

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載  
 【部門区分】第1部門第1区分  
 【発行日】令和1年12月5日(2019.12.5)

【公表番号】特表2018-534928(P2018-534928A)  
 【公表日】平成30年11月29日(2018.11.29)  
 【年通号数】公開・登録公報2018-046  
 【出願番号】特願2018-521109(P2018-521109)  
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/867 (2006.01)  
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)  
 C 1 2 N 7/01 (2006.01)  
 C 0 7 K 14/47 (2006.01)  
 C 1 2 M 1/00 (2006.01)  
 C 0 7 K 16/28 (2006.01)  
 C 0 7 K 19/00 (2006.01)  
 C 0 7 K 14/52 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/867 Z  
 C 1 2 N 5/10 Z N A  
 C 1 2 N 7/01  
 C 0 7 K 14/47  
 C 1 2 M 1/00 A  
 C 0 7 K 16/28  
 C 0 7 K 19/00  
 C 0 7 K 14/52

【手続補正書】

【提出日】令和1年10月21日(2019.10.21)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

複数の標的細胞を、

(1) ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジンムテイン、アビジンムテイン、もしくは前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメント、および/または前記のうちのいずれかの複数のサブユニットを含む、オリゴマータンパク質試薬；ならびに

(2) ウイルス粒子

とともにインキュベートする工程を含む、細胞の形質導入のための方法であって、

該ウイルス粒子を用いて形質導入された1つまたは複数の細胞を含むアウトプット組成物を産生する、

前記細胞の形質導入のための方法。

【請求項2】

(1)におけるインキュベーションの少なくとも一部が(2)と同時に進行する、請求項1記載の方法。

【請求項3】

(a) ウイルス粒子をオリゴマータンパク質試薬と接触させ、それにより、該ウイルス

粒子および該試薬を含む組成物を生成する工程であって、該オリゴマータンパク質試薬が  
ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジンムテイン、アビジンムテイン、もし  
くは前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメント、および/または前記のうちのい  
ずれかの複数のサブユニットを含み、該ウイルス粒子が、任意で該試薬と会合している、  
工程；および

(b) (a) の組成物を、標的細胞を含む複数の細胞とともにインキュベートする工程  
を含む、細胞の形質導入のための方法であって、

該ウイルス粒子を用いて形質導入された1つまたは複数の細胞を含むアウトプット組成  
物を産生する、前記細胞の形質導入のための方法。

【請求項4】

ウイルス粒子およびオリゴマータンパク質試薬を含む組成物を、標的細胞を含む複数の  
細胞と混合する工程を含む、細胞の形質導入のための方法であって、

該オリゴマータンパク質試薬が、ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジン  
ムテイン、アビジンムテイン、もしくは前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメン  
ト、および/または前記のうちのいずれかの複数のサブユニットを含み、

該方法が、該ウイルス粒子を用いて形質導入された1つまたは複数の細胞を含むアウト  
プット組成物を産生する、  
前記細胞の形質導入のための方法。

【請求項5】

前記オリゴマータンパク質試薬が、それぞれがウイルス粒子表面および/もしくは標的  
細胞の表面の分子に特異的に結合することができる複数の1種類または複数種類の結合物  
質をさらに含み、かつ/またはそれと可逆的に結合している、請求項1~4のいずれか一項  
記載の方法。

【請求項6】

前記結合物質が、標的細胞のうちの1つまたは複数の表面に発現される分子に特異的に  
結合する選択物質である、請求項5記載の方法。

【請求項7】

前記結合物質が、ウイルス粒子表面の分子に特異的に結合するウイルス結合物質である  
、請求項5記載の方法。

【請求項8】

(1) (a) 標的細胞を含む複数の細胞を含む組成物と、

(b) (i) 該標的細胞のうちの1つまたは複数によって発現される分子に特異的に  
結合することができ、かつ(ii) ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジンム  
テイン、アビジンムテイン、もしくは前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメント  
、および/または前記のうちのいずれかの複数のサブユニットと、選択物質と可逆的に結  
合することができる複数の結合部位とを含むオリゴマータンパク質試薬と可逆的に結合し  
ている、該選択物質である結合物質と  
を接触させる工程；ならびに

(2) 少なくとも複数の細胞を、1つまたは複数のウイルス粒子の存在下でインキュベ  
ートする工程  
を含む、細胞の形質導入のための方法であって、

(1)における接触させる工程および(2)におけるインキュベートする工程が、同時に  
または順次どちらかの順序で実施され、

該方法が、該ウイルス粒子を用いて形質導入された細胞を含むアウトプット組成物を生  
成する、前記細胞の形質導入のための方法。

【請求項9】

ウイルスベクター粒子が前記試薬と可逆的に結合し、該試薬がウイルス粒子表面の分子  
と直接または間接的に可逆的に結合することができる複数の結合部位を含む、請求項8記  
載の方法。

【請求項10】

(1) (a) 1つまたは複数のウイルス粒子を含む組成物と、

(b) (i) 該ウイルス粒子表面の分子に特異的に結合することができ、かつ (ii) ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジンムテイン、アビジンムテイン、もしくは前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメント、および/または前記のうちのいずれかの複数のサブユニットと、ウイルス結合物質と可逆的に結合することができる複数の結合部位とを含むオリゴマータンパク質試薬と可逆的に結合している、該ウイルス結合物質である結合物質と

を接触させる工程；および

(2) 標的細胞を含む少なくとも複数の細胞を該1つまたは複数のウイルス粒子の存在下でインキュベートする工程

を含む、細胞の形質導入のための方法であって、

(1)における接触させる工程および(2)におけるインキュベートする工程が、同時にまたは順次どちらかの順序で実施され、

該方法が、該ウイルス粒子を用いて形質導入された複数の細胞を含むアウトプット組成物を生成する、

前記細胞の形質導入のための方法。

【請求項11】

前記結合物質が、抗体、抗体フラグメント、一価抗体フラグメント、抗体様結合特性を有するタンパク質性結合分子、Igドメインを含む分子、サイトカイン、ケモカイン、アプタマー、およびMHC分子またはその結合性フラグメントであるか、またはこれらを含む、請求項6~10のいずれか一項記載の方法。

【請求項12】

前記オリゴマータンパク質試薬が可溶性である、請求項1~11のいずれか一項記載の方法。

【請求項13】

前記オリゴマータンパク質試薬が、支持体上に直接または間接的に固定化されているか、または固定化されることができ；かつ

インキュベーションの少なくとも一部が、該支持体上で起こる、

請求項1~11のいずれか一項記載の方法。

【請求項14】

支持体が、固定相であるか、もしくは固定相を含み；かつ/または

支持体が、固体支持体であるか、もしくは固体支持体を含む、

請求項13記載の方法。

【請求項15】

前記オリゴマータンパク質試薬が、複数のポリペプチド単量体単位を含み、各単位が、少なくとも10、20、30、もしくは40アミノ酸長もしくは少なくとも約10、約20、約30、もしくは約40アミノ酸長を含み、かつ/または少なくとも20、30、40、もしくは50kDaもしくは少なくとも約20、約30、約40、もしくは約50kDaの分子量を含み；かつ/または

前記オリゴマータンパク質試薬が、少なくとも100kDaまたは少なくとも約100kDaの分子量を含むか、または平均で少なくとも100kDaまたは少なくとも約100kDaの分子量を含む、請求項1~14のいずれか一項記載の方法。

【請求項16】

標的細胞が、血液細胞を含み；

標的細胞が、白血球を含み；

標的細胞が、リンパ球を含み；

標的細胞が、B細胞を含み；

標的細胞が、B細胞集団を含み；

標的細胞が、T細胞を含み；

標的細胞が、T細胞集団を含み；かつ/または

標的細胞が、ナチュラルキラー(NK)細胞を含み；

標的細胞が、樹状細胞を含み；  
標的細胞が、マクロファージを含む、  
請求項1～15のいずれか一項記載の方法。

【請求項17】

標的細胞が、T細胞を含む、請求項1～16のいずれか一項記載の方法。

【請求項18】

前記オリゴマータンパク質試薬とともに前記インキュベートする工程の前または最中に、刺激物質の存在下で、標的細胞のうちの1つまたは複数が該刺激物質によって刺激または活性化される条件下で前記細胞を活性化させる、請求項1～17のいずれか一項記載の方法。

【請求項19】

標的細胞がT細胞を含み、前記刺激する条件が、TCR複合体の1種類または複数種類の成分のうちの1つまたは複数の細胞内シグナル伝達ドメインを活性化することができる作用物質の存在を含む、請求項18記載の方法。

【請求項20】

前記作用物質が、TCR複合体のメンバーに特異的に結合する一次作用物質を含み、かつT細胞共刺激分子に特異的に結合する二次作用物質をさらに含む、請求項19記載の方法。

【請求項21】

一次作用物質がCD3に特異的に結合し；かつ/または  
前記共刺激分子が、CD28、CD137(4-1BB)、CD27、OX40、もしくはICOSからなる群より選択される、  
請求項20記載の方法。

【請求項22】

(i) 刺激シグナルを送達するために、1つまたは複数の標的細胞の表面に発現する受容体に特異的に結合する、かつ

(ii) 前記オリゴマータンパク質試薬または第二の試薬に可逆的に結合する受容体結合物質の存在下で少なくとも複数の細胞を培養する工程をさら含み、

該オリゴマータンパク質試薬または該第二の試薬が、それぞれ該受容体結合物質に可逆的に結合しそれによって細胞においてシグナルを誘導または調節することができる複数の結合部位を含む、

請求項1～21のいずれか一項記載の方法。

【請求項23】

前記培養する工程が、前記インキュベートする工程の前に実施および/または開始される、請求項22記載の方法。

【請求項24】

前記受容体結合物質が第一の受容体結合物質であり、前記培養する工程が第二の受容体結合物質の存在下でさらに実施され、該第二の受容体結合物質が、

T細胞のうちの1つまたは複数の表面の第二の受容体に特異的に結合し、それにより、第一の受容体を通して送達されたシグナルを増強、減衰または改変するための第二のシグナルを細胞中に誘導することができる補助結合物質

である、請求項22または請求項23記載の方法。

【請求項25】

第二の受容体が、共刺激分子、補助分子、サイトカイン受容体、ケモカイン受容体、免疫チェックポイント分子であるか、またはTNFファミリーもしくはTNF受容体ファミリーのメンバーである、請求項24記載の方法。

【請求項26】

第一および第二の受容体結合物質が、それぞれCD3および/もしくはCD28であるかまたはCD3および/もしくはCD28を含む細胞の表面に発現される分子に結合する、請求項24または請求項25記載の方法。

【請求項27】

第一のおよび第二の受容体結合物質が、それぞれ抗CD3および/または抗CD28抗体またはフラグメントを含む、請求項26記載の方法。

【請求項28】

ウイルスベクターのゲノムが、組換えタンパク質をコードする異種核酸分子を含む、請求項1~27のいずれか一項記載の方法。

【請求項29】

組換えタンパク質が、キメラ抗原受容体である、請求項28記載の方法。

【請求項30】

ウイルス粒子が、レトロウイルスベクター粒子である、請求項1~29のいずれか一項記載の方法。

【請求項31】

オリゴマーまたはポリマーの個々の分子が、多糖類または二官能性リンカーによって架橋されている、請求項1~30のいずれか一項記載の方法。

【請求項32】

前記オリゴマータンパク質試薬が、SEQ ID NO:1に示されるアミノ酸配列でのストレプトアビジンにおける位置に関して44位から47位に対応する配列位置にアミノ酸配列Val<sup>44</sup>-Thr<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>もしくはIle<sup>44</sup>-Gly<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>を含むストレプトアビジンムテインを含む、請求項1~31のいずれか一項記載の方法。

【請求項33】

前記オリゴマータンパク質試薬が、以下を含むストレプトアビジンムテインを含む、請求項1~32のいずれか一項記載の方法：

(a) SEQ ID NO:3~6、27および28のうちのいずれかに示されるアミノ酸配列；

(b) SEQ ID NO:3~6、27および28のうちのいずれかに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはより高い配列同一性を示し、かつVal<sup>44</sup>-Thr<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>もしくはIle<sup>44</sup>-Gly<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>に対応するアミノ酸配列を含むアミノ酸配列であって、ビオチンもしくはその生物学的活性形態、ビオチン類似体もしくはビオチンムテインもしくはそれらの生物学的活性フラグメント、もしくはストレプトアビジン結合ペプチドと可逆的に結合する、前記アミノ酸配列；または

(c) ビオチンもしくはその生物学的活性形態、ビオチン類似体もしくはビオチンムテインもしくはそれらの生物学的活性フラグメント、もしくはストレプトアビジン結合ペプチドと可逆的に結合する、(a)もしくは(b)の機能的フラグメント。

【請求項34】

前記結合物質が、  
Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-

Glu-Lys (SEQ ID NO: 8), Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>3</sub>-Trp-Ser-His-

Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 17), Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>2</sub>-

Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 18) および Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-

(GlyGlyGlySer)<sub>2</sub>Gly-Gly-Ser-Ala-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 19)

からなる群より選択されるストレプトアビジン結合ペプチドをさらに含む、請求項5~33のいずれか一項記載の方法。

【請求項35】

1つまたは複数の結合物質と前記試薬との間の可逆的結合を破壊することができる物質を導入する工程をさらに含む、請求項5~34のいずれか一項記載の方法。

【請求項36】

前記オリゴマータンパク質試薬が、ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジンムテイン、または/およびアビジンムテイン、またはそれらの生物学的活性フラグメントであるか、またはこれらを含み；かつ

前記物質が、ストレプトアビジン結合ペプチド、ビオチンもしくは生物学的活性フラグメント、任意でD-ビオチン、またはビオチン類似体もしくは生物学的活性フラグメントを含む、

請求項35記載の方法。

【請求項37】

前記破壊の後に細胞を回収する工程を含む、請求項35または請求項36記載の方法。

【請求項38】

細胞をさらにインキュベートする工程を含む、請求項1~37のいずれか一項記載の方法。

【請求項39】

ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジンムテイン、アビジンムテイン、もしくは前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメント、および/または前記のうちのいずれかの複数のサブユニットを含む前記オリゴマータンパク質試薬に可逆的に結合しているウイルスベクター粒子結合物質であって、ウイルス粒子表面の分子に特異的に結合することができる、該ウイルス粒子結合物質；または

前記試薬に可逆的に結合しているウイルスベクター粒子を含む、組成物。

【請求項40】

請求項39記載の組成物および支持体を含む製品であって、前記試薬が、該支持体上に固定化されている、製品。

【請求項41】

(a) ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジンムテイン、アビジンムテイン、もしくは前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメント、および/または前記のうちのいずれかの複数のサブユニットを含む1種類または複数種類のオリゴマータンパク質試薬、標的細胞を含む複数の細胞およびウイルス粒子より選択される1つまたは複数の構成要素を含む1つまたは複数の容器；

(b) クロマトグラフィーマトリックスであるか、またはクロマトグラフィーマトリックスを含む、少なくとも1つの固定相を含む支持体を含む、装置。

【請求項42】

ストレプトアビジン結合ペプチドを含む、ウイルスベクター粒子。

【請求項43】

請求項42記載のウイルスベクター粒子；

ウイルスベクター粒子と可逆的に結合することができる1つまたは複数の結合部位を含む試薬；および

任意で使用説明書を含む、キット。

【請求項44】

ウイルス粒子と会合している、ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジンムテイン、アビジンムテイン、もしくは前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメント、および/または前記のうちのいずれかの複数のサブユニットを含むオリゴマータンパク質試薬を含む、組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0127

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0127】

同じく提供されるものは、試薬、たとえば任意のオリゴマータンパク質試薬、たとえばウイルス粒子として記載されたいずれかを含むキットである。いくつかの態様において、

ウイルス粒子はレトロウイルス、たとえばレンチウイルスまたはガンマレトロウイルスである。

[本発明1001]

複数の標的細胞をオリゴマータンパク質試薬およびウイルス粒子とともにインキュベートする工程を含む、細胞の形質導入のための方法であって、

該オリゴマータンパク質試薬が、複数のポリペプチド単量体単位を含み、各単位が、少なくとも10、20、30、もしくは40アミノ酸長もしくは少なくとも約10、約20、約30、もしくは約40アミノ酸長を含み、かつ/または少なくとも20、30、40、もしくは50kDaもしくは少なくとも約20、約30、約40、もしくは約50kDaの分子量を含み；かつ/または

該オリゴマータンパク質試薬が、少なくとも100kDaまたは少なくとも約100kDaの分子量を含むか、または平均で少なくとも100kDaまたは少なくとも約100kDaの分子量を含み、

該方法が、該ウイルス粒子を用いて形質導入された1つまたは複数の細胞を含むアウトプット組成物を産生する、

前記細胞の形質導入のための方法。

[本発明1002]

オリゴマータンパク質試薬が、ストレプトアビジン、アビジン、ビオチン結合ポリペプチド、strep tag結合ペプチド、ストレプトアビジンムテイン、ストレプトアビジン類似体、アビジンムテイン、アビジン類似体、および/または前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメントを個々に含む複数のポリペプチド単位を含む、本発明1001の方法。

[本発明1003]

オリゴマータンパク質試薬が、それぞれが個々に2つ以上のポリペプチド単位を含む1つまたは複数の多量体サブユニットを含む、本発明1002の方法。

[本発明1004]

複数の標的細胞を、

(1) ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテイン、アビジン類似体、アビジンムテイン、もしくは前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメント、および/または前記のうちのいずれかの複数のサブユニットを含むタンパク質試薬；ならびに

(2) ウイルス粒子

とともにインキュベートする工程を含む、細胞の形質導入のための方法であって、

該ウイルス粒子を用いて形質導入された1つまたは複数の細胞を含むアウトプット組成物を産生する、

前記細胞の形質導入のための方法。

[本発明1005]

(i) 前記インキュベートする工程が、順次どちらかの順序で、標的細胞を前記試薬と混合すること、および/または標的細胞をウイルス粒子と混合することを含み、任意で、

(a) における該混合および (b) における該混合が、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、18時間、24時間、36時間、48時間、もしくは72時間以下の期間内で実施され、かつ/または (a) における該混合が、(b) における該混合から1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、18時間、24時間、36時間、もしくは48時間以内に実施され、

(ii) 前記インキュベートする工程が、標的細胞、前記試薬、およびウイルス粒子を混合することを含み、該混合が、同時または実質的に同時に実施され；

(iii) 前記インキュベートする工程が、標的細胞およびウイルス粒子を含み、かつ前記試薬を含まない組成物を混合する工程を含み、任意で、

標的細胞および該試薬を含む組成物中の標的細胞の5%、10%、20%、30%、もしくは40%以下が活性化細胞であり、HLA-DR、CD25、CD69、CD71、CD40Lおよび4-1BBからなる群より選択される表面マーカーを発現し；IL-2、IFN-、TNF- からなる群より選択されるサイトカインの細胞内発現を含み、かつ/もしくは増殖することができ；かつ/または

該混合が、該組成物中の標的細胞およびウイルス粒子の混合ののうち1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、18時間、24時間、36時間、もしくは48時間以内に実施され；

(iv) 前記インキュベーションが、標的細胞および前記試薬を含み、かつウイルス粒子を含まない組成物をウイルス粒子と混合する工程を含み、任意で、

標的細胞および該試薬を含む該組成物中の該標的細胞の5%、10%、20%、30%、もしくは40%以下が活性化細胞であり、HLA-DR、CD25、CD69、CD71、CD40Lおよび4-1BBからなる群より選択される表面マーカーを発現し；IL-2、IFN-、TNF- からなる群より選択されるサイトカインの細胞内発現を含み、かつ/もしくは増殖することができ；かつ/または

該混合が、該組成物中の標的細胞およびウイルス粒子の混合ののうち1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、18時間、24時間、36時間、もしくは48時間以内に実施され；かつ/または

(v) 前記インキュベーションが、ウイルス粒子および前記試薬を含む組成物を、標的細胞を含み、かつウイルス粒子を含まないかつ/もしくは前記試薬を含まない組成物と混合する工程を含み、任意で、

標的細胞および該試薬を含む該組成物中の標的細胞の5%、10%、20%、30%、または40%以下が活性化細胞であり、HLA-DR、CD25、CD69、CD71、CD40Lおよび4-1BBからなる群より選択される表面マーカーを発現し；IL-2、IFN-、TNF- からなる群より選択されるサイトカインの細胞内発現を含み、かつ/または増殖することができる、  
本発明1001~1004のいずれかの方法。

[本発明1006]

オリゴマータンパク質試薬が、ビオチン結合ポリペプチド、ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジン類似体、ストレプトアビジンムテイン、アビジン類似体、アビジンムテイン、および生物学的活性フラグメントのうちの1つまたは複数を含む複数の単位を含む、本発明1001~1005のいずれかの方法。

[本発明1007]

前記試薬が、それぞれが個々に2つ以上の単量体単位を含む複数の多量体サブユニット単位を含む、本発明1006の方法。

[本発明1008]

多量体サブユニットが四量体であり、かつ/またはそれぞれが個々に4つの単量体単位を含む、本発明1007の方法。

[本発明1009]

前記インキュベートする工程が、前記細胞を前記試薬と、およびウイルス粒子と、同時にまたは順次どちらかの順序で混合する工程を含む、本発明1001~1008のいずれかの方法。

[本発明1010]

前記インキュベートする工程の少なくとも一部分の間、前記試薬およびウイルス粒子が、同時に、前記細胞の存在下にあるか、または前記細胞と接触している、本発明1001~1009のいずれかの方法。

[本発明1011]

(a) ウイルス粒子をオリゴマータンパク質試薬と接触させ、それにより、該ウイルス粒子および該試薬を含む組成物を生成する工程であって、該ウイルス粒子が、任意で該試薬と会合している、工程；および

(b) (a) の組成物を、標的細胞を含む複数の細胞とともにインキュベートする工程を含む、細胞の形質導入のための方法であって、

該ウイルス粒子を用いて形質導入された1つまたは複数の細胞を含むアウトプット組成物を産生する、前記細胞の形質導入のための方法。

[本発明1012]

ウイルス粒子およびオリゴマータンパク質試薬を含む組成物を、標的細胞を含む複数の

細胞と混合する工程を含む、細胞の形質導入のための方法であって、該ウイルス粒子を用いて形質導入された1つまたは複数の細胞を含むアウトプット組成物を産生する、前記細胞の形質導入のための方法。

[本発明1013]

(a) ウイルス粒子を、ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテイン、アビジン類似体、アビジンムテイン、もしくは前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメント、および/または前記のうちのいずれかの複数のサブユニットを含むタンパク質試薬と接触させ、それにより、該ウイルス粒子および該試薬を含む組成物を生成する工程であって、該ウイルス粒子が、任意で該試薬と会合している、工程；および

(b) (a) の組成物を複数の細胞とともにインキュベートする工程を含む、細胞の形質導入のための方法であって、該ウイルス粒子を用いて形質導入された1つまたは複数の細胞を含むアウトプット組成物を産生する、前記細胞の形質導入のための方法。

[本発明1014]

ウイルス粒子およびタンパク質試薬を含む組成物を、標的細胞を含む複数の細胞と混合する工程を含む、細胞の形質導入のための方法であって、

該タンパク質試薬が、ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテイン、アビジン類似体、アビジンムテイン、もしくは前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメント、および/または前記のうちのいずれかの複数のサブユニットを含み、

該方法が、該ウイルス粒子を用いて形質導入された1つまたは複数の細胞を含むアウトプット組成物を産生する、  
前記細胞の形質導入のための方法。

[本発明1015]

前記試薬および/または単量体単位の各々および/または多量体単位の各々が、正味の正電荷または全体的な正電荷を有する、本発明1001～1014のいずれかの方法。

[本発明1016]

前記試薬が、抗体もしくはそのフラグメントを含む結合物質を含まず、かつ/もしくは該結合物質とコンジュゲートも可逆的に結合もしておらず、ヒト細胞表面分子もしくはその結合性フラグメントを含む結合物質も含まない；

前記試薬が、ヒト細胞表面マーカー、任意でT細胞マーカーに特異的な結合ドメインを有する分子を含まず、かつ/もしくは該分子とコンジュゲートも結合もしておらず；

前記試薬が、細胞外マトリックス成分、接着分子、インテグリン、レクチン、インテグリン結合タンパク質、ケモカイン、サイトカイン、成長因子、細胞外マトリックス結合分子、ECM成分、ウイルスタンパク質、ウイルス侵入促進細胞表面受容体、ヘパリン、ヘパラン、グリカンを含まず、かつ/もしくはこれらとコンジュゲートも結合もしておらず；  
かつ/または

前記試薬が、ヘパリン結合ドメインを含まず、かつ/もしくはインテグリン結合ドメインを含まず、かつ/もしくはVLA4結合ドメインを含まず、かつ/もしくはVLA5結合ドメインを含まない、

本発明1001～1015のいずれかの方法。

[本発明1017]

前記試薬が、それぞれがウイルス粒子表面および/もしくは標的細胞の表面の分子に特異的に結合することができる複数の1種類または複数種類の結合物質をさらに含み、かつ/またはそれと可逆的に結合している、本発明1001～1016のいずれかの方法。

[本発明1018]

標的細胞を含む複数の細胞を、

(1) 結合物質に可逆的に結合することができる複数の結合部位を含むオリゴマータンパク質試薬であって、1つまたは複数の結合部位が結合物質に可逆的に結合している、オ

リゴマータンパク質試薬；および

(2) ウイルス粒子

とともにインキュベートする工程を含む、細胞の形質導入のための方法であって、

(1)におけるインキュベーションの少なくとも一部が(2)と同時に実施され、

該方法が、該ウイルス粒子を用いて形質導入された1つまたは複数の細胞を含むアウト  
プット組成物を産生する、

前記細胞の形質導入のための方法。

[本発明1019]

前記試薬が、結合物質それぞれに可逆的に結合することができる複数の結合部位を含み、  
該複数の結合部位が、結合パートナーCに結合することができる1つまたは複数の結合部  
位Zを含み；

該結合物質が、結合パートナーCの1つまたは複数を含み、  
本発明1017または本発明1018の方法。

[本発明1020]

前記結合物質が、受容体結合物質であるか、または受容体結合物質を含む、本発明1017  
~1019のいずれかの方法。

[本発明1021]

前記試薬が、標的細胞の表面に発現される分子に特異的に結合する選択物質であるさら  
なる結合物質をさらに含む、本発明1020の方法。

[本発明1022]

前記結合物質が、標的細胞のうちの1つまたは複数の表面に発現される分子に特異的に  
結合する選択物質である、本発明1017~1019のいずれかの方法。

[本発明1023]

前記結合物質が、ウイルス粒子表面の分子に特異的に結合するウイルス結合物質である  
、本発明1017~1019のいずれかの方法。

[本発明1024]

(1)(a) 標的細胞を含む複数の細胞を含む組成物と、(b)(i) 該標的細胞のうちの  
1つまたは複数によって発現される分子に特異的に結合することができ、かつ(ii) 選択  
物質と可逆的に結合することができる複数の結合部位を含む試薬と可逆的に結合している  
、該選択物質である結合物質とを接触させる工程；ならびに

(2) 少なくとも複数の細胞を、1つまたは複数のウイルス粒子の存在下でインキュベ  
ートする工程

を含む、細胞の形質導入のための方法であって、

(1)における接触させる工程および(2)におけるインキュベートする工程が、同時に  
または順次どちらかの順序で実施され、

該方法が、該ウイルス粒子を用いて形質導入された細胞を含むアウトプット組成物を生  
成する、前記細胞の形質導入のための方法。

[本発明1025]

ウイルスベクター粒子が前記試薬と可逆的に結合し、該試薬がウイルス粒子表面の分子  
と直接または間接的に可逆的に結合することができる複数の結合部位を含む、本発明1024  
の方法。

[本発明1026]

ウイルス粒子が、該ウイルス粒子表面の分子に特異的に結合するウイルス粒子結合物質  
を介して前記試薬と可逆的に結合し、該試薬が、該ウイルス粒子結合物質と可逆的に結合  
することができる複数の結合部位を含む、本発明1025の方法。

[本発明1027]

前記試薬が、選択物質と可逆的に結合することができる複数の結合部位Z1を含み、かつ  
/または前記試薬が、ウイルス結合物質を介して1つもしくは複数のウイルス粒子と可逆  
的に結合することができる複数の結合部位Z2を含む、本発明1026の方法。

[本発明1028]

(1) (a) 1つまたは複数のウイルス粒子を含む組成物と、(b) (i) 該ウイルス粒子表面の分子に特異的に結合することができ、かつ(ii) ウイルス結合物質と可逆的に結合することができる複数の結合部位を含む試薬と可逆的に結合している、該ウイルス結合物質である結合物質とを接触させる工程；および

(2) 標的細胞を含む少なくとも複数の細胞を該1つまたは複数のウイルス粒子の存在下でインキュベートする工程

を含む、細胞の形質導入のための方法であって、

(1)における接触させる工程および(2)におけるインキュベートする工程が、同時にまたは順次どちらかの順序で実施され、

該方法が、該ウイルス粒子を用いて形質導入された複数の細胞を含むアウトプット組成物を生成する、

前記細胞の形質導入のための方法。

[本発明1029]

(1)における接触させる工程および(2)におけるインキュベートする工程が、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、18時間、24時間、36時間、48時間、もしくは72時間以下の期間内で実施され、かつ/または(a)における混合することが、(b)におけるインキュベートする工程から1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、18時間、24時間、36時間、もしくは48時間以内に実施される、本発明1024～1028のいずれかの方法。

[本発明1030]

前記結合物質が、抗体、抗体フラグメント、一価抗体フラグメント、抗体様結合特性を有するタンパク質性結合分子、Igドメインを含む分子、サイトカイン、ケモカイン、アプタマー、およびMHC分子またはその結合性フラグメントであるか、またはこれらを含む、本発明1021～1029のいずれかの方法。

[本発明1031]

抗体フラグメントが、Fabフラグメント、Fvフラグメント、(Fab')<sub>2</sub>フラグメント、および二価単鎖Fv(scFv)フラグメントからなる群より選択されるフラグメントを含む、本発明1030の方法。

[本発明1032]

前記試薬が、オリゴマータンパク質試薬であるか、またはオリゴマータンパク質試薬を含む、本発明1004、1013および1024～1031のいずれかの方法。

[本発明1033]

オリゴマータンパク質試薬が、ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテイン、もしくはアビジン類似体、アビジンムテイン、もしくは前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメント、および/または前記のうちのいずれかの複数のサブユニットを含む、本発明1032の方法。

[本発明1034]

前記試薬が可溶性である、本発明1001～1033のいずれかの方法。

[本発明1035]

前記インキュベーションの間、前記試薬が、固体支持体、固定相、ビーズ、微粒子、磁性粒子、および/もしくはマトリックスではなく、それに結合も会合もしておらず；かつ/または

前記試薬が、フレキシブルであり、金属コアもしくは磁性コアを含まず、完全にもしくは主に有機多量体から構成され、形状が球状でも、実質的に球状でも、均一でもなく、かつ/または硬直していない、

本発明1001～1034のいずれかの方法。

[本発明1036]

前記試薬が、支持体上に直接または間接的に固定化されているか、または固定化されることができ；かつ

インキュベーションの少なくとも一部が、該支持体上で起こる、  
本発明1001～1033のいずれかの方法。

[本発明1037]

前記試薬が、支持体上に直接または間接的に固定化されているか、または固定化される  
ことができ、それにより、前記選択物質が、該支持体上に固定化されているか、または固  
定化されることができ；(1)において、(c)支持体、がさらに組み合わせられ、それによ  
り、少なくとも複数のうちの1つまたは複数の標的細胞が、インキュベーションの少なく  
とも一部の間、該選択物質を介して該支持体上に固定化される、本発明1024～1027のい  
ずれかの方法。

[本発明1038]

(1)(a)標的細胞を含む複数の細胞を含む組成物と、(b)(i)該標的細胞のうちの  
1つまたは複数によって発現される選択マーカーに特異的に結合することができ、かつ(i  
i)支持体に、直接または間接的に固定化されているか、または固定化されることができ  
る選択物質と；(c)支持体とを接触させる工程であって、それにより、少なくとも複数  
のうちの1つまたは複数の標的細胞が該選択物質を介して該支持体上に固定化される、前  
記工程；および

(2)複数のウイルス粒子を含む組成物の存在下で少なくとも複数の細胞をインキュベ  
ートする工程であって、該複数のウイルス粒子のうちの1つまたは複数が、該支持体上に  
、直接または間接的に固定化されることができ、前記工程  
を含む、細胞の形質導入のための方法であって、

(1)における接触させる工程および(2)におけるインキュベートする工程が、同時に  
または順次どちらかの順序で実施され、

該1つまたは複数の標的細胞および該1つまたは複数のウイルス粒子が、該インキュベ  
ーションの少なくとも一部の間、該支持体上に固定化されており；かつ

該方法が、該ウイルス粒子を用いて形質導入された複数の細胞を含むアウトプット組成  
物を生成する、  
前記細胞の形質導入のための方法。

[本発明1039]

支持体が、固定相であるか、もしくは固定相を含み；かつ/または

支持体が、固体支持体であるか、もしくは固体支持体を含む、

本発明1036～1038のいずれかの方法。

[本発明1040]

前記試薬が、支持体上に固定化されているか、または固定化されることができ、該試薬  
が、前記選択物質と可逆的に結合することができる複数の結合部位Z1と、ウイルス結合物  
質を介して1つまたは複数のウイルス粒子と可逆的に結合することができる複数の結合部  
位Z2とを含む、本発明1038または本発明1039の方法。

[本発明1041]

前記方法が、(1)において、(d)試薬、をさらに組み合わせることを含み、該試薬が  
、支持体上に固定化されている、本発明1040の方法。

[本発明1042]

前記選択物質および/または複数の細胞を含む組成物を前記試薬および支持体に組み合  
わせる前に、前記試薬および支持体が組み合わせられる、本発明1038～1041のいずれかの方  
法。

[本発明1043]

前記選択物質が第一の選択物質であり、前記分子が第一の分子であり、インキュベ  
ーションが、標的細胞のうちの1つまたは複数の表面に発現された第二の分子に特異的に結合  
することができる第二の選択物質の存在下でさらに実施される、本発明1022、1024～1027  
および1030～1041のいずれかの方法。

[本発明1044]

前記第二の選択物質が、前記試薬または第二の試薬と可逆的に結合し、該試薬または該

第二の試薬が、該第二の選択物質と可逆的に結合することができる複数の結合部位を含み、それにより、該第二の選択物質が、該試薬または該第二の試薬と可逆的に結合する、本発明1043の方法。

[本発明1045]

標的細胞が、血液細胞を含み；

標的細胞が、白血球を含み；

標的細胞が、リンパ球を含み；

標的細胞が、B細胞を含み；

標的細胞が、B細胞集団を含み；

標的細胞が、T細胞を含み；

標的細胞が、T細胞集団を含み；かつ/または

標的細胞が、ナチュラルキラー（NK）細胞を含み；

標的細胞が、樹状細胞を含み；

標的細胞が、マクロファージを含む、

本発明1001～1044のいずれかの方法。

[本発明1046]

標的細胞が、抗原特異的T細胞もしくはその集団、ヘルパーT細胞もしくはその集団、細胞傷害性T細胞もしくはその集団、メモリーT細胞もしくはその集団、調節性T細胞もしくはその集団、またはNK細胞もしくはその集団、抗原特異的B細胞もしくはその集団、メモリーB細胞もしくはその集団、または調節性B細胞もしくはその集団を含む、本発明1045の方法。

[本発明1047]

標的細胞が、T細胞を含む、本発明1001～1046のいずれかの方法。

[本発明1048]

T細胞が、CD4+および/もしくはCD8+ T細胞、ならびに/またはその亜集団もしくはサブセットを含み、かつ/または前記のうちの任意の集団が濃縮されている、本発明1047の方法。

[本発明1049]

前記分子が、B細胞またはT細胞共受容体であり；

前記分子が、T細胞もしくはB細胞抗原受容体複合体のメンバーであるか、またはそれを含み；

前記分子が、CD3鎖であるか、またはCD3鎖を含み；

前記分子が、CD3ゼータ鎖であるか、またはCD3ゼータ鎖を含み；

前記分子が、CD8であるか、またはCD8を含み；

前記分子が、CD4であるか、またはCD4を含む、

本発明1001～1048のいずれかの方法。

[本発明1050]

前記選択物質によって特異的に結合される分子が、CD25、CD28、CD62L、CCR7、CD27、CD127、CD3、CD4、CD8、CD45RA、および/もしくはCD45ROであるか、またはこれらを含む、本発明1022、1024～1027および1030～1048のいずれかの方法。

[本発明1051]

前記選択物質と前記分子との間の特異的結合が、標的細胞に対しシグナルを誘導せず、すなわち刺激シグナルも活性化シグナルも増殖シグナルも誘導しない、本発明1022、1024～1027および1030～1050のいずれかの方法。

[本発明1052]

インキュベーションの少なくとも一部の間、前記選択物質が、標的細胞の表面に発現される分子に結合し、それにより、前記試薬と該標的細胞との間の会合を促進する、本発明1022、1024～1027および1030～1051のいずれかの方法。

[本発明1053]

前記分子を発現せず、前記選択物質と特異的に結合もしない非標的細胞の形質導入と比

べて、前記試薬と標的細胞との間の会合が、該標的細胞の形質導入を増強する、本発明1052の方法。

[本発明1054]

前記複数の細胞が、休止またはナイーブT細胞を含む、本発明1001～1053のいずれかの方法。

[本発明1055]

前記複数の細胞におけるT細胞の少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、もしくは少なくとも90%が、HLA-DR、CD25、CD69、CD71、CD40Lおよび4-1BBからなる群より選択されるT細胞活性化マーカーについて表面陰性であり；かつ/またはIL-2、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  からなる群より選択されるサイトカインの細胞内発現を欠き；かつ/または増殖能力がある、本発明1001～1054のいずれかの方法。

[本発明1056]

前記複数の細胞のうちのT細胞の10%以下が、HLA-DR、CD25、CD69、CD71、CD40Lおよび4-1BBからなる群より選択されるT細胞活性化マーカーを含み；かつ/またはIL-2、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  からなる群より選択されるサイトカインの細胞内発現を欠き；かつ/または増殖能力がある、本発明1001～1055のいずれかの方法。

[本発明1057]

前記インキュベートする工程の前に、T細胞活性化を促進する条件下で前記複数の細胞のうちの細胞を刺激する工程を含まない、本発明1001～1056のいずれかの方法。

[本発明1058]

前記インキュベートする工程の前に、前記複数の細胞が、  
(a) 約37°Cでのインキュベーションを含むエクスピボ刺激、ならびに/または  
(b) T細胞、CD4+ T細胞、および/もしくはCD8+ T細胞におけるTCR複合体を経由するシグナルを、活性化、誘導することができる作用物質；T細胞、CD4+ T細胞、および/もしくはCD8+ T細胞の増殖を誘導することができる作用物質；CD3結合分子；CD28結合分子からなる群より選択される1種類もしくは複数種類の作用物質の存在下でのインキュベーション  
に供されていない、本発明1001～1057のいずれかの方法。

[本発明1059]

前記複数の細胞が、活性化細胞を含む、本発明1001～1058のいずれかの方法。

[本発明1060]

前記試薬とともに前記インキュベートする工程の前または最中に、刺激物質の存在下で、標的細胞のうちの1つまたは複数が該刺激物質によって刺激または活性化される条件下で前記細胞を活性化させる、本発明1001～1059のいずれかの方法。

[本発明1061]

標的細胞がT細胞を含み、前記刺激する条件が、TCR複合体の1種類または複数種類の成分のうちの1つまたは複数の細胞内シグナル伝達ドメインを活性化することができる作用物質の存在を含む、本発明1060の方法。

[本発明1062]

前記作用物質が、TCR複合体のメンバーに特異的に結合する一次作用物質およびT細胞共刺激分子に特異的に結合する二次作用物質を含む、本発明1061の方法。

[本発明1063]

一次作用物質がCD3に特異的に結合し；かつ/または  
前記共刺激分子が、CD28、CD137 (4-1BB)、CD27、OX40、もしくはICOSからなる群より選択される、  
本発明1062の方法。

[本発明1064]

一次作用物質および二次作用物質が抗体を含み、かつ/または固体支持体の表面に存在する、本発明1062または本発明1063の方法。

[本発明1065]

(i) 刺激シグナルを送達するために、1つまたは複数の標的細胞の表面に発現する受容体に特異的に結合する、かつ

(ii) 前記試薬または第二の試薬に可逆的に結合する

受容体結合物質の存在下で少なくとも複数の細胞を培養する工程をさら含み、

該試薬または該第二の試薬が、それぞれ該受容体結合物質に可逆的に結合しそれによって細胞においてシグナルを誘導または調節することができる複数の結合部位を含む、本発明1001～1064のいずれかの方法。

[本発明1066]

前記培養する工程が、前記インキュベートする工程の前に実施および/または開始される、本発明1065の方法。

[本発明1067]

前記試薬が、第二の試薬であり、インキュベーションの間、該第二の試薬が、固体支持体、固定相、ビーズ、微粒子、磁性粒子、および/もしくはマトリックスと結合も会合もしておらず、かつ/または

該第二の試薬が、フレキシブルであり、金属コアもしくは磁性コアを含まず、完全にもしくは主に有機多量体で構成され、形状が球状でも、実質的に球状でも、均一でもなく、かつ/もしくは硬直していない、

本発明1065または本発明1066の方法。

[本発明1068]

前記試薬が、第二の試薬であり、該第二の試薬が、支持体上に固定化されている、本発明1065または本発明1066の方法。

[本発明1069]

刺激物質が、MHC I:ペプチド複合体もしくはその機能的部分、MHCII:ペプチド複合体もしくはその機能的部分を含み、かつ/またはT細胞におけるTCR/CD3複合体、T細胞におけるCD3含有複合体、および/もしくはT細胞におけるITAM含有分子を通して刺激シグナルを送達することができる、本発明1065～1068のいずれかの方法。

[本発明1070]

前記受容体結合物質が、TCR/CD3複合体のメンバーに特異的に結合するか、またはCD3に特異的に結合する、本発明1065～1069のいずれかの方法。

[本発明1071]

前記受容体結合物質が第一の受容体結合物質であり、前記培養する工程が第二の受容体結合物質の存在下でさらに実施され、該第二の受容体結合物質が、

T細胞のうちの1つまたは複数の表面の第二の受容体に特異的に結合し、それにより、第一の受容体を通して送達されたシグナルを増強、減衰または改変するための第二のシグナルを細胞中に誘導することができる補助結合物質

である、本発明1065～1070のいずれかの方法。

[本発明1072]

第二の受容体結合物質が、前記試薬、第二の試薬または第三の試薬と可逆的に結合し；

該試薬、第二の試薬または第三の試薬が、該第二の受容体結合物質と可逆的に結合することができる複数の結合部位を含み、それにより、該第二の受容体結合物質が該試薬、第二の試薬または第三の試薬に可逆的に結合する、

本発明1071の方法。

[本発明1073]

第二の受容体が、共刺激分子、補助分子、サイトカイン受容体、ケモカイン受容体、免疫チェックポイント分子であるか、またはTNFファミリーもしくはTNF受容体ファミリーのメンバーである、本発明1071または本発明1072の方法。

[本発明1074]

第一および第二の受容体結合物質が、それぞれCD3および/もしくはCD28であるかまたはCD3および/もしくはCD28を含む細胞の表面に発現される分子に結合する、本発明1071～1073のいずれかの方法。

[本発明1075]

第一のおよび第二の受容体結合物質が、それぞれ抗CD3および/または抗CD28抗体またはフラグメントを含む、本発明1074の方法。

[本発明1076]

前記インキュベートする工程および培養する工程が、任意で管材により操作可能に接続される別々の容器内で実施される、本発明1065～1075のいずれかの方法。

[本発明1077]

前記インキュベートする工程および培養する工程が、閉鎖系内で実施される、本発明1065～1076のいずれかの方法。

[本発明1078]

第一および/または第二の受容体結合物質であることができる受容体結合物質に可逆的に結合し、かつ該受容体結合物質により刺激された細胞を回収し、それにより、培養細胞を産生する工程を含む方法であって、該培養細胞が標的細胞を含む複数の細胞であるか、または標的細胞を含む複数の細胞を含む、本発明1065～1077のいずれかの方法。

[本発明1079]

前記接触させる工程の後に、固定化された標的細胞から、前記複数の細胞のうちの他の細胞を分離することおよび/または除去することをさらに含む、本発明1036～1078のいずれかの方法。

[本発明1080]

分離することおよび/または除去することが、洗浄工程を行うことによって実施される、本発明1079の方法。

[本発明1081]

分離することおよび/または洗浄工程が、インキュベーションの開始前に実施される、本発明1079または本発明1080の方法。

[本発明1082]

前記インキュベートする工程が、前記接触させる工程の前に実施および/もしくは開始されるか；または

前記インキュベートする工程が、前記接触させる工程の後で実施および/もしくは開始される、

本発明1011～1017および1024～1081のいずれかの方法。

[本発明1083]

前記接触させる工程が、前記インキュベーションの少なくとも一部の間実施される、本発明1001～1082のいずれかの方法。

[本発明1084]

ウイルス結合物質が、エンベロープ糖タンパク質、エンベロープ糖タンパク質のバリエーション、キメラエンベロープ糖タンパク質、ウイルスカプシドタンパク質、ウイルスカプシドタンパク質のバリエーション、ウイルスマトリックスタンパク質、ウイルスマトリックスタンパク質のバリエーション、合成部分、ペプチドおよびタグの中から選択されるウイルス粒子表面分子に結合する、本発明1023、1026～1037および1040～1083のいずれかの方法。

[本発明1085]

エンベロープ糖タンパク質が、VSV糖タンパク質(VSV-G)、シンドビス糖タンパク質、任意でSIN、MMLV糖タンパク質、HSV糖タンパク質、MMTV糖タンパク質、麻疹ウイルス糖タンパク質、HTLV糖タンパク質、SIV糖タンパク質、GALV糖タンパク質、HIV糖タンパク質、任意でgp160、gp120もしくはgp41、およびRSV糖タンパク質、任意でgp85もしくはgp37の中から選択されるか、またはそれらのバリエーション、ウイルス粒子結合物質が結合するのに十分な部分、もしくはキメラ分子である、本発明1084の方法。

[本発明1086]

ウイルス結合物質が、ウイルスに対して異種の非ウイルス性組換え分子であるウイルス粒子表面分子に結合する、本発明1023、1026～1037および1040～1083のいずれかの方法。

[本発明1087]

前記分子が、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST)、キチン結合タンパク質 (CBP)、カルモジュリン結合ペプチド (CBP)、FLAGペプチド、ヘマグルチニンペプチド、VS V-Gタグ、HSVタグ、T7エピトープ、マルトース結合タンパク質 (MBP)、HSVエピトープ、mycエピトープ、V5タグ、およびストレプトアビジン結合ペプチドの中から選択される合成部分、ペプチドまたはタグである、本発明1085または本発明1086の方法。

[本発明1088]

前記分子が、ストレプトアビジン結合ペプチドである、本発明1087の方法。

[本発明1089]

前記分子が、合成部分、ペプチドまたはタグであり、ウイルス粒子が、合成部分、ペプチドまたはタグをその表面に発現するように操作されている、本発明1085、本発明1086または本発明1087の方法。

[本発明1090]

ストレプトアビジン結合ペプチドが、SEQ ID NO:7、8、13、14、および15~19のいずれかに示されるアミノ酸配列を含む、本発明1088または本発明1089の方法。

[本発明1091]

前記分子が、リガンド結合ドメインであるか、またはリガンド結合ドメインを含む、本発明1086の方法。

[本発明1092]

前記分子が、抗原受容体であるか、または抗原受容体を含む、本発明1091の方法。

[本発明1093]

抗原受容体が、キメラ抗原受容体 (CAR) である、本発明1092の方法。

[本発明1094]

ウイルス結合抗原が、CARの細胞外領域に特異的に結合する抗体または抗原結合フラグメントである、本発明1093の方法。

[本発明1095]

細胞外領域が、抗原結合ドメインまたはヒンジ領域である、本発明1094の方法。

[本発明1096]

ウイルス粒子結合物質が、プロタミン、POLYBRENE (登録商標) およびRETRONECTIN (登録商標) のの中から選択される、本発明1023、1026~1037および1040~1083のいずれかの方法。

[本発明1097]

ウイルス粒子が、結合パートナーC1またはC2を含み；かつ

前記試薬が、該結合パートナーC1またはC2と結合して該ウイルス粒子と該試薬との間に可逆性結合を形成することができる複数の結合部位Z1またはZ2を含む、本発明1023、1026~1037および1040~1096のいずれかの方法。

[本発明1098]

ウイルス粒子が、合成部分、ペプチドまたはタグをその表面に発現するように操作されており、該合成部分、ペプチドまたはタグが、結合パートナーC1またはC2であるか、または結合パートナーC1またはC2を含む、本発明1097の方法。

[本発明1099]

前記ペプチドが、ストレプトアビジン結合ペプチドである、本発明1098の方法。

[本発明1100]

ストレプトアビジン結合ペプチドが、SEQ ID NO:7、8、13、14、および15~19のうちのいずれかに示されるアミノ酸配列を含む、本発明1099の方法。

[本発明1101]

ウイルス粒子が、前記試薬と会合または結合する、本発明1001~1100のいずれかの方法。

[本発明1102]

ウイルスベクターのゲノムが、組換えタンパク質をコードする異種核酸分子を含む、本発明1001~1101のいずれかの方法。

[本発明1103]

組換えタンパク質が、抗原受容体である、本発明1102の方法。

[本発明1104]

組換えタンパク質が、キメラ抗原受容体である、本発明1103の方法。

[本発明1105]

ウイルス粒子が、レトロウイルスベクター粒子である、本発明1001～1104のいずれかの方法。

[本発明1106]

ウイルス粒子が、レンチウイルスベクター粒子である、本発明1001～1105のいずれかの方法。

[本発明1107]

レンチウイルスベクター粒子が、HIV-1由来のゲノムを含む、本発明1106の方法。

[本発明1108]

レトロウイルスベクター粒子が、ガンマレトロウイルス粒子である、本発明1001～1107のいずれかの方法。

[本発明1109]

ガンマレトロウイルス粒子が、マウス白血病ウイルス（MLV）粒子である、本発明1108の方法。

[本発明1110]

ウイルスベクター粒子が、ウイルスエンベローブ糖タンパク質を用いてシュドタイプ化されている、本発明1001～1109のいずれかの方法。

[本発明1111]

ウイルスエンベローブ糖タンパク質が、VSV-Gである、本発明1110の方法。

[本発明1112]

キメラ抗原受容体（CAR）が、標的抗原に特異的に結合する細胞外抗原認識ドメインと、ITAMを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、本発明1104～1111のいずれかの方法。

[本発明1113]

細胞内シグナル伝達ドメインが、CD3ゼータ（CD3 $\zeta$ ）鎖の細胞内ドメインを含む、本発明1112の方法。

[本発明1114]

細胞外ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインとを連結している膜貫通ドメインをさらに含む、本発明1112または本発明1113の方法。

[本発明1115]

膜貫通ドメインが、CD28の膜貫通部分を含む、本発明1114の方法。

[本発明1116]

細胞内シグナル伝達ドメインが、T細胞共刺激分子の細胞内シグナル伝達ドメインをさらに含む、本発明1112～1115のいずれかの方法。

[本発明1117]

T細胞共刺激分子が、CD28および41BBからなる群より選択される、本発明1116の方法。

[本発明1118]

前記核酸が、組換え抗原受容体をコードする核酸に機能的に連結されるプロモーターをさらに含む、本発明1102～1117のいずれかの方法。

[本発明1119]

前記複数の細胞が、末梢血単核細胞（PBMC）またはその細胞の濃縮もしくは単離されたサブセットを含む、本発明1001～1118のいずれかの方法。

[本発明1120]

前記複数の細胞が、血液細胞、白血球、リンパ球、B細胞、T細胞またはNK細胞を含む、本発明1001～1119のいずれかの方法。

[本発明1121]

前記複数の細胞が、抗原特異的T細胞もしくはその集団、ヘルパーT細胞もしくはその集団、細胞傷害性T細胞もしくはその集団、メモリーT細胞もしくはその集団、調節性T細胞もしくはその集団、NK細胞もしくはその集団、抗原特異的B細胞もしくはその集団、メモリーB細胞もしくはその集団、または調節性B細胞もしくはその集団を含む、本発明1001～1120のいずれかの方法。

[本発明1122]

前記複数の細胞が、初代細胞である、本発明1001～1121のいずれかの方法。

[本発明1123]

前記複数の細胞が、T細胞を含む、本発明1001～1121のいずれかの方法。

[本発明1124]

T細胞が、未分画のT細胞であるか、濃縮もしくは単離されたCD3+ T細胞であるか、濃縮もしくは単離されたCD4+ T細胞であるか、または濃縮もしくは単離されたCD8+ T細胞である、本発明1123の方法。

[本発明1125]

前記試薬が、前記複数の細胞に毒性ではないか、または前記複数の細胞の少なくとも75%、85%、90%、95%もしくはそれより多く、もしくは複数の細胞の少なくとも約75%、約85%、約90%、約95%もしくはそれより多くが、前記接触させる工程もしくはインキュベートする工程の後に生存可能である、本発明1001～1124のいずれかの方法。

[本発明1126]

前記接触させる工程および/もしくはインキュベートする工程後の細胞毒性が、同じ条件下でポリカチオン形質導入アジュバントと接触させた、もしくはそれとともにインキュベートしたときの細胞毒性の1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍もしくは10倍未満、もしくは約1.2倍、約1.5倍、約2.0倍、約3.0倍、約4.0倍、約5.0倍もしくは約10倍未満であり；かつ/または

前記接触させる工程および/もしくは該インキュベートする工程後の細胞生存率が、同じ条件下でポリカチオン形質導入アジュバントと接触させた、もしくはそれとともにインキュベートしたときの細胞の生存率と比較して1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍または10倍高い、もしくは約1.2倍、約1.5倍、約2.0倍、約3.0倍、約4.0倍、約5.0倍もしくは約10倍高い、本発明1001～1125のいずれかの方法。

[本発明1127]

ポリカチオン形質導入アジュバントが、硫酸プロタミン、フィブロネクチン由来形質導入アジュバントまたはRetroNectinである、本発明1126の方法。

[本発明1128]

前記試薬が、ストレプトアビジン、アビジン、ビオチンやビオチン類似体もしくはその生物学的活性フラグメントと可逆的に結合する、ストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテイン；ストレプトアビジン結合ペプチドと可逆的に結合する、アビジンもしくはストレプトアビジンの類似体もしくはムテイン；遷移金属イオンに結合することができる少なくとも2つのキレート化基Kを含む試薬；オリゴヒスチジン親和性タグと結合することができる作用物質；グルタチオン-S-トランスフェラーゼと結合することができる作用物質；カルモジュリンもしくはその類似体；カルモジュリン結合ペプチド（CBP）と結合することができる作用物質；FLAGペプチドと結合することができる作用物質；HAタグと結合することができる作用物質；マルトース結合タンパク質（MBP）と結合することができる作用物質；HSVエピトープと結合することができる作用物質；mycエピトープと結合することができる作用物質；またはビオチン化担体タンパク質と結合することができる作用物質であるか、またはこれらを含む、本発明1001～1127のいずれかの方法。

[本発明1129]

前記試薬が、ストレプトアビジン、アビジン、ビオチンもしくは生物学的活性フラグメントと可逆的に結合するストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテイン；ストレプトアビジン結合ペプチドと可逆的に結合する、ストレプトアビジンもしくはアビジンの類似体もしくはムテイン；遷移金属イオンに結合することができる少なくとも2

つのキレート化基Kを含む試薬；オリゴヒスチジン親和性タグと結合することができる作用物質；グルタチオン-S-トランスフェラーゼと結合することができる作用物質；カルモジュリンもしくはその類似体；カルモジュリン結合ペプチド（CBP）と結合することができる作用物質；FLAGペプチドと結合することができる作用物質；HAタグと結合することができる作用物質；マルトース結合タンパク質（MBP）と結合することができる作用物質；HSVエピトープと結合することができる作用物質；mycエピトープと結合することができる作用物質；またはビオチン化担体タンパク質と結合することができる作用物質の、オリゴマーまたはポリマーである、本発明1001～1127のいずれかの方法。

[本発明1130]

前記試薬が、ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテイン、または/およびアビジン類似体もしくはアビジンムテインの、オリゴマーまたはポリマーを含む、本発明1001～1129のいずれかの方法。

[本発明1131]

オリゴマーまたはポリマーの個々の分子が、多糖類または二官能性リンカーによって架橋されている、本発明1129または本発明1130の方法。

[本発明1132]

前記試薬が、ビオチンもしくは生物学的活性フラグメントと可逆的に結合するストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテイン、もしくはアビジン類似体もしくはアビジンムテインであるか、もしくはこれらを含み；

前記試薬が、ビオチン類似体もしくは生物学的活性フラグメントと可逆的に結合するストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテイン、もしくはアビジン類似体もしくはアビジンムテインであるか、もしくはこれらを含み；かつ/または

前記試薬が、ストレプトアビジン結合ペプチドと可逆的に結合するストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテイン、もしくはアビジン類似体もしくはアビジンムテインであるか、もしくはこれらを含む、

本発明1001～1131のいずれかの方法。

[本発明1133]

ストレプトアビジン結合ペプチドが、

Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 8), Trp-Ser-His-

Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>3</sub>-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 17),

Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>2</sub>-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ

ID NO: 18)および Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>2</sub>Gly-Gly-Ser-Ala-Trp-Ser-

His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 19)

からなる群より選択される、本発明1132の方法。

[本発明1134]

前記試薬が、SEQ ID NO:1もしくはSEQ ID NO:2を含むか、またはSEQ ID NO:1もしくはSEQ ID NO:2に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸配列を含む、本発明1001～1133のいずれかの方法。

[本発明1135]

前記試薬が、SEQ ID NO:1に示されるアミノ酸配列でのストレプトアビジンにおける位置に関して44位から47位に対応する配列位置にアミノ酸配列Val<sup>44</sup>-Thr<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>もしくはIle<sup>44</sup>-Gly<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>を含むストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテインを含むか；または

ストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテインが、SEQ ID NO:1に示されるアミノ酸配列でのストレプトアビジンにおける位置に関して44位から47位に対応する配列位置にアミノ酸配列Val<sup>44</sup>-Thr<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>を含む、

本発明1001～1134のいずれかの方法。

[本発明1136]

ストレプトアビジン類似体またはストレプトアビジンムテインが、

(a) SEQ ID NO:3~6、27および28のうちのいずれかに示されるアミノ酸配列；

(b) SEQ ID NO:3~6、27および28のうちのいずれかに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはより高い配列同一性を示し、かつVal<sup>44</sup>-Thr<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>もしくはIle<sup>44</sup>-Gly<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>に対応するアミノ酸配列を含むアミノ酸配列であって、ビオチンもしくはその生物学的活性形態、ビオチン類似体もしくはビオチンムテインもしくはそれらの生物学的活性フラグメント、もしくはストレプトアビジン結合ペプチドと可逆的に結合する、前記アミノ酸配列；または

(c) ビオチンもしくはその生物学的活性形態、ビオチン類似体もしくはビオチンムテインもしくはそれらの生物学的活性フラグメント、もしくはストレプトアビジン結合ペプチドと可逆的に結合する、(a)もしくは(b)の機能的フラグメントを含む、本発明1001~1135のいずれかの方法。

[本発明1137]

ストレプトアビジン類似体またはストレプトアビジンムテインが、SEQ ID NO:1に示されるアミノ酸配列でのストレプトアビジンにおける位置に関して、117位、120位および/または121位に対応する位置で1つまたは複数のアミノ酸置換をさらに含む、本発明1135または本発明1136の方法。

[本発明1138]

1つもしくは複数のアミノ酸置換が、Glu117、Asp117、Arg117、Ser120、Ala120、Gly120、Trp121、Tyr121もしくはPhe121の中から選択されるか；または

1つもしくは複数のアミノ酸置換が、Glu117、Gly120もしくはTyr121のうちの1つもしくは複数から選択されるか；または

アミノ酸置換から、Glu117、Gly120もしくはTyr121から選択される、本発明1137の方法。

[本発明1139]

ストレプトアビジン類似体またはストレプトアビジンムテインが、

(a) SEQ ID NO:27もしくは28に示されるアミノ酸配列；

(b) SEQ ID NO:28に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはより高い配列同一性を示し、かつVal<sup>44</sup>、Thr<sup>45</sup>、Ala<sup>46</sup>、Arg<sup>47</sup>、Glu<sup>117</sup>、Gly<sup>120</sup>およびTyr<sup>121</sup>に対応するアミノ酸配列を含み、かつビオチンもしくは生物学的活性フラグメント、ビオチン類似体もしくはビオチンムテインもしくはそれらの生物学的活性フラグメント、もしくはストレプトアビジン結合ペプチドと可逆的に結合する、アミノ酸配列；または

(c) ビオチンもしくは生物学的活性フラグメント、ビオチン類似体もしくはビオチンムテインもしくはそれらの生物学的活性フラグメント、もしくはストレプトアビジン結合ペプチドと可逆的に結合する、(a)もしくは(b)の機能的フラグメントを含む、本発明1001~1138のいずれかの方法。

[本発明1140]

前記結合物質が、ストレプトアビジン結合ペプチドである結合パートナーCを含む、本発明1017~1139のいずれかの方法。

[本発明1141]

結合パートナーCが、

Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-

Glu-Lys (SEQ ID NO: 8), Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>3</sub>-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 17), Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>2</sub>-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 18) および Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>2</sub>Gly-Gly-Ser-Ala-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 19)

からなる群より選択されるストレプトアビジン結合ペプチドを含む、本発明1140の方法。  
[本発明1142]

1つまたは複数の結合物質と前記試薬との間の可逆的結合を破壊する工程を含む、本発明1017～1141のいずれかの方法。

[本発明1143]

前記破壊が、1つまたは複数の結合物質と前記試薬との間の結合を逆転させることができる物質を細胞に導入する工程を含む、本発明1142の方法。

[本発明1144]

前記物質が、遊離結合パートナーおよび/または競合物質である、本発明1142または本発明1143の方法。

[本発明1145]

前記組成物中の前記物質が、T細胞もしくは標的細胞に有害でなく、かつ/または該物質の添加が、同等もしくは同じ条件下で、該物質なしで標的細胞をインキュベートした場合とそれぞれ比較して、生存標的細胞のパーセンテージを90%、80%、70%、60%、もしくは50%未満に低下させない、本発明1142～1144のいずれかの方法。

[本発明1146]

前記試薬が、ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテイン、または/およびアビジン類似体もしくはアビジンムテイン、またはそれらの生物学的活性フラグメントであるか、またはこれらを含み；かつ

前記物質が、ストレプトアビジン結合ペプチド、ビオチンもしくは生物学的活性フラグメント、任意でD-ビオチン、またはビオチン類似体もしくは生物学的活性フラグメントを含む、  
本発明1142～1145のいずれかの方法。

[本発明1147]

前記物質が、  
Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 8), Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>3</sub>-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 17), Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>2</sub>-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 18) および Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>2</sub>Gly-Gly-Ser-Ala-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 19)

からなる群より選択されるストレプトアビジン結合ペプチドであり；かつ/または  
前記物質が

、C1もしくはその類似体であるか、もしくはC2もしくはその類似体である、  
本発明1146の方法。

[本発明1148]

前記破壊の後に細胞を回収する工程を含む、本発明1001～1147のいずれかの方法。

[本発明1149]

細胞をさらにインキュベートする工程を含む、本発明1001～1148のいずれかの方法。

[本発明1150]

さらなるインキュベーションが、細胞を増大させるための条件下で行われる、本発明1149の方法。

[本発明1151]

インキュベーションおよびさらなるインキュベーションが、同じ容器内で実施され；かつ/または

該さらなるインキュベーションが、前記物質の存在下で実施され；かつ/または

前記方法が、該さらなるインキュベーションの前に、インキュベーションされた組成物から前記物質、選択物質、刺激物質、ウイルス粒子結合物質および/もしくは試薬を除去する工程を含まない、

本発明1149または本発明1150の方法。

[本発明1152]

前記試薬が、さらなるインキュベーションの前に組成物から除去されることも、さらなるインキュベーションの間に組成物から除去されることも、さらなるインキュベーションの少なくとも半分の間組成物から除去されることもない、本発明1150または本発明1151の方法。

[本発明1153]

さらなるインキュベーションが、 $37 \pm 2$  もしくは約 $37 \pm 2$  で実施され；かつ/または

さらなるインキュベーションが、インキュベーションおよび/もしくはさらなるインキュベーションの少なくとも一部の間にT細胞にシグナルを送達することができるさらなる作用物質の存在下で実施される、

本発明1149～1152のいずれかの方法。

[本発明1154]

さらなる作用物質が、T細胞、CD4+ T細胞および/またはCD8+ T細胞の増殖を増強または誘導することができる、本発明1153の方法。

[本発明1155]

さらなる作用物質が、IL-2、IL-15、IL-7およびIL-21の中から選択されるサイトカインである、本発明1153または本発明1154の方法。

[本発明1156]

さらなるインキュベーションが、14日以下、12日以下、10日以下、8日以下または6日以下である期間、実施される、本発明1149～1155のいずれかの方法。

[本発明1157]

前記支持体が、樹脂もしくはマトリックスを含み；

前記支持体が、ゲル濾過マトリックスを含み；

前記支持体が、クロマトグラフィーマトリックスを含み；かつ/または

前記支持体が、セルロースベースもしくは有機ポリマーベースのメンブレンを含む、

本発明1036～1156のいずれかの方法。

[本発明1158]

前記支持体が、微粒子、硬質粒子、磁性粒子、またはビーズを含む、本発明1036～1157のいずれかの方法。

[本発明1159]

クロマトグラフィーマトリックスが、カラム内に存在し、かつ/またはクロマトグラフィーマトリックスが、カラムクロマトグラフィーマトリックスもしくは平面クロマトグラフィーマトリックスである、本発明1157の方法。

[本発明1160]

前記支持体が、前記インキュベーションおよび/または接触させる工程の全体または一部の間容器内に存在する固定相である、本発明1036～1159のいずれかの方法。

[本発明1161]

容器が、カラム、双方向流に適切な容器、ピペットチップ、チューブ、および液体試料のフロースルーに適切なカラムからなる群より選択される容器を含む、本発明1160の方法。

[本発明1162]

アウトプット組成物中の1つまたは複数の形質導入細胞が、ウイルス粒子に含まれる異種核酸によってコードされる組換えタンパク質を発現する、本発明1001～1161のいずれかの方法。

[本発明1163]

細胞の形質導入が、前記試薬の非存在下でのウイルス粒子を用いた形質導入と比較して、1.2倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍もしくはそれを上回って、または約1.2倍、約1.5倍、約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約10倍もしくはそれを上回って増大する、本発明1001～1162のいずれかの方法。

[本発明1164]

前記選択物質と結合した分子を発現する標的細胞の選択的形質導入を生じさせる、本発明1021、1022、1024～1027、1030～1161のいずれかの方法。

[本発明1165]

形質導入が、前記分子を発現しない非標的細胞におけるよりも、該分子を発現する標的細胞において少なくとも2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍またはそれを上回って高い、本発明1164の方法。

[本発明1166]

前記複数の細胞のうちの前記細胞の少なくとも2.5%、少なくとも5%、少なくとも6%、少なくとも8%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、もしくは少なくとも75%が前記方法による前記ウイルスベクターを用いて形質導入され；かつ/または

さらにインキュベーションされた前記組成物中の前記細胞の少なくとも2.5%、少なくとも5%、少なくとも6%、少なくとも8%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、もしくは少なくとも75%が前記ウイルスベクターを用いて形質導入され；かつ/または

前記インキュベートされた組成物および/もしくは前記さらにインキュベートされた組成物中の前記細胞の少なくとも2.5%、少なくとも5%、少なくとも6%、少なくとも8%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、もしくは少なくとも75%が、前記ウイルスベクター内に含まれる異種核酸の産物を発現する、  
本発明1001～1165のいずれかの方法。

[本発明1167]

エキスピボで行われる、本発明1001～1166のいずれかの方法。

[本発明1168]

前記方法によって産生された形質導入細胞を回収または単離する工程をさらに含む、本発明1001～1167のいずれかの方法。

[本発明1169]

本発明1001～1168のいずれかの方法によって産生された、形質導入細胞。

[本発明1170]

本発明1169の形質導入細胞を含む、組成物。

[本発明1171]

前記試薬に可逆的に結合しているウイルスベクター粒子結合物質であって、ウイルス粒子表面の分子に特異的に結合することができる、ウイルス粒子結合物質；または

前記試薬に可逆的に結合しているウイルスベクター粒子を含む、組成物。

[本発明1172]

前記試薬が、それぞれがウイルス粒子結合物質に可逆的に結合することができる複数の結合部位を含む、本発明1171の組成物。

[本発明1173]

前記試薬と可逆的に結合し、かつ標的細胞の表面の分子に特異的に結合することができる選択物質をさらに含む、本発明1171または本発明1172の組成物。

[本発明1174]

前記試薬が、ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテイン、もしくはアビジン類似体もしくはアビジンムテイン、もしくは前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメントであるか、もしくはこれらを含むか、または前記のうちのいずれかの複数の単位を含むオリゴマーである、本発明1170の組成物。

[本発明1175]

ウイルス結合物質が、  
ウイルス分子に対して異種の非ウイルス性組換え分子である、ウイルス粒子表面の分子に結合するか；または  
エンベロープ糖タンパク質、エンベロープ糖タンパク質のバリエーション、キメラエンベロープ糖タンパク質、ウイルスカプシドタンパク質、ウイルスカプシドタンパク質のバリエーション、ウイルスマトリックスタンパク質、ウイルスマトリックスタンパク質のバリエーション、合成部分、ペプチド、およびタグの中から選択されるウイルス粒子表面分子に結合する  
本発明1171～1174のいずれかの組成物。

[本発明1176]

エンベロープ糖タンパク質が、VSV糖タンパク質（VSV-G）、シンドビス糖タンパク質、任意でSIN、MMLV糖タンパク質、HSV糖タンパク質、MMTV糖タンパク質、麻疹ウイルス糖タンパク質、HTLV糖タンパク質、SIV糖タンパク質、GALV糖タンパク質、HIV糖タンパク質、任意でgp160、gp120もしくはgp41、およびRSV糖タンパク質、任意でgp85もしくはgp37の中から選択されるか、またはそれらのバリエーション、ウイルス粒子結合物質が結合するのに十分な部分、もしくはキメラ分子であり；または  
前記分子が、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ（GST）、キチン結合タンパク質（CBP）、カルモジュリン結合ペプチド（CBP）、FLAGペプチド、ヘマグルチニンペプチド、VSV-Gタグ、HSVタグ、T7エピトープ、マルトース結合タンパク質（MBP）、HSVエピトープ、mycエピトープ、V5タグ、およびストレプトアビジン結合ペプチドの中から選択される合成部分、ペプチドまたはタグである、  
本発明1175の組成物。

[本発明1177]

非ウイルス性組換え分子が、リガンド結合ドメインであるか、またはリガンド結合ドメインを含む、本発明1175の組成物。

[本発明1178]

前記分子が、抗原受容体であるか、または抗原受容体を含む、本発明1177の組成物。

[本発明1179]

前記抗原受容体が、キメラ抗原受容体（CAR）である、本発明1178の組成物。

[本発明1180]

ウイルス結合抗原が、CARの細胞外領域に特異的に結合する抗体または抗原結合フラグメントである、本発明1179の組成物。

[本発明1181]

細胞外領域が、抗原結合ドメインまたはヒンジ領域である、本発明1180の組成物。

[本発明1182]

本発明1170～1181および1202～1225のいずれかの組成物および支持体を含む製品であって、前記試薬が、該支持体上に固定化されている、製品。

[本発明1183]

支持体が、固定相および/または固体支持体であるか、または固定相および/または固体支持体を含む、本発明1182の製品。

[本発明1184]

支持体が、クロマトグラフィーマトリックスであるか、またはクロマトグラフィーマトリックスを含む固定相であり、前記製品が、クロマトグラフィーマトリックスの全部また

は一部が収容される容器をさらに含む、本発明1183の製品。

[本発明1185]

容器が、カラムである、本発明1184の製品。

[本発明1186]

(a) 1種類または複数種類のオリゴマータンパク質試薬、標的細胞を含む複数の細胞およびウイルス粒子より選択される1つまたは複数の構成要素を含む1つまたは複数の容器；

(b) クロマトグラフィーマトリックスであるか、またはクロマトグラフィーマトリックスを含む、少なくとも1つの固定相を含む支持体を含む、装置。

[本発明1187]

少なくとも1種類のオリゴマータンパク質試薬が、ウイルス粒子結合物質、選択物質および/または受容体結合物質と可逆的に結合している、本発明1186の装置。

[本発明1188]

1つまたは複数の容器が流体接続されており、それにより、構成要素のうちの1つまたは複数が装置内の1つの容器から別の容器に通過する、本発明1186または本発明1187の装置。

[本発明1189]

クロマトグラフィー用の少なくとも1つの固定相のうちの1つと流体接続される試料出口をさらに含む、本発明1182～1188のいずれかの製品または装置。

[本発明1190]

機能的に閉鎖された系または無菌系である、本発明1182～1189のいずれかの製品または装置。

[本発明1191]

1つもしくは複数の容器もしくはその構成要素、またはクロマトグラフィーのための少なくとも1つの固定相の少なくとも1つの、pH、 $pO_2$ 、 $pCO_2$ および/またはサーモスタット制御を調整または調節することができる1つまたは複数の制御装置をさらに含む、本発明1182～1190のいずれかの製品または装置。

[本発明1192]

培地および/または1つもしくは複数の栄養素および/または1つもしくは複数の炭素源を含む容器への流体接続をさらに含み、それにより、任意で前記細胞がクロマトグラフィーのために固定相に固定化されているとき、該接続が、そのような培地、栄養素および/または炭素源を装置内の細胞に送ることができる、本発明1182～1191のいずれかの製品または装置。

[本発明1193]

構成要素および/または構成要素を含む容器の少なくとも1つが、装置から滅菌または無菌の方式で着脱可能である、本発明1182～1192のいずれかの製品または装置。

[本発明1194]

ストレプトアビジン結合ペプチドを含む、ウイルスベクター粒子。

[本発明1195]

ストレプトアビジン結合ペプチドが、エンベローブ糖タンパク質との融合タンパク質である、本発明1194のウイルスベクター粒子。

[本発明1196]

エンベローブ糖タンパク質が、VSV-Gである、本発明1195のウイルスベクター粒子。

[本発明1197]

ウイルスベクターが、レトロウイルスベクター、任意でレンチウイルスベクターである、本発明1194～1196のいずれかのウイルスベクター粒子。

[本発明1198]

ストレプトアビジン結合ペプチドが、

Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 8), Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>3</sub>-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 17), Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>2</sub>-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 18)およびTrp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys-(GlyGlyGlySer)<sub>2</sub>Gly-Gly-Ser-Ala-Trp-Ser-His-Pro-Gln-Phe-Glu-Lys (SEQ ID NO: 19)

からなる群より選択される、本発明1194～1197のいずれかのウイルスペクター粒子。

[本発明1199]

ウイルスペクター粒子が、組換え抗原受容体、任意でキメラ抗原受容体をコードするゲノムを含む、本発明1194～1198のいずれかのウイルスペクター粒子。

[本発明1200]

本発明1194～1199のいずれかのウイルスペクター粒子；

ウイルスペクター粒子と可逆的に結合することができる1つまたは複数の結合部位を含む試薬；および

任意で使用説明書を含む、キット。

[本発明1201]

前記キットが、標的細胞の表面の選択マーカーと結合することができる選択物質をさらに含み、前記試薬が、該選択物質と可逆的に結合することができる1つまたは複数の結合部位を含む、本発明1200のキット。

[本発明1202]

ウイルスペクター粒子と会合しているオリゴマータンパク質試薬を含む、組成物。

[本発明1203]

前記オリゴマー試薬が、複数のポリペプチド単量体単位を含み、各単位が、少なくとも10、20、30、もしくは40アミノ酸長もしくは少なくとも約10、約20、約30、もしくは約40アミノ酸長を含み、かつ/または少なくとも20、30、40、もしくは50kDaもしくは少なくとも約20、約30、約40、もしくは約50kDaの分子量を含み；かつ/または

オリゴマー試薬が、少なくとも100もしくは約100、および/または150kDa～200kDaもしくは約150kDa～約200kDa、150kDa～1500kDaもしくは約150kDa～約1500kDa、150kDa～1250kDaもしくは約150kDa～約1250kDa、150kDa～1000kDaもしくは約150kDa～約1000kDa、150kDa～500kDaもしくは約150kDa～約500kDaもしくは150kDa～300kDaもしくは約150kDa～約300kDa、300kDa～2000kDaもしくは約300kDa～約2000kDa、300kDa～1500kDaもしくは約300kDa～約1500kDa、300kDa～1250kDaもしくは約300kDa～約1250kDa、300kDa～1000kDaもしくは約300kDa～約1000kDa、300kDa～500kDaもしくは約300kDa～約500kDa、500kDa～2000kDaもしくは約500kDa～約2000kDa、500kDa～1500kDaもしくは約500kDa～約1500kDa、500kDa～1250kDaもしくは約500kDa～約1250kDa、500kDa～1000kDaもしくは約500kDa～約1000kDa、1000kDa～2000kDaもしくは約1000kDa～約2000kDa、1000kDa～1500kDaもしくは約1000kDa～約1500kDa、1000kDa～1250kDaもしくは約1000kDa～約1250kDa、1250kDa～2000kDaもしくは約1250kDa～約2000kDa、もしくは1500kDa～2000kDaもしくは約1500kDa～約2000kDaの分子量を含む、本発明1202の組成物。

[本発明1204]

前記オリゴマータンパク質試薬が、複数の多量体サブユニットから構成されるオリゴマーを含む、本発明1202または本発明1203の組成物。

[本発明1205]

多量体サブユニットが、四量体単位であり、個々に単量体単位を含む、本発明1204の組成物。

[本発明1206]

前記オリゴマータンパク質試薬が、ストレプトアビジン、アビジン、ストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテイン、もしくはアビジン類似体もしくはアビジ

ンムテイン、もしくは前記のうちのいずれかの生物学的活性フラグメント、および/または前記のうちのいずれかの多量体を含み、任意でこれらの複数の単位を含む、本発明1202~1205のいずれかの組成物。

[本発明1207]

ウイルス粒子が、異種核酸をコードするヌクレオチド配列を含む、本発明1202~1206のいずれかの組成物。

[本発明1208]

前記試薬が、裸であり；

前記試薬が、結合物質を含まず、かつ/または結合物質とコンジュゲートも可逆的に結合もしておらず；

前記試薬が、接着分子、インテグリン、ケモカイン、サイトカイン、成長因子、細胞外マトリックス結合分子、ウイルスタンパク質、ウイルス侵入促進細胞表面受容体、ヘパリン、ヘパラン、グリカン、T細胞表面マーカー、CD3、CD28、CD4および/またはCD8の中から任意で選択される細胞表面マーカーに特異的な結合ドメインを有する分子を含まず、かつ/または該分子とコンジュゲートも結合もしておらず；

前記試薬が、哺乳動物細胞表面マーカー、細胞外マトリックス成分、接着分子、インテグリン、レクチン、インテグリン結合タンパク質、ケモカイン、サイトカイン、成長因子、細胞外マトリックス結合分子、ECM成分、ウイルスタンパク質、ウイルス侵入促進細胞表面受容体、ヘパリン、ヘパラン、グリカンを含まず、かつ/もしくはこれらとコンジュゲートも結合もしておらず；かつ/または

前記試薬が、ヘパリン結合ドメインを含まず、かつ/もしくはインテグリン結合ドメインを含まず、かつ/もしくはVLA4結合ドメインを含まず、かつ/もしくはVLA5結合ドメインを含まず；かつ/または

前記試薬が、ウイルス結合物質も細胞選択物質も含まず、かつ/もしくはこれらとコンジュゲートもカップリングも結合もしていない、  
本発明1202~1207のいずれかの組成物。

[本発明1209]

前記試薬が、複数の1種類または複数種類の結合物質をさらに含み、かつ/またはそれと可逆的に結合している、本発明1202~1208のいずれかの組成物。

[本発明1210]

前記結合物質が、ウイルス粒子表面の分子に特異的に結合するウイルス粒子結合物質、標的細胞の表面の分子に特異的に結合する選択物質、または標的細胞中に刺激シグナルを送達するために受容体に特異的に結合する受容体結合物質である、本発明1209の組成物。

[本発明1211]

前記結合物質が、抗体、抗体フラグメント、一価抗体フラグメント、抗体様結合特性を有するタンパク質性結合分子、Igドメインを含む分子、サイトカイン、ケモカイン、アプタマー、およびMHC分子またはその結合性フラグメントであるか、またはこれらを含む、  
本発明1209または本発明1210の組成物。

[本発明1212]

抗体フラグメントが、Fabフラグメント、Fvフラグメント、(Fab')<sub>2</sub>フラグメント、および二価単鎖Fv(scFv)フラグメントからなる群より選択されるフラグメントを含む、本発明1211の組成物。

[本発明1213]

前記試薬が、SEQ ID NO:1もしくはSEQ ID NO:2を含むか、またはSEQ ID NO:1もしくはSEQ ID NO:2に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%の配列同一性を示すアミノ酸配列を含む、  
本発明1202~1212のいずれかの組成物。

[本発明1214]

前記試薬が、SEQ ID NO:1に示されるアミノ酸配列でのストレプトアビジンにおける位置に関して44位から47位に対応する配列位置にアミノ酸配列Val<sup>44</sup>-Thr<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>も

しくはIle<sup>44</sup>-Gly<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>を含むストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテインを含み；または

該ストレプトアビジン類似体もしくはストレプトアビジンムテインが、SEQ ID NO:1に示されるアミノ酸配列でのストレプトアビジンにおける位置に関して44位から47位に対応する配列位置にアミノ酸配列Val<sup>44</sup>-Thr<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>を含む、  
本発明1202～1213のいずれかの組成物。

[本発明1215]

前記試薬が、

(a) SEQ ID NO:3～6、27および28のうちのいずれかに示されるアミノ酸配列；

(b) SEQ ID NO:3～6、27および28のうちのいずれかに対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはより高い配列同一性を示し、かつVal<sup>44</sup>-Thr<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>もしくはIle<sup>44</sup>-Gly<sup>45</sup>-Ala<sup>46</sup>-Arg<sup>47</sup>に対応するアミノ酸配列を含むアミノ酸配列であって、ビオチンもしくはその生物学的活性形態、ビオチン類似体もしくはビオチンムテインもしくはそれらの生物学的活性フラグメント、もしくはストレプトアビジン結合ペプチドと可逆的に結合する、前記アミノ酸配列；または

(c) ビオチンもしくはその生物学的活性形態、ビオチン類似体もしくはビオチンムテインもしくはそれらの生物学的活性フラグメント、もしくはストレプトアビジン結合ペプチドと可逆的に結合する、(a)もしくは(b)の機能的フラグメントを含むストレプトアビジン類似体またはストレプトアビジンムテインを含む、  
本発明1202～1214のいずれかの組成物。

[本発明1216]

ストレプトアビジン類似体またはストレプトアビジンムテインが、SEQ ID NO:1に示されるアミノ酸配列でのストレプトアビジンにおける位置に関して117位、120位および/または121位に対応する位置に1つまたは複数のアミノ酸置換をさらに含む、本発明1214または1215の組成物。

[本発明1217]

1つもしくは複数のアミノ酸置換が、Glu<sup>117</sup>、Asp<sup>117</sup>、Arg<sup>117</sup>、Ser<sup>120</sup>、Ala<sup>120</sup>、Gly<sup>120</sup>、Trp<sup>121</sup>、Tyr<sup>121</sup>もしくはPhe<sup>121</sup>の中から選択されるか；または

1つもしくは複数のアミノ酸置換が、Glu<sup>117</sup>、Gly<sup>120</sup>もしくはTyr<sup>121</sup>のうちの1つもしくは複数から選択されるか；または

アミノ酸置換が、Glu<sup>117</sup>、Gly<sup>120</sup>もしくはTyr<sup>121</sup>から選択される、  
本発明1216の組成物。

[本発明1218]

前記試薬が、

(a) SEQ ID NO:27もしくは28に示されるアミノ酸配列；

(b) SEQ ID NO:28に対して少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはより高い配列同一性を示し、かつVal<sup>44</sup>、Thr<sup>45</sup>、Ala<sup>46</sup>、Arg<sup>47</sup>、Glu<sup>117</sup>、Gly<sup>120</sup>およびTyr<sup>121</sup>に対応するアミノ酸配列を含み、かつビオチンもしくは生物学的活性フラグメント、ビオチン類似体もしくはビオチンムテインもしくはそれらの生物学的活性フラグメント、もしくはストレプトアビジン結合ペプチドと可逆的に結合する、アミノ酸配列；または

(c) ビオチンもしくは生物学的活性フラグメント、ビオチン類似体もしくはビオチンムテインもしくはそれらの生物学的活性フラグメント、もしくはストレプトアビジン結合ペプチドと可逆的に結合する、(a)もしくは(b)の機能的フラグメントを含むストレプトアビジン類似体またはストレプトアビジンムテインを含む、  
本発明1202～1217のいずれかの組成物。

[本発明1219]

ウイルスベクターのゲノムが、組換えタンパク質をコードする核酸分子を含む、本発明1202～1218のいずれかの組成物。

[本発明1220]

組換えタンパク質が、抗原受容体である、本発明1219の組成物。

[本発明1221]

ウイルス粒子が、レトロウイルスである、本発明1202～1220のいずれかの組成物。

[本発明1222]

レトロウイルスが、レンチウイルスである、本発明1221の組成物。

[本発明1223]

レトロウイルスが、ガンマレトロウイルスである、本発明1221の組成物。

[本発明1224]

ウイルス粒子が、複製欠損性である、本発明1202～1223のいずれかの組成物。

[本発明1225]

前記試薬が、可溶性である、本発明1202～1224のいずれかの組成物。