド、1個～約140個のヌクレオチド、1個～約120個のヌクレオチド、1個～約100個のヌクレオチド、1個～約80個のヌクレオチド、1個～約60個のヌクレオチド、1個～約40個のヌクレオチド、1個～約20個のヌクレオチド、約5個～約180個のヌクレオチド、約5個～約160個のヌクレオチド、約5個～約140個のヌクレオチド、約5個～約120個のヌクレオチド、約5個～約100個のヌクレオチド、約5個～約80個のヌクレオチド、約5個～約60個のヌクレオチド、約5個～約40個のヌクレオチド又は約5個～約20個のヌクレオチド）が欠如していてもよい。

30

40

【0111】

当業者が理解し得るように、異なる種に由来するIL-7受容体タンパク質の野生型

50

鎖間で保存されていないアミノ酸が突然変異する（例えば、異なるアミノ酸で置換される）場合、それらがIL-7受容体タンパク質の鎖の1つ以上の活性のレベルの低下を引き起こす可能性はより低い。対照的に、異なる種に由来するIL-7受容体タンパク質の野生型鎖間で保存されているアミノ酸が突然変異する（例えば、異なるアミノ酸で置換される）場合、それらがIL-7受容体タンパク質の鎖の1つ以上の活性のレベルの低下を引き起こす可能性はより高い。この知識を考慮して、当業者は、IL-7受容体タンパク質の鎖の活性を低下させることなく置換することができるIL-7受容体タンパク質の野生型鎖中のアミノ酸位置（例えば、非保存アミノ酸）を選択することができる。

【0112】

本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質のいずれかの幾つかの実施形態は、IL-7受容体タンパク質の野生型鎖の配列のN末端から1個～10個（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個）のアミノ酸が除去されたIL-7受容体タンパク質の野生型鎖の配列（例えば、IL-7受容体タンパク質の成熟野生型鎖、例えば本明細書に記載のIL-7受容体の成熟野生型鎖のいずれか、例えばIL-7受容体タンパク質の成熟野生型ヒト鎖、例えば配列番号30）を含み得る。本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質のいずれかの幾つかの実施形態は、IL-7受容体タンパク質の野生型鎖の配列のC末端から1個～10個（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個）のアミノ酸が除去されたIL-7受容体タンパク質の野生型鎖の配列（例えば、IL-7受容体タンパク質の成熟野生型鎖、例えば本明細書に記載のIL-7受容体の成熟野生型鎖のいずれか、例えばIL-7受容体タンパク質の成熟野生型ヒト鎖、例えば配列番号30）を含み得る。本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質のいずれかの幾つかの実施形態は、IL-7受容体タンパク質の野生型鎖の配列のN末端からの1個～10個（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個）のアミノ酸の除去、及びIL-7受容体タンパク質の野生型鎖の配列のC末端からの1個～10個（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個）のアミノ酸の除去の両方を有するIL-7受容体タンパク質の野生型鎖の配列（例えば、IL-7受容体タンパク質の成熟野生型鎖、例えば本明細書に記載のIL-7受容体の成熟野生型鎖のいずれか、例えばIL-7受容体タンパク質の成熟野生型ヒト鎖、例えば配列番号30）を含み得る。

【0113】

当業者に理解されるように、IL-7受容体タンパク質ドメインの鎖を有するキメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸が配列番号31、配列番号33又は配列番号35と比較して1つ以上の付加的なヌクレオチドを含むか又は欠いている場合、ナンセンスコドンが導入されず、完全なタンパク質が翻訳され得るように翻訳リーディングフレームを依然として維持する必要がある（例えば、IL-7受容体タンパク質の鎖をコードするドメインを有するキメラ膜貫通タンパク質をコードする核酸は、IL-7受容体の鎖をコードするドメインにおいて3つ又はその倍数のヌクレオチドを含むか又は欠くことができる）。

【0114】

IL-15受容体の鎖の細胞外sushiドメイン

幾つかの実施形態では、本明細書に記載されるキメラ膜貫通受容体は、IL-15受容体の鎖に由来する1つ以上（例えば、1つ、2つ、3つ又は4つ）のsushiドメインを含み得る。例えば、本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質は、IL-15受容体の野生型鎖（例えば、IL-15受容体の野生型ヒト鎖、IL-15受容体の野生型マウス鎖、IL-15受容体の野生型ラット鎖、IL-15受容体の野生型サル鎖、IL-15受容体の野生型チンパンジー鎖、IL-15受容体の野生型ブタ鎖、IL-15受容体の野生型イヌ鎖又はIL-15受容体の野生型ネコ鎖）に由来するsushiドメインを含み得る。IL-15受容体に由来するsushiドメインの非限定的な例を以下に記載する。IL-15受容体に由来するsushiドメインの付加的

10

20

30

40

50

な例が当該技術分野で既知である。

【0115】

ショートコンセンサスリピート又は1型糖タンパク質モチーフとしても知られる s u s h i d m e i n は、タンパク質間相互作用における共通モチーフである。s u s h i d m e i n は、補体成分 C 1 r、C 1 s、H 因子及び C 2 m、並びに非免疫性分子である第 X I I 因子及び 2 - 糖タンパク質を含む多数のタンパク質結合分子上で特定されている。典型的な s u s h i d m e i n は、およそ 6 0 個のアミノ酸残基を有し、4 つのシステインを含有する (Ranganathan, Pac. Symp Biocomput. 2000:155-67)。第 1 のシステインは、第 3 のシステインとジスルフィド結合を形成することができ、第 2 のシステインは、第 4 のシステインとジスルフィド架橋を形成することができる。

10

【0116】

幾つかの実施形態では、s u s h i d m e i n は、約 2 5 アミノ酸 ~ 約 9 0 アミノ酸、約 2 5 アミノ酸 ~ 約 8 5 アミノ酸、約 2 5 アミノ酸 ~ 約 8 0 アミノ酸、約 2 5 アミノ酸 ~ 約 7 5 アミノ酸、約 2 5 アミノ酸 ~ 約 7 0 アミノ酸、約 2 5 アミノ酸 ~ 約 6 5 アミノ酸、約 2 5 アミノ酸 ~ 約 6 0 アミノ酸、約 2 5 アミノ酸 ~ 約 5 5 アミノ酸、約 2 5 アミノ酸 ~ 約 5 0 アミノ酸、約 2 5 アミノ酸 ~ 約 4 5 アミノ酸、約 2 5 アミノ酸 ~ 約 4 0 アミノ酸、約 2 5 アミノ酸 ~ 約 3 5 アミノ酸、約 2 5 アミノ酸 ~ 約 3 0 アミノ酸、約 3 0 アミノ酸 ~ 約 9 0 アミノ酸、約 3 0 アミノ酸 ~ 約 8 5 アミノ酸、約 3 0 アミノ酸 ~ 約 8 0 アミノ酸、約 3 0 アミノ酸 ~ 約 7 5 アミノ酸、約 3 0 アミノ酸 ~ 約 7 0 アミノ酸、約 3 0 アミノ酸 ~ 約 6 5 アミノ酸、約 3 0 アミノ酸 ~ 約 6 0 アミノ酸、約 3 0 アミノ酸 ~ 約 5 5 アミノ酸、約 3 0 アミノ酸 ~ 約 5 0 アミノ酸、約 3 0 アミノ酸 ~ 約 4 5 アミノ酸、約 3 0 アミノ酸 ~ 約 4 0 アミノ酸、約 4 0 アミノ酸 ~ 約 3 0 アミノ酸 ~ 約 3 5 アミノ酸、約 3 5 アミノ酸 ~ 約 9 0 アミノ酸、約 3 5 アミノ酸 ~ 約 8 5 アミノ酸、約 3 5 アミノ酸 ~ 約 8 0 アミノ酸、約 3 5 アミノ酸 ~ 約 7 5 アミノ酸、約 3 5 アミノ酸 ~ 約 7 0 アミノ酸、約 3 5 アミノ酸 ~ 約 6 5 アミノ酸、約 3 5 アミノ酸 ~ 約 6 0 アミノ酸、約 3 5 アミノ酸 ~ 約 5 5 アミノ酸、約 3 5 アミノ酸 ~ 約 5 0 アミノ酸、約 3 5 アミノ酸 ~ 約 4 5 アミノ酸、約 3 5 アミノ酸 ~ 約 4 0 アミノ酸、約 4 0 アミノ酸 ~ 約 9 0 アミノ酸、約 4 0 アミノ酸 ~ 約 8 5 アミノ酸、約 4 0 アミノ酸 ~ 約 8 0 アミノ酸、約 4 0 アミノ酸 ~ 約 7 5 アミノ酸、約 4 0 アミノ酸 ~ 約 7 0 アミノ酸、約 4 0 アミノ酸 ~ 約 6 5 アミノ酸、約 4 0 アミノ酸 ~ 約 6 0 アミノ酸、約 4 0 アミノ酸 ~ 約 5 5 アミノ酸、約 4 0 アミノ酸 ~ 約 5 0 アミノ酸、約 4 0 アミノ酸 ~ 約 4 5 アミノ酸、約 4 5 アミノ酸 ~ 約 9 0 アミノ酸、約 4 5 アミノ酸 ~ 約 8 5 アミノ酸、約 4 5 アミノ酸 ~ 約 8 0 アミノ酸、約 4 5 アミノ酸 ~ 約 7 5 アミノ酸、約 4 5 アミノ酸 ~ 約 7 0 アミノ酸、約 4 5 アミノ酸 ~ 約 6 5 アミノ酸、約 4 5 アミノ酸 ~ 約 6 0 アミノ酸、約 4 5 アミノ酸 ~ 約 5 5 アミノ酸、約 4 5 アミノ酸 ~ 約 5 0 アミノ酸、約 5 0 アミノ酸 ~ 約 9 0 アミノ酸、約 5 0 アミノ酸 ~ 約 8 5 アミノ酸、約 5 0 アミノ酸 ~ 約 8 0 アミノ酸、約 5 0 アミノ酸 ~ 約 7 5 アミノ酸、約 5 0 アミノ酸 ~ 約 7 0 アミノ酸、約 5 0 アミノ酸 ~ 約 6 5 アミノ酸、約 5 0 アミノ酸 ~ 約 6 0 アミノ酸、約 5 0 アミノ酸 ~ 約 5 5 アミノ酸、約 5 5 アミノ酸 ~ 約 9 0 アミノ酸、約 5 5 アミノ酸 ~ 約 8 5 アミノ酸、約 5 5 アミノ酸 ~ 約 8 0 アミノ酸、約 5 5 アミノ酸 ~ 約 7 5 アミノ酸、約 5 5 アミノ酸 ~ 約 7 0 アミノ酸、約 5 5 アミノ酸 ~ 約 6 5 アミノ酸、約 5 5 アミノ酸 ~ 約 6 0 アミノ酸、約 6 0 アミノ酸 ~ 約 9 0 アミノ酸、約 6 0 アミノ酸 ~ 約 8 5 アミノ酸、約 6 0 アミノ酸 ~ 約 8 0 アミノ酸、約 6 0 アミノ酸 ~ 約 7 5 アミノ酸、約 6 0 アミノ酸 ~ 約 7 0 アミノ酸、約 6 0 アミノ酸 ~ 約 6 5 アミノ酸、約 6 5 アミノ酸 ~ 約 9 0 アミノ酸、約 6 5 アミノ酸 ~ 約 8 5 アミノ酸、約 6 5 アミノ酸 ~ 約 8 0 アミノ酸、約 6 5 アミノ酸 ~ 約 7 5 アミノ酸、約 6 5 アミノ酸 ~ 約 7 0 アミノ酸、約 6 5 アミノ酸 ~ 約 6 0 アミノ酸、約 7 0 アミノ酸 ~ 約 9 0 アミノ酸、約 7 0 アミノ酸 ~ 約 8 5 アミノ酸、約 7 0 アミノ酸 ~ 約 8 0 アミノ酸、約 7 0 アミノ酸 ~ 約 7 5 アミノ酸、約 7 5 アミノ酸 ~ 約 9 0 アミノ酸、約 7 5 アミノ酸 ~ 約 8 5 アミノ酸、約 7 5 アミノ酸 ~ 約 8 0 アミノ酸、約 8 0 アミノ酸 ~ 約 9 0 アミノ酸、約 8 0 アミノ酸 ~ 約 8 5 アミノ酸、又は約 8 5 アミノ酸 ~ 約 9 0 アミノ酸の長さであり得る。

20

30

40

【0117】

50

幾つかの実施形態では、細胞外 s u s h i ドメインは、I L - 2 受容体の成熟野生型鎖、例えば I L - 2 受容体の成熟野生型ヒト鎖の細胞外部分、例えば配列番号 3 6 又は 3 7 と少なくとも 6 0 % 同一、少なくとも 6 5 % 同一、少なくとも 7 0 % 同一、少なくとも 7 5 % 同一、少なくとも 8 0 % 同一、少なくとも 8 2 % 同一、少なくとも 8 4 % 同一、少なくとも 8 5 % 同一、少なくとも 8 6 % 同一、少なくとも 8 8 % 同一、少なくとも 9 0 % 同一、少なくとも 9 1 % 同一、少なくとも 9 2 % 同一、少なくとも 9 3 % 同一、少なくとも 9 4 % 同一、少なくとも 9 5 % 同一、少なくとも 9 6 % 同一、少なくとも 9 7 % 同一、少なくとも 9 8 % 同一、少なくとも 9 9 % 同一又は 1 0 0 % 同一の配列を含むか又はその配列である。

I L - 1 5 アイソフォーム 1 の野生型ヒト鎖に由来する s u s h i ドメイン (配列番号 3 6)

CPPPMSVEHAD I W K S Y S L Y S R E R Y I C N S G F K R K A G T S S L T E C V L N K A T N V A H W T T P S L K C I

I L - 1 5 アイソフォーム 2 の野生型ヒト鎖に由来する s u s h i ドメイン (配列番号 3 7)

CPPPMSVEHAD I W K S Y S L Y S R E R Y I C N S G F K R K A G T S S L T E C V L N K A T N V A H W T T P S L K C I

I L - 1 5 アイソフォーム 1 の野生型マウス鎖に由来する s u s h i ドメイン (配列番号 3 8)

CPPPVS I E H A D I R V K N Y S V N S R E R Y V C N S G F K R K A G T S T L I E C V I N K N T N V A H W T T P S L K C I

I L - 1 5 アイソフォーム 4 の野生型マウス鎖に由来する s u s h i ドメイン (配列番号 3 9)

CPPPVS I E H A D I R V K N Y S V N S R E R Y V C N S G F K R K A G T S T L I E C V I N K N T N V A H W T T P S L K C I

I L - 1 5 タンパク質の野生型ニワトリ鎖に由来する s u s h i ドメイン (配列番号 4 0)

CPRLSTTEFADVAAETYPLKTKLRYECDSGYRRRSGNTLT I R C Q N V S G T A S W W H D E L V C

I L - 1 5 アイソフォーム 1 の野生型ヒト鎖に由来する細胞外部分 (配列番号 4 1)
I T C P P P M S V E H A D I W K S Y S L Y S R E R Y I C N S G F K R K A G T S S L T E C V L N K A T N V A H W T T P S L K C I R D P A L V H Q R P A P P S T V
T T A G V T P Q P E S L S P S G K E P A A S S P S N N T A A T T A A I V P G S Q L M P S K S P S T G T T E I S S H E S S H G T P S Q T T A K N W E L T A S A S
H Q P P G V Y P Q G H S D T T

【 0 1 1 8 】

幾つかの実施形態では、細胞外 s u s h i ドメインは、I L - 1 5 受容体の成熟野生型鎖の細胞外部分 (例えば、I L - 1 5 受容体の成熟野生型ヒト鎖の細胞外部分、例えば配列番号 4 1) である。幾つかの実施形態では、細胞外 s u s h i ドメインは、I L - 1 5 受容体の成熟野生型鎖の細胞外部分 (例えば、配列番号 4 1) と少なくとも 8 0 % 、少なくとも 8 2 % 、少なくとも 8 4 % 、少なくとも 8 5 % 、少なくとも 8 6 % 、少なくとも 8 8 % 、少なくとも 9 0 % 、少なくとも 9 2 % 、少なくとも 9 4 % 、少なくとも 9 5 % 、少なくとも 9 6 % 、少なくとも 9 8 % 、少なくとも 9 9 % 又は 1 0 0 % 同一の配列である。幾つかの実施形態では、細胞外 s u s h i ドメインは、I L - 1 5 受容体の成熟野生型鎖の細胞外部分の配列の N 末端から 1 個 ~ 2 0 個 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、1 0 個、1 1 個、1 2 個、1 3 個、1 4 個、1 5 個、1 6 個、1 7 個、1 8 個、1 9 個又は 2 0 個) のアミノ酸が除去された I L - 1 5 受容体の成熟野生型鎖の細胞外部分の配列 (例えば、配列番号 4 1) である。幾つかの実施形態では、細胞外 s u s h i ドメインは、I L - 1 5 受容体の成熟野生型鎖の細胞外部分の配列の C 末端から 1 個 ~ 2 0 個 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、1 0 個、1 1 個、1 2 個、1 3 個、1 4 個、1 5 個、1 6 個、1 7 個、1 8 個、1 9 個又は 2 0 個) のアミノ酸が除去された I L - 1 5 受容体の成熟野生型鎖の細胞外部分の配列 (例えば、配列番号 4 1) である。幾つかの実施形態では、細胞外 s u s h i ドメインは、I L - 1 5 受容体の成熟野生型鎖の細胞外部分の配列の N 末端からの 1 個 ~ 2 0 個 (例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、1 0 個、1 1 個、1 2 個、1 3 個、1 4 個、1 5 個、1 6 個、1 7 個、1 8 個、1 9 個又は 2 0 個) のアミノ酸の除去、及び I L - 1 5 受容体の成熟野生型鎖の細胞外部分の配

10

20

30

40

50

列のC末端からの1個～20個(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個)のアミノ酸の除去を有するIL-15受容体の成熟野生型鎖の細胞外部分の配列(例えば、配列番号41)である。

【0119】

幾つかの実施形態では、細胞外sushiドメインは、IL-15受容体の野生型鎖に由来するsushiドメインの配列(例えば、本明細書に記載されるIL-15受容体の野生型鎖に由来するsushiドメインのいずれか、例えばIL-15受容体の野生型ヒト鎖に由来するsushiドメイン、例えば配列番号36又は37の一方又は両方を含む配列)を含むか又はその配列である。

10

【0120】

幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質の細胞外sushiドメインは、IL-15受容体の野生型鎖のsushiドメイン(例えば、配列番号36、37、38、39又は40)と少なくとも60%同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも85%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも93%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含む。

20

【0121】

当業者が理解し得るように、異なる種に由来するIL-15受容体タンパク質の野生型鎖に由来するsushiドメイン間で保存されていないアミノ酸が突然変異する(例えば、異なるアミノ酸で置換される)場合、それらがIL-15受容体タンパク質の鎖に由来するsushiドメインのIL-15結合活性のレベルの低下を引き起こす可能性はより低い。対照的に、異なる種に由来するIL-15受容体タンパク質の野生型鎖に由来するsushiドメイン間で保存されているアミノ酸が突然変異する(例えば、異なるアミノ酸で置換される)場合、それらがIL-15受容体タンパク質の鎖に由来するsushiドメインのIL-15結合活性のレベルの低下を引き起こす可能性はより高い。この知識を考慮して、当業者は、IL-15受容体タンパク質の鎖のsushiドメインの活性を低下させることなく置換することができるIL-15受容体タンパク質の鎖のsushiドメイン中のアミノ酸位置(例えば、非保存アミノ酸)を選択することができる。

30

【0122】

幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質の細胞外sushiドメインは、IL-15受容体の野生型鎖に由来するsushiドメインのN末端から1個～5個(例えば、1個、2個、3個、4個又は5個)のアミノ酸が除去されたIL-15受容体の野生型鎖に由来するsushiドメインの配列(例えば、配列番号36、37、38、39又は40のいずれか)である。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質の細胞外sushiドメインは、IL-15受容体の野生型鎖に由来するsushiドメインのC末端から1個～5個(例えば、1個、2個、3個、4個又は5個)のアミノ酸が除去されたIL-15受容体の野生型鎖に由来するsushiドメインの配列(例えば、配列番号36、37、38、39又は40のいずれか)である。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質の細胞外sushiドメインは、IL-15受容体の野生型鎖に由来するsushiドメインのN末端からの1個～5個(例えば、1個、2個、3個、4個又は5個)のアミノ酸の除去、及びIL-15受容体の野生型鎖に由来するsushiドメインのC末端からの1個～5個(例えば、1個、2個、3個、4個又は5個)のアミノ酸の除去を有するIL-15受容体の野生型鎖に由来するsushiドメインの配列(例えば、配列番号36、37、38、39又は40のいずれか)である。

40

【0123】

50

幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、2つのsushiドメインを含む。幾つかの実施形態では、sushiドメインは各々、独立して本明細書に記載されるsushiドメインのいずれかであり得る。

【0124】

IL-7受容体の鎖の膜貫通ドメイン

本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質は、ヒト、マウス、ラット、サル、チンパンジー、ブタ、イヌ、ネコ又は任意の他の適切な種に由来するIL-7受容体の野生型鎖の膜貫通ドメインを含み得る。IL-7受容体の鎖の膜貫通ドメインの非限定的な例を以下に記載する。IL-7受容体の鎖の膜貫通ドメインの付加的な例が当該技術分野で既知である。

IL-7受容体の野生型ヒト鎖の膜貫通ドメイン(配列番号1)

PILLTISILSFFSVALLVILACVLW

IL-7受容体アイソフォーム1の野生型マウス鎖の膜貫通ドメイン(配列番号42)

PVLPSVTILSLFSVFLLVILAHVLW

IL-7受容体アイソフォーム2の野生型マウス鎖の膜貫通ドメイン(配列番号42)

PVLPSVTILSLFSVFLLVILAHVLW

IL-7受容体の野生型カニクイザル鎖の膜貫通ドメイン(配列番号44)

PILLTISLLSFFSVALLVILACVLW

【0125】

幾つかの実施形態では、IL-2受容体タンパク質の鎖に由来する膜貫通ドメインは、約10アミノ酸~約50アミノ酸、約10アミノ酸~約45アミノ酸、約10アミノ酸~約40アミノ酸、約10アミノ酸~約35アミノ酸、約10アミノ酸~約30アミノ酸、約10アミノ酸~約25アミノ酸、約10アミノ酸~約22アミノ酸、約10アミノ酸~約20アミノ酸、約10アミノ酸~約18アミノ酸、約10アミノ酸~約15アミノ酸、約15アミノ酸~約50アミノ酸、約15アミノ酸~約45アミノ酸、約15アミノ酸~約40アミノ酸、約15アミノ酸~約35アミノ酸、約15アミノ酸~約30アミノ酸、約15アミノ酸~約25アミノ酸、約15アミノ酸~約22アミノ酸、約15アミノ酸~約20アミノ酸、約15アミノ酸~約18アミノ酸、約18アミノ酸~約50アミノ酸、約18アミノ酸~約45アミノ酸、約18アミノ酸~約40アミノ酸、約18アミノ酸~約35アミノ酸、約18アミノ酸~約30アミノ酸、約18アミノ酸~約25アミノ酸、約18アミノ酸~約22アミノ酸、約18アミノ酸~約20アミノ酸、約20アミノ酸~約50アミノ酸、約20アミノ酸~約45アミノ酸、約20アミノ酸~約40アミノ酸、約20アミノ酸~約35アミノ酸、約20アミノ酸~約30アミノ酸、約20アミノ酸~約25アミノ酸、約20アミノ酸~約22アミノ酸、約22アミノ酸~約50アミノ酸、約22アミノ酸~約45アミノ酸、約22アミノ酸~約40アミノ酸、約22アミノ酸~約35アミノ酸、約22アミノ酸~約30アミノ酸、約22アミノ酸~約25アミノ酸、約25アミノ酸~約50アミノ酸、約25アミノ酸~約45アミノ酸、約25アミノ酸~約40アミノ酸、約25アミノ酸~約35アミノ酸、約25アミノ酸~約30アミノ酸、約30アミノ酸~約50アミノ酸、約30アミノ酸~約45アミノ酸、約30アミノ酸~約40アミノ酸、約30アミノ酸~約35アミノ酸、約35アミノ酸~約50アミノ酸、約35アミノ酸~約45アミノ酸、約35アミノ酸~約40アミノ酸、約40アミノ酸~約50アミノ酸、又は約45アミノ酸~約50アミノ酸の長さであり得る。

【0126】

本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質のいずれかの幾つかの実施形態では、IL-7受容体の鎖の膜貫通ドメインは、IL-7受容体の野生型鎖に由来する膜貫通ドメイン(例えば、IL-7受容体の野生型ヒト鎖の膜貫通ドメイン、例えば配列番号1)(例えば、下に挙げる又は当該技術分野で既知のIL-7受容体の野生型鎖の例示的な膜貫通ドメインのいずれか、例えば配列番号1、42、43又は44)であり得る。

【0127】

10

20

30

40

50

幾つかの実施形態では、IL-7受容体の鎖の膜貫通ドメインは、IL-7受容体の野生型鎖に由来する膜貫通ドメイン（例えば、配列番号1、42、43又は44のいずれか1つ）と少なくとも60%同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも85%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも93%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、IL-7受容体の鎖の膜貫通ドメインは、IL-7受容体の野生型鎖の膜貫通ドメイン（例えば、配列番号1、42、43又は44のいずれか1つ）と1個～5個のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個又は5個のアミノ酸）が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、IL-7受容体の鎖の膜貫通ドメインは、例えば配列番号1、42、43又は44の配列に加えて、1個～20個の付加的なアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個又は20個のアミノ酸）を含む。幾つかの実施形態では、IL-7受容体の鎖の膜貫通ドメインは、配列番号1、42、43又は44のいずれか1つの配列を有し得るが、1個～5個のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個又は5個のアミノ酸）が欠如し得る。

【0128】

当業者が理解し得るように、異なる種に由来するIL-7受容体タンパク質の野生型鎖に由来する膜貫通ドメイン間で保存されていないアミノ酸が突然変異する（例えば、異なるアミノ酸で置換される）場合、それらがIL-7受容体タンパク質の鎖に由来する膜貫通ドメインの活性の低下を引き起こす可能性はより低い。対照的に、異なる種に由来するIL-7受容体タンパク質の野生型鎖に由来する膜貫通ドメイン間で保存されているアミノ酸が突然変異する（例えば、異なるアミノ酸で置換される）場合、それらがIL-7受容体タンパク質の鎖に由来する膜貫通ドメインの活性の低下を引き起こす可能性はより高い。この知識を考慮して、当業者は、IL-7受容体タンパク質の鎖に由来する膜貫通ドメインの活性を低下させることなく置換することができるIL-7受容体タンパク質の鎖の膜貫通ドメイン中のアミノ酸位置（例えば、非保存アミノ酸）を選択することができる。

【0129】

幾つかの実施形態では、IL-7受容体タンパク質の鎖の膜貫通ドメインは、IL-7受容体タンパク質の鎖の膜貫通ドメインのN末端から1個～5個（例えば、1個、2個、3個、4個又は5個）のアミノ酸が除去されたIL-7受容体タンパク質の野生型鎖の膜貫通ドメインの配列（例えば、配列番号1、42、43又は44）である。幾つかの実施形態では、IL-7受容体タンパク質の鎖の膜貫通ドメインは、IL-7受容体タンパク質の鎖の膜貫通ドメインのC末端から1個～5個（例えば、1個、2個、3個、4個又は5個）のアミノ酸が除去されたIL-7受容体タンパク質の野生型鎖の膜貫通ドメインの配列（例えば、配列番号1、42、43又は44）である。幾つかの実施形態では、IL-7受容体タンパク質の鎖の膜貫通ドメインは、IL-7受容体タンパク質の鎖の膜貫通ドメインのN末端からの1個～5個（例えば、1個、2個、3個、4個又は5個）のアミノ酸の除去、及びIL-7受容体タンパク質の鎖の膜貫通ドメインのC末端からの1個～5個（例えば、1個、2個、3個、4個又は5個）のアミノ酸の除去を有するIL-7受容体タンパク質の野生型鎖の膜貫通ドメインの配列（例えば、IL-7受容体タンパク質の野生型ヒト鎖の膜貫通ドメイン、例えば配列番号1、42、43又は44）である。

【0130】

本明細書に記載のキメラ膜貫通タンパク質のいずれかの幾つかの実施形態では、インターロイキン-7受容体の鎖の膜貫通ドメインは、以下の修飾：(i)配列番号1のアミ

ノ酸位置 15 ~ 17 のアラニン - ロイシン - ロイシンが異なる 3 アミノ酸配列に置き換えられた (例えば、グルタミン酸 - リシン - バリン又はグルタミン酸 - リシン - アラニンに置き換えられた) 修飾、(i i) 1 個 ~ 3 個 (例えば、1 個、2 個又は 3 個) のアミノ酸 (例えば、システイン - プロリン - トレオニン) が配列番号 1 のアミノ酸位置 5 及び 6 の間に挿入された修飾、並びに (i i i) 1 個 ~ 4 個 (例えば、1 個、2 個、3 個又は 4 個) のアミノ酸 (例えば、プロリン - プロリン - システイン - ロイシン) が配列番号 1 のアミノ酸位置 4 及び 5 の間に挿入された修飾の 1 つ以上 (例えば、1 つ、2 つ、3 つ又は 4 つ) を有する P I L L T I S I L S F F S V A L L V I L A C V L W (配列番号 1) の配列を含む。幾つかの実施形態では、膜貫通ドメインは、配列番号 2、4、6 又は 8 の配列を有するように修飾されている。

10

【 0 1 3 1 】

幾つかの実施形態では、膜貫通ドメインは、配列番号 1 のアミノ酸位置 15 ~ 17 のアラニン - ロイシン - ロイシンがグルタミン酸 - リシン - バリン又はグルタミン酸 - リシン - アラニンに置き換えられた配列番号 1 の配列を含む。幾つかの実施形態では、膜貫通ドメインは、システイン - プロリン - トレオニンが配列番号 1 のアミノ酸位置 5 及び 6 の間に挿入された配列番号 1 の配列を含む。幾つかの実施形態では、膜貫通ドメインは、プロリン - プロリン - システイン - ロイシンが配列番号 1 のアミノ酸位置 4 及び 5 の間に挿入された配列番号 1 の配列を含む。幾つかの実施形態では、膜貫通ドメインは、配列番号 2、4、6 又は 8 の配列を有するように修飾されている。

20

【 0 1 3 2 】

I L - 7 受容体の 鎖の細胞内ドメイン

本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質の幾つかの実施形態は、I L - 7 受容体の 鎖の細胞内ドメイン、又はその部分を更に含み得る。例えば、本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質は、ヒト、マウス、ラット、サル、チンパンジー、ブタ、イヌ、ネコ又は任意の他の適切な種に由来する I L - 7 受容体の野生型 鎖の細胞内ドメインを含み得る。I L - 7 受容体の 鎖の細胞内ドメインの非限定的な例を以下に記載する。I L - 7 受容体の 鎖の細胞内ドメインの付加的な例が当該技術分野で既知である。

【 0 1 3 3 】

本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質のいずれかは、インターロイキン - 7 受容体の 鎖 (例えば、本明細書に記載のインターロイキン - 7 受容体の 鎖のいずれか) の細胞内ドメインを含み得る。幾つかの実施形態では、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞内ドメインは、約 100 アミノ酸 ~ 約 225 アミノ酸、約 100 アミノ酸 ~ 約 200 アミノ酸、約 100 アミノ酸 ~ 約 180 アミノ酸、約 100 アミノ酸 ~ 約 160 アミノ酸、約 100 アミノ酸 ~ 約 140 アミノ酸、約 100 アミノ酸 ~ 約 120 アミノ酸、約 120 アミノ酸 ~ 約 225 アミノ酸、約 120 アミノ酸 ~ 約 200 アミノ酸、約 120 アミノ酸 ~ 約 180 アミノ酸、約 120 アミノ酸 ~ 約 160 アミノ酸、約 120 アミノ酸 ~ 約 140 アミノ酸、約 140 アミノ酸 ~ 約 225 アミノ酸、約 140 アミノ酸 ~ 約 200 アミノ酸、約 140 アミノ酸 ~ 約 180 アミノ酸、約 140 アミノ酸 ~ 約 160 アミノ酸、約 160 アミノ酸 ~ 約 225 アミノ酸、約 160 アミノ酸 ~ 約 200 アミノ酸、約 160 アミノ酸 ~ 約 180 アミノ酸、約 180 アミノ酸 ~ 約 225 アミノ酸、約 180 アミノ酸 ~ 約 200 アミノ酸又は約 200 アミノ酸 ~ 約 225 アミノ酸の長さであり得る。

30

40

【 0 1 3 4 】

本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質のいずれかは、インターロイキン - 7 受容体の 鎖の細胞内ドメイン (例えば、インターロイキン - 7 受容体の野生型 鎖の細胞内ドメイン、例えば、インターロイキン - 7 受容体の野生型ヒト 鎖の細胞内ドメイン、例えば配列番号 45) (例えば、配列番号 46 のインターロイキン - 7 の野生型ヒト 鎖の細胞内ドメイン) を含み得る。

I L - 7 受容体の野生型ヒト 鎖の細胞内ドメイン (配列番号 45 ; B O X 1 モチーフを下線で示し、リン酸化されるチロシンが大きな太字のフォントである)

KKRIKPIVWPSLDPDHKKTLEHLCKKPRKKNLNVSFNPESFLDCQIHRVDDIQARDEVEGFLQD
 TFPQQLEESEKQRLGGDVQSPNCPSEDVVITPESFGRDSSLTCLAGNVSACDAPILSSSRSL

DCRESGKNGPHV**Y**QDLLLSLGTNTSTLPPPFSLQSGILTLNPVAQGQPILTSLGSNQEEA**Y**V

TMSSF**Y**QNNQ

IL-7受容体の野生型ヒト鎖の細胞内ドメインをコードする核酸（配列番号82；BOX1モチーフをコードする核酸配列を下線で示す）

10

aagaagaggatcaagcccatcggtggccagcctgcccgaccacaagaagaccctggagcacctgtgtaagaagcccg
 gaagaacctgaacgtgagcttcaaccccgagagcttcttgactgccagatccacagggaggacgacatccaggccaggg
 acgaggtggagggcttctgcaggacaccttccccgagcagctggaggagagcgagaagcagaggctgggaggcgacgtg
 cagagcccaactgcccagcagaggacgtggatgacccccgagagcttgcggcaggacagcagcctgacctgcctggc
 cggcaacgtgagcgctgagcagcccccatctgagcagcagcaggagcctggactgcaggagagcggcaagaacggcc
 cccacgtgtaccaggacctgctgctgagcctgggcaccaccaacagcaccctgccacccccctcagcctgcagagcggc
 atctgacctgaaccccgaggccagggccagcccatctgaccagcctgggcagcaaccaggaggaggcctacgtgac
 catgagcagcttctaccagaaccag

IL-7受容体アイソフォーム1の野生型マウス鎖の細胞内ドメイン（配列番号46）
 KKRIPVWPSLDPDHKKTLEQLCKKPKTSLNVSFNPESFLDCQIHEVKGVEARDEVESFLPNDLPAQPEELETQGHRAAV
 HSANRSPETSVPPEVTRRESPLRCLARNLSTCNAPLLSSRSPDYRDGDRNRPPVYQDLLPNSGNTNVPVVPQPLPFQ
 SGILIPVSQRQPISTSSVLNQEEAYVTMSSFYQNK

20

【0135】

幾つかの実施形態では、IL-7受容体の鎖の細胞内ドメインは、IL-7受容体の野生型鎖の細胞内ドメイン（例えば、配列番号45又は46）と少なくとも60%同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも85%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも93%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含むか又はその配列である。幾つかの実施形態では、IL-7受容体の鎖の細胞内ドメインは、IL-7受容体の野生型鎖の細胞内ドメインの配列（例えば、配列番号45又は46）と1個～40個のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個又は40個のアミノ酸）が異なる配列を含む。幾つかの実施形態では、IL-7受容体の鎖の細胞内ドメインは、例えば、配列番号45又は46の配列に加えて、1つ以上の付加的なアミノ酸（例えば、1個～約100個のアミノ酸、1個～約95個のアミノ酸、1個～約90個のアミノ酸、1個～約85個のアミノ酸、1個～約80個のアミノ酸、1個～約75個のアミノ酸、1個～約70個のアミノ酸、1個～約65個のアミノ酸、1個～約60個のアミノ酸、1個～約55個のアミノ酸、1個～約50個のアミノ酸、1個～約45個のアミノ酸、1個～約40個のアミノ酸、1個～約35個のアミノ酸、1個～約30個のアミノ酸、1個～約25個のアミノ酸、1個～約20個のアミノ酸、1個～約15個のアミノ酸、1個～約10個のアミノ酸、又は1個～約5個のアミノ酸）を含む。幾つかの実施形態では、IL-7受容体の鎖の細胞内ドメインは、配列番号45又は46のいずれか1つの配列を有し得るが、1個～40個のアミノ酸（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、2

30

40

50

8個、29個、30個、31個、32個、33個、34個、35個、36個、37個、38個、39個又は40個のアミノ酸)が欠如し得る。

【0136】

当業者が理解し得るように、異なる種に由来するIL-7受容体タンパク質の野生型鎖に由来する細胞内ドメイン間で保存されていないアミノ酸が突然変異する(例えば、異なるアミノ酸で置換される)場合、それらがIL-7受容体タンパク質の鎖に由来する細胞内ドメインの活性の低下を引き起こす可能性はより低い。対照的に、異なる種に由来するIL-7受容体タンパク質の野生型鎖に由来する細胞内ドメイン間で保存されているアミノ酸が突然変異する(例えば、異なるアミノ酸で置換される)場合、それらがIL-7受容体タンパク質の鎖に由来する細胞内ドメインの活性の低下を引き起こす可能性はより高い。この知識を考慮して、当業者は、IL-7受容体タンパク質の鎖に由来する細胞内ドメインの活性を低下させることなく置換することができるIL-7受容体タンパク質の鎖の細胞内ドメイン中のアミノ酸位置(例えば、非保存アミノ酸)を選択することができる。

10

【0137】

幾つかの実施形態では、IL-7受容体タンパク質の鎖の細胞内ドメインは、IL-7受容体タンパク質の鎖の細胞内ドメインのN末端から1個~3個(例えば、1個、2個又は3個)のアミノ酸が除去されたIL-7受容体タンパク質の野生型鎖の細胞内ドメインの配列(例えば、配列番号45又は46)である。幾つかの実施形態では、IL-7受容体タンパク質の鎖の細胞内ドメインは、IL-7受容体タンパク質の鎖の細胞内ドメインのC末端から1個~3個(例えば、1個、2個又は3個)のアミノ酸が除去されたIL-7受容体タンパク質の野生型鎖の細胞内ドメインの配列(例えば、配列番号45又は46)である。幾つかの実施形態では、IL-7受容体タンパク質の鎖の細胞内ドメインは、IL-7受容体タンパク質の鎖の細胞内ドメインのN末端からの1個~3個(例えば、1個、2個又は3個)のアミノ酸の除去、及びIL-7受容体タンパク質の鎖の細胞内ドメインのC末端からの1個~3個(例えば、1個、2個又は3個)のアミノ酸の除去を有するIL-7受容体タンパク質の野生型鎖の細胞内ドメインの配列(例えば、配列番号45又は46)である。

20

【0138】

リンカー配列

幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、細胞外IL-15ドメインと細胞外sushiドメインとの間に位置するリンカー配列を含む。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通タンパク質は、IL-15受容体の鎖の細胞外sushiドメインと膜貫通ドメインとの間に位置する付加的なリンカー配列を含む。キメラ膜貫通タンパク質がリンカー配列及び付加的なリンカー配列を含む場合、リンカー配列は各々、互いに同じであっても又は異なってもよい。

30

【0139】

幾つかの実施形態では、リンカー配列又は付加的なリンカー配列は、1アミノ酸~約50アミノ酸、1アミノ酸~約48アミノ酸、1アミノ酸~約46アミノ酸、1アミノ酸~約44アミノ酸、1アミノ酸~約42アミノ酸、1アミノ酸~約40アミノ酸、1アミノ酸~約38アミノ酸、1アミノ酸~約36アミノ酸、1アミノ酸~約34アミノ酸、1アミノ酸~約32アミノ酸、1アミノ酸~約30アミノ酸、1アミノ酸~約28アミノ酸、1アミノ酸~約26アミノ酸、1アミノ酸~約24アミノ酸、1アミノ酸~約22アミノ酸、1アミノ酸~約20アミノ酸、1アミノ酸~約18アミノ酸、1アミノ酸~約16アミノ酸、1アミノ酸~約14アミノ酸、1アミノ酸~約12アミノ酸、1アミノ酸~約10アミノ酸、1アミノ酸~約8アミノ酸、1アミノ酸~約6アミノ酸、1アミノ酸~約4アミノ酸、1アミノ酸~約3アミノ酸、約2アミノ酸~約50アミノ酸、約2アミノ酸~約48アミノ酸、約2アミノ酸~約46アミノ酸、約2アミノ酸~約44アミノ酸、約2アミノ酸~約42アミノ酸、約2アミノ酸~約40アミノ酸、約2アミノ酸~約38アミノ酸、約2アミノ酸~約36アミノ酸、約2アミノ酸~約34アミノ酸、約2アミノ酸~

40

50

酸、約34アミノ酸～約48アミノ酸、約34アミノ酸～約46アミノ酸、約34アミノ酸～約44アミノ酸、約34アミノ酸～約42アミノ酸、約34アミノ酸～約40アミノ酸、約34アミノ酸～約38アミノ酸、約34アミノ酸～約36アミノ酸、約36アミノ酸～約50アミノ酸、約36アミノ酸～約48アミノ酸、約36アミノ酸～約46アミノ酸、約36アミノ酸～約44アミノ酸、約36アミノ酸～約42アミノ酸、約36アミノ酸～約40アミノ酸、約36アミノ酸～約38アミノ酸、約38アミノ酸～約50アミノ酸、約38アミノ酸～約48アミノ酸、約38アミノ酸～約46アミノ酸、約38アミノ酸～約44アミノ酸、約38アミノ酸～約42アミノ酸、約38アミノ酸～約40アミノ酸、約40アミノ酸～約50アミノ酸、約40アミノ酸～約48アミノ酸、約40アミノ酸～約46アミノ酸、約40アミノ酸～約44アミノ酸、約40アミノ酸～約42アミノ酸、約42アミノ酸～約50アミノ酸、約42アミノ酸～約48アミノ酸、約42アミノ酸～約46アミノ酸、約42アミノ酸～約44アミノ酸、約44アミノ酸～約50アミノ酸、約44アミノ酸～約48アミノ酸、約44アミノ酸～約46アミノ酸、約46アミノ酸～約50アミノ酸、約46アミノ酸～約48アミノ酸、又は約48アミノ酸～約50アミノ酸である。

10

【0140】

幾つかの実施形態では、リンカー配列及び/又は付加的なリンカー配列は、(SG)_nの配列を含み、ここで、nは1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24又は25であり得る。幾つかの実施形態では、リンカー配列及び/又は付加的なリンカー配列は、(GS)_nの配列を含み、ここで、nは1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24又は25であり得る。

20

【0141】

幾つかの実施形態では、リンカー配列及び/又は付加的なリンカー配列は、(SGGS)_n(SGGS=配列番号47)の配列を含み、ここで、nは1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12又は13であり得る。幾つかの実施形態では、リンカー配列及び/又は付加的なリンカー配列は、(SGGGS)_n(SGGGS=配列番号48)の配列を含み、ここで、nは1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10であり得る。幾つかの実施形態では、リンカー配列及び/又は付加的なリンカー配列は、(SGGGGS)_n(SGGGGS=配列番号49)の配列を含み、ここで、nは1、2、3、4、5、6、7、8又は9であり得る。

30

【0142】

幾つかの実施形態では、リンカー配列及び/又は付加的なリンカー配列は、SGGGGS SGGGS SGGGS (配列番号50)の配列であるか又はその配列を含み得る。幾つかの実施形態では、リンカー配列及び/又は付加的なリンカー配列は、ASTKGP S V F P L A P S S S G S G (配列番号51)の配列であるか又はその配列を含み得る。幾つかの実施形態では、リンカー配列及び/又は付加的なリンカー配列は、GGGG SGGGS SGGGS (配列番号52)の配列であるか又はその配列を含み得る。幾つかの実施形態では、リンカー配列及び/又は付加的なリンカー配列は、GGGS SGGGS SGGGS (配列番号53)の配列であるか又はその配列を含み得る。幾つかの実施形態では、リンカー配列及び/又は付加的なリンカー配列は、SGGG SGGGS SGGGS SGGGS SGGGS SGGGS LQ (配列番号92)の配列であるか又はその配列を含み得る。

40

【0143】

幾つかの実施形態では、リンカー配列及び/又は付加的なリンカー配列は、Whitlowリンカーであり得る。幾つかの実施形態では、Whitlowリンカーは、GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号54)のアミノ酸配列を有し、又はWhitlowリンカー配列をコードするヌクレオチド配列は、ggcagcaccagcggcaggcggcaaacccgggagcggcgaggcagcaccacaaggc (配

50

トーク配列（例えば、CD28トーク配列）を含むCARの幾つかの実施形態では、トーク配列は、膜貫通ドメインと隣接する（coterminal）。細胞外トーク配列（例えば、CD28トーク配列）を含むCARの幾つかの実施形態では、細胞外トーク配列は、膜貫通ドメインと同じタンパク質に由来する。細胞外トーク配列（例えば、CD28トーク配列）を含むCARの幾つかの実施形態では、細胞外トーク配列は、膜貫通ドメインとは異なるタンパク質に由来する。キメラ抗原受容体の非限定的な態様が、例えば、Kershaw et al., Nature Reviews Immunol. 5(12):928-940, 2005、Eshhar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90(2):720-724, 1993、Sadelain et al., Curr. Opin. Immunol. 21(2): 215-223, 2009、国際公開第2015/142675号、国際公開第2015/150526号及び国際公開第2014/134165号に記載され、それらの各々の開示は、それらの全体を引用することにより本明細書の一部をなす。

10

【0151】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、1つ以上（例えば、2つ、3つ、4つ又は5つ）の共刺激ドメイン（例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知の例示的な共刺激ドメインのいずれかの任意の組合せ）を含み得る。これらのキメラ抗原受容体の幾つかの実施形態は、4-1BB共刺激ドメイン及びCD28共刺激ドメインの一方又は両方を含む。

【0152】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、1つ以上（例えば、2つ、3つ、4つ又は5つ）のITAM（例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知のITAMのいずれか）を含み得る。これらのキメラ抗原受容体の幾つかの実施形態では、ITAMは、CD3（例えば、ヒトCD3）に由来する細胞質シグナル伝達配列を含む。

20

【0153】

幾つかの実施形態では、細胞外抗原結合ドメインと膜貫通ドメインとの間の1つ以上のアミノ酸は、膜貫通ドメインが得られるのと同じ内因性単鎖ポリペプチドに由来する配列である。幾つかの実施形態では、細胞外抗原結合ドメインと膜貫通ドメインとの間の1つ以上のアミノ酸は、限定されるものではないが、ヒト抗体（例えば、IgG1、IgG2、IgG3又はIgG4）等の抗体のヒンジ領域配列であるか又はこれを含む。幾つかの実施形態では、細胞外抗原結合ドメインと膜貫通ドメインとの間の1つ以上のアミノ酸は、リンカー配列（例えば、非自然発生リンカー配列、例えばGS、又は本明細書に記載される他のリンカー配列のいずれか）であるか又はこれを含む。

30

【0154】

本明細書に記載されるCARのいずれかの幾つかの例では、CARの細胞内部分は、N末端からC末端に向かって、共刺激ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。本明細書に記載されるCARのいずれかの幾つかの例では、CARの細胞内部分は、N末端からC末端に向かって、細胞内シグナル伝達ドメインと共刺激ドメインとを含む。

【0155】

本明細書に記載されるCARのいずれかの幾つかの例では、CARの細胞内部分は、C末端からN末端に向かって、共刺激ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。本明細書に記載されるCARのいずれかの幾つかの例では、CARの細胞内部分は、C末端からN末端に向かって、細胞内シグナル伝達ドメインと共刺激ドメインとを含む。

40

【0156】

本明細書に記載されるCARのいずれかの幾つかの実施形態では、膜貫通ドメインは、CD28、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8a、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、4-1BB又はCD154の膜貫通ドメインであるか又はこれを含む。膜貫通ドメインの付加的な例及び態様が本明細書に記載される。

【0157】

本明細書に記載されるCARのいずれかの幾つかの実施形態では、共刺激ドメインは、4-1BB、CD28、CD2、CD4又はCD8の共刺激ドメインであるか又はこれを

50

含む。共刺激ドメインの付加的な例及び態様が本明細書に記載される。

【0158】

本明細書に記載されるCARのいずれかの幾つかの実施形態では、CARをCAR前駆体から生成し、このCAR前駆体は、CARを細胞膜に標的化するシグナルペプチド配列を含む。幾つかの実施形態では、CARシグナルペプチドは、配列番号93の配列を含むか又はその配列である。

例示的なCARシグナル配列ペプチド（配列番号93）

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIP

例示的なCARシグナル配列ペプチドをコードする例示的な核酸配列（配列番号94）

atgcttctcctggtgacaagccttctgctctgtgagttaccacaccagcattcctcctgattcct

10

【0159】

幾つかの実施形態では、CARシグナルペプチドは、配列番号93のポリペプチド配列と少なくとも60%同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも85%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも93%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含む。幾つかの実施形態では、CARシグナルペプチドをコードする核酸配列は、配列番号94の核酸配列と少なくとも60%同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも85%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも93%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一又は100%同一の配列を含む。

20

【0160】

本明細書に記載されるCARのいずれかの K_D 値を決定するために用いることができる様々な方法が当該技術分野で既知である（例えば、電気泳動移動度シフト解析、フィルタ結合アッセイ、表面プラズモン共鳴及びバイオ分子結合動態アッセイ等）。

【0161】

本明細書に記載されるキメラ抗原受容体のいずれかの幾つかの実施形態は、二量体化ドメイン及び/又はペプチドタグを更に含み得る。

30

【0162】

抗原結合ドメイン

キメラ抗原受容体の幾つかの実施形態では、抗原結合ドメインは、scFv、scFv-Fc、VHHドメイン、VNARDドメイン、(scFv)₂及びBiTEから選択することができる。本明細書に記載されるキメラ抗原受容体と共に使用することができる抗原結合ドメインの付加的な例が当該技術分野で既知である。

【0163】

単鎖Fv又はscFvフラグメントは、単一のポリペプチド鎖にV_Hドメイン及びV_Lドメインを含む。V_H及びV_Lは、一般的には、ペプチドリンカーによって連結されている。その他の例では、リンカーは単一のアミノ酸であってもよい。幾つかの例では、リンカーは化学結合であってもよい。例えば、Pluckthun, *Antibodies from E. coli*. In Rosenberg M. & Moore G.P. (Eds.), *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, Vol. 13, pp. 269-315, Springer-Verlag, New York, 1994を参照されたい。

40

【0164】

scFv-Fcフラグメントは、Fcドメインに付着されたscFvを含む。例えば、Fcドメインは、例えば、scFvのC末端に付着され得る。Fcドメインは、scFv中の可変ドメインの配向に応じて、V_L又はV_Hに続いてよい。Fcドメインは、当該技術分野で知られている任意のFcドメインであってもよい。幾つかの例では、Fcドメ

50

インは、I g G 1、I g G 2、I g G 3、又はI g G 4のF cドメイン（例えばヒトのI g G 1、I g G 2、I g G 3、又はI g G 4のF cドメイン）である。

【 0 1 6 5 】

B i T Eは、単一のポリペプチド中に、共に2つのs c F vを形成する、2つのV_L及び2つのV_Hを含む抗原結合ドメインであり、これらのs c F vはそれぞれ、同じ抗原上の異なるエピトープに結合することができるか、又はそれぞれが異なる抗原に結合することができる。例えば、Baeuerle et al., Curr. Opin. Mol. Ther. 11:22-30, 2009、Wolf et al., Drug Discovery Today 10:1237-1244, 2005、及びHuehls et al., Immunol. Cell Biol. 93:290-296, 2015を参照されたい。

【 0 1 6 6 】

V_HHドメインはラクダで発見された単一の単量体可変抗体ドメインであり、V_{N A R}ドメインは軟骨魚類で発見された単一の単量体可変抗体ドメインである。V_HHドメイン及びV_{N A R}ドメインは、例えば、Van Audenhove et al., EBioMedicine 8:40-48, 2016、Krah et al., Immunopharmacol. Immunotoxicol. 38:21-28, 2016、Cromie et al., Curr. Top. Med. Chem. 15:2543-2557, 2016、Kijanka et al., Nanomedicine 10:161-174, 2015、Kovaleva et al., Expert. Opin. Biol. Ther. 14:1527-1539, 2014、De Meyer et al., Trends Biotechnol. 32:263-270, 2014、Mujic-Delic et al., Trends Pharmacol. Sci. 35:247-255, 2014、Muyldermans, Ann. Rev. Biochem. 82:775-797, 2013、Vinck et al., Methods Mol. Biol. 911:15-26, 2012、Rahbarizadeh et al., Immunol. Invest. 40:299-338, 2011、Van Bockstaele et al., Curr. Opin. Investig. Drugs 10:1212-1224, 2009、Wesolowski et al., Med. Microbiol. Immunol. 198:157-174, 2009、De Genst et al., Dev. Comp. Immunol. 30:187-198, 2006、Muyldermans, J. Biotechnol. 74:277-302, 2001、及びMuyldermans et al., Trends Biochem. Sci. 26:230-235, 2001に記載されている。

【 0 1 6 7 】

幾つかの実施形態では、C A Rの抗原結合ドメインは、配列番号95を含むか又は配列番号95である配列である。

例示的な抗C D 1 9抗原結合ドメイン（配列番号95）

DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQ
EDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGGSGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIR
QPPRKGLEWLVIVGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTV
SS

例示的な抗C D 1 9抗原結合ドメインをコードする核酸（配列番号96）

Gacatccagatgaccagaccaccagcagcctgagcgcagcctggcgcatagagtgaccatcagctgcagagccagcca
ggacatcagcaagtacctgaactggatcagcagaaacccgacggcaccgtgaagctgctgatctaccacaccagcagac
tgacagcggcgtgccagcagatcttctggcagcggctccggcaccgactacagcctgaccatctccaacctggaacag
gaagatatcgctacctacttctgtcagcaaggcaaacacctgccctacaccttcggcggaggcaccaagctggaaatcac
aggcggcggaggatctggcggaggcgggaagtggcggagggggatctgaagtgaaactgcaggaaagcggccctggcctgg
tgccccatctcagctctctgagcgtgacctgtaccgtgtccggcgtgtccctgcctgactatggcgtgtctctggatcaga
cagccccagaaaggccctggaatggctgggagtgatctggggcagcagagacaacctactacaacagcgcacctgaagtc
ccggctgaccatcatcaaggacaactccaagagccaggtgttctgaagatgaacagcctgcagaccgacgacaccgcca
tctactactgcgccaagcactactactacggcggcagctacgccatggactactggggccaggggcacaagcgtgaccgtg
tctagc

【 0 1 6 8 】

幾つかの実施形態では、抗原結合ドメインは、配列番号95のポリペプチド配列と少なくとも60%同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも85%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも93%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくと

10

20

30

40

50

も98%同一、少なくとも99%同一、又は100%同一の配列を含む。幾つかの実施形態では、抗原結合ドメインをコードする核酸配列は、配列番号96の核酸配列と少なくとも60%同一、少なくとも65%同一、少なくとも70%同一、少なくとも75%同一、少なくとも80%同一、少なくとも82%同一、少なくとも84%同一、少なくとも85%同一、少なくとも86%同一、少なくとも88%同一、少なくとも90%同一、少なくとも91%同一、少なくとも92%同一、少なくとも93%同一、少なくとも94%同一、少なくとも95%同一、少なくとも96%同一、少なくとも97%同一、少なくとも98%同一、少なくとも99%同一、又は100%の配列を含む。

【0169】

本明細書に記載される抗原結合ドメインはいずれも、 1×10^{-7} M未満、 1×10^{-8} M未満、 1×10^{-9} M未満、 1×10^{-10} M未満、 1×10^{-11} M未満、 1×10^{-12} M未満、又は 1×10^{-13} M未満の解離平衡定数(K_D)で抗原に結合し得る。幾つかの実施形態では、本明細書で提供される抗原結合タンパク質複合体は、約 1×10^{-4} M~約 1×10^{-6} M、約 1×10^{-5} M~約 1×10^{-7} M、約 1×10^{-6} M~約 1×10^{-8} M、約 1×10^{-7} M~約 1×10^{-9} M、約 1×10^{-8} M~約 1×10^{-10} M、又は約 1×10^{-9} M~約 1×10^{-11} M(両端を含む)の K_D で第1及び/又は第2の抗原に結合し得る。当該技術分野で知られている様々な異なる方法(例えば、電気泳動移動度シフト解析、フィルタ結合アッセイ、表面プラズモン共鳴、及びバイオ分子結合動態アッセイ等)を使用して、抗原結合ドメインの K_D 値を決定することができる。

【0170】

抗原

幾つかの実施形態では、本明細書に記載されるキメラ抗原受容体は、単一の抗原(例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知の例示的な抗原のいずれか)に結合し得る。幾つかの実施形態では、本明細書に記載される抗原結合ドメインは、2つ以上の異なる抗原(例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知の例示的な抗原のいずれか2つ以上)に結合することができる。抗原の非限定的な例としては、グリピカン-3、HER2、A33抗原、9-O-アセチル-GD3、CA19-9マーカー、BhCG、CA-125マーカー、炭酸脱水酵素IX(MN/CA IX)、カルレティキュリン、CCR5、CCR8、CD2、CD3、CD5、CD16、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD27、CD28、CD30、CD33、CD38、CD40L、CD44、CD44V6、CD63、CD70、CD84、CD96、CD100、CC123、CD133、CD137、CD138、CD150、CD152(CTLA-4)、CD160、CRTAM、CS1(CD319)、DNAM-1(CD226)、CD229、CD244、CD272(BTLA)、CD274(PDL-1、B7H1)、CD279(PD-1)、CD319、CD352、CRTAM(CD355)、CD358、DR3、GITR(TNFRSF18)、HVEM、ICOS、LIGHT、LTBR、OX40、KIRの活性化形態、NKG2C、NKG2D、NKG2E、1つ以上の天然細胞傷害性受容体、NTB-A、PEN-5、癌胎児性抗原(CEA; CD66e)、デスモグレイン4、E-カドヘリンネオエピトープ、エンドシアリン、エフリンA2(EphA2)、上皮成長因子受容体(EGFR)、上皮細胞接着分子(EpCAM)、フコシルGM1、GD2、GD3、GM2、ガングリオシドGM3、Globo H、糖タンパク質100、HER2/neu、HER3、HER4、インスリン様成長因子受容体1、Lewis-Y、LG、Ly-6、黒色腫特異的コンドロイチン硫酸プロテオグリカン(MCSCP)、メソテリン、MUC1、MUC2、MUC3、MUC4、MUC5AC、MUC5b、MUC7、MUC16、ミューラー管抑制因子(MIS)受容体タイプII、プラズマ細胞抗原、ポリSA、PSCA、PSMA、ソニックヘッジホッグ(SHH)、SAS、STEAP、sTn抗原、TNF-前駆体、2B4(CD244)、2-インテグリン、KIR、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL2、KIR-L、KLRG1、LAIR-1、NKG2A、NKR

- P I A、S i g l e c - 3、S i g l e c - 7、S i g l e c - 9、T C R a、T C R B、T C R 5 K、T I M 1、L A G 3、L A I R 1、P D - 1 H、T I G I T、T I M 2、及びT I M 3が挙げられる。更なる抗原の例が当該技術分野において知られている。

【0171】

C A R膜貫通ドメイン

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、C D 2 8 (T p 4 4としても知られる)、C D 3、C D 3、C D 3、C D 3 3、C D 3 7 (G P 5 2 - 4 0又はT S P A N 2 6としても知られる)、C D 6 4 (F C G R 1 Aとしても知られる)、C D 8 0 (B 7、B 7 - 1、B 7 . 1、B B 1、C D 2 8 L G、C D 2 8 L G 1及びL A B 7としても知られる)、C D 4 5 (P T P R C、B 2 2 0、C D 4 5 R、G P 1 8 0、L - C A、L C A、L Y 5、T 2 0 0及びタンパク質チロシンホスファターゼ、受容体タイプCとしても知られる)、C D 4、C D 5 (L E U 1及びT 1としても知られる)、C D 8 (L e u 2、M A L及びp 3 2としても知られる)、C D 9 (B T C C - 1、D R A P - 2 7、M I C 3、M R P - 1、T S P A N - 2 9及びT S P A N 2 9としても知られる)、C D 1 6 (F C G R 3及びF C G 3としても知られる)、C D 2 2 (S I G L E C - 2及びS I G L E C 2としても知られる)、C D 8 6 (B 7 - 2、B 7 . 2、B 7 0、C D 2 8 L G 2及びL A B 7 2としても知られる)、C D 1 3 4 (T N F R S F 4、A C T 3 5、R P 5 - 9 0 2 P 8 . 3、I M D 1 6、O X 4 0、T X G P 1 L及び腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー4)、C D 1 3 7 (T N F R S F 9、4 - 1 B B、C D w 1 3 7、I L A及び腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー9としても知られる)、C D 2 7 (S 1 5 2、S 1 5 2 . L P F S 2、T 1 4、T N F R S F 7及びT p 5 5としても知られる)、C D 1 5 2 (C T L A 4、A L P S 5、C E L I A C 3、C T L A - 4、G R D 4、G S E、I D D M 1 2及び細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4としても知られる)、P D 1 (P D C D 1、C D 2 7 9、P D - 1、S L E B 2、h P D - 1、h P D - 1、h S L E 1及びプログラム細胞死1としても知られる)、I C O S (A I L I M、C D 2 7 8及びC V I D 1としても知られる)、C D 2 7 2 (B T L A及びB T L A 1としても知られる)、C D 3 0 (T N F R S F 8、D 1 S 1 6 6 E及びK i - 1としても知られる)、G I T R (T N F R S F 1 8、R P 5 - 9 0 2 P 8 . 2、A I T R、C D 3 5 7及びG I T R - Dとしても知られる)、H V E M (T N F R S F 1 4、R P 3 - 3 9 5 M 2 0 . 6、A T A R、C D 2 7 0、H V E A、H V E M、L I G H T R及びT R 2としても知られる)、D A P 1 0及びC D 1 5 4 (C D 4 0 L G、C D 4 0 L、H I G M 1、I G M、I M D 3、T - B A M、T N F S F 5、T R A P、g p 3 9、h C D 4 0 L及びC D 4 0 リガンドとしても知られる)の群から選択される内因性ポリペプチドに由来する膜貫通ドメイン又はその部分を含む。「C D」の文字は、「分化クラスター」を表す前文である。例えば、C D 3は、「分化クラスター3」を表す。幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、内因性哺乳動物(例えば、ヒト)ポリペプチド(例えば、上に列挙されるポリペプチドのいずれかの哺乳動物又はヒトのホモログ)に由来する膜貫通ドメイン又はその部分を含む。

【0172】

哺乳動物細胞の脂質二重層(例えば、形質膜)中に内因性ポリペプチドを係留する役割を果たす任意の膜貫通ドメイン又はその部分は、本明細書に開示される組成物及び方法による使用に適している。幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、ヒトC D 2 8に由来する膜貫通ドメイン又はその部分、例えばG e n B a n kアクセッション番号P 0 1 7 4 7、例えば配列番号61のアミノ酸153~179を含む。幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、配列番号61のアミノ酸153~179と少なくとも80%(例えば、少なくとも82%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも98%又は少なくとも99%)同一の膜貫通ドメイン又はその部分を含む。

配列番号61

10

20

30

40

50

MLRLLLALNLFPSIQVTGNKILVKQSPMLVAYDNAVNLCKYSYNLFSREFRASLHKGLDSAVEVCVVYGNYSQQLQVYS
 KTGFNCDDGKLGNESVTFYLQNLVYNQTDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIHVKGKHLCPSPFLFPGPSKPFWWLVVVG
 GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS

【0173】

幾つかの実施形態では、CARは、配列番号97の配列を有する膜貫通ドメイン及び細胞外ストロウドメインを含む。幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、配列番号97と少なくとも80%（例えば、少なくとも82%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも98%又は少なくとも99%）同一の配列であるか又はその配列を含む膜貫通ドメイン及び細胞外ストロウドメインを含む。

10

CD28ストローク及びTMDの例示的なポリペプチド配列（配列番号97）

LDNEKSNGTIHVKGKHLCPSPFLFPGPSKPFWWLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWV

【0174】

幾つかの実施形態では、CARをコードする核酸は、配列番号98の配列を有する膜貫通ドメイン及び細胞外ストロウドメインをコードする核酸配列を含む。幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体をコードする核酸は、配列番号98と少なくとも80%（例えば、少なくとも82%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも98%又は少なくとも99%）同一の配列であるか又はその配列を含む膜貫通ドメイン及び細胞外ストロウドメインをコードする核酸を含む。

20

CD28ストローク及びTMDのポリペプチド配列をコードする例示的な核酸配列（配列番号98）

ctagacaatgagaagagcaatggaaccattatccatgtgaaagggaaacacctttgtccaagtcacctatctccggacc
 ttctaagccctttgggtgctgggtgggtgggtggagtcctggcttgctatagcttgctagtaacagtgccctttatta
 ttttctgggtg

【0175】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、ヒトCD3に由来する膜貫通ドメイン又はその部分、例えばGenBankアクセッション番号P20963、例えば配列番号62のアミノ酸31~51を含む。幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、配列番号62のアミノ酸31~51と少なくとも80%（例えば、少なくとも82%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも98%又は少なくとも99%）同一の配列であるか又はその配列を含む膜貫通ドメインを含む。

30

配列番号62

MKWKALFTAAI LQAQLP I TEAQSFGLLDPKLCYLLDG I LFIYGV I LTALFLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRR
 EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPKRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE I GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA
 LPPR

【0176】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、配列番号63~69のいずれか1つの膜貫通ドメイン又はその部分を含む。

40

LG L L V A G V L V L L V S L G V A I H L C C（配列番号63）、
 V A A I L G L G L V L G L L G P L A I L L A L Y L L（配列番号64）、
 A L I V L G G V A G L L L F I G L G I F F C V R C（配列番号65）、
 L C Y L L D G I L F I Y G V I L T A L F L R V（配列番号66）、
 W V L V V V G G V L A C Y S L L V T V A F I I F W V（配列番号67）、
 I Y I W A P L A G T C G V L L L S L V I T L Y C（配列番号68）、及び、
 A L P A A L A V I S F L L G L G L G V A C V L A（配列番号69）。

【0177】

50

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、配列番号63～69のいずれか1つと少なくとも80%（例えば、少なくとも82%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも98%又は少なくとも99%）同一の配列であるか又はその配列を含む膜貫通ドメインを含む。

【0178】

当業者に理解されるように、或る特定の内因性ポリペプチドは、少なくともそれらの一次ポリペプチド配列が異なる、2つ以上のアイソフォームを有する。本明細書に開示されるキメラ抗原受容体は、例えばT細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、CD28、CD3、CD3、CD3、CD33、CD37、CD64、CD80、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD86、CD134、CD137、CD27、CD152、PD1又はCD154のアイソフォーム（例えば、ヒトアイソフォーム）を含む、内因性膜貫通タンパク質（例えば、内因性哺乳動物、例えばヒト膜貫通タンパク質）の任意のアイソフォームに由来するアミノ酸の配列を含む膜貫通ドメインを含み得る。

10

【0179】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体の膜貫通ドメイン又はその部分は、以下の内因性哺乳動物（例えば、ヒト）膜貫通タンパク質：T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、CD28、CD3、CD3、CD3、CD33、CD37、CD64、CD80、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD86、CD134、CD137、CD27、CD152、PD1又はCD154の1つ以上に由来する膜貫通ドメインに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%又はそれ以上の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含む。幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体の膜貫通ドメイン又はその部分は、内因性哺乳動物（例えば、ヒト）膜貫通タンパク質：T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、CD28、CD3、CD3、CD3、CD33、CD37、CD64、CD80、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD86、CD134、CD137、CD27、CD152、PD1又はCD154の膜貫通ドメインと比較して1つ以上のアミノ酸の置換、欠失又は付加を有するアミノ酸の配列を含む。

20

30

【0180】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、合成膜貫通ドメインを含む。場合によっては、合成膜貫通ドメインは主に、限定されるものではないが、ロイシン及びバリン等の疎水性残基を含み得る。幾つかの実施形態では、合成膜貫通ドメインは、ドメインの各末端にフェニルアラニン、トリプトファン及びバリンのトリプレットを含む。

【0181】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、膜貫通ドメインの2つ以上の部分が共に機能性膜貫通ドメインを構成するように、限定されるものではないが、T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、CD28、CD3、CD3、CD3、CD33、CD37、CD64、CD80、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD86、CD134、CD137、CD27、CD152、PD1及びCD154等の2つ以上の内因性哺乳動物（例えば、ヒト）膜貫通ポリペプチドに由来する膜貫通ドメインの部分を含むキメラ膜貫通ドメインである膜貫通ドメインを含む。幾つかの実施形態では、キメラ膜貫通ドメインのかかる部分は、野生型膜貫通ドメインの対応する部分と比較して1つ以上のアミノ酸の置換、欠失又は付加を含み得る。

40

【0182】

膜貫通ドメインは、哺乳動物細胞において発現される際、対応する内因性ポリペプチド中に存在する場合にそれぞれ脂質二重層を横断する、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個の連続アミノ酸配列を含む場合がある。当該技術分野で

50

知られているように、膜貫通ドメインは、例えば、脂質二重層中に - ヘリックス二次構造を有する（哺乳動物細胞において発現される際、対応する内因性ポリペプチド中に存在する場合に、脂質二重層を横断する）少なくとも1個（例えば2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個）の連続アミノ酸配列を含んでもよい。幾つかの実施形態では、膜貫通ドメインは、脂質二重層中に - バレル二次構造を形成する（哺乳動物細胞において発現される際、対応する内因性ポリペプチド中に存在する場合に、各々が脂質二重層を横断する）2個以上の連続アミノ酸配列を含んでもよい。膜貫通ドメインの付加的な例及び特徴が当該技術分野で既知である。

【0183】

共刺激ドメイン

正常なリンパ球では、T細胞活性化は2つのクラスの細胞内シグナル伝達ドメインによって媒介される。一次シグナル伝達は、T細胞受容体（例えばTCR/CD3複合体）を介する、MHC媒介抗原依存性活性化を経て開始される。二次シグナル又は共刺激シグナルは、抗原非依存的に作用する共刺激シグナル伝達ドメインを含む異なる受容体によって提供される。TCRのシグナル伝達ドメイン単独によって生成されたシグナルは、完全なT細胞活性化には不十分であり、共刺激シグナルも必要である。

【0184】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、CD27（S152、S152.LPF S2、T14、TNFRSF7、及びTp55としても知られている）、CD28（Tp44としても知られている）、4-1BB（TNFRSF9、CD137、CDw137、ILA、及び腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー9としても知られている）、OX40（TNFRSF4、ACT35、RP5-902P8.3、IMD16、CD134、TXGP1L、及び腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー4としても知られている）、CD30（TNFRSF8、D1S166E、及びKi-1としても知られている）、CD40L（CD40LG、CD154、HIGM1、IGM、IMD3、T-BAM、TNFSF5、TRAP、gp39、hCD40L、及びCD40リガンドとしても知られている）、CD40（Bp50、CDW40、TNFRSF5、p50、CD40（タンパク質）、及びCD40分子としても知られている）、PD-1（PDCD1、CD279、PD-1、SLEB2、hPD-1、hPD-1、hSLE1、及びプログラム細胞死1としても知られている）、PD-L1（CD274、B7-H、B7H1、PD-L1、PDCD1L1、PDCD1LG1、PDL1、CD274分子、及びプログラム細胞死1リガンド1としても知られている）、ICOS（AILIM、CD278、及びCV1D1としても知られている）、LFA-1（リンパ球機能関連抗原1としても知られている）、CD2（LFA-2、SRBC、T11、及びCD2分子としても知られている）、CD7（GP40、LEU-9、TP41、Tp40、及びCD7分子としても知られている）、CD160（BY55、NK1、NK28、及びCD160分子としても知られている）、LIGHT（TNFSF14、CD258、HVELML、LIGHT、LTg、TR2、TNLG1D、及び腫瘍壊死因子スーパーファミリーメンバー14としても知られている）、BTLA（CD272、及びBTLA1としても知られている）、TIM3（HAVCR2、HAVcr-2、KIM-3、TIM3、TIMD-3、TIMD3、Tim-3、CD366、及びA型肝炎ウイルス細胞受容体2としても知られている）、CD244（2B4、NAIL、NKR2B4、Nmrk、SLAMF4、及びCD244分子としても知られている）、CD80（B7、B7-1、B7.1、BB1、CD28LG、CD28LG1、LAB7、及びCD80分子としても知られている）、LAG3（CD223、及びリンパ球活性化3（lymphocyte activating 3）としても知られている）、NKG2C（CD314、D12S2489E、KLR、NKG2-D、NKG2D、及びキラー細胞レクチン様受容体K1としても知られている）、GITR（TNFRSF18、RP5-902P8.2、AITR、CD357、及びGITR-Dとしても知られている）、HVEM（TNFRSF14、RP3-395M20.6、ATAR、CD270、HVEA、HVEM、LIGHTR、及びT

10

20

30

40

50

R 2 としても知られている)、TLR 1、TLR 2、TLR 3、TLR 4、TLR 5、TLR 6、TLR 7、TLR 8、TLR 9、TLR 10、CARD 11、CD 54 (ICAM)、CD 83、DAP 10、LAT、SLP 76、TRIM、ZAP 70、及び B7-H3 (CD 276、4 Ig-B7-H3、B7H3、B7RP-2、及び CD 276 分子としても知られている)の群から選択される内因性哺乳動物(例えばヒト)膜貫通ポリペプチドに由来する共刺激ドメイン又はその部分を含む。幾つかの実施形態では、単鎖キメラポリペプチド、単鎖キメラ抗原受容体、又は多重鎖キメラ抗原受容体は、内因性哺乳動物(例えばヒト)膜貫通ポリペプチド(例えば上に列挙されるポリペプチドのいずれかの哺乳動物又はヒトのホモログ)に由来する共刺激ドメイン又はその部分を含む。

【0185】

共刺激シグナルを提供する役目を果たす、任意の共刺激ドメイン、又はその部分は、本明細書に開示される組成物及び方法による使用に適している。幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、ヒト CD 28 に由来する共刺激ドメイン又はその部分(例えば、GenBank アクセション番号 P01747、例えば配列番号 70 のアミノ酸 180~220 に由来する)を含む。幾つかの実施形態では、共刺激ドメインは、配列番号 70 のアミノ酸 180~220 に対して少なくとも 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% 同一の(又は同一の)配列又はそのフラグメントであるか又はそれを含む。

配列番号 70 (アミノ酸 180~220 を下線で示す)

```
MLRLLLLALNLFPSIQVTGNKILVKQSPMLVAYDNAVNLCKYSYNLFSREFRSLHKGLDSAVEVCVVYGNYSQQQLQVYS
KTGFNCDGKLGNESVTFYLNLYVNTQDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIHVKGKHLCPSPFLFPGPSKPFVWLVVVG
GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS
```

ヒト CD 28 共刺激ドメインのアミノ酸をコードする例示的な核酸(配列番号 99)

```
aggagtaagaggagcaggctcctgcacagtgactacatgaacatgactccccgccgccccgggccccaccgcaagcatta
ccagccctatgccccaccacgcgacttcgcagcctatcgctcc
```

【0186】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、ヒト 4-1BB に由来する共刺激ドメイン又はその部分(例えば、GenBank アクセション番号 Q07011、例えば、配列番号 71 のアミノ酸 214~255 に由来する)を含む。幾つかの実施形態では、共刺激ドメインは、配列番号 75 のアミノ酸 214~255 に対して、少なくとも 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% 同一の配列又はその部分であるか又はそれを含む。

配列番号 71

```
MGNSCYNIVATLLLLVLFERTRSLQDPCSNCPAGTFCDNRRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSS
TSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGP
SPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRGRKLLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG
CSCRFPEEEEEGGCEL
```

【0187】

本明細書に開示されるキメラ抗原受容体は、例えば、CD 27、CD 28、4-1BB、OX 40、CD 30、CD 40L、CD 40、PD-1、PD-L1、ICOS、LFA-1、CD 2、CD 7、CD 160、LIGHT、BTLA、TIM 3、CD 244、CD 80、LAG 3、NKG 2C、又は B7-H3 (限定されるものではないが、これらのポリペプチドのいずれかの哺乳動物又はヒトのホモログを含む)のアイソフォームを含む共刺激ドメインを有する内因性哺乳動物(例えばヒト)膜貫通ポリペプチドの任意のアイソフォームに由来するアミノ酸の配列を含む共刺激ドメインを含んでもよい。

【0188】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体の共刺激ドメイン又はその部分は、哺乳動物(例えばヒト)の CD 27、CD 28、4-1BB、OX 40、CD 30、CD 40L、

10

20

30

40

50

CD40、PD-1、PD-L1、ICOS、LFA-1、CD2、CD7、CD160、LIGHT、BTLA、TIM3、CD244、CD80、LAG3、NKG2C、又はB7-H3の1つ以上に由来する共刺激ドメインに対して、少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%以上の配列同一性を示すアミノ酸の配列を含む。幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体の共刺激ドメイン又はその部分は、内因性哺乳動物（例えばヒト）膜貫通ポリペプチド：T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40L、CD40、PD-1、PD-L1、ICOS、LFA-1、CD2、CD7、CD160、LIGHT、BTLA、TIM3、CD244、CD80、LAG3、NKG2C、又はB7-H3（限定されるものではないが、これらのポリペプチドのいずれかの哺乳動物又はヒトのホモログを含む）の1つ以上の共刺激ドメインと比較して、1つ以上のアミノ酸の置換、欠失又は付加を有するアミノ酸の配列を含む。

10

【0189】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、膜貫通ドメインの2つ以上の部分が共に機能性共刺激ドメインを構成するように、限定されるものではないが、CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40L、CD40、PD-1、PD-L1、ICOS、LFA-1、CD2、CD7、CD160、LIGHT、BTLA、TIM3、CD244、CD80、LAG3、NKG2C、又はB7-H3（限定されるものではないが、これらのポリペプチドのいずれかの哺乳動物又はヒトのホモログを含む）を含む2つ以上の内因性哺乳動物（例えばヒト）膜貫通ポリペプチドに由来する共刺激ドメインの部分を含むキメラ共刺激ドメインである共刺激ドメインを含む。幾つかの実施形態では、キメラ共刺激ドメインのかかる部分は、野生型共刺激ドメインの対応する部分と比較して、1つ以上のアミノ酸の置換、欠失又は付加を含んでもよい。

20

【0190】

本明細書に開示されるキメラ抗原受容体の共刺激ドメインは、任意の適した長さであってもよい。例えば、共刺激ドメインは、約20アミノ酸～約200アミノ酸、約190アミノ酸、約180アミノ酸、約170アミノ酸、約160アミノ酸、約150アミノ酸、約140アミノ酸、約130アミノ酸、約120アミノ酸、約110アミノ酸、約100アミノ酸、約95アミノ酸、約90アミノ酸、約85アミノ酸、約80アミノ酸、約75アミノ酸、約70アミノ酸、約65アミノ酸、約60アミノ酸、約55アミノ酸、約50アミノ酸、約45アミノ酸、約40アミノ酸、約35アミノ酸、約30アミノ酸、若しくは約25アミノ酸（両端を含む）；約25アミノ酸～約200アミノ酸、約190アミノ酸、約180アミノ酸、約170アミノ酸、約160アミノ酸、約150アミノ酸、約140アミノ酸、約130アミノ酸、約120アミノ酸、約110アミノ酸、約100アミノ酸、約95アミノ酸、約90アミノ酸、約85アミノ酸、約80アミノ酸、約75アミノ酸、約70アミノ酸、約65アミノ酸、約60アミノ酸、約55アミノ酸、約50アミノ酸、約45アミノ酸、約40アミノ酸、約35アミノ酸、若しくは約30アミノ酸（両端を含む）；約30アミノ酸～約200アミノ酸、約190アミノ酸、約180アミノ酸、約170アミノ酸、約160アミノ酸、約150アミノ酸、約140アミノ酸、約130アミノ酸、約120アミノ酸、約110アミノ酸、約100アミノ酸、約95アミノ酸、約90アミノ酸、約85アミノ酸、約80アミノ酸、約75アミノ酸、約70アミノ酸、約65アミノ酸、約60アミノ酸、約55アミノ酸、約50アミノ酸、約45アミノ酸、約40アミノ酸、若しくは約35アミノ酸（両端を含む）；約35アミノ酸～約200アミノ酸、約190アミノ酸、約180アミノ酸、約170アミノ酸、約160アミノ酸、約150アミノ酸、約140アミノ酸、約130アミノ酸、約120アミノ酸、約110アミノ酸、約100アミノ酸、約95アミノ酸、約90アミノ酸、約85アミノ酸、約80アミノ酸、約75アミノ酸、約70アミノ酸、約65アミノ酸、約60アミノ酸、約55アミノ酸、約50アミノ酸、約45アミノ酸、若しくは約40アミノ酸（両端を含む）；約40アミノ酸～約200アミノ酸、約190アミノ酸、約180アミノ酸、約17

30

40

50

を含む) ; 約160アミノ酸~約200アミノ酸、約190アミノ酸、約180アミノ酸、若しくは約170アミノ酸(両端を含む) ; 約170アミノ酸~約200アミノ酸、約190アミノ酸、若しくは約180アミノ酸(両端を含む) ; 約180アミノ酸~約200アミノ酸若しくは約190アミノ酸(両端を含む) ; 又は約190アミノ酸~約200アミノ酸(両端を含む)の長さを有し得る。

【0191】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、2つ以上の共刺激ドメイン、例えば、2個、3個、4個、5個以上の共刺激ドメインを含む。幾つかの実施形態では、2つ以上の共刺激ドメインは同一である(例えば、それらの共刺激ドメインは同じアミノ酸配列を有する)。幾つかの実施形態では、共刺激ドメインは同一ではない。例えば、共刺激ドメインは、限定されるものではないが、CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40L、CD40、PD-1、PD-L1、ICOS、LFA-1、CD2、CD7、CD160、LIGHT、BTLA、TIM3、CD244、CD80、LAG3、NKG2C、又はB7-H3(限定されるものではないが、これらのポリペプチドのいずれかの哺乳動物又はヒトのホモログを含む)を含む種々の内因性哺乳動物(例えばヒト)膜貫通ポリペプチドから選択され得る。幾つかの実施形態では、2つ以上の共刺激ドメインは、1つ以上(例えば、2個、3個、4個、又は5個)のアミノ酸の置換、欠失又は付加によって互いに異なってもよい。幾つかの実施形態では、2つ以上の共刺激ドメインは、互いに対して、少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%以上の配列同一性を示す。

10

20

【0192】

免疫受容活性化チロシンモチーフ(ITAM)

ITAMは、典型的には免疫系の或る特定の細胞表面タンパク質の細胞質側末端において繰り返され(例えば2回以上)、典型的には6個~8個のアミノ酸によって隔てられている。

【0193】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、内因性哺乳動物(例えばヒト)ポリペプチドに由来するITAM又はその部分を含み、内因性哺乳動物(例えばヒト)ポリペプチドは、CD3(CD3ゼータとも呼ばれる)、CD3(CD3デルタ)、CD3(CD3イプシロン)、CD3(CD3ガンマ)、DAP12、FcR1(Fcイプシロン受容体Iガンマ鎖)、FcRγ、FcRft、CD35、CD22、CD79A(抗原受容体複合体関連タンパク質アルファ鎖)、CD79B(抗原受容体複合体関連タンパク質ベータ鎖)、及びCD66dの群から選択される。

30

【0194】

任意のITAM又はその部分は、本明細書に開示される組成物及び方法による使用に適した内因性哺乳動物(例えばヒト)膜貫通タンパク質におけるシグナル伝達を媒介する役目を果たす。幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、ヒトCD3に由来するITAM又はその部分(例えば、GenBankアクセッション番号P20963、例えば配列番号72のアミノ酸52~164又はその部分;配列番号73又はその部分に存在するITAM)を含む。幾つかの実施形態では、ITAMは、配列番号72のアミノ酸52~164の配列(又はその部分)、又は配列番号73の配列(又はその部分)に対して、少なくとも80%(例えば少なくとも82%、少なくとも84%、少なくとも86%、少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも96%、少なくとも98%、少なくとも99%、又は100%)同一の配列を含む。

40

配列番号72

MKWKALFTAAI LQAQLPI TEAQSFGLLDPKLCYLLDGILFIYGVILTALFLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRR
EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA
LPPR

配列番号73(ヒトCD3シグナル伝達ドメイン)

50

LRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE
RRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

配列番号 7 4 (配列番号 7 3 のヒト C D 3 シグナル伝達ドメインをコードする c D N A)

ctgagagtgaagttcagcaggagcgcagacgccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatct
aggacgaagagaggagtacgatgttttgacaagagacgtggccgggacccctgagatggggggaaagccgagaaggaaga
accctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgag
cgccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacctacgacgcccttccat
gcaggccctgccccctcgc

【 0 1 9 5 】

当業者に十分理解されるように、或る特定のポリペプチドは、少なくともそれらの一次
ポリペプチド配列が異なる 2 つ以上のアイソフォームを有する。例えば、異なるアイソフ
ォームは、選択的スプライシングの結果として作製され得る。本明細書に開示されるキメ
ラ抗原受容体は、例えば C D 3 、 C D 3 D、C D 3 E、C D 3 G、D A P 1 2、F C E
R 1 G、F c R y、F c R f t、C D 3 5、C D 2 2、C D 7 9 A、C D 7 9 B、又は C
D 6 6 d の哺乳動物 (例えばヒト) アイソフォームを含む I T A M を有する内因性哺乳動
物膜貫通ポリペプチドの任意のアイソフォームに由来するアミノ酸の配列を含む I T A M
を含んでもよい。

【 0 1 9 6 】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体の I T A M 又はその部分は、I T A M と比較
して 1 つ以上 (例えば、2 個、3 個、4 個、又は 5 個) のアミノ酸の置換、欠失又は付加
を有する、C D 3 、C D 3 D、C D 3 E、C D 3 G、D A P 1 2、F C E R 1 G、F c
R y、F c R f t、C D 3 5、C D 2 2、C D 7 9 A、C D 7 9 B、又は C D 6 6 d 等
の内因性哺乳動物 (例えばヒト) 膜貫通タンパク質中の 1 つ以上の I T A M のアミノ酸の配
列を含む。例えば、I T A M のチロシン、及びロイシン又はイソロイシンは保持され得る
が、それらを隔てている 2 個のアミノ酸は異なるアミノ酸で置換され得る。

【 0 1 9 7 】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、2 つ以上の I T A M の部分が共に機能性
I T A M を構成するように、限定されるものではないが、C D 3 、C D 3 D、C D 3 E
、C D 3 G、D A P 1 2、F C E R 1 G、F c R y、F c R f t、C D 3 5、C D 2 2、
C D 7 9 A、C D 7 9 B、又は C D 6 6 d (限定されるものではないが、これらのポリペ
プチドのいずれかの哺乳動物又はヒトのホモログを含む) を含む 2 つ以上の内因性哺乳動
物 (例えばヒト) 膜貫通ポリペプチドに由来する I T A M の部分を有するキメラ I T A M
である I T A M を含む。幾つかの実施形態では、野生型 I T A M の対応する部分と比較し
て、キメラ I T A M のかかる部分は、1 つ以上のアミノ酸の置換、欠失、又は付加を含ん
でもよい。

【 0 1 9 8 】

幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、2 つ以上の I T A M、例えば、2 個、3
個、4 個、5 個以上の I T A M を含む。幾つかの実施形態では、2 つ以上の I T A M は同
一である (例えば、それらの I T A M は同じアミノ酸配列を有する)。幾つかの実施形態
では、2 つ以上の I T A M は同一ではない。例えば、I T A M は、限定されるものではない
が、C D 3 、C D 3 D、C D 3 E、C D 3 G、D A P 1 2、F C E R 1 G、F c R y
、F c R f t、C D 3 5、C D 2 2、C D 7 9 A、C D 7 9 B (限定されるものではない
が、これらのポリペプチドのいずれかの哺乳動物又はヒトのホモログを含む) を含む種々
の内因性哺乳動物 (例えばヒト) 膜貫通ポリペプチドから選択され得る。幾つかの実施形
態では、2 つ以上の I T A M は、1 つ以上のアミノ酸の置換、欠失又は付加によって互い
に異なってもよい。

【 0 1 9 9 】

C A R リンカー配列

キメラ抗原受容体の任意の 2 つの隣接ドメインは、リンカー配列 (例えば、本明細書に

10

20

30

40

50

アミノ酸、約35アミノ酸～約100アミノ酸、約35アミノ酸～約95アミノ酸、約35
 5アミノ酸～約90アミノ酸、約35アミノ酸～約85アミノ酸、約35アミノ酸～約8
 0アミノ酸、約35アミノ酸～約75アミノ酸、約35アミノ酸～約70アミノ酸、約3
 5アミノ酸～約65アミノ酸、約35アミノ酸～約60アミノ酸、約35アミノ酸～約5
 5アミノ酸、約35アミノ酸～約50アミノ酸、約35アミノ酸～約45アミノ酸、約3
 5アミノ酸～約40アミノ酸、約40アミノ酸～約250アミノ酸、約40アミノ酸～約
 240アミノ酸、約40アミノ酸～約230アミノ酸、約40アミノ酸～約220アミノ
 酸、約40アミノ酸～約210アミノ酸、約40アミノ酸～約200アミノ酸、約40ア
 ミノ酸～約190アミノ酸、約40アミノ酸～約180アミノ酸、約40アミノ酸～約1
 70アミノ酸、約40アミノ酸～約160アミノ酸、約40アミノ酸～約150アミノ酸 10
 、約40アミノ酸～約140アミノ酸、約40アミノ酸～約130アミノ酸、約40アミ
 ノ酸～約120アミノ酸、約40アミノ酸～約110アミノ酸、約40アミノ酸～約10
 0アミノ酸、約40アミノ酸～約95アミノ酸、約40アミノ酸～約90アミノ酸、約4
 0アミノ酸～約85アミノ酸、約40アミノ酸～約80アミノ酸、約40アミノ酸～約7
 5アミノ酸、約40アミノ酸～約70アミノ酸、約40アミノ酸～約65アミノ酸、約4
 0アミノ酸～約60アミノ酸、約40アミノ酸～約55アミノ酸、約40アミノ酸～約5
 0アミノ酸、約40アミノ酸～約45アミノ酸、約45アミノ酸～約250アミノ酸、約
 45アミノ酸～約240アミノ酸、約45アミノ酸～約230アミノ酸、約45アミノ酸
 ～約220アミノ酸、約45アミノ酸～約210アミノ酸、約45アミノ酸～約200ア
 ミノ酸、約45アミノ酸～約190アミノ酸、約45アミノ酸～約180アミノ酸、約4 20
 5アミノ酸～約170アミノ酸、約45アミノ酸～約160アミノ酸、約45アミノ酸～
 約150アミノ酸、約45アミノ酸～約140アミノ酸、約45アミノ酸～約130アミ
 ノ酸、約45アミノ酸～約120アミノ酸、約45アミノ酸～約110アミノ酸、約45
 アミノ酸～約100アミノ酸、約45アミノ酸～約95アミノ酸、約45アミノ酸～約9
 0アミノ酸、約45アミノ酸～約85アミノ酸、約45アミノ酸～約80アミノ酸、約4
 5アミノ酸～約75アミノ酸、約45アミノ酸～約70アミノ酸、約45アミノ酸～約6
 5アミノ酸、約45アミノ酸～約60アミノ酸、約45アミノ酸～約55アミノ酸、約4
 5アミノ酸～約50アミノ酸、約50アミノ酸～約250アミノ酸、約50アミノ酸～約
 240アミノ酸、約50アミノ酸～約230アミノ酸、約50アミノ酸～約220アミノ
 酸、約50アミノ酸～約210アミノ酸、約50アミノ酸～約200アミノ酸、約50ア 30
 ミノ酸～約190アミノ酸、約50アミノ酸～約180アミノ酸、
 約50アミノ酸～約170アミノ酸、約50アミノ酸～約160アミノ酸、約50アミノ
 酸～約150アミノ酸、約50アミノ酸～約140アミノ酸、約50アミノ酸～約130
 アミノ酸、約50アミノ酸～約120アミノ酸、約50アミノ酸～約110アミノ酸、約
 50アミノ酸～約100アミノ酸、約50アミノ酸～約95アミノ酸、約50アミノ酸～
 約90アミノ酸、約50アミノ酸～約85アミノ酸、約50アミノ酸～約80アミノ酸、
 約50アミノ酸～約75アミノ酸、約50アミノ酸～約70アミノ酸、約50アミノ酸～
 約65アミノ酸、約50アミノ酸～約60アミノ酸、約50アミノ酸～約55アミノ酸、
 約55アミノ酸～約250アミノ酸、約55アミノ酸～約240アミノ酸、約55アミノ
 酸～約230アミノ酸、約55アミノ酸～約220アミノ酸、約55アミノ酸～約210 40
 アミノ酸、約55アミノ酸～約200アミノ酸、約55アミノ酸～約190アミノ酸、約
 55アミノ酸～約180アミノ酸、約55アミノ酸～約170アミノ酸、約55アミノ酸
 ～約160アミノ酸、約55アミノ酸～約150アミノ酸、約55アミノ酸～約140ア
 ミノ酸、約55アミノ酸～約130アミノ酸、約55アミノ酸～約120アミノ酸、約5
 5アミノ酸～約110アミノ酸、約55アミノ酸～約100アミノ酸、約55アミノ酸～
 約95アミノ酸、約55アミノ酸～約90アミノ酸、約55アミノ酸～約85アミノ酸、
 約55アミノ酸～約80アミノ酸、約55アミノ酸～約75アミノ酸、約55アミノ酸～
 約70アミノ酸、約55アミノ酸～約65アミノ酸、約55アミノ酸～約60アミノ酸、
 約60アミノ酸～約250アミノ酸、約60アミノ酸～約240アミノ酸、約60アミノ
 酸～約230アミノ酸、約60アミノ酸～約220アミノ酸、約60アミノ酸～約210 50

酸、約180アミノ酸～約220アミノ酸、約180アミノ酸～約210アミノ酸、約180アミノ酸～約200アミノ酸、約180アミノ酸～約190アミノ酸、約190アミノ酸～約250アミノ酸、約190アミノ酸～約240アミノ酸、約190アミノ酸～約230アミノ酸、約190アミノ酸～約220アミノ酸、約190アミノ酸～約210アミノ酸、約190アミノ酸～約200アミノ酸、約200アミノ酸～約250アミノ酸、約200アミノ酸～約240アミノ酸、約200アミノ酸～約230アミノ酸、約200アミノ酸～220アミノ酸、約200アミノ酸～約210アミノ酸、約210アミノ酸～約250アミノ酸、約210アミノ酸～約240アミノ酸、約210アミノ酸～約230アミノ酸、約210アミノ酸～約220アミノ酸、約220アミノ酸～約250アミノ酸、

10

約220アミノ酸～約240アミノ酸、約220アミノ酸～約230アミノ酸、約230アミノ酸～約250アミノ酸、約230アミノ酸～約240アミノ酸、又は約240アミノ酸～約250アミノ酸であり得る。

【0201】

幾つかの実施形態では、抗原結合ドメインと膜貫通ドメインとの間のリンカー配列は、IgG1、IgG2、IgG3又はIgG4のCH1、CH2及びCH3ドメインの1つ以上であるか又はそれを含み得る。幾つかの実施形態では、抗原結合ドメインと膜貫通ドメインとの間のリンカーは、CH2-CH3ヒトIgG1ドメインであるか又はそれを含み得る。幾つかの実施形態では、CH2-CH3ヒトIgG1ドメインは、配列：
AEPKSPDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCWVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKKD (配列番号75)を有する。

20

【0202】

幾つかの実施形態では、抗原結合ドメインと膜貫通ドメインとの間のリンカー配列は、ヒトCD8膜貫通ドメインの近位にあるヒトCD8細胞外配列の部分であるか又はそれを含み得る。例えば、抗原結合ドメインと膜貫通ドメインとの間のリンカー配列は、TTTPAPRPPTTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDI (配列番号76)のヒトCD8配列であるか又はそれを含み得る。

30

【0203】

幾つかの実施形態では、抗原結合ドメインと膜貫通ドメインとの間のリンカー配列は、ヒトIgG1ヒンジ配列であるか又はそれを含み得る。幾つかの実施形態では、ヒトIgG1ヒンジ配列は、AEPKSPDKTHTCPCPKDPK (配列番号77)である。

【0204】

幾つかの実施形態では、リンカー配列 (例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知のリンカー配列のいずれか) は、膜貫通ドメインと共刺激ドメインとの間に存在し得る。幾つかの実施形態では、リンカー配列 (例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知のリンカー配列のいずれか) は、共刺激ドメインとITAMとの間に存在し得る。

40

【0205】

核酸

1つ以上のアミノ酸修飾を有するインターロイキン-7受容体の鎖の膜貫通ドメインを有する様々なポリペプチド、キメラ膜貫通タンパク質又は本明細書に記載される他のタンパク質のいずれかをコードする核酸も本明細書で提供される。

【0206】

ベクター

1つ以上のアミノ酸修飾を有するインターロイキン-7受容体の鎖の膜貫通ドメインを有する様々なポリペプチド、キメラ膜貫通タンパク質又は本明細書で提供される他のタ

50

ンパク質のいずれかをコードする核酸のいずれかを含有ベクターが本明細書で提供される。本開示による「ベクター」は、哺乳動物細胞において、組み換えタンパク質（例えば、キメラ膜貫通タンパク質、タンパク質、及び/又はキメラ抗原受容体）の発現を誘導することができるポリヌクレオチドである。本明細書で提供されるベクターは、例えば、環状形態又は直線形態であってもよい。ベクターの非限定的な例としては、プラスミド、SV40ベクター、アデノウイルスベクター、及びアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターが挙げられる。ベクターの非限定的な例としては、レンチウイルスベクター、又はレトロウイルスベクター、例えばガンマ-レトロウイルスベクターが挙げられる。例えば、Carlens et al., *Exp. Hematol.* 28(10):1137-1146, 2000、Park et al., *Trends Biotechnol.* 29(11):550-557, 2011、及びAlonso-Camino et al., *Mol. Ther. Nucleic Acids* 2:e93, 2013を参照されたい。レトロウイルスベクターの非限定的な例としては、モロニーマウス白血病ウイルス、骨髄増殖性肉腫ウイルス、マウス胚性幹細胞ウイルス、マウス幹細胞ウイルス、脾フォーカス形成ウイルス、又はアデノ随伴ウイルスに由来するものが挙げられる。レトロウイルスベクターの非限定的な例は、例えば、米国特許第5,219,740号及び同第6,207,453号、Miller et al., *BioTechniques* 7:980-990, 1989; Miller, *Human Gene Therapy* 1:5-14, 1990、Scarpa et al., *Virology* 180:849-852, 1991、Burns et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:8033-8037, 1993、及びBoris-Lawrie et al., *Cur. Opin. Genet. Develop.* 3:102-109, 1993に記載されている。例示的なレンチウイルスベクターは、例えば、Wang et al., *J. Immunother.* 35(9):689-701, 2003、Cooper et al., *Blood* 101:1637-1644, 2003、Verhoeven et al., *Methods Mol. Biol.* 506:97-114, 2009、及びCavalieri et al., *Blood* 102(2):497-505, 2003に記載されている。

【0207】

本明細書で提供される核酸のいずれかが挿入され得る例示的なベクターは、例えば、Ausubel et al., Eds. "Current Protocols in Molecular Biology" Current Protocols, 1993、及びSambrook et al., Eds. "Molecular Cloning: A Laboratory Manual," 2nd ed., Cold Spring Harbor Press, 1989に記載されている。

【0208】

幾つかの実施形態では、ベクターは、本明細書に記載される核酸のいずれかに操作可能に連結したプロモーター配列及び/又はエンハンサー配列を更に含む。プロモーターの非限定的な例としては、ヒトサイトメガロウイルス(CMV)、マウスホスホグリセリン酸キナーゼ1、ポリオーマアデノウイルス、甲状腺刺激ホルモン、ビメンチン、シミアンウイルス40(SV40)、腫瘍壊死因子、 α -グロビン、 β -フェトプロテイン、 γ -グロビン、 δ -インターフェロン、 α -グルタミルトランスフェラーゼ、ヒトユビキチンC(UBC)、マウス乳癌ウイルス(MMTV)、ラウス肉腫ウイルス、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、 α -アクチン、メタロチオネインII(MTII)、アミラーゼ、ヒトEF1、カテプシン、MIムスカリン受容体、レトロウイルスLTR(例えばヒトT細胞白血球ウイルスHTLV)、AAV-ITR、インターロイキン-2、コラゲナーゼ、血小板由来増殖因子、アデノウイルスE2、ストロメライシン、マウスMX、ラットインスリン、グルコース制御タンパク質78、ヒト免疫不全ウイルス、グルコース制御タンパク質94、 α -2-マクログロブリン、MHCクラスI、HSP70、プロリフェリン、免疫グロブリン軽鎖、T細胞受容体、HLA-DQ、HLA-DQ、インターロイキン-2受容体、MHCクラスII、プレアルブミン(トランスサイレチン)、エラスターゼI、アルブミン、c-fos、神経細胞接着分子(NCAM)、H2Bヒストン、ラット成長ホルモン、ヒト血清アミロイド(SAA)、筋肉クレアチンキナーゼ、トロポニンI(TNI)、及びテナガザル白血病ウイルス(GALV)に由来するプロモーターが挙げられる。幾つかの実施形態では、プロモーターは、誘導性プロモーター又は構成的プロモーターであってもよい。プロモーターの更なる例が当該技術分野で知られている。

【0209】

幾つかの例では、本明細書で提供されるベクターは、キメラ膜貫通タンパク質、タンパク質、又はキメラ抗原受容体をコードする配列に対して操作可能に連結し、3'に配置されるポリ(A)配列を更に含む。ポリ(A)配列の非限定的な例としては、ウシ成長ホルモン(Woychik et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 81(13): 3944-3948, 1984、及び米国特許第5,122,458号)、マウス- α -グロビン、マウス- β -グロビン(Orkin et al., EMBO J. 4(2): 453-456, 1985)、ヒトコラーゲン、ポリオーマウイルス(Batt et al., Mol. Cell Biol. 15(9):4783-4790, 1995)、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子(HSV TK)、IgG重鎖遺伝子ポリアデニル化シグナル(米国特許出願公開第2006/0040354号)、ヒト成長ホルモン(hGH)(Szymanski et al., Mol. Therapy 15(7):1340-1347, 2007)、SV40ポリ(A)部位、例えばSV40後期及び初期ポリ(A)部位(Schek et al., Mol. Cell Biol. 12(12):5386-5393, 1992)に由来するものが挙げられる。幾つかの実施形態では、ポリ(A)配列は、高度に保存された上流エレメント(AATAAA)を含む。このAATAAA配列は、例えば、ポリアデニル化のシグナル伝達が可能である、AATAAAに対して相同性を有する、例えば、ATTAAA、AGTAAA、CATAAA、TATAAA、GATAAA、ACTAAA、AATATA、AAGAAA、AATAAT、AAAAAA、AATGAA、AATCAA、AACAAA、AATCAA、AATAAC、AATAGA、AATTA A、及びAATAAGを含むその他のヘキサヌクレオチド配列で置換されてもよい(例えば、国際公開第06012414号を参照されたい)。

10

20

【0210】

ポリ(A)配列は、例えば合成ポリアデニル化部位であってもよい(例えば、Levitt et al., Genes Dev. 3(7): 1019-1025, 1989を参照されたい)。幾つかの例では、ポリ(A)配列は、可溶性ニューロピリン-1のポリアデニル化シグナル: AATAAAATACGAAATG(配列番号78)であってもよい。ポリ(A)配列の更なる例が当該技術分野で知られている。ベクターの更なる例及び態様も当該技術分野で知られている。

【0211】

本明細書に記載されるベクターのいずれかの幾つかの実施形態では、ベクターは、キメラ抗原受容体をコードする配列を更に含み得る。幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、腫瘍抗原(例えば、グリピカン-3、BCMA、MAGE、MUC16、CD19、WT-1、CD22、LI-CAM、ROR-1、CEA、4-1BB、ETA、5T4、腺癌抗原、 α -フェトプロテイン(AFP)、BAFF、Bリンパ腫細胞、C242抗原、CA-125、炭酸脱水酵素9(CA-IX)、C-MET、CCR4、CD152、CD20、CD125、CD200、CD221、CD23(IgE受容体)、CD28、CD30(TNFRSF8)、CD33、CD4、CD40、CD44v6、CD51、CD52、CD56、CD74、CD80、CEA、CNT0888、CTLA-4、DR5、EGFR、EpCAM、CD3、FAP、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、葉酸受容体1、GD2、GD3ガングリオシド、糖タンパク質75、GPNMB、HER2/neu、HGF、ヒト散乱因子受容体キナーゼ、IGF-1受容体、IGF-I、IgG1、IL-13、IL-6、インスリン様成長因子I受容体、インテグリン α 5 β 1、インテグリン α 3 β 3、MORAb-009、MS4A1、MUC1、ムチンCanAg、N-グリコシルノイラミン酸、NPC-1C、PDGF-R α 、PDL192、ホスファチジルセリン、前立腺癌細胞、RANKL、RON、SCH900105、SDC1、SLAMF7、TAG-72、テネイシンC、TGF β 2、TGF β 1、TRAIL-R1、TRAIL-R2、腫瘍抗原CTAA16.88、VEGF-A、VEGFR-1、VEGFR2及びビメンチンの群から選択される腫瘍抗原)に特異的に結合し得る。幾つかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、4-1BB、CD27、OX40、CD40、CD28、GITR、CD2、CD5、ICAM-1、CD11a、Lck、TNFR-I、TNFR-II、FasR、CD30、ICOS、LIGHT、NKG2C、B7-H3、DAP-10及びDAP-12の群から選択される1つ以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含む。本明細書に記載されるベクターのいずれかの幾つか

30

40

50

の例では、ベクターは、レンチウイルスベクター又はアデノウイルスベクターである。

【0212】

本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする配列を含む第1のベクター（例えば、本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質のいずれかをコードする配列を含むベクターのいずれか）と、キメラ抗原受容体（例えば、本明細書に記載されるキメラ抗原受容体のいずれか）をコードする配列を含む第2のベクターとを含むベクターのセットも本明細書で提供される。幾つかの実施形態では、第1のベクター及び第2のベクターの一方又は両方がレンチウイルスベクター又はアデノウイルスベクターである。幾つかの実施形態では、第2のベクターは、キメラ抗原受容体をコードする配列に操作可能に連結したプロモーター配列及び/又はエンハンサー配列を更に含む。幾つかの実施形態では、第2のベクターは、キメラ抗原受容体をコードする配列に操作可能に連結したポリ(A)配列を更に含む。

10

【0213】

哺乳動物細胞に核酸又はベクターを導入する方法

当該技術分野で知られている様々な異なる方法を使用して、哺乳動物細胞（例えば、本明細書に記載される哺乳動物細胞のいずれか、例えば本明細書に記載されるT細胞（例えばヒトT細胞）のいずれか）に本明細書に開示される核酸及びベクターのいずれかを導入することができる。哺乳動物細胞に核酸又はベクターを導入するため使用され得る方法の非限定的な例としては、リポフェクション、トランスフェクション、電気穿孔、マイクロインジェクション、リン酸カルシウムトランスフェクション、 dendrogram に基づくトランスフェクション、カチオン性ポリマトランスフェクション、細胞スキージング、ソノポレーション、光学トランスフェクション(optical transfection)、インパレクション(impalection)、流体力学的送達、マグネトフェクション、ウイルス形質導入（例えばアデノウイルス及びレンチウイルスの形質導入）、及びナノ粒子トランスフェクションが挙げられる。哺乳動物細胞に核酸又はベクターを導入する更なる方法が当該技術分野で知られている。

20

【0214】

哺乳動物細胞

本明細書に記載される核酸又はベクターのいずれかを含む哺乳動物細胞も本明細書で提供される。本明細書に記載されるベクターのセットのいずれかを含む哺乳動物細胞も本明細書で提供される。

30

【0215】

幾つかの実施形態では、哺乳動物細胞は、以前に被験体（例えば、ヒト被験体、例えば癌を有すると識別又は診断されているヒト被験体）から得られたものであるか、又は以前に被験体（例えば、ヒト被験体、例えば癌を有すると識別又は診断されているヒト被験体）から得られた哺乳動物細胞の娘細胞である。幾つかの実施形態では、哺乳動物細胞は免疫細胞である。幾つかの実施形態では、哺乳動物細胞はヒト細胞である。

【0216】

免疫細胞の非限定的な例としては、T細胞（例えば、ヒトT細胞）が挙げられる。T細胞（例えば、ヒトT細胞）の非限定的な例としては、例えば、未熟胸腺細胞、末梢血リンパ球、ヘルパーT細胞、ナイーブT細胞、多能性 T_H 細胞前駆体、リンパ球前駆細胞、 T_{reg} 細胞、記憶T細胞、 T_H17 細胞、 T_H22 細胞、 T_H9 細胞、 T_H2 細胞、 T_H1 細胞、 T_H3 細胞、T細胞、T細胞、制御性T細胞(T_{reg} 細胞)及び腫瘍浸潤性T細胞が挙げられる。T細胞（例えば、ヒトT細胞）の付加的な例としては、 $CD8^+$ T細胞、 $CD4^+$ T細胞、記憶T細胞、 T_{reg} 細胞、ナチュラルキラー細胞、B細胞及び単球が挙げられる。哺乳動物細胞の付加的な例としては、マスト細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好塩基球、好酸球及びナチュラルキラー細胞が挙げられる。

40

【0217】

組成物及びキット

本明細書に記載される核酸、ベクター、核酸のセット、ベクターのセット、又は哺乳動

50

物細胞のいずれかを含む組成物（例えば医薬組成物）も本明細書で提供される。例えば、本明細書に記載される核酸若しくは核酸のセットのいずれか、又は本明細書で提供されるベクター若しくはベクターのセットのいずれかと、薬学的に許容可能な溶媒又は担体とを含む組成物が本明細書で提供される。

【0218】

幾つかの実施形態では、組成物は、本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質及び/又はキメラ抗原受容体のいずれかをコードする核酸を含む、本明細書に記載される哺乳動物細胞のいずれか（例えば、被験体、例えば、癌を有すると識別された又は診断された被験体から以前に得られた本明細書に記載される哺乳動物細胞のいずれか）であってもよい。本明細書に記載される哺乳動物細胞のいずれかを含む組成物において、該組成物は、細胞培養培地又は薬学的に許容可能なバッファー（例えばリン酸緩衝生理食塩水）を更に含んでもよい。本明細書に記載される哺乳動物細胞のいずれかを含む組成物は、静脈内又は動脈内の投与用に製剤化され得る。

10

【0219】

本明細書に記載される組成物のいずれか（例えば、医薬組成物）の1つ以上を含むキットも提供される。幾つかの実施形態では、キットは、本明細書に記載される方法のいずれかを行うための指示書を更に含み得る。

【0220】

被験体において癌を治療する方法

本明細書に記載される1つ以上のアミノ酸修飾を有するインターロイキン-7受容体の鎖の膜貫通ドメインを有するポリペプチド、本明細書に記載されるキメラ膜貫通タンパク質、又はその両方をコードする核酸（任意に、本明細書に記載されるキメラ抗原受容体のいずれかを含む核酸）を含む哺乳動物細胞のいずれかを治療有効量投与することを含む、被験体（例えば、ヒト、マウス、ウサギ、ラット、ウマ、イヌ、サル又は類人猿）において癌を治療する方法も本明細書で提供される。これらの方法の幾つかの例では、哺乳動物細胞は、T細胞（例えば、CD8+T細胞、CD4+T細胞、記憶T細胞、Treg細胞、及びナチュラルキラーT細胞）である。幾つかの例では、哺乳動物細胞（例えば、本明細書に記載される哺乳動物細胞のいずれか）は、被験体（例えば、癌、例えば本明細書に記載される癌のいずれかを有すると識別されている又は診断されている被験体）から以前に得られた哺乳動物細胞である。これらの方法の幾つかの実施形態は、被験体から哺乳動物細胞を得ることを更に含む。

20

30

【0221】

これらの方法の幾つかの実施形態は、本明細書に記載される単鎖キメラ抗原受容体又は本明細書に記載される多重鎖キメラ抗原受容体をコードする核酸を哺乳動物細胞（例えば、本明細書に記載されるか又は当該技術分野で既知の哺乳動物細胞のいずれか）に導入して、被験体に投与する哺乳動物細胞を生成することを更に含む。

【0222】

本明細書で提供される方法のいずれかを用いて治療することができる癌の非限定的な例としては、肝細胞癌、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、副腎皮質癌、カボジ肉腫、リンパ腫、肛門癌、虫垂癌、奇形腫様/ラブドイド腫瘍、基底細胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脳癌、乳癌、気管支腫瘍、カルチノイド腫瘍、心臓腫瘍、子宮頸癌、脊索腫瘍、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄増殖性腫瘍、結腸癌、結腸直腸癌、頭蓋咽頭腫、胆管癌、子宮体癌、上衣腫、食道癌、鼻腔神経芽細胞腫、ユーイング肉腫、眼癌、卵管癌、胆嚢癌、胃癌、消化器カルチノイド腫瘍、胃腸間質腫瘍、胚細胞腫瘍、毛様細胞白血病、頭頸部癌、心臓癌、肝臓癌、下咽頭癌、脾癌、腎臓癌、喉頭癌、慢性骨髄性白血病、口唇及び口腔癌、肺癌、黒色腫、メルケル細胞癌、中皮腫、口腔癌、口唇癌、骨肉腫、卵巣癌、陰茎癌、咽頭癌、前立腺癌、直腸癌、唾液腺癌、皮膚癌、小腸癌、軟組織肉腫、胃癌、精巣癌、咽喉癌、甲状腺癌、尿道癌、子宮癌、膣癌、並びに外陰癌が挙げられる。

40

【0223】

これらの方法のいずれかの幾つかの実施形態では、上記方法は、結果として被験体にお

50

いて腫瘍負荷の減少（例えば、腫瘍質量及び／又は固形腫瘍の体積の減少）をもたらす。例えば、本明細書に記載の方法のいずれかにより、（例えば、治療前の被験体の腫瘍負荷と比較して）被験体における腫瘍負荷の少なくとも約1%～約99%（例えば、約1%～約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%、約10%、若しくは約5%（両端を含む）；約2%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%、約10%、若しくは約5%（両端を含む）；約3%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%、約10%、若しくは約5%（両端を含む）；約5%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%、若しくは約10%（両端を含む）；約10%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、若しくは約15%（両端を含む）；約15%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、若しくは約20%（両端を含む）；約20%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、若しくは約25%（両端を含む）；約25%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、若しくは約30%（両端を含む）；約30%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、若しくは約35%（両端を含む）；約35%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、若しくは約40%（両端を含む）；約40%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、若しくは約45%（両端を含む）；約45%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、若しくは約50%（両端を含む）；約50%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、若しくは約55%（両端を含む）；約55%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%

10

20

30

40

50

%、約70%、約65%、若しくは約60%（両端を含む）；約60%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、若しくは約65%（両端を含む）；約65%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、若しくは約70%（両端を含む）；約70%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、若しくは約72%（両端を含む）；約72%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、若しくは約74%（両端を含む）；約74%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、若しくは約76%（両端を含む）；約76%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、若しくは約78%（両端を含む）；約78%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、若しくは約80%（両端を含む）；約80%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、若しくは約82%（両端を含む）；約82%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、若しくは約84%（両端を含む）；約84%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、若しくは約86%（両端を含む）；約86%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、若しくは約88%（両端を含む）；約88%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、若しくは約90%（両端を含む）；約90%～約99%、約98%、約96%、約94%、若しくは約92%（両端を含む）；約92%～約99%、約98%、約96%、若しくは約94%（両端を含む）；約94%～約99%、約98%、若しくは約96%（両端を含む）；又は約96%～約99%若しくは約98%（両端を含む）の低減をもたらすことができる。

【0224】

幾つかの実施形態では、上記方法は、結果として被験体における癌の進行速度の減少をもたらす。例えば、本明細書に記載の方法のいずれかにより、（例えば、治療前の被験体又は同じ癌を有するが、治療を行わなかった、若しくは異なる治療を行った対照被験体若しくは被験体の対照集団における癌の進行速度と比較して）被験体における癌の進行速度の少なくとも約1%～約99%（例えば、約1%～約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%、約10%、若しくは約5%（両端を含む）；約2%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%、約10%、若しくは約5%（両端を含む）；約3%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%、約10%、若しくは約5%（両端を含む）；約5%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%、若しくは約10%（両端を含む）；約10%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%

0%、若しくは約550%（両端を含む）；約550%～約800%、約750%、約700%、約650%、若しくは約600%（両端を含む）；約600%～約800%、約750%、約700%、若しくは約650%（両端を含む）；約650%～約800%、約750%、若しくは約700%（両端を含む）；約700%～約800%若しくは約750%（両端を含む）；又は約750%～約800%（両端を含む））の増加をもたらすことができる。

【0226】

被験体に本明細書に記載される哺乳動物細胞のいずれかを治療有効量投与することを含む、癌細胞における細胞死の誘導を必要とする被験体において癌細胞における細胞死を誘導する方法も本明細書で提供される。

【0227】

被験体に本明細書に記載される哺乳動物細胞のいずれかを治療有効量投与することを含む、癌を有する被験体において転移又は付加的な転移を起こすリスクを低下させる方法も本明細書で提供される。例えば、本明細書に記載の方法のいずれかにより、（例えば、同じ癌を有するが、治療を行わなかった、又は異なる治療を行った対照被験体又は被験体の対照集団において転移又は付加的な転移を起こすリスクと比較して）被験体において転移又は付加的な転移を起こすリスクの少なくとも約1%～約99%（例えば、約1%～約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%、約10%、若しくは約5%（両端を含む）；約2%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%、約10%、若しくは約5%（両端を含む）；約3%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%、約10%、若しくは約5%（両端を含む）；約5%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、約15%、約10%、若しくは約5%（両端を含む）；約10%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、約20%、若しくは約15%（両端を含む）；約15%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、若しくは約20%（両端を含む）；約20%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、約35%、約30%、約25%、若しくは約30%（両端を含む）；約30%～約99%、約98%、約96%、約94%、約92%、約90%、約88%、約86%、約84%、約82%、約80%、約78%、約76%、約74%、約72%、約70%、約65%、約60%、約55%、約50%、約45%、約40%、若しくは約35%（両

10

20

30

40

50

端を含む) ; 約 35% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、約 86%、約 84%、約 82%、約 80%、約 78%、約 76%、約 74%、約 72%、約 70%、約 65%、約 60%、約 55%、約 50%、約 45%、若しくは約 40% (両端を含む) ; 約 40% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、約 86%、約 84%、約 82%、約 80%、約 78%、約 76%、約 74%、約 72%、約 70%、約 65%、約 60%、約 55%、約 50%、若しくは約 45% (両端を含む) ; 約 45% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、約 86%、約 84%、約 82%、約 80%、約 78%、約 76%、約 74%、約 72%、約 70%、約 65%、約 60%、約 55%、若しくは約 50% (両端を含む) ; 約 50% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、約 86%、約 84%、約 82%、約 80%、約 78%、約 76%、約 74%、約 72%、約 70%、約 65%、約 60%、若しくは約 55% (両端を含む) ; 約 55% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、約 86%、約 84%、約 82%、約 80%、約 78%、約 76%、約 74%、約 72%、約 70%、約 65%、若しくは約 60% (両端を含む) ; 約 60% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、約 86%、約 84%、約 82%、約 80%、約 78%、約 76%、約 74%、約 72%、約 70%、若しくは約 65% (両端を含む) ; 約 65% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、約 86%、約 84%、約 82%、約 80%、約 78%、約 76%、約 74%、約 72%、若しくは約 70% (両端を含む) ; 約 70% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、約 86%、約 84%、約 82%、約 80%、約 78%、約 76%、約 74%、若しくは約 72% (両端を含む) ; 約 72% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、約 86%、約 84%、約 82%、約 80%、約 78%、約 76%、若しくは約 74% (両端を含む) ; 約 74% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、約 86%、約 84%、約 82%、約 80%、約 78%、若しくは約 76% (両端を含む) ; 約 76% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、約 86%、約 84%、約 82%、約 80%、若しくは約 78% (両端を含む) ; 約 78% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、約 86%、約 84%、約 82%、若しくは約 80% (両端を含む) ; 約 80% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、約 86%、約 84%、若しくは約 82% (両端を含む) ; 約 82% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、約 86%、若しくは約 84% (両端を含む) ; 約 84% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、約 88%、若しくは約 86% (両端を含む) ; 約 86% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、約 90%、若しくは約 88% (両端を含む) ; 約 88% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、約 92%、若しくは約 90% (両端を含む) ; 約 90% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、約 94%、若しくは約 92% (両端を含む) ; 約 92% ~ 約 99%、約 98%、約 96%、若しくは約 94% (両端を含む) ; 約 94% ~ 約 99%、約 98%、若しくは約 96% (両端を含む) ; 又は約 96% ~ 約 99% 若しくは約 98% (両端を含む)) の低下をもたらすことができる。

【実施例】

【0228】

以下の実施例において、本明細書を更に説明するが、これは特許請求の範囲に記載される本発明の範囲を限定するものではない。

【0229】

実施例 1 . 修飾 IL7R タンパク質は、初代 T 細胞の表面上で発現する

初代 T 細胞を N 末端 His タグに対する蛍光色素コンジュゲート抗体で染色し、突然変異 IL7R タンパク質の表面発現を検出した。簡潔に述べると、最大 1×10^6 個の細胞をレンチウイルスベクターによる形質導入の 72 時間後に採取し、PBS + 2% FBS

(FACSバッファー)中で抗His (APC; 1:100)と共に4で30分間インキュベートした。フローサイトメトリーを、BD LSRII Fortessa機器を用いて行い、FlowJo V10ソフトウェアを用いて分析した(図3、活性化の6日後のデータを示す)。GFP遺伝子がIL7Ra変異タンパク質と同じ導入遺伝子内にコードされ、T2A自己切断ペプチド配列によって隔てられていることから、フローサイトメトリーによるGFP (FITC)の検出を発現の代わりとして用いた。GFPの検出及びHisタグの表面検出は線形であった。

【0230】

実施例2. キメラ膜貫通タンパク質は、初代T細胞の表面上で発現する

mbIL15-IL17R-WTは、野生型IL7R膜貫通ドメイン及び細胞内ドメイン、IL15R細胞外ドメイン(sushドメインを含む)、リンカー、並びにIL15ポリペプチドドメインを有するキメラ膜貫通タンパク質である(図4に示す構築物の図を参照されたい)。mbIL15-IL17R-Ins_PPC_Lは、野生型IL7R細胞内ドメイン、PPC_Lの配列が成熟野生型IL7Rのアミノ酸位置4及び5の間に挿入されたIL7R膜貫通ドメイン、IL15R細胞外ドメイン(sushドメインを含む)、リンカー、及びIL15ポリペプチドドメインを有するキメラ膜貫通タンパク質である。

10

【0231】

初代T細胞をIL15Rに対する蛍光色素コンジュゲート抗体で染色し、キメラmbIL15タンパク質の表面発現を検出した。簡潔に述べると、最大 1×10^6 個の細胞をレンチウイルスベクターによる形質導入の72時間後に採取し、PBS+2%FBS(FACSバッファー)中で抗IL15R (APC; 1:100)と共に4で30分間インキュベートした。フローサイトメトリーを、BD LSRII Fortessa機器を用いて行い、FlowJo V10ソフトウェアを用いて分析した(図5、活性化の6日後のデータを示す)。GFP遺伝子がIL7R突然変異体及びキメラmbIL15タンパク質と同じ導入遺伝子内にコードされ、T2A自己切断ペプチド配列によって隔てられていることから、フローサイトメトリーによるGFP (FITC)の検出を発現の代わりとして用いた。GFPの検出及びIL15Rの表面発現は線形であった。

20

【0232】

実施例3. IL7変異受容体を発現するT細胞は、CD62Lの高発現(Tscm集団及びTcm集団)及びCD25の変動発現を維持する

初代ヒトT細胞を、図6Aのx軸上に示す特定のIL7Rタンパク質の1つ又は特定のキメラ膜タンパク質の1つを発現するようにレンチウイルスベクターを用いて形質導入した。簡潔に述べると、最大 1×10^6 個の細胞を各時点で採取し、PBS+2%FBS(FACSバッファー)中で抗Myc (PE; 1:100)、抗CD4 (BV785; 1:200)、抗CD8 (PE; 1:200)、抗CD45RO (APC; 1:200)及び抗CD62L (BV605; 1:200)抗体と共に4で30分間インキュベートした。CD45RO及びCD62Lの相対発現レベルを用いて細胞の分化状態を決定した。Teff=エフェクターT細胞。Tem=エフェクター記憶T細胞。Tcm=セントラル記憶T細胞。Tscm=幹細胞記憶T細胞。図6Aは、初代ヒトT細胞に指定のタンパク質を形質導入した場合の異なる種類のCD8+T細胞のパーセンテージを示す。

30

40

【0233】

異なるIL7R変異タンパク質及びキメラ膜貫通タンパク質を発現する初代ヒトT細胞におけるPD-1(図6B、左のグラフ)又はCD25(図6B、右のグラフ)の発現を活性化の15日後に評価した。簡潔に述べると、最大 1×10^6 個の細胞を各時点で採取し、PBS+2%FBS(FACSバッファー)中で抗Myc (PE; 1:100)、抗CD25 (BV421; 1:100)、抗CD4 (BV785; 1:200)、抗CD8 (PE; 1:200)、抗CD45RO (APC; 1:200)、抗CD62L (BV605; 1:200)及び抗PD1 (PE-Cy7; 1:200)抗体と共に4で30分間インキュベートした。形質導入していない(「UT」)対照T細胞によりPD-1及

50

びCD25発現の基礎レベルを得る。

【0234】

実施例4. IL7R 膜貫通ドメイン突然変異は、初代T細胞におけるSTAT5のリン酸化を誘導する

形質導入しないままにするか(「UT」)、又は図7Aに示す特定のIL7R タンパク質の1つ若しくは特定のキメラ膜タンパク質の1つをコードするレンチウイルスを用いて形質導入した初代ヒトT細胞におけるリン酸化STAT5のレベルをウエスタンブロット法によって評価した(上のウエスタンブロット)。活性化の14日後、全細胞溶解物を血清/サイトカイン枯渇条件下で16時間~20時間後にT細胞から調製した。100ng/ml可溶性IL2で15分間刺激したUT T細胞を陽性対照とし(+stim)、非刺激UT細胞(-stim)により基礎リン/タンパク質レベルを得る。対照タンパク質(チューブリン)もウエスタンブロット法によって評価した(下のウエスタンブロット)。

10

【0235】

初代ヒトT細胞における様々なIL7R 変異タンパク質及びキメラ膜貫通タンパク質の発現を活性化の15日後に評価した(図7B)。GFPデータを%発現(上の棒グラフ)及び平均蛍光強度(下の棒グラフ)として示す。フローサイトメトリーによるGFP発現の検出を用いて、14日間の培養期間にわたって様々なIL7R 突然変異体又はキメラ膜貫通タンパク質を発現する細胞の相対数を追跡した(活性化後1日目に細胞に形質導入)。

20

【0236】

実施例5. IL7R 膜貫通ドメイン突然変異は、初代T細胞にCD19 CARと同時感染する

初代T細胞の表面上でのCD19 CAR(1928zキメラ抗原受容体)、EKV又はIns__CPT IL7R 変異タンパク質、mbIL15-17R Ins__PPCLキメラ膜貫通タンパク質及びmbIL15タンパク質の発現を評価した。図8A及び図8Bに構築物及び初代T細胞上でのそれらの同時発現を概略的に示す。

【0237】

初代T細胞を、それぞれIL7R 突然変異体及びCARのN末端に存在するHisタグ及びMycタグに対する蛍光色素コンジュゲート抗体で染色するか、又は抗IL15R抗体で染色し、キメラmbIL15タンパク質の表面発現を検出した。簡潔に述べると、最大 1×10^6 個の細胞をレンチウイルスベクターによる形質導入の72時間後に採取し、PBS+2%FBS(FACSバッファー)中で抗His(APC; 1:100)、又は抗IL15R(APC; 1:100)及び抗Myc(PE; 1:100)抗体と共に4で30分間インキュベートした。フローサイトメトリーを、BD LSRIFortessa機器を用いて行い、FlowJo V10ソフトウェアを用いて分析した(図8C、活性化の6日後のデータを示す)。GFPは、IL7Ra突然変異体及びキメラmbIL15タンパク質と同じ導入遺伝子内で発現され、フローサイトメトリーによるGFP(FITC)の検出を発現の代わりとして用いることができる。二重陽性(Myc-PE+、FITC)集団は、初代ヒトT細胞上で両方のタンパク質の同時発現を示す。

30

40

【0238】

mbIL15-IL7R __Ins__PPCL及びmbIL15を発現する細胞の数は、培養6日目から14日目までに減少した(図8D)。対照的に、IL7R __EKV、IL7R __Ins__CPT及び1928zキメラ抗原受容体を発現する細胞の数は、同期間に比較的一定のままであった。フローサイトメトリーによるGFP発現及びN末端Mycタグ(Myc-PE; 1:100、FACSバッファー中で30分間)の検出を用いて、14日間の培養期間にわたって様々なIL7R 突然変異体又はキメラ膜貫通タンパク質及びCD19 CARをそれぞれ発現する細胞の相対数を追跡した(活性化後1日目に細胞に形質導入)。

【0239】

50

様々な I L 7 R a 突然変異体及びキメラ膜貫通タンパク質を発現する C A R T 細胞は、活性化の 14 日後に低分化記憶表現型を維持する (図 9)。簡潔に述べると、最大 1×10^6 個の細胞を活性化の 14 日後に採取し、P B S + 2 % F B S (F A C S バッファー) 中で抗 M y c (F I T C ; 1 : 1 0 0)、抗 C D 4 (B V 7 8 5 ; 1 : 2 0 0)、抗 C D 8 (P E ; 1 : 2 0 0)、抗 C D 4 5 R O (A P C ; 1 : 2 0 0) 及び抗 C D 6 2 L (B V 6 0 5 ; 1 : 2 0 0) 抗体と共に 4 で 30 分間インキュベートした。フローサイトメトリーを、B D L S R I I F o r t e s s a 機器を用いて行い、F l o w J o V 1 0 ソフトウェアを用いて分析した。T 細胞記憶サブセット集団 (C D 6 2 L 対 C D 4 5 R O) を M y c + 、C D 8 + 集団に対してゲーティングした。T e f f = エフェクター T 細胞。T e m = エフェクター記憶 T 細胞。T c m = セントラル記憶 T 細胞。T s c m = 幹細胞記憶 T 細胞。

10

【 0 2 4 0 】

形質導入しないままにするか、又は示される I L 7 R タンパク質の 1 つ若しくは示されるキメラ膜貫通タンパク質の 1 つをコードするレンチウイルスベクターを用いて形質導入した初代ヒト T 細胞 (C A R を有する及び有しない) におけるリン酸化 S T A T 5 及び S T A T 3 のレベル、並びに B C L - X L の総タンパク質レベルを評価した。活性化の 14 日後、全細胞溶解物を血清 / サイトカイン枯渇条件下で 16 時間 ~ 20 時間後に T 細胞から調製した。100 ng / ml 可溶性 I L 2 で 15 分間刺激した U T T 細胞を陽性対照とし (+ s t i m)、非刺激 U T 細胞 (- s t i m) により基礎リン / タンパク質レベルを得る。

20

【 0 2 4 1 】

実施例 6 . I L 7 R 突然変異体を発現する C A R - T 細胞は、抗原への連続曝露後に対照 C A R - T 細胞と比べて優勢な増殖を示す

1 : 1 の比率のエフェクター対標的 (E : T) 比での抗原への連続曝露後の I L 7 R 突然変異体を発現する C A R T 細胞の増殖を、対照 C A R と比較して評価した。活性化の 14 日後、 5×10^5 個の C A R + T 細胞を 5×10^5 個の N a 1 m 6 B 細胞に対して G R e x 2 4 ウェルプレートの各ウェルに 0 日目にプレATINGした。細胞を三重反復でプレATINGした。4 日目、7 日目、11 日目、14 日目及び 17 日目に N a 1 m 6 B 細胞及び新たな細胞培養培地を、フローサイトメトリーによって算出される各ウェルの C A R + 細胞の数に基づいて 1 : 1 の比率で培養プレートに再び添加した。I L 7 R 突然変異体を発現する全ての細胞が、非形質導入対照及び腫瘍単対照と比べ、21 日間のアッセイ全体を通して腫瘍細胞の 100 % の溶解を維持した。4 日目、7 日目、11 日目、17 日目及び 21 日目に C A R + T 細胞の増殖倍数をフローサイトメトリー分析によって決定した。簡潔に述べると、最大 1×10^6 個の細胞を各時点で採取し、P B S + 2 % F B S (F A C S バッファー) 中で抗 M y c (P E ; 1 : 1 0 0)、抗 C D 3 (B V 4 2 1 ; 1 : 1 0 0)、抗 C D 4 (B V 7 8 5 ; 1 : 2 0 0)、抗 C D 8 (P E ; 1 : 2 0 0)、抗 C D 4 5 R O (A P C ; 1 : 2 0 0)、抗 C D 6 2 L (B V 6 0 5 ; 1 : 2 0 0) 及び抗 P D 1 (P E - C y 7 ; 1 : 2 0 0) 抗体と共に 4 で 30 分間インキュベートした。カウントビーズ (50 μ l、123 count (商標) e B e a d s、Ther mo Fisher Scientific) をフローサイトメトリー分析の直前に各チューブに添加し、各条件における細胞数を定量した。これらの数を用いて、C A R + 増殖速度を追跡し、1 : 1 の E : T 比で各ウェルに再び添加する N a 1 m 6 標的細胞の数を決定した。これらのデータから、I L 7 R 突然変異体を発現する C A R T 細胞が 1 : 1 の比率のエフェクター対標的 (E : T) 比での抗原への連続曝露後に対照 C A R と比較して優勢な増殖を示すことが示される (図 11 A 及び図 11 B)。

30

40

【 0 2 4 2 】

ルシフェラーゼベースの一晚死滅アッセイにおける C D 1 9 + N a 1 m 6 B 細胞 (図 12 A) 及び C D 1 9 - K 5 6 2 細胞 (図 12 B) の溶解 (%) を評価した。21 日間の連続死滅アッセイ (本明細書に記載される) の最後に得られた T 細胞、及び N a 1 m 6 又は C D 1 9 - K 5 6 2 細胞株を、ホタルルシフェラーゼ (f l u c +) を発現する

50

ように改変した。1 ウェル当たり 1×10^4 個の Na1m6 又は K562 細胞をプレATINGし、T細胞を %CAR+ に応じて様々な E:T 比でプレATINGした。細胞溶解を生 Na1m6 B細胞又は K652 細胞の相対発光量 (RLU) 強度に基づいて測定し、Na1m6 K562 単独対照に対して正規化した。

【0243】

IL7R 突然変異体を発現する T細胞は、22 日間の連続抗原遭遇後に低い E:T 比で対照 CD19 CAR に対して優勢な CD19+ Na1m6 B細胞の死滅を示した (図12A)。予想されるように、ドナー及び年齢を適合させた (活性化の35日後) UT T細胞は、21 日間の連続死滅アッセイで生存せず、したがってここではアッセイしなかった。

10

【0244】

IL7R EK V を発現する CAR T細胞は、高い E:T 比 (20:1 及び 6:1) で CD19 - K562 に対してオフターゲット細胞毒性の増大を示したが、他のサイトカイン受容体変異体を発現する CAR - T細胞は、対照 CAR と同等のオフターゲット細胞毒性を示した (図12B)。

【0245】

抗原への連続曝露の14日後の IL7R 突然変異体を発現する CAR - T細胞の記憶型分化を評価した (図13)。0日目、4日目、7日目、11日目、14日目、17日目及び21日目に Na1m6 B細胞を細胞培養物に添加した。Teff = エフェクター T細胞。Tem = エフェクター記憶 T細胞。Tcm = セントラル記憶 T細胞。Tscm = 幹細胞記憶 T細胞。簡潔に述べると、最大 1×10^6 個の細胞を各時点で採取し、PBS + 2% FBS (FACS バッファー) 中で抗 Myc (PE; 1:100)、抗 CD3 (BV421; 1:100)、抗 CD4 (BV785; 1:200)、抗 CD8 (PE; 1:200)、抗 CD45RO (APC; 1:200)、抗 CD62L (BV605; 1:200) 及び抗 PD1 (PE - Cy7; 1:200) 抗体と共に 4 で30分間インキュベートした。これらのデータから、IL7R 突然変異体を発現する CAR T細胞が抗原への連続曝露の14日後に低分化記憶表現型を維持していたことが示される。

20

【0246】

実施例7. IL7R 突然変異体を発現する CAR - T細胞は、抗原への単回曝露後に対照 CAR - T細胞と比べて優勢な増殖を示す

30

1:3 の E:T 比での標的への単回曝露後の IL7R 突然変異体を発現する CAR T細胞の増殖を、対照 CAR と比較して評価した (図14A 及び図14B)。活性化の14日後、 5×10^5 個の CAR+ T細胞を 1.5×10^6 個の Na1m6 B細胞に対して Grex 24 ウェルプレートの各ウェルに0日目にプレATINGした。細胞を三重反復でプレATINGした。全ての細胞が、非形質導入対照及び腫瘍単独対照と比べ、21日間のアッセイ全体を通して腫瘍細胞の100%の溶解を維持した。4日目、7日目、11日目、17日目及び21日目に CAR+ T細胞の増殖倍数をフローサイトメトリー分析によって決定した。簡潔に述べると、最大 1×10^6 個の細胞を各時点で採取し、PBS + 2% FBS (FACS バッファー) 中で抗 Myc (PE; 1:100)、抗 CD3 (BV421; 1:100)、抗 CD4 (BV785; 1:200)、抗 CD8 (PE; 1:200)、抗 CD45RO (APC; 1:200)、抗 CD62L (BV605; 1:200) 及び抗 PD1 (PE - Cy7; 1:200) 抗体と共に 4 で30分間インキュベートした。カウントビーズ ($50 \mu\text{l}$ 、123 count (商標) eBeads) を分析の直前に各チューブに添加し、各条件における細胞数を定量した。これらのデータから、IL7R 突然変異体を発現する CAR T細胞が標的への単回曝露後に対照 CAR と比べて優勢な増殖を示すことが示される。

40

【0247】

抗原への連続曝露の14日後の IL7R 突然変異体を発現する CAR - T細胞の記憶型分化を評価した (図15)。0日目に Na1m6 B細胞を細胞培養物に添加した。簡潔に述べると、最大 1×10^6 個の細胞を各時点で採取し、PBS + 2% FBS (FAC

50

Sバッファー) 中で抗Myc (PE; 1:100)、抗CD3 (BV421; 1:100)、抗CD4 (BV785; 1:200)、抗CD8 (PE; 1:200)、抗CD45RO (APC; 1:200)、抗CD62L (BV605; 1:200) 及び抗PD1 (PE-Cy7; 1:200) 抗体と共に4で30分間インキュベートした。これらのデータから、このIL7R 突然変異体を発現するCAR T細胞が抗原への単回曝露の14日後に低分化記憶表現型を維持していたことが示される。Teff = エフェクターT細胞。Tem = エフェクター記憶T細胞。Tcm = セントラル記憶T細胞。Tscm = 幹細胞記憶T細胞。

【0248】

実施例8. Nalm6腫瘍を用いたCD19 CAR + IL7Ra CPT、MCP又はPPCLのin vivo試験

CD19⁺急性リンパ芽球性白血病 (ALL) 細胞株Nalm6をATCCから購入し、生物発光イメージングを可能にするためにルシフェラーゼを形質導入した。実験の初日に0.5 x 10⁶個のNalm6_luc細胞をNOD-SCID IL2R^{nu/nu} (NSG) マウスに移植した。6日目に (更にその後3日又は4日に1回)、動物にD-ルシフェリン (150mg/kgのPromegaの15mg/mL基質) を腹腔内注射し、生物発光 (BLI) をIVIS S5 Lumina (PerkinElmer, MA) 撮像装置で測定した。画像をLiving Image 4.3.1 (PerkinElmer, MA) を用いて分析して、全身の固定体積ROIを定量し、全光束 (光子数/秒) を算出し、下記表1に示した。実験の6日目に、動物を更に6匹の動物の群に分け (3匹の動物しかいなかったビヒクル群を除く)、非形質導入T細胞、又はCD19 CAR単独、CD19 CAR + IL7R CPT、CD19 CAR + IL7R MCP若しくはCD19 CAR + IL7R PPCLを保有するT細胞を投与した。CAR T細胞を与えた全ての動物に0.1 x 10⁶個の負荷試験量のCAR T細胞を与え、全ての動物に同じ総数のT細胞を与えた。

【0249】

これらの実験に使用したCD19 CAR、CD19 CAR + IL7R CPT、CD19 CAR + IL7R MCP又はCD19 CAR + IL7R PPCLの各々についてのタンパク質及びDNAの配列を下に示す。

CD19 CAR DNA (配列番号100)

GAACAGAAGCTGATAAGTGAGGAGGACTTGgacatccagatgaccagaccaccagcagcctgagcgccagcctgggcgtagagtgacatcagctgcagagccagccaggacatcagcaagtacctgaactgggtatcagcagaaacccgacggcaccgtgaagctgctgactaccacaccagcagactgcacagcggcgtgccagcagattttctggcagcggctccggcaccgactacagcctgacatctccaacctggaacaggaagatatcgctacctactctgtcagcaaggcaaacacctgccctacacctctggcggaggcaccaagctggaaatcacagggcggcggaggatctggcggaggcggagtgccggagggggatctgaagtgaacctgcaggaaagcggccctggcctggctggcccatctcagctctcagcgtgacctgtaccgtgtccggcgtgtccctgacctgactatggcgtgtcctggatcagacagccccagaaaaggccctggaatggctgggagtgatctggggcagcga gacaacctactacaacagcgcctgaagtccggctgacctcatcaaggacaactccaagagccagggtgtcctgaagatgaacagcctgcagaccgacgacaccgcatctactactgcgccaagcactactactacggcggcagctacgcatggactactggggccagggcacaagcgtgaccgtgtctagcgggtccCTAGACAATGAGAAGAGCAATGGAACCATTATCCATGTGAAAGGGAAACACCTTTGTCCAAGTCCCCTATTTCCCGACCTTCTAAGCCCTTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGTGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCGCCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGGACTTCGCAGCCTATCGTCCCTGAGAGTGAAGTTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGgCGTGCCGGGACCCTGAGATGGGGGA AAGCCGAGAAGGAAGAACCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGAT TGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCT ACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCTCGCT

CD19 CAR タンパク質 (配列番号101)

EQKLISEEDLDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD

10

20

30

40

50

YSLT I SNLEQED I ATYFCQQGNTLPYTFGGGKLE I TGGGGSGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVS
 LPDYGVSW I RQPPRKGLEWLGV I WGSETTYNSALKSRLT I I KDNSKSQVFLKMNSLQTD DTA I YYCAKHYYYGGSYAMD
 YWGQGT SVTVSSGSLDNEKSNGT I I HVKKGKHLCPSP LFPGPSKPFVWLVVVGGLACYSLLVTVAF I I FWVRSKRSRLLH
 SDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPEMGG
 KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE I GMKGERRRGKGHDLGYQLSTATKDTYDALHMQALPPR

C D 1 9 C A R + I L 7 R A _ _ C P T D N A (配 列 番 号 1 0 2)

GAACAGAAGCTGATAAGTGAGGAGGACTTGgacatccagatgaccagaccaccagcagcctgagcgccagcctgggcga
 tagagtgaccatcagctgcagagccagccaggacatcagcaagtacc tgaactggatcagcagaaacccgacggcaccg
 tgaagctgctgatctaccacaccagcagactgcacagcggcgtgccagcagat t t t c t g g c a g c g g c t c c g g c a c c g a c
 tacagcctgaccatctccaacctggaacaggaagatactgctacctactctgtcagcaaggcaacacctgccctacac 10
 c t t c g g c g g a g g c a c c a a g c t g g a a a t c a c a g g c g g c g g a g g a t c t g g c g g a g g c g g a a g t g g c g g a g g g g g a t c t g a a g
 t g a a a c t g c a g g a a a g c g g c c c t g g c c t g g t g g c c c a t c t c a g t c t c t g a g c g t g a c c t g t a c c g t g t c c g g c g t g t c c
 c t g c c t g a c t a t g g c g t g t c c t g g a t c a g a c a g c c c c c a g a a a g g g c c t g g a a t g g c t g g g a g t g a t c t g g g g c a g c g a
 g a c a a c c t a c t a c a a c a g c g c c c t g a a g t c c c g g c t g a c c a t c a t c a a g g a c a a c t c c a a g a g c c a g g t g t t c c t g a a g a
 t g a a c a g c c t g c a g a c c g a c g a c a c c g c c a t c t a c t a c t g c g c c a a g c a c t a c t a c t a c g g c g g c a g c t a c g c c a t g g a c
 t a c t g g g g c c a g g g c a c a a g c g t g a c c g t g t c t a g c g g g t c c C T A G A C A A T G A G A A G A C A A T G G A A C C A T T A T C C A T G T
 G A A A G G G A A A C A C C T T T T G T C C A A G T C C C C T A T T T C C C G G A C C T T C T A A G C C C T T T T G G G T G C T G G T G G T G G T T G G T G G A G
 T C C T G G C T T G C T A T A G C T T G C T A G T A A C A G T G G C C T T T A T T A T T T T C T G G G T G A G G A G T A A G A G G A G C A G G C T C C T G C A C
 A G T G A C T A C A T G A A C A T G A C T C C C C G C C G C C C G G G C C C A C C C G C A A G C A T T A C C A G C C C T A T G C C C C A C C A C G C G A C T T
 C G C A G C C T A T C G T C C C T G A G A G T G A A G T T C A G C A G G A G C G C A G A C G C C C C G C G T A C C A G C A G G G C C A G A A C C A G C T C T 20
 A T A A C G A G C T C A A T C T A G G A C G A A G A G A G G A G T A C G A T G T T T T G G A C A A G A G g C G T G G C C G G G A C C C T G A G A T G G G G G G A
 A A G C C G A A A G G A A A C C C T C A G G A A G G C C T G T A C A A T G A A C T G C A G A A A G A T A A G A T G G C G G A G G C C T A C A G T G A G A T
 T G G G A T G A A A G G C G A G C C C G G A G G G G C A A G G G G C A C G A T G G C C T T T A C C A G G G T C T C A G T A C A G C C A C C A A G G A C A C C T
 A C G A C G C C C T T C A C A T G C A G G C C C T G C C C C T C G C C G A A G A G A A G A G G C A A G C C C A T C C C C A A C C C A C T G C T G G G C C T G
 G A T A G C A C C T C C G G A A G C G G A G A G G G C A G A G G C T C T C T G C T G A C C T G C G G C G A C G T G G A A G A G A A C C C A G G g C C C A T G C T
 C C T G C T C G T G A C T T C A C T T C T T C T C T G T G A A C T C C C A C A C C C C G C G T T T T T G C T T A T C C C T c a t c a t c a c c a t c a c c a c G
 G C G A G A G C G G C T A C G C C C A G A A C G G C G A C C T G G A G G A C G C C G A G C T G G A C G A C T A C A G C T T C A G C T G C T A C A G C C A G C T G
 G A G G T G A A C G G C A G C C A G C A C A G C C T G A C C T G C G C C T T C G A G G A C C C G A C G T G A A C A T C A C C A A C C T G G A G T T C G A G A T
 C T G C G G C G C C C T G G T G G A G G T G A A G T G C C T G A A C T T C A G G A A G C T G C A G G A G A T C T A C T T C A T C G A G A C C A A G A A G T T C C
 T G C T G A T C G G C A A G A C A A C A T C T G C G T G A A G G T G G G C G A G A A G A G C C T G A C C T G C A A G A A G A T C G A C C T G A C C A C C A T C 30
 G T G A A G C C C G A G G C C C C T T C G A C C T G A G C G T G G T G T A C A G G G A G G G C G C C A A C G A C T T C G T G G T G A C C T T C A A C A C C A G
 C C A C C T G C A G A A G A A G T A C G T G A A G G T G C T G A T G C A C G A C G T G G C C T A C A G G C A G G A A G G A C G A G A A C A A G T G G A C C C
 A C G T G A A C C T G A G C A G C A C C A A G C T G A C C C T G C T G C A G A G G A A G C T G C A G C C C C G C C C A T G T A C G A G A T C A A G G T G A G G
 A G C A T C C C C G A C C A C T A C T T C A A G G G C T T C T G G A G C G A G T G G A G C C C C A G C T A C T A C T T C A G G A C C C C G A G A T C A A C A A
 C A G C A G C G G C G A G A T G G A C C C C A T C C T G C T G A C C T G C C C C A C C A T C A G C A T C C T G A G C T T C T T C A G C G T G G C C C T G C T G G
 T G A T C C T G G C C T G C G T G C T G T G G A A G A A G A G G A T C A A G C C C A T C G T G T G G C C C A G C C T G C C C G A C C A C A A G A A G A C C C T G
 G A G C A C C T G T G T A A G A A G C C C A G G A A G A A C C T G A A C G T G A G C T T C A A C C C C G A G A G C T T C C T G G A C T G C C A G A T C C A C A G
 G G T G G A C G A C A T C C A G G C C A G G G A C G A G G T G G A G G G C T T C C T G C A G G A C A C C T T C C C C C A G C A G C T G G A G G A G A G C G G A
 A G C A G A G G C T G G G C G G C G A C G T G C A G A G C C C C A A C T G C C C C A G C G A G G A C G T G G T G A T C A C C C C C G A G A G C T T C G G C A G G
 G A C A G C A G C C T G A C C T G C C T G G C C G G C A A C G T G A G C G C C T G C G A C G C C C C A T C C T G A G C A G C A G C A G G A G C C T G G A C T G 40
 C A G G G A G A G C G G C A A G A A C G G C C C C A C G T G T A C C A G G A C C T G C T G C T G A G C C T G G G C A C C A C A A C A G C A C C C T G C C A C
 C C C C T T C A G C C T G C A G A G C G G C A T C C T G A C C C T G A A C C C C G T G G C C C A G G G C C A G C C C A T C C T G A C C A G C C T G G G C A G C
 A A C C A G G A G G A G G C C T A C G T G A C C A T G A G C A G C T T C T A C C A G A A C C A G

C D 1 9 C A R + I L 7 R A _ _ C P T タンパク質 (配 列 番 号 1 0 3)

EQKL I SEEDLD I QMTQTSSLSASLGDRVT I SCRASQD I SKYLNWYQQKPDGTVKLL I YHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD
 YSLT I SNLEQED I ATYFCQQGNTLPYTFGGGKLE I TGGGGSGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVS
 LPDYGVSW I RQPPRKGLEWLGV I WGSETTYNSALKSRLT I I KDNSKSQVFLKMNSLQTD DTA I YYCAKHYYYGGSYAMD
 YWGQGT SVTVSSGSLDNEKSNGT I I HVKKGKHLCPSP LFPGPSKPFVWLVVVGGLACYSLLVTVAF I I FWVRSKRSRLLH
 SDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPEMGG
 KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE I GMKGERRRGKGHDLGYQLSTATKDTYDALHMQALPPRRKRRGKPIPNPLLLGL 50

DSTSGSGEGRGSLTTCGDVEENPGPMLLLVTSLLLCELPHPAFLI PHHHHHHGESGYAQNGLLEDAELDDYSFSCYSQLE
 EVNGSQHSLTCAFEDPDVNI TNLEFEICGALVEVKCLNFRKLQEI YFIEETKKFLLIGKSNICVKVGEKSLTCKKIDLTTI
 VKPEAPFDLSVVYREGANDFVVTFNSTHLQKKYVKVLMHDVAYRQEKDENKWITHVNLSSSTKLTLLQRKLPAAMYEIKVR
 SIPDHYFKGFWSEWSPSYFFRTPENNSSGEMDPI LLLTCPTISILSFFSVALLVILACVLWKKRIKPI WVPSLPDHHKTL
 EHLCKKPRKNLNVSNPESFLDCQI HRVDDIQARDEVEGFLQDTFPQQLEESEKQRLGGDVQSPNCPSEDVVI TPESFGR
 DSSLTCLAGNVSACDAPILSSSRSLDCRESGKNGPHVYQDLLLLSLGTTNSTLPPPFSLQSGILTLNPVAQQQPILTSLSG
 NQEEAYVTMSSFYQNQ

C D 1 9 C A R + I L 7 R a M C P D N A (配 列 番 号 1 0 4)

GAACAGAAGCTGATAAGTGAGGAGGACTTGacatccagatgaccagaccaccagcagccagcgcgaccagccaggcga
 tagagtaccatcagctgcagagccagccaggacatcagcaagtacctgaactggatcagcagaaaccgacggcaccg 10
 tgaagctgctgatctaccacaccagcagactgcacagcggcgtgccagcagatcttctggcagcggctccggcaccgac
 tacagccagaccatctccaacctggaacaggaagatactgctacctactctgtcagcaaggcaacacctgcccacac
 cttcggcggaggcaccaagctggaaatcacagggcggcggaggaatctggcggaggcgggaagtggcggagggggaatctgaag
 tgaaacgcaggaagcggcccaggctggctggggccatctcagctctcagcgtgacctgtaccgtgtccggcgtgtcc
 ctgctgactatggcgtgtctggatcagacagccccccagaaagggcctggaatggctgggagtgatctggggcagcga
 gacaacctactacaacagcgcctgaagtcccggctgaccatcatcaaggacaacctccaagagccagggtgtcctgaaga
 tgaacagccgcagaccgacgacaccgccaatctactactgcgccaagcactactactacggcggcagctacgccaatggac
 tactggggccagggcacaagcgtgaccgtgtctagcgggtccCTAGACAATGAGAAGAGCAATGGAACCATATCCATGT
 GAAAGGGAAACACCTTTGTCAAAGTCCCCTATTTCCCGACCTTCTAAGCCCTTTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGTGGAG
 TCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCAC 20
 AGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTT
 CGCAGCCTATCGCTCCCTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCT
 ATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGgCGTGCCCGGGACCCCTGAGATGGGGGA
 AAGCCGAGAAGGAAGAACCTCAGGAAGGCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCACAGTGAGAT
 TGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCT
 ACGACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCCGGAAGAGAAGAGGCAAGCCATCCCCAACCCACTGCTGGGCCTG
 GATAGCACCTCCGGAAGCGGAGAGGGCAGAGGCTCTCTGCTGACCTGCGGCGACGTGGAAGAGAACCAGGgCCCATGCT
 CCTGCTCGTGACTTCACTTCTTCTCTGTGAACTCCCACACCCCGCTTTTTGCTTATCCCTcatcatcaccatcaccacG
 GCGAGAGCGGCTACGCCAGAACGGCGACCTGGAGGACGCCGAGCTGGACGACTACAGCTTACAGCTGCTACAGCCAGCTG
 GAGGTGAACGGCAGCCAGCACAGCCTGACCTGCGCCTTCGAGGACCCCGACGTGAACATCACCAACCTGGAGTTTCGAGAT 30
 CTGCGGCGCCCTGGTGGAGGTGAAGTGCCTGAACTTACAGGAAGCTGCAGGAGATCTACTTCATCGAGACCAAGAAGTTCC
 TGCTGATCGGCAAGAGCAACATCTGCGTGAAGGTGGGCGAGAAGAGCCTGACCTGCAAGAAGATCGACCTGACCACCATC
 GTGAAGCCCGAGGCCCTTCGACCTGAGCGTGGTGTACAGGGAGGGCGCAACGACTTCGTGGTGCACCTTCAACACCAG
 CCACCTGCAGAAGAAGTACGTGAAGGTGCTGATGCACGACGTGGCCTACAGGCAGGAGAAGGACGAGAACAAGTGGAACC
 ACGTGAACCTGAGCAGCACCAGCTGACCCTGCTGCAGAGGAAGCTGCAGCCCAGCCGATGTACGAGATCAAGGTGAGG
 AGCATCCCCGACCACTACTTCAAGGGCTTCTGGAGCGAGTGGAGCCCCAGCTACTACTTCAGGACCCCGAGATCAACAA
 CAGCAGCGGCGAGATGGACCCATCCTGCTGATGTGCCCCACCATCAGCATCCTGAGCTTCTTCAGCGTGGCCCTGCTGG
 TGATCCTGGCCTGCGTGTGTGGAAGAAGAGGATCAAGCCCATCGTGTGGCCAGCCTGCCCGACCACAAGAAGACCCTG
 GAGCACCTGTGTAAGAAGCCCAGGAAGAACCTGAACGTGAGCTTCAACCCCGAGAGCTTCTGGACTGCCAGATCCACAG
 GGTGGACGACATCCAGGCCAGGGACGAGGTGGAGGGCTTCTGCAGGACACCTTCCCCCAGCAGCTGGAGGAGAGCGAGA 40
 AGCAGAGGCTGGGCGGCGACGTGCAGAGCCCCAACTGCCCCAGCGAGGACGTGGTGTATACCCCGAGAGCTTCGGCAGG
 GACAGCAGCCTGACCTGCCTGGCCGGCAACGTGAGCGCCTGCGACGCCCCCATCCTGAGCAGCAGCAGGAGCCTGGACTG
 CAGGGAGAGCGGCAAGAACGGCCCCACGTGTACCAGGACCTGCTGCTGAGCCTGGGCACCACCAACAGCACCCCTGCCAC
 CCCCCCTCAGCCTGCAGAGCGGCATCCTGACCCTGAACCCCGTGGCCAGGGCCAGCCCATCCTGACCAGCCTGGGCAGC
 AACCAGGAGGAGCCTACGTGACCATGAGCAGCTTCTACCAGAACCAG

C D 1 9 C A R + I L 7 R a M C P タンパク質 (配 列 番 号 1 0 5)

EQKLI SEEDLDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLI YHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD
 YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGGLVAPSQSLSVTCTVSGVS
 LPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVWGWSETTYYNALSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDITAIIYCAKHYYYGGSYAMD
 YWQGTSTVSSGSLDNEKSNGTIIVKKGKHLCPSPFLPGPSKPFVWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLH 50

SDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG
 KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRKRRGKPIPNPLLGL
 DSTSGSGEGRGSLTTCGDVEENPGPMLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPHHHHHGESGYAQNGDLEDAELDDYSFSCYSQL
 EVNGSQHSLTCAFEDPDVNI TNLEFEICGALVEVKCLNFRKLQE IYF IETKKFLLIGKSNICVKVGEKSLTCKKIDLTTI
 VKPEAPFDLSVVYREGANDFVVTFTNTSHLQKKYVKVLMHDVAYRQEKDENKWTHTVNLSSTKLTLQRKQLQPAAMYEIKVR
 SIPDHYFKGFWEWSPSYFRTPEINNSSGEMDPI LLMCPTISILSFFSVALLVILACVLWKKR I KPIVWPSLPDHKKTL
 EHLCKKPRKNLNVSNPESFLDCQIHRVDDIQARDEVEGFLQDTFPQQLEESEKQRLGGDVQSPNCPSEDVVI TPESFGR
 DSSLTCLAGNVSACDAPILSSSRSLDCRESGKNGPHVYQDLLLLSLGTTNSTLPPPFSLSQSGILTLNPVAQQQPILTSLGS
 NQEEAYVTMSSFYQNN

C D 1 9 C A R + I L 7 R a P P C L D N A (配列番号 1 0 6)

GAACAGAAGCTGATAAGTGAGGAGGACTTGgacatccagatgaccagaccaccagcagcctgagcgccagccgggcga
 tagagtgaccatcagctgcagagccagccaggacatcagcaagtacctgaactggatcagcagaaaccgacggcaccg
 tgaagctgctgatctaccacaccagcagactgcacagcggcggtgccagcagatcttctggcagcggctccggcaccgac
 tacagccgaccatctccaacctggaacaggaagatatcgctacctactctgtcagcaaggcaacacctgcccacac
 cttcggcggaggcaccacagctggaaatcacagggcggcgaggatctggcggaggcggaagtggcggagggggatctgaag
 tgaaacgacagaaagcggccctggccggggcccatctcagctctcagcgtgacctgtaccgtgtccggcggtgtcc
 ctgccgtgactatggcggtgtccggatcagacagccccagaaagggcctggaatggctgggagtgatctggggcagcga
 gacaacctactacaacagcggccctgaagtcccggctgaccatcatcaaggacaactccaagagccagggtgttccgaaga
 tgaacagccgacagaccgacacaccgcatctactactgcgccaagcactactactacggcggcagctacgccaaggac
 tactggggccagggcacaagcgtgaccgtgtctagcgggtccCTAGACAATGAGAAGAGCAATGGAACCATTATCCATGT
 GAAAGGGAAACACCTTTGTCCAAGTCCCCTATTTCCCGACCTTCTAAGCCCTTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGTGGAG
 TCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCAC
 AGTGACTIONTGAACATGACTCCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTT
 CGCAGCCTATCGTCCCTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCT
 ATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGgCGTGCCGGGACCCCTGAGATGGGGGA
 AAGCCGAGAAGGAAGAACCCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGAT
 TGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCT
 ACGACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCTCGCCGGAAGAGAAGAGGCAAGCCATCCCCAACCCACTGCTGGGCCTG
 GATAGCACCTCCGGAAGCGGAGAGGGCAGAGGCTCTCTGCTGACCTGCGGCGACGTGGAAGAGAACCAGGgCCCATGCT
 CCTGCTCGTGACTIONTCACTTCTTCTGTGAACTCCACACCCCCGCTTTTTGCTTATCCCTcatcatcaccatcaccacG
 GCGAGAGCGGCTACGCCAGAACGGCGACCTGGAGGACGCCGAGCTGGACGACTACAGCTTACAGCTGCTACAGCCAGCTG
 GAGGTGAACGGCAGCCAGCACAGCCTGACCTGCGCCTTCGAGGACCCCGACGTGAACATCACCAACCTGGAGTTTCGAGAT
 CTGCGGCGCCCTGGTGGAGGTGAAGTGCCTGAACTTCAGGAAGCTGCAGGAGATCTACTTCATCGAGACCAAGAAGTTCC
 TGCTGATCGGCAAGAGCAACATCTGCGTGAAGGTGGGCGAGAAGAGCCTGACCTGCAAGAAGATCGACCTGACCACATC
 GTGAAGCCCGAGGCCCTTCGACCTGAGCGTGGTGTACAGGGAGGGCGCCAACGACTTCGTGGTGAACCTTCAACACCAG
 CCACCTGCAGAAGAGTACGTGAAGGTGCTGATGCACGACGTGGCCTACAGGCAGGAGAAGGACGAGAACAAGTGGACCC
 ACGTGAACCTGAGCAGCACCAGCTGACCCTGCTGCAGAGGAAGCTGCAGCCCCGCCCATGTACGAGATCAAGGTGAGG
 AGCATCCCCGACCACTACTTCAAGGGCTTCTGGAGCGAGTGGAGCCCCAGCTACTACTTCAGGACCCCCGAGATCAACAA
 CAGCAGCGGCGAGATGGACCCATCCTGCTGCCACCCTGTTTAACCATCAGCATCCTGAGCTTCTTCAGCGTGGCCCTGC
 TGGTGTCTGCTGGCCTGCGTGTGGAAGAAGAGGATCAAGCCATCGTGTGGCCAGCCTGCCCGACCACAAGAAGACC
 CTGGAGCACCTGTGTAAGAAGCCAGGAAGAACCCTGAACGTGAGCTTCAACCCCGAGAGCTTCTGGACTGCCAGATCCA
 CAGGGTGGACGACATCCAGGCCAGGGACGAGGTGGAGGGCTTCTGCAGGACACCTTCCCCAGCAGCTGGAGGAGAGCG
 AGAAGCAGAGGCTGGGCGGCGACGTGCAGAGCCCCAACTGCCCGAGGAGCGTGGTGTACACCCCGAGAGCTTCGGC
 AGGGACAGCAGCCTGACCTGCCTGGCCGGCAACGTGAGCGCCTGCGACGCCCCATCCTGAGCAGCAGCAGGAGCCTGGA
 CTGCAGGGAGAGCGGCAAGAACGGCCCCACGTGTACCAGGACCTGCTGCTGAGCCTGGGCACCACCAACAGCACCCTGC
 CACCCCTTTCAGCCTGCAGAGCGGCATCCTGACCCTGAACCCCGTGGCCAGGGCCAGCCATCCTGACCAGCCTGGGC
 AGCAACCAGGAGGAGGCCTACGTGACCATGAGCAGCTTCTACCAGAACCAG

C D 1 9 C A R + I L 7 R a P P C L タンパク質 (配列番号 1 0 7)

EQKLISEEDLDIQMTQTSSLSASLGDVRTISCRASQDISKYLNWIYQKPKDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD
 YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGSGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVS

10

20

30

40

50

【表 1】

表 1 .

接種後の 日数	ビヒクル					
6	113000000	49300000	63300000			
9	2800000000	1120000000	1460000000			
12	1.29E+10	9630000000	10400000000			
15	3.57E+10	20300000000	31400000000			
22	1.48E+11					
26						
29						
36						
43						
接種後の 日数	非形質導入					
6	64500000	54500000	112000000	62900000	79500000	82200000
9	1950000000	1340000000	2690000000	1750000000	2690000000	1710000000
12	8620000000	6800000000	22000000000	1.17E+10	1.27E+10	9370000000
15	3.72E+10	34200000000	54800000000	2.74E+10	3.66E+10	1.11E+10
22						
26						
29						
36						
43						
接種後の 日数	CD19 CAR					
6	84800000	61600000	68500000	110000000	54800000	77900000
9	1620000000	1320000000	1690000000	2450000000	1260000000	1370000000
12	8790000000	6760000000	10700000000	7700000000	8000000000	1.14E+10
15	3.44E+10	7770000000	28300000000	2.99E+10	2.25E+10	3.42E+10
22	3.14E+10	21900000000	33600000000	8.93E+10	3.12E+10	3.18E+10
26	1.67E+10	27300000000	28200000000	1.36E+11	4.9E+10	4.02E+10
29	1.21E+11	63500000000	83100000000	1.05E+11	8.4E+10	4.71E+10
36	1.72E+11		84000000000			
43						
接種後の 日数	CD19 CAR+IL7RaCPT					
6	68600000	88400000	107000000	59900000	76800000	55900000
9	2390000000	1510000000	1820000000	762000000	1740000000	1370000000
12	8220000000	8260000000	9080000000	5280000000	8400000000	5540000000
15	1.79E+10	16200000000	14200000000	1.14E+10	1.07E+10	1.56E+10
22	3620000000	3550000000	1740000000	1890000000	1360000000	3490000000
26	690000000	495000000	147000000	220000000	126000000	1350000000
29	28300000	38700000	6530000	5090000	14300000	40100000
36	3460000	1170000	1730000	1070000	938000	2640000

10

20

30

40

43	2550000	953000		873000	797000	3340000
接種後の 日数	CD19 CAR+IL7RaMCP					
6	69600000	58600000	90700000	74800000	100000000	55900000
9	1870000000	1950000000	1990000000	1110000000	2620000000	1010000000
12	1.03E+10	6350000000	11500000000	1.32E+10	1.38E+10	5740000000
15	1.69E+10	16100000000	25700000000	3.07E+10	1.86E+10	1.38E+10
22	17700000000	59000000000	24700000000	53900000000	82600000000	75200000000
26	1150000000	1970000000	80200000000	5300000	1820000000	9760000000
29	2340000	12600000000	90800000000	2130000	2900000	2.31E+10
36	2990000	2770000	1.33E+11	1890000	2230000	6.85E+10
43	1240000	1510000		978000	1330000	4.58E+10
接種後の 日数	CD19 CAR+IL7RaPPCL					
6	74000000	100000000	97400000	74700000	56700000	56200000
9	1890000000	1980000000	3170000000	1000000000	998000000	811000000
12	1.12E+10	11700000000	16100000000	6850000000	7990000000	9090000000
15	1.98E+10	23300000000	21200000000	1.3E+10	1.92E+10	2.52E+10
22	4300000000	18800000000	36000000000	1290000000	2610000000	1580000000
26	1440000000	14100000000	62400000000	3110000	446000000	8730000000
29	66500000	8210000000	75200000000	1570000	428000000	1530000000
36	2780000	4760000	1480000000	659000	1550000	2990000
43	1400000	4250000	150000000	1020000	1440000	2140000

10

20

【 0 2 5 5 】

実施例 9 . G P C 3 C A R + I L 7 R a C P T を用いた i n v i t r o 連続死滅実験

同数の G P C 3 C A R 陽性 T 細胞及び G P C 3 C A R + I L 7 R C P T 陽性 T 細胞を、American Type Culture Company (ATCC , Manassas , VA) からの H e p 3 B 標的細胞と共培養した (0 . 5 × 1 0 ⁶ 個の C A R T 細胞を 0 . 5 × 1 0 ⁶ 個の H e p 3 B 標的細胞と共培養) 。 I L 7 R a C P T タンパク質は、実施例 8 に記載のものと同じである。標的細胞を (1 : 1 の C A R T 細胞と標的 H e p 3 B 細胞との比率で) 3 5 日間にわたって 3 日又は 4 日に 1 回の週 2 回添加し、C A R T 細胞の数をカウントビーズ及びフローサイトメトリーによって測定した。標的細胞は 3 5 日目まで添加し、3 5 日目より後の C A R T 細胞の数は週 1 回測定した。C A R T 細胞の数を下記表 2 に示す。

30

【 0 2 5 6 】

G P C 3 C A R 及び G P C 3 C A R + I L 7 R C P T についてのタンパク質及び D N A の配列を下に示す。

G P C 3 C A R D N A (配列番号 1 0 8)

GATATCGTGATGACCCAGAGCCCGACTCTTTAGCTGTGTCTTTAGGAGAGAGGGCCACAATCAACTGCAAGAGCAGCCA
GAGCCTCCTCTACAGCAGCAACCAGAAGAACTATTTAGCTTGGTACCAGCAAAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGCTGA
TCTACTGGGCCAGCAGCAGAGAGAGCGGCGTGCCCGATAGATTCAGCGGAAGCGGCTCCGGCACAGATTTACCCCTCACC
ATTAGCTCTTTACAAGCTGAGGACGTGGCCGTGACTACTGCCAGCAGTACTACAACCTACCCTTTAACCTTCGGCCAAGG
TACCAAGCTGGAGATCAAGGGCTCCACATCCGGATCCGGCAAGCCCGGTAGCGGAGAAGGCAGCACAAAGGGAGAGGTGC
AGCTGGTGGAGAGCGGAGGCGGACTGGTCCAGCCCGGTGGATCTTTAAGGCTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTTTACCTTT
AACAAAGACGCTATGAACTGGGTGAGGCAAGCTCCCGGTAAGGGTTTAGAGTGGGTGGGTGCGTATTTCGTAATAAGACCAA
CAACTACGCCACCTACTATGCCGACTCCGTGAAGGCTCGTTTACCATCTCTCGTGACGACAGCAAGAACAGCCTCTATT
TACAGATGAACTCTTTAAAGACCGAGGACACCGCGTGTACTATTGCGTGGCTGGCAACTCCTTCGCTACTGGGGCCAA
GGCACTTTAGTGACCGTGAGCTCCgggtccACCACGACGCCAGCGCCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTC
GCAGCCCCTGTCCCTGCGCCAGAGGCGTGCCGGCCAgcggcggggggagcagTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCT

40

50

GTGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGCCGGGACTTGTGGGGTCCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTTACTGCAAA
 CGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTG
 TAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCGCGT
 ACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGgCGT
 GGCCGGACCTGAGATGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAA
 GATGGCGGAGGCCACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTC
 TCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

G P C 3 C A R タンパク質 (配列番号 1 0 9)

DI VMTQSPDSLAVSLGERAT I NCKSSQSLLYSSNQKNYLAWYQQKPGQPPKLL I YWASSRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT
 I SSLQAEDVAVYYCQQYYNYPLTFGQGTKLE I KGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF
 NKNAMNWVRQAPGKGLEWVGR I RNKTNNYATYYADSVKARFI SRDDSKNSLYLQMNLSKTEDAVYYCVAGNSFAYWQG
 GTLVTVSSGSTTTPAPRPPTPAPT I ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD I Y I WAPLAGTCGVLLLLSLV I TLYCK
 RGRKLLY I FKQPFMRPVQTTQEEDGDCSRFPEEEEEGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNLYNELNLGRREEYDVLDKRR
 GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE I GMKGERRRRKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

G P C 3 C A R + I L 7 R a C P T (配列番号 1 1 0)

GATATCGTGATGACCCAGAGCCCGACTCTTTAGCTGTGTCTTTAGGAGAGAGGGCCACAATCAACTGCAAGAGCAGCCA
 GAGCCTCCTCTACAGCAGCAACCAGAAGAACTATTTAGCTTGGTACCAGCAAAAGCCCGCCAGCCCCCAAGCTGCTGA
 TCTACTGGGCCAGCAGCAGAGAGAGCGGCGTGCCCGATAGATTCAGCGGAAGCGGCTCCGGCACAGATTTACCCCTCACC
 ATTAGCTCTTTACAAGCTGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACTACAACCTACCCTTTAACCTTCGGCCAAGG
 TACCAAGCTGGAGATCAAGGGCTCCACATCCGGATCCGGCAAGCCCGGTAGCGGAGAAGGCAGCACAAAGGGAGAGGTGC
 AGCTGGTGGAGAGCGGAGGCGGACTGGTCCAGCCCGGTGGATCTTTAAGGCTGTCTTGTGCCGCCAGCGCTTTACCTTT
 AACAAAGACGCTATGAACTGGGTGAGGCAAGCTCCCGTAAGGGTTTAGAGTGGGTGGGTGCGTATTTCGTAATAAGACCAA
 CAACTACGCCACCTACTATGCCGACTCCGTGAAGGCTCGTTTACCATCTCTCGTGACGACAGCAAGAACAGCCTCTATT
 TACAGATGAACTCTTTAAAGACCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGTGGCTGGCAACTCCTTCGCCTACTGGGGCCAA
 GGCACCTTAGTGACCGTGAGCTCCggg t ccACCACGACGCCAGCGCCGACACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTC
 GCAGCCCCTGTCCCTGCGCCAGAGGCGTGCCGGCCAgcggcggggggcgagTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCT
 GTGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGCCGGGACTTGTGGGGTCCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTTACTGCAAA
 CGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTG
 TAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCGCGT
 ACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGgCGT
 GGCCGGACCTGAGATGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAA
 GATGGCGGAGGCCACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTC
 TCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCggg t cCGGAGAGGGCAGAGGC
 TCTCTGCTGACCTGCGGCGACGTGGAAGAGAACCAGGgCCATGCTCCTGCTCGTGACTTCACTTCTTCTCTGTGAACT
 CCCACACCCCGCTTTTTGCTTATCCCTcatcatcaccatcaccacGGCGAGAGCGGCTACGCCCAGAACGGCGACCTGG
 AGGACGCCGAGCTGGACGACTACAGCTTACAGCTGCTACAGCCAGCTGGAGGTGAACGGCAGCCAGCACAGCCTGACCTGC
 GCCTTCGAGGACCCCGACGTGAACATCACCAACCTGGAGTTCGAGATCTGCGGCGCCCTGGTGGAGGTGAAGTGCCTGAA
 CTTACAGGAAGCTGCAGGAGATCTACTTCATCGAGACCAAGAAGTTCCTGCTGATCGGCAAGAGCAACATCTGCGTGAAGG
 TGGGCGAGAAGAGCCTGACCTGCAAGAAGATCGACCTGACCACCATCGTGAAGCCCGAGGCCCTTCGACCTGAGCGTG
 GTGTACAGGGAGGGCGCCAACGACTTCGTGGTGACCTTCAACACCAGCCACCTGCAGAAGAAGTACGTGAAGGTGCTGAT
 GCACGACGTGGCTACAGGCAGGAGAAGGACGAGAACAAGTGGACCCACGTGAACCTGAGCAGCACCAAGCTGACCCTGC
 TGCAGAGGAAGCTGCAGCCCGCCGCAATGTACGAGATCAAGGTGAGGAGCATCCCCGACCACTACTTCAAGGGCTTCTGG
 AGCGAGTGGAGCCCAGCTACTACTTCAGGACCCCGAGATCAACAACAGCAGCGGCGAGATGGACCCCATCCTGCTGAC
 CTGCCCCACCATCAGCATCCTGAGCTTCTTCAGCGTGGCCCTGCTGGTGATCCTGGCCTGCGTGTGGAAGAAGAGGA
 TCAAGCCCATCGTGTGGCCAGCCTGCCCGACCACAAGAAGACCCCTGGAGCACCTGTGTAAGAAGCCCAGGAAGAACCTG
 AACGTGAGCTTCAACCCCGAGAGCTTCCCTGGACTGCCAGATCCACAGGGTGGACGACATCCAGGCCAGGGACGAGGTGGA
 GGGCTTCCCTGCAGGACACCTTCCCCAGCAGCTGGAGGAGAGCGAGAAGCAGAGGCTGGGCGGCGACGTGCAGAGCCCCA
 ACTGCCCCAGCGAGGACGTGGTGATCACCCCGAGAGCTTCGGCAGGGACAGCAGCCTGACCTGCCTGGCCGGCAACGTG
 AGCGCCTGCGACGCCCCCATCCTGAGCAGCAGCAGGAGCCTGGACTGCAGGGAGAGCGGCAAGAACGGCCCCCACGTGTA
 CCAGGACCTGCTGCTGAGCCTGGGCACCACCAACAGCACCCCTGCCACCCCTTACGCTGCAGAGCGGCATCCTGACCC

20

30

40

50

TGAACCCCGTGGCCCAGGGCCAGCCCATCCTGACCAGCCTGGGCAGCAACCAGGAGGAGGCCTACGTGACCATGAGCAGC
TTCTACCAGAACCAG

G P C 3 C A R + I L 7 R a C P T タンパク質 (配列番号 1 1 1)

DI VMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLYSSNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASSRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT
ISSLQAEDVAVYYCQQYYNYPLTFGQGTKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF
NKNAMNWRQAPGKGLEWVGRIRNKTNNYATYYADSVKARFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCVAGNSFAYWGQ
GTLVTVSSGSTTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLLSLVITLYCK
RGRKLLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNLQYLNELNLGRREEYDVLDRR
GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRGSSEGRG
SLLTCGDVEENPGPMLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPHHHHHGESGYAQNGDLEDAELDDYSFSCYSQLEVNNGSQHSLTC
AFEDPDVNI TNLEFEICGALVEVKCLNFRKLQEIYF IETKKFLLIGKSNICVKVGEKSLTCKKIDLTTIVKPEAPFDLSV
VYREGANDFVVTFNSTSHLQKKYVKVLMHDVAYRQEKDENKWITHVNLSSSTKLTLQRKLQPAAMYEKVRSIPDHYFKGFW
SEWSPSYFRTPEINNSSGEMDPI LLTCPTISILSFFSVALLVILACVLWKKRIKPIVWPSLPDHKKTLEHLCKKPRKNL
NVSFNPEFSLDCQIHRVDDIQARDEVEGFLQDTFFPQQLEESEKQRLGGDVQSPNCPSEDVVI TPESFGRDSSLTCLAGNV
SACDAPILSSSRSLDCRESGKNGPHVYQDLLLLSLGTTNSTLPPPFSLQSGILTLNPVAQQQPILTSLGSNQEEAYVTMSS
FYQNQ

10

【 0 2 5 7 】

本実験によるデータを図 19 に示す。G P C 3 C A R T 細胞は、10 日目に増殖のピークに達し、開始細胞密度を最大 2 . 4 倍上回った。同様に I L 7 R C P T を発現する G P C 3 C A R T 細胞は、28 日目までにベースラインを最大 40 倍超えて増殖し、標的をそれ以上添加しない 31 日目より後に初めて増殖が止まった。

20

【 0 2 5 8 】

【表 2】

表 2

共培養の日数	IL7RaCPT		GPC3 CAR		GPC3 CAR+IL7RaCPT	
0	5.00E+05	5.00E+05	5.00E+05	5.00E+05	5.00E+05	5.00E+05
3	6.53E+04	6.38E+04	2.12E+04	1.90E+04	1.33E+04	1.71E+04
7	2.64E+05	2.89E+05	6.16E+05	5.53E+05	4.64E+05	4.20E+05
10	2.09E+05	2.35E+05	1.37E+06	1.19E+06	1.08E+06	1.40E+06
14	5.49E+04	6.72E+04	1.29E+06	1.13E+06	2.10E+06	2.03E+06
17	1.58E+04	1.86E+04	4.64E+05	3.65E+05	3.51E+06	2.81E+06
21	1.26E+04	9.37E+03	6.30E+05	4.60E+05	4.51E+06	3.62E+06
24	8.21E+03	5.62E+03	5.24E+05	2.30E+05	9.75E+06	7.39E+06
28	3.66E+04	3.41E+04	1.68E+05	9.67E+04	2.00E+07	2.11E+07
35	4.44E+03	2.01E+03	6.14E+04	4.68E+04	1.24E+07	1.22E+07
42	2.59E+03	1.97E+02	1.40E+02	1.45E+02	4.86E+05	3.30E+05

10

20

30

40

【 0 2 5 9 】

その他の実施形態

本発明をその詳細な説明と併せて記載したが、先の記載は、添付の特許請求の範囲によ

50

って定義される本発明の範囲の解説を意図するものであって、限定を意図しないことが理解されよう。その他の態様、利点及び変更は、添付の特許請求の範囲に含まれる。

【 図 1 】

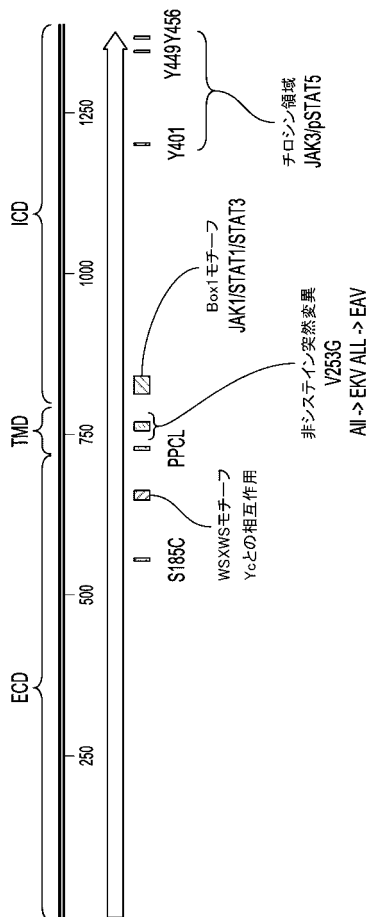
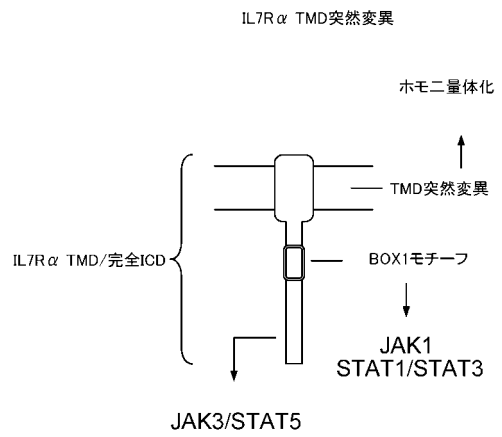


FIG. 1

【 図 2 】



IL7Rα 突然変異体のホモ二量体化は、チロシン領域を介したSTAT5のリン酸化及びBOX1モチーフを介したSTAT3のリン酸化を誘導する

FIG. 2

【 図 3 】

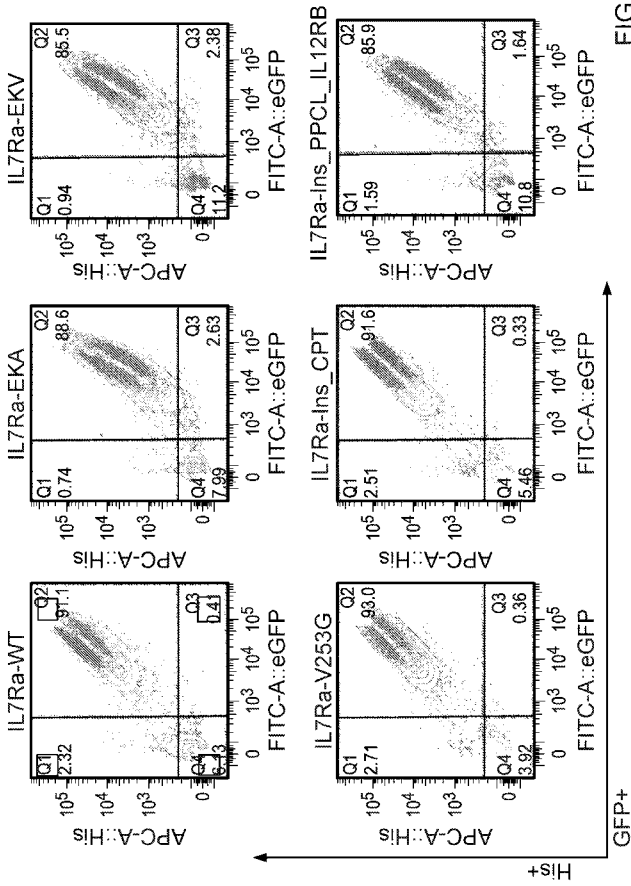


FIG. 3

【 図 4 】

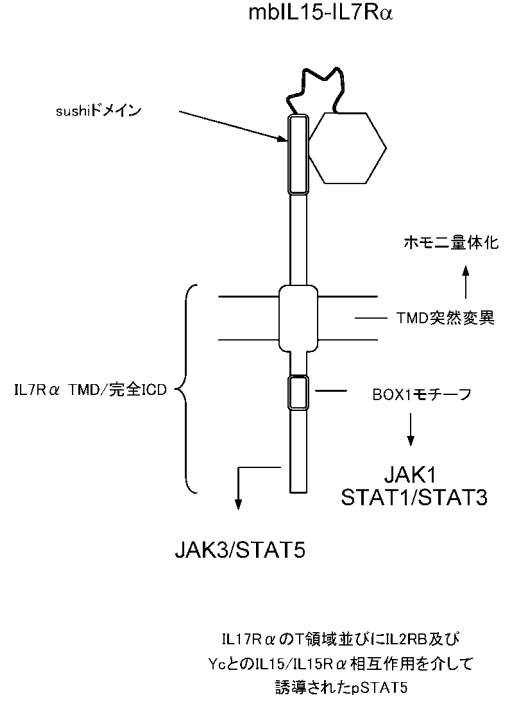


FIG. 4

【 図 5 】

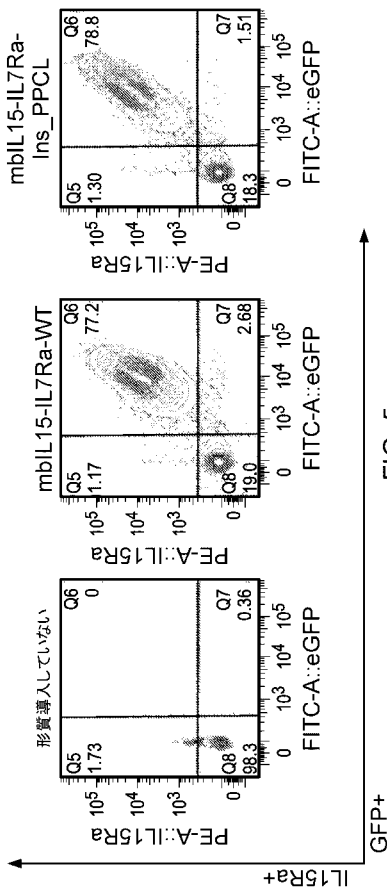


FIG. 5

【 図 6 】

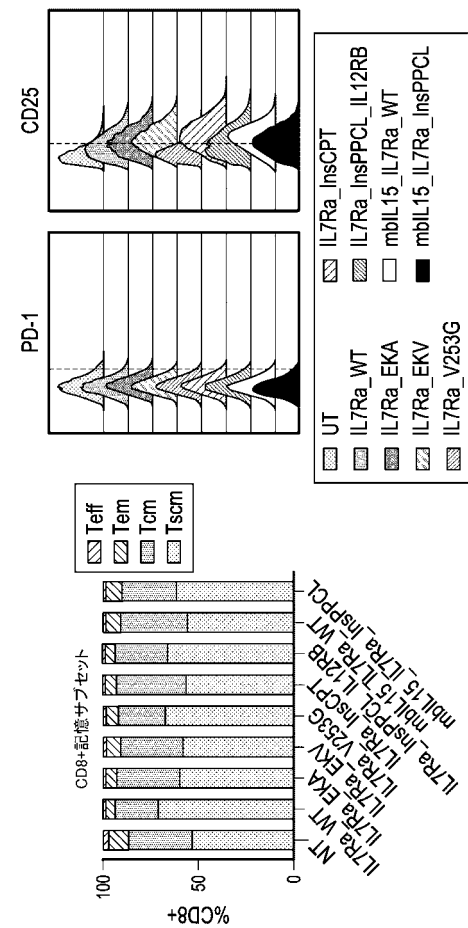


FIG. 6A

FIG. 6B

【 図 7 】

活性化後15日までのIL7Rα突然変異体の変動発現

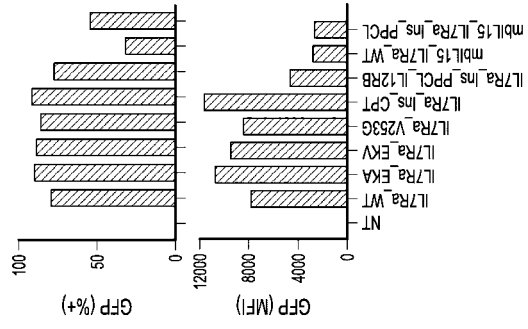


FIG. 7B

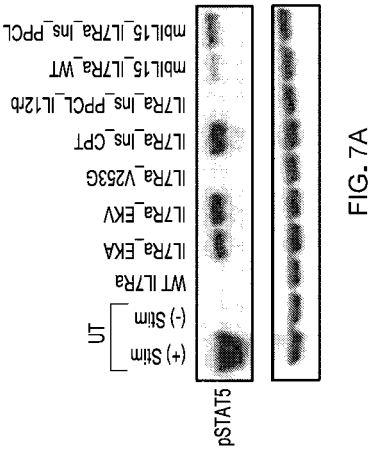


FIG. 7A

【 図 8 B 】

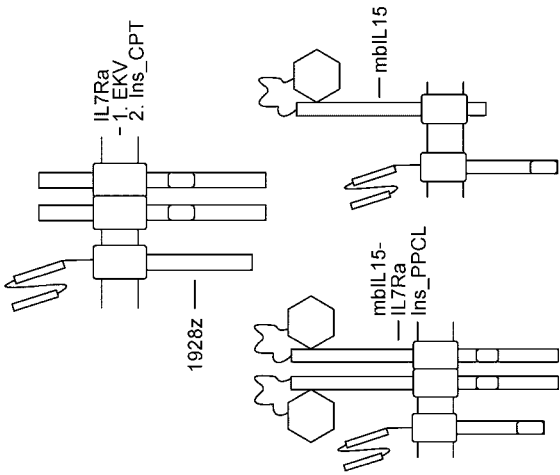


FIG. 8B

【 図 8 C 】

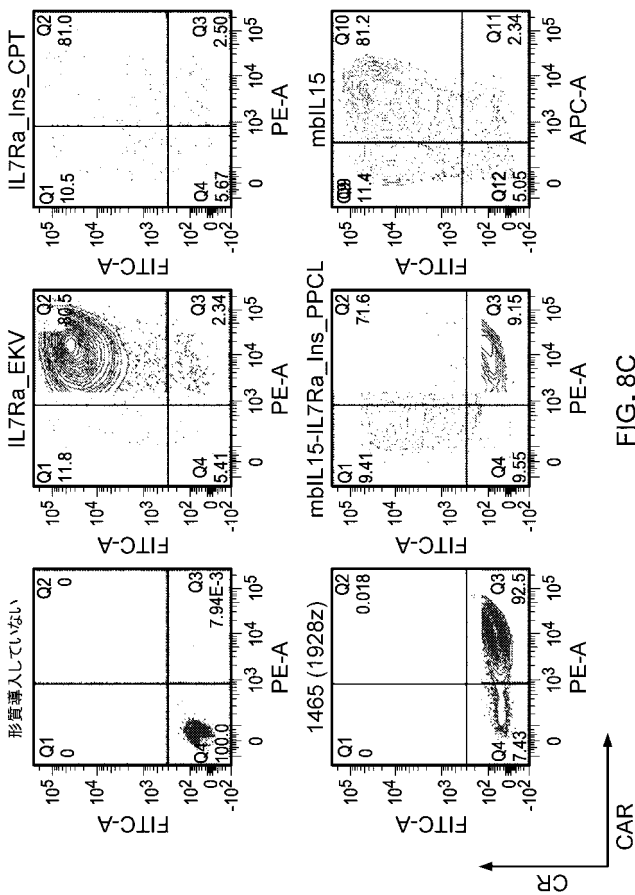


FIG. 8C

【 図 8 A 】

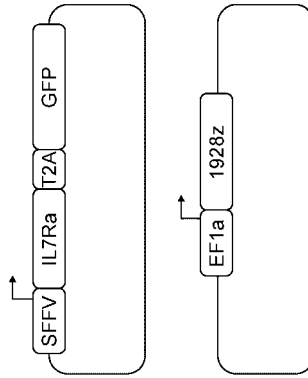
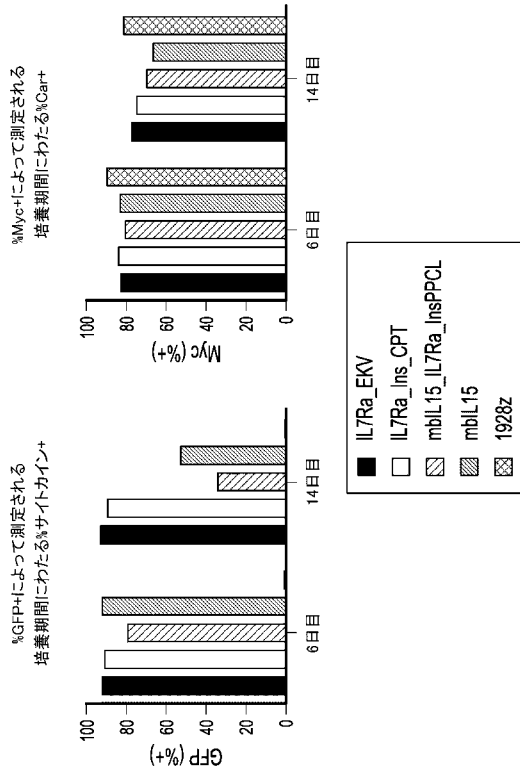


FIG. 8A

【 図 8 D 】



【 図 1 0 】

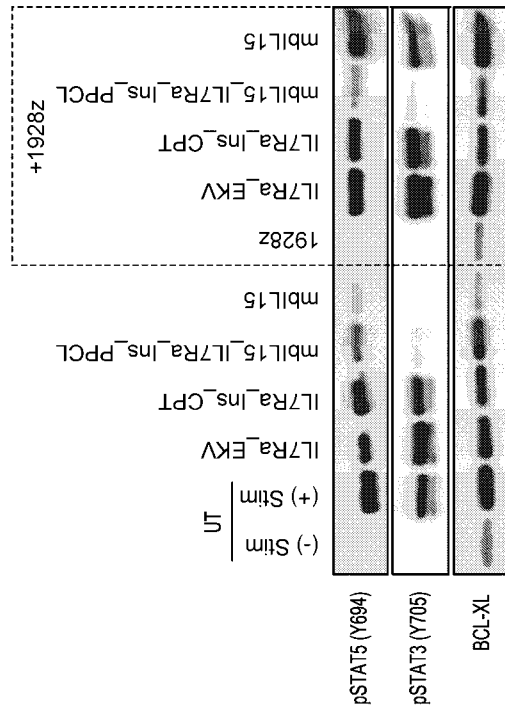


FIG. 10

【 図 9 】

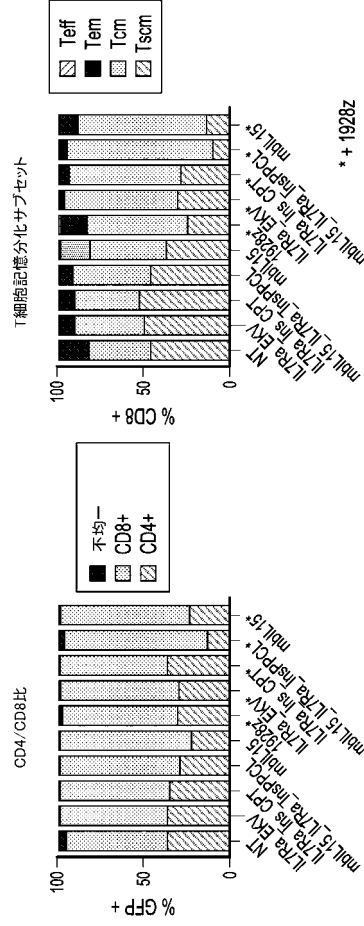


FIG. 8D

FIG. 9

【 図 1 1 】

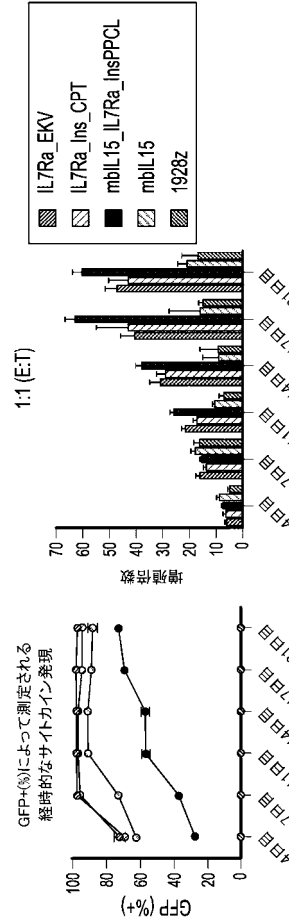


FIG. 11A

FIG. 11B

【 図 1 2 】



FIG. 12A

FIG. 12B

【 図 1 4 】

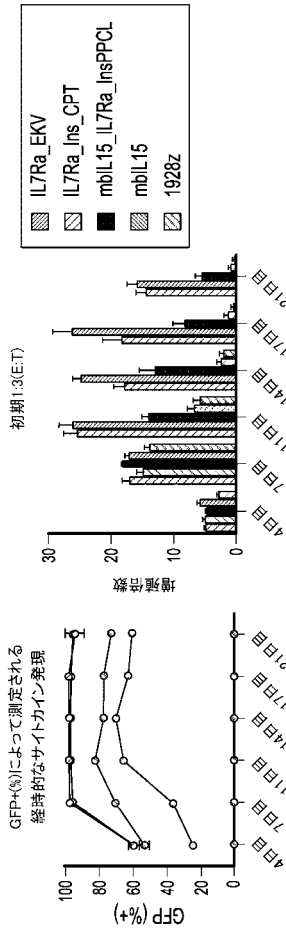


FIG. 14A

FIG. 14B

【 図 1 3 】

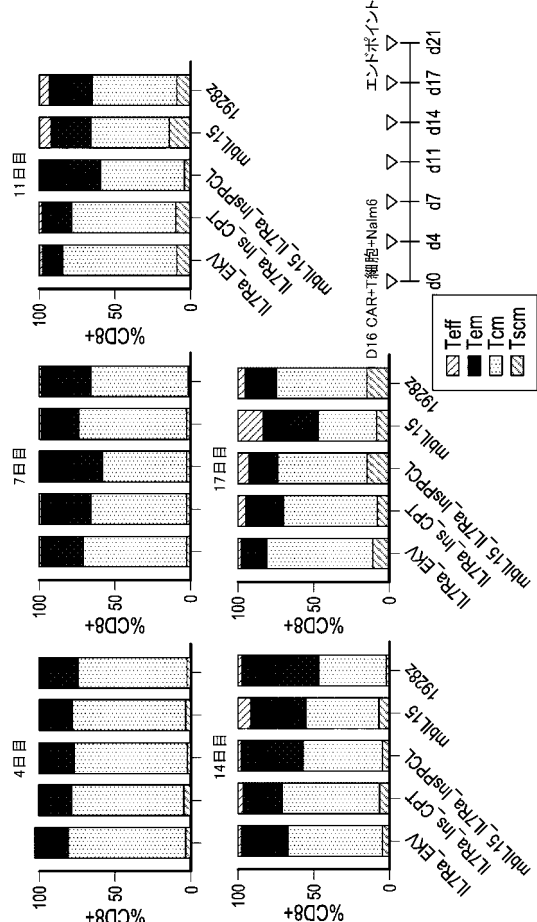


FIG. 13

【 図 1 5 】

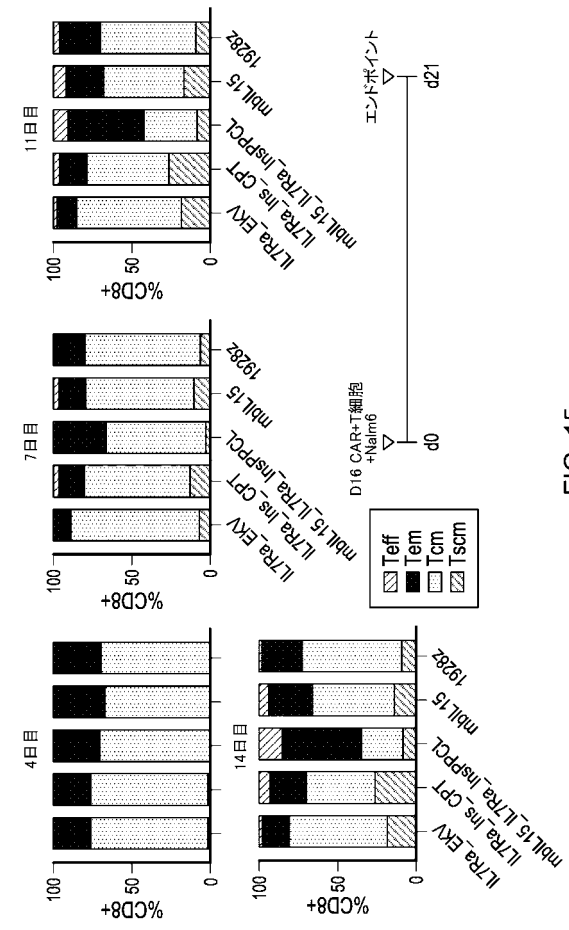


FIG. 15

【 図 1 6 】

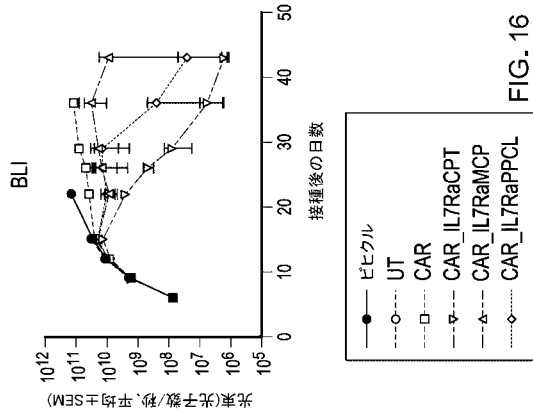


FIG. 16

【 図 1 8 】

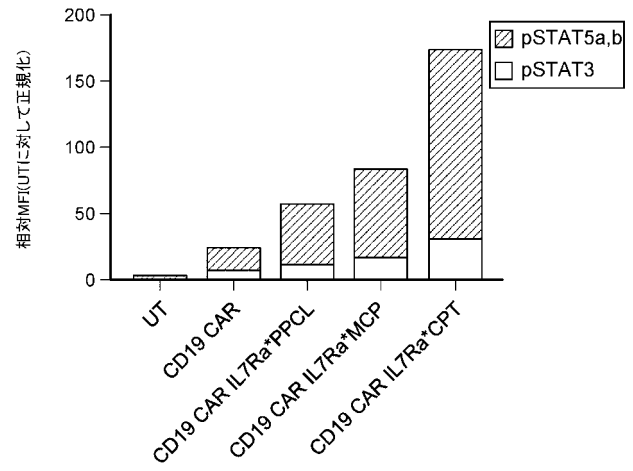


FIG. 18

【 図 1 7 】

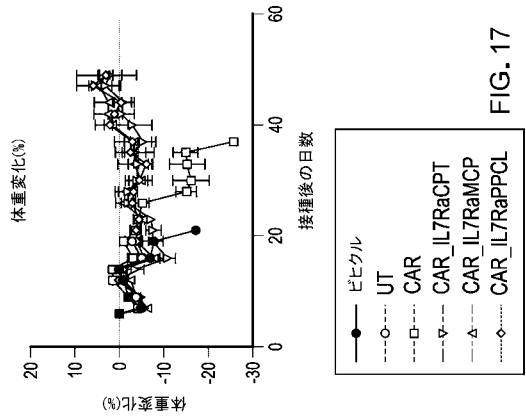


FIG. 17

【 図 1 9 】

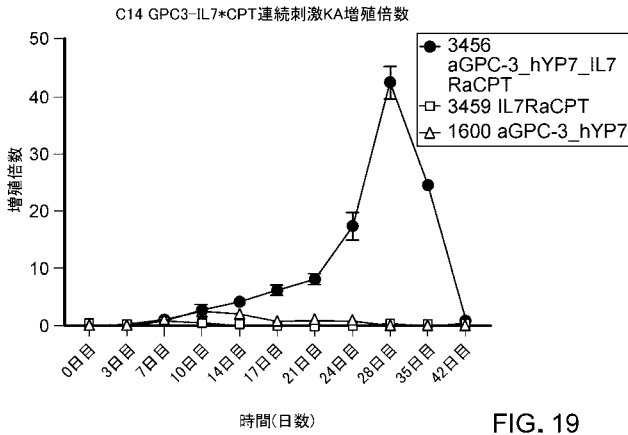


FIG. 19

【配列表】

2021527689000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2019/038547

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K14/715 C12N15/62 C07K14/54 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EP0-Internal, Sequence Search		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CHEN SHOCHAT ET AL: "Novel activating mutations lacking cysteine in type 1 cytokine receptors in acute lymphoblastic leukemia", BLOOD, vol. 124, no. 1, 1 May 2014 (2014-05-01), pages 106-110, XP055617317, DOI: 10.1182/blood-2013-10- the whole document	1-11,15, 16
Y	----- the whole document	12-14, 17-20
Y	WO 2018/038945 A1 (BAYLOR COLLEGE MEDICINE [US]) 1 March 2018 (2018-03-01) the whole document ----- -/--	12-14, 17-20
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 3 September 2019		Date of mailing of the international search report 06/11/2019
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Wiame, Ilse

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2019/038547

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LENKA V. HURTON ET AL: "Tethered IL-15 augments antitumor activity and promotes a stem-cell memory subset in tumor-specific T cells", NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 113, no. 48, 14 November 2016 (2016-11-14), pages E7788-E7797, XP055436232, US ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.1610544113 abstract -----	6-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2019/038547

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2018038945 A1	01-03-2018	AU 2017317022 A1	14-03-2019
		CA 3034873 A1	01-03-2018
		CN 109952309 A	28-06-2019
		EP 3504223 A1	03-07-2019
		JP 2019528078 A	10-10-2019
		KR 20190039597 A	12-04-2019
		SG 11201901642X A	28-03-2019
		US 2019183936 A1	20-06-2019
		WO 2018038945 A1	01-03-2018

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2019/038547**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-20(partially)

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2019/038547

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-20(partially)

A protein comprising a transmembrane domain of an alpha chain of interleukin-7 receptor, with one or more modifications, wherein the transmembrane domain with one or more modifications has a sequence of SEQ ID NO: 2 or 4.
Nucleic acid encoding said protein, vector comprising said nucleic acid, mammalian cell comprising said vector, pharmaceutical composition comprising said vector or said mammalian cell.

2. claims: 1-20(partially)

A protein comprising a transmembrane domain of an alpha chain of interleukin-7 receptor, with one or more modifications, wherein the transmembrane domain with one or more modifications has a sequence of SEQ ID NO: 6.
Nucleic acid encoding said protein, vector comprising said nucleic acid, mammalian cell comprising said vector, pharmaceutical composition comprising said vector or said mammalian cell.

3. claims: 1-20(partially)

A protein comprising a transmembrane domain of an alpha chain of interleukin-7 receptor, with one or more modifications, wherein the transmembrane domain with one or more modifications has a sequence of SEQ ID NO: 8.
Nucleic acid encoding said protein, vector comprising said nucleic acid, mammalian cell comprising said vector, pharmaceutical composition comprising said vector or said mammalian cell.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 15/867 (2006.01)	C 1 2 N 15/867	Z 4 H 0 4 5
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
A 6 1 K 35/76 (2015.01)	A 6 1 K 35/76	
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088	
A 6 1 K 35/761 (2015.01)	A 6 1 K 35/761	
A 6 1 K 35/17 (2015.01)	A 6 1 K 35/17	Z
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 38/02 (2006.01)	A 6 1 K 38/02	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 15/62	Z
C 0 7 K 16/30 (2006.01)	C 0 7 K 16/30	
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N 15/12	
C 0 7 K 14/725 (2006.01)	C 0 7 K 14/725	

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(72)発明者 ロマン ガブリエル
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 90404 サンタモニカ ブロードウェイ 2400 シーノオー カイト ファーマ インコーポレイテッド

(72)発明者 ヴィンセント ローザ
 アメリカ合衆国 ニューヨーク州 10034 ニューヨーク シティ バーミライヤ アベニュー 54

(72)発明者 ワイマン サラ
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 90404 サンタモニカ ブロードウェイ 2400 シーノオー カイト ファーマ インコーポレイテッド

Fターム(参考) 4B065 AA94X AB01 AC14 BA02 CA24 CA25 CA44 CA46
 4C084 AA02 AA13 CA53 NA14 ZB26
 4C085 AA14 BB11 EE01
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZB26
 4C087 AA01 AA02 BB43 BB65 BC83 CA12 NA14 ZB26
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA50 DA76 EA28
 FA74