(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-510603
(P2023-510603A)
(43)公表日　令和5年3月14日(2023.3.14)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C07K 19/00	*(2006.01)*	C07K	19/00	ZNA	4B063
C12N 5/10	*(2006.01)*	C12N	5/10		4B065
C12Q 1/02	*(2006.01)*	C12Q	1/02		4C085
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K	39/395	D	4C087
A61K 35/15	*(2015.01)*	A61K	39/395	N	4H045

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全79頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2022-543410(P2022-543410)
(86)(22)出願日　令和3年1月15日(2021.1.15)
(85)翻訳文提出日　令和4年8月10日(2022.8.10)
(86)国際出願番号　PCT/US2021/013727
(87)国際公開番号　WO2021/146620
(87)国際公開日　令和3年7月22日(2021.7.22)
(31)優先権主張番号　62/962,763
(32)優先日　令和2年1月17日(2020.1.17)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(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,
最終頁に続く

(71)出願人　504326686
ユニバーシティ オブ テネシー リサーチ ファウンデーション
アメリカ合衆国 テネシー ３７９０２，ノックスビル， ダブリュー サミット ヒル ドライブ ４００， ユーティー タワー ９６１エー
(74)代理人　100127926
弁理士　結田 純次
(74)代理人　100140132
弁理士　竹林 則幸
(72)発明者　ジョナサン・エス・ウォール
アメリカ合衆国テネシー州３７９０２．ノックスビル．ウェスト・サミット・ヒル・ドライブ４００．ユーティー・タワ
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　アミロイド除去のためのキメラ抗原受容体

(57)【要約】
本発明は、アミロイド結合領域を含むキメラ受容体、及びキメラ受容体を含む細胞を提供する。本発明はまた、キメラ受容体を含む細胞を投与することによってアミロイドベースの疾患を治療する方法を提供する。
【選択図】図１

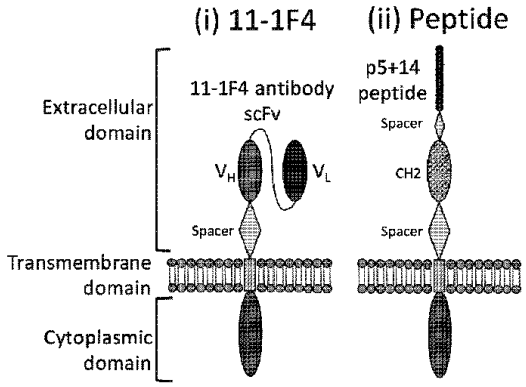


FIG. 1

【特許請求の範囲】
【請求項１】
活性化されるとマクロファージを活性化する受容体のシグナル伝達ドメインを含む細胞質ドメイン；
膜貫通ドメイン；及び
アミロイド結合領域を含む細胞外ドメインを含む、キメラ受容体。
【請求項２】
前記細胞外ドメインが抗体またはその機能的フラグメントを含む、請求項１に記載のキメラ受容体。
【請求項３】
前記抗体フラグメントがｓｃＦｖである、請求項２記載のキメラ受容体。
【請求項４】
前記抗体が、ＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ２、及びＣＤＲＬ３を含むＶＬと、ＣＤＲＨ１、ＣＤＲＨ２、及びＣＤＲＨ３を含むＶＨとを含む、請求項１～３のいずれか一項に記載のキメラ受容体であって、
前記ＣＤＲＬ１が、配列番号２４に示されるアミノ酸配列を含み、
前記ＣＤＲＬ２が、配列番号２５に示されるアミノ酸配列を含み、
前記ＣＤＲＬ３が、配列番号２６に示されるアミノ酸配列を含み、
前記ＣＤＲＨ１が、配列番号２１に示されるアミノ酸配列を含み、
前記ＣＤＲＨ２が、配列番号２２に示されるアミノ酸配列を含み、
前記ＣＤＲＨ３が、配列番号２３に示されるアミノ酸配列を含む、前記キメラ受容体。
【請求項５】
前記抗体が、配列番号１９または３４に示されるアミノ酸配列を含むＶＬと、配列番号２０または３５に示されるアミノ酸配列を含むＶＨとを含む、請求項１～４のいずれか一項に記載のキメラ受容体。
【請求項６】
前記アミロイド結合領域が１１－１Ｆ４抗体フラグメントを含む、請求項１に記載のキメラ受容体。
【請求項７】
前記抗体フラグメントがヒト化されている、請求項２～６のいずれか一項に記載のキメラ受容体。
【請求項８】
前記細胞外ドメインがアミロイド反応性ペプチドを含む、請求項１に記載のキメラ受容体。
【請求項９】
前記アミロイド反応性ペプチドが、配列番号１～１８に示される配列を含む、請求項８に記載のキメラ受容体。
【請求項１０】
前記アミロイド結合領域が、直接または間接的にＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントに結合している、請求項８または９に記載のキメラ受容体。
【請求項１１】
前記ＣＨ２ドメインが、配列番号３３に示されるアミノ酸配列に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項１０に記載のキメラ受容体。
【請求項１２】
前記細胞質ドメインが、細胞質ドメインＩ、細胞質ドメインＩＩ、またはそれらの機能的フラグメントを含む、請求項１～７のいずれか一項に記載のキメラ受容体。
【請求項１３】
前記細胞質ドメインが、配列番号３０、３１、４１、４２、または４５に示されるアミノ酸配列に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列

同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項１２に記載のキメラ受容体。
【請求項１４】
アミロイドの前記細胞外ドメインへの結合が前記キメラ受容体の前記細胞質ドメインを活性化する、請求項１～１２のいずれか一項に記載のキメラ受容体。
【請求項１５】
前記受容体が、分泌リーダー配列の有無にかかわらず、配列番号４３に示される配列に対して８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有する、請求項１に記載のキメラ受容体。
【請求項１６】
前記受容体の各成分が、一緒にまたは別々に、配列番号４３の対応する成分に対して８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有する、請求項１に記載のキメラ受容体または請求項１１～１５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１７】
請求項１～１６のいずれか一項に記載のキメラ受容体をコードする核酸。
【請求項１８】
請求項１７に記載の核酸を含む、操作された細胞。
【請求項１９】
アミロイド沈着物を請求項１～１６のいずれか一項に記載のキメラ受容体または請求項１８に記載の操作された細胞と接触させることを含む、アミロイドを除去するための方法。
【請求項２０】
前記アミロイドがＡＡ、ＡＬ、ＡＨ、ＡＴＴＲ、Ａβ２Ｍ、野生型ＴＴＲ、ＡＡｐｏＡＩ、ＡＡｐｏＡＩＩ、ＡＧｅｌ、ＡＬｙｓ、ＡＬｅｃｔ２、Ａｆｉｂ、ＡＣｙｓ、ＡＣａｌ、ＡＭｅｄｉｎ、ＡＩＡＰＰ、ＡＰｒｏ、ＡＩｎｓ、ＡＰｒＰ、またはＡβである、請求項１９に記載の方法。
【請求項２１】
前記キメラ受容体の前記アミロイド結合領域が前記アミロイドへの結合親和性を有する、請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】
前記アミロイド沈着物を前記キメラ受容体と接触させることにより、前記アミロイドの少なくとも部分的なクリアランスがもたらされる、請求項１９～２１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２３】
請求項１～１６のいずれか一項に記載のキメラ受容体または請求項１８に記載の操作された細胞を対象に投与することを含む、アミロイド障害を有する前記対象を治療する方法。
【請求項２４】
前記キメラ受容体を前記対象に投与することが、前記キメラ受容体を発現するマクロファージまたは単球を投与することを含む、請求項２３に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２０年１月１７日に出願された米国特許仮出願第６２／９６２，７６３号の優先権を主張するものであり、その内容全体は、参照により本明細書に援用される。
ＡＳＣＩＩテキストファイルでの配列表の提出
【０００２】
ＡＳＣＩＩテキストファイルでの以下の提出内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる：コンピュータ可読形態（ＣＲＦ）の配列表（ファイル名：１６５９９２０００５４０ＳＥＱＬＩＳＴ．ＴＸＴ、記録日：２０２１年１月１５日、サイズ：５４ＫＢ

）。
【０００３】
本出願は、アミロイドを除去する、またはアミロイド関連疾患を治療するために使用できるキメラ抗原受容体に関する。
【背景技術】
【０００４】
アミロイドーシスは、アルツハイマー病の発症だけでなく、免疫グロブリン軽鎖関連（ＡＬ）アミロイドーシスなど、あまり知られていないが同様に壊滅的な障害にも関連する壊滅的な病状である（Ｄｉｓｐｅｎｚｉｅｒｉ，Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ Ｒｅｖ，２０１２．２６（４）：ｐ． １３７－５４；Ｍｅｒｌｉｎｉ，Ｇ．，Ｈｅｍａｔｏｌｏｇｙ Ａｍ Ｓｏｃ Ｈｅｍａｔｏｌ Ｅｄｕｃ Ｐｒｏｇｒａｍ，２０１７．２０１７（１）：ｐ．１－１２）。ＡＬの患者は、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、及び末梢神経にアミロイドを発症し、これが臓器機能障害を引き起こし、常に致命的である。全身性疾患におけるアミロイド沈着物は免疫学的に不活性であり、免疫系の食細胞（マクロファージ、「Ｍφ」）によって認識または除去されず、抗体反応を不正に引き起こさない。重大な心アミロイドーシスを呈する患者では、生存期間の中央値が約９カ月で予後は不良である（Ｇｅｒｔｚ，Ｍ．Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ，１９９１．７７（２）：ｐ．２５７－６２；Ｇｒｏｇａｎ，Ｍ．，Ａ．ｅｔ ａｌ．，Ｈｅａｒｔ，２０１７．１０３（１４）：ｐ．１０６５－１０７２）。ＡＬアミロイドーシスの治療は、一般に、抗形質細胞化学療法と免疫療法を含み、アミロイド形成軽鎖タンパク質の形質細胞分泌を抑制する。しかし、既存の組織アミロイドのクリアランスは、これらの患者のために開発されている多くの新しい治療法の主要な目標になっている。
【０００５】
さらに、５０歳以上の一般的な米国の人口の約３％は、重要性が不明な単クローン性免疫グロブリン血症（ＭＧＵＳ）として知られる形質細胞障害を持っている（Ｗｅｉｓｓ，Ｂ．Ｍ．，ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ，２００９．１１３（２２）：ｐ．５４１８－２２）。この障害は、形質細胞によるモノクローナル免疫グロブリン軽鎖（ＬＣ）の分泌を伴う場合、壊滅的でしばしば致命的な状態であるＬＣ関連（ＡＬ）アミロイドーシスの不吉な前兆であり、ＬＣで構成される高度に秩序化されたタンパク質原線維またはそれらの断片が、肝臓、心臓、腎臓、脾臓、腸、神経などの臓器及び組織の細胞外空間に沈着する（Ｄｉｓｐｅｎｚｉｅｒｉ，Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ Ｒｅｖ，２０１２．２６（４）：ｐ．１３７－５４；Ｍｅｒｌｉｎｉ，Ｇ．，Ｈｅｍａｔｏｌｏｇｙ Ａｍ Ｓｏｃ Ｈｅｍａｔｏｌ Ｅｄｕｃ Ｐｒｏｇｒａｍ，２０１７．２０１７（１）：ｐ．１－１２；Ｗｅｃｈａｌｅｋａｒ，Ａ．Ｄ．，ｅｔ ａｌ．，Ｓｙｓｔｅｍｉｃ ａｍｙｌｏｉｄｏｓｉｓ．Ｌａｎｃｅｔ，２０１５）。アミロイド原線維は、ヘパラン硫酸プロテオグリカン及び血清アミロイドＰ成分（ＳＡＰ）などの血清由来タンパク質と関連して沈着し、複雑な病理学的マトリックスをもたらす。アミロイドは「不自然な」タンパク質凝集体であるが、免疫原性がなく、患者では、自然免疫系の食細胞によるクリアランスに対して驚くほど耐性がある。実際、剖検由来の材料の評価は、免疫細胞の決定的な流入を示していない。
【０００６】
ＡＬアミロイドーシスの病因に関する数十年にわたる研究、及び患者の生存率の改善にもかかわらず（Ｄｉｓｐｅｎｚｉｅｒｉ，Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ Ｒｅｖ，２０１２．２６（４）：ｐ．１３７－５４）、この疾患は常に致命的である。重度の心臓ＡＬ関連アミロイドーシスを呈する被験者の全生存期間は約９か月である（Ｇｒｏｇａｎ，Ｍ．，Ａ．ｅｔ ａｌ．，Ｈｅａｒｔ，２０１７．１０３（１４）：ｐ．１０６５－１０７２）。これは、特に心臓（Ｋｒｉｓｔｅｎ，Ａ．Ｖ．，ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ａｍ Ｃｏｌｌ Ｃａｒｄｉｏｌ，２０１６．６８（１）：ｐ．１３－２４）または腎臓（Ｋｕｒｏｄａ，Ｔ．，ｅｔ ａｌ．，ＢＭＣ Ｎｅｐｈｒｏｌ，２０１２．１３：ｐ．１１８）のＡＬアミロイドーシスが主な症状である場合、患者が一般に臓器を損なうような大量の組

織アミロイドとそれに伴う予後不良を呈するという事実によるものである（Ｋｒｉｓｔｅｎ，Ａ．Ｖ．，ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ａｍ Ｃｏｌｌ Ｃａｒｄｉｏｌ，２０１６．６８（１）：ｐ．１３－２４；Ｂａｎｙｐｅｒｓａｄ，Ｓ．Ｍ．，ｅｔ ａｌ．，Ｅｕｒ Ｈｅａｒｔ Ｊ，２０１５．３６（４）：ｐ．２４４－５１）。ＡＬアミロイドーシス患者の確立された臨床管理は、アミロイド形成促進前駆体ＬＣタンパク質の産生を防ぎ、それによってアミロイド負荷の拡大を防ぐことを目的としている。これは、形質細胞化学療法及び免疫療法（Ｃｈａｕｌａｇａｉｎ，Ｃ．Ｐ．ａｎｄ Ｒ．Ｌ．Ｃｏｍｅｎｚｏ，Ｃｌｉｎ Ａｄｖ Ｈｅｍａｔｏｌ Ｏｎｃｏｌ，２０１５．１３（５）：ｐ．３１５－２４；Ｃｏｍｅｎｚｏ，Ｒ．Ｌ．，ｅｔ ａｌ．，Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ，２００８．３５８（１）：ｐ．９２；ａｕｔｈｏｒ ｒｅｐｌｙ ９２－３；Ｓａｎｃｈｏｒａｗａｌａ，Ｖ．，ｅｔ ａｌ．，Ｂｏｎｅ Ｍａｒｒｏｗ Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔ，２００４．３３（４）：ｐ．３８１－８；Ｖａｒｇａ，Ｃ．ａｎｄ Ｒ．Ｌ．Ｃｏｍｅｎｚｏ，Ｂｏｎｅ Ｍａｒｒｏｗ Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔ，２０１８）、プロテアソーム阻害剤（Ｃｈａｕｌａｇａｉｎ，Ｃ．Ｐ．ａｎｄ Ｒ．Ｌ．Ｃｏｍｅｎｚｏ，Ｃｌｉｎ Ａｄｖ Ｈｅｍａｔｏｌ Ｏｎｃｏｌ，２０１５．１３（５）：ｐ．３１５－２４；Ｓｉｄｉｑｉ，Ｍ．Ｈ．ａｎｄ Ｍ．Ａ．Ｇｅｒｔｚ，Ｌｅｕｋ Ｌｙｍｐｈｏｍａ，２０１８：ｐ．１－７；Ｍｉｌａｎｉ，Ｐ．，ｅｔ ａｌ．，Ｋｉｄｎｅｙ Ｉｎｔ Ｒｅｐ，２０１８．３（３）：ｐ．５３０－５４１）、及び自己幹細胞移植（Ｄ’Ｓｏｕｚａ，Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ，２０１５．３３（３２）：ｐ．３７４１－９）を使用することによって達成される。ただし、これらのアプローチは、既存の組織アミロイドの活発な溶解を促進するようには設計されていない。これらのアプローチに応じて血液学的寛解が成功したにもかかわらず、大多数の患者では、ＬＣタンパク質が戻り、疾患が進行する。これらの患者では、組織内のアミロイドの絶え間ない蓄積は、常に臓器機能障害、生活の質の悪化、及び死亡率に寄与する主因である。

【０００７】

ＡＬアミロイドの取り込みは、少なくとも２つのアミロイド反応性結合タンパク質を使用して実証されている：（１）ｍＡｂ １１－１Ｆ４（Ｈｒｎｃｉｃ，Ｒ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｐａｔｈｏｌ，２０００．１５７（４）：ｐ．１２３９－４６；Ｓｏｌｏｍｏｎ，Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ，２００３．９（１０ Ｐｔ ２）：ｐ．３８３１Ｓ－８Ｓ；Ｓｏｌｏｍｏｎ，Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｂｉｏｔｈｅｒ Ｒａｄｉｏｐｈａｒｍ，２００３．１８（６）：ｐ．８５３－６０；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ，２０１０．１１６（１３）：ｐ．２２４１－４）及び（２）ペプチドｐ５＋１４（Ｋｅｎｎｅｌ，Ｓ．Ｊ．，ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ Ｉｍａｇｉｎｇ Ｂｉｏｌ，２０１６．１８（４）：ｐ．４８３－９；Ｍａｒｔｉｎ，Ｅ．Ｂ．，ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ Ｒｅｐ，２０１６．６：ｐ．２２６９５；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，２０１５．２０（５）：ｐ．７６５７－８２）。さらに、「アミロイド除去」治療の必要性に対処するために、アミロイド反応性モノクローナル抗体（ｍＡｂ）が過去２０年間にわたって開発され、最近、３つの試薬の臨床試験が実施された（Ｒｉｃｈａｒｄｓ，Ｄ．Ｂ．，ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ Ｔｒａｎｓｌ Ｍｅｄ，２０１８．１０（４２２）；Ｅｄｗａｒｄｓ，Ｃ．Ｖ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｍｙｌｏｉｄ，２０１７．２４（ｓｕｐ１）：ｐ．５８－５９；Ｇｅｒｔｚ，Ｍ．Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ，２０１６．３４（１０）：ｐ．１０９７－１０３；Ｇｅｒｔｚ，Ｍ．Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｈｅｍａｔｏｌ，２０１６．９１（１２）：ｐ．Ｅ５０６－Ｅ５０８；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ，２０１０．１１６（１３）：ｐ．２２４１－４）。これらのｍＡｂを用いた受動免疫療法のために提案された作用機序は、アミロイドの特異的アミロイド結合とオプソニン化を含み、アミロイドの局所マクロファージ（Ｍφ）活性化と食作用をもたらす（Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ，２０１８．１１５（４６）：ｐ．Ｅ１０８３９－Ｅ１０８４８）。さらに、Ｍφの刺激は、ｍＡｂ ＦｃドメインとＦｃ受容体（ＦｃＲ）との相互作用、またはアミロイド結合ｍ

ＡｂによるＣ３受容体を介して媒介される（Ｂｏｄｉｎ，Ｋ．，ｅｔａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，２０１０．４６８（７３２０）：ｐ．９３－７；Ｍｉｌｄｅ，Ｒ．，ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ Ｒｅｐ，２０１５．１３（９）：ｐ．１９３７－４８）。臨床的に評価された３つのｍＡｂのうちの２つ、キメラ（ｃ）１１－１Ｆ４及びヒト化ＮＥＯＤ００１ ｍＡｂは、生成されたか、前臨床開発された（Ｈｒｎｃｉｃ，Ｒ．，ｅｔａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｐａｔｈｏｌ，２０００．１５７（４）：ｐ．１２３９－４６；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，ＰＬｏＳ Ｏｎｅ，２０１２．７（１２）：ｐ．ｅ５２６８６；Ｓｏｌｏｍｏｎ，Ａ．，Ｄ．Ｔ．Ｗｅｉｓｓ，ａｎｄ Ｊ．Ｓ．Ｗａｌｌ，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ，２００３．９（１０ Ｐｔ ２）：ｐ．３８３１Ｓ－８Ｓ；Ｏ’Ｎｕａｌｌａｉｎ，Ｂ．，ｅｔ ａｌ．Ａｍｙｌｏｉｄ ａｎｄ Ａｍｙｌｏｉｄｏｓｉｓ：Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｘｔｈ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｓｙｍｐｏｓｉｕｍ ｏｎ Ａｍｙｌｏｉｄｏｓｉｓ．２００５．Ｔｏｕｒｓ，Ｆｒａｎｃｅ：ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ）。フェーズ１試験で陽性の臨床データがあったにもかかわらず、ＮＥＯＤ００１プログラムは、極めて重要なフェーズ３試験（ＮＣＴ０２３１２２０６）の中間評価の有効性が欠如していたため終了し、ｃ１１－１Ｆ４フェーズ２試験は停滞した。３つ目のｍＡｂ（Ｇｌａｘｏ－ＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ；ＮＣＴ０３０４４３５３）のフェース１試験では、デザミズマブによるＡＬ患者の治療により、組織アミロイドの劇的かつ測定可能なクリアランスが得られる可能性があることを示すデータが生成された（Ｒｉｃｈａｒｄｓ，Ｄ．Ｂ．，ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ Ｔｒａｎｓｌ Ｍｅｄ，２０１８．１０（４２２））。この試験は最近中止され、データが発表される予定である。したがって、さらなる「アミロイド除去」治療法の開発が必要である。これらのｍＡｂ試験の全体的な結果にもかかわらず、ＡＬアミロイドのオプソニン化がその溶解をもたらす可能性があるという仮説を支持するデータが生成された。

【０００８】

目的の標的を除去するための１つのアプローチは、標的に特異的なキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を発現する食細胞を投与することである。例えば、ＣＤ１９結合受容体と細胞質の食作用促進シグナル伝達要素とを含むキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を提示するＭφは、培養中のＣＤ１９被覆ビーズの取り込みの増強とＣＤ１９発現Ｂリンパ球の死滅の改善を示すことが実証されている（Ｍｏｒｒｉｓｓｅｙ，Ｍ．Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ｅｌｉｆｅ，２０１８．７）。具体的には、食作用シグナル伝達免疫受容体、チロシンベースの活性化モチーフを含む細胞質要素を使用するＣＡＲ（ＩＴＡＭ；Ｈａｍｅｒｍａｎ，Ｊ．Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｒｅｖ，２００９．２３２（１）：ｐ．４２－５８；Ｓｗｉｓｈｅｒ，Ｊ．Ｆ．ａｎｄ Ｇ．Ｍ．Ｆｅｌｄｍａｎ，Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｒｅｖ，２０１５．２６８（１）：ｐ．１６０－７４を参照）は、直径２０μｍまでのＣＤ１９及びＣＤ２２被覆粒子の取り込みを大幅に強化した。さらに、ＣＤ１９陽性のＲａｊｉ Ｂリンパ球の死滅が培養で観察された。この研究は、腫瘍細胞抗原の結合と腫瘍細胞の死滅に焦点を当て、いくつかのユニークなＣＡＲ構築物が食作用を増強する一方で、いくつかが他よりも効率的であることを示した。

【０００９】

まとめると、当技術分野では、アミロイド沈着物を除去するように設計された治療法が必要である。

【発明の概要】

【００１０】

本明細書で提供されるのは、活性化されるとマクロファージを活性化する受容体のシグナル伝達ドメインを含む細胞質ドメイン；膜貫通ドメイン；及びアミロイド結合領域を含む細胞外ドメインを含むキメラ受容体である。

【００１１】

いくつかの実施形態では、細胞外ドメインが抗体またはその機能的フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、抗体フラグメントは、ｓｃＦｖである。いくつかの実施形態において、抗体は、ＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ２、及びＣＤＲＬ３を含むＶＬと、ＣＤＲＨ１

、ＣＤＲＨ２、及びＣＤＲＨ３を含むＶＨとを含み、ここで、ＣＤＲＬ１は、配列番号２４に示されるアミノ酸配列を含むみ、ＣＤＲＬ２は、配列番号２５に示されるアミノ酸配列を含み、ＣＤＲＬ３は、配列番号２６に示されるアミノ酸配列を含み、ＣＤＲＨ１は、配列番号２１に示されるアミノ酸配列を含み、ＣＤＲＨ２は、配列番号２２に示されるアミノ酸配列を含み、ＣＤＲＨ３は、配列番号２３に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号１９または３４に示されるアミノ酸配列を含むＶＬと、配列番号２０または３５に示されるアミノ酸配列を含むＶＨとを含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、１１－１Ｆ４抗体フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、抗体フラグメントは、ヒト化されている。

【００１２】

いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、アミロイド反応性ペプチドを含む。いくつかの実施形態において、アミロイド反応性ペプチドは、配列番号１～１８に示される配列を含む。

【００１３】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、直接または間接的にＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントに結合している。いくつかの実施形態において、ＣＨ２ドメインが、配列番号３３に示されるアミノ酸配列に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００１４】

いくつかの実施形態において、細胞質ドメインが、細胞質ドメインＩ、細胞質ドメインＩＩ、またはそれらの機能的フラグメントを含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号３０、３１、４１、４２、または４５に示されるアミノ酸配列に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００１５】

いくつかの実施形態において、アミロイドの細胞外ドメインへの結合は、キメラ受容体の細胞質ドメインを活性化する。

【００１６】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、分泌リーダー配列の有無にかかわらず、配列番号４３に示される配列に対して８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有する。いくつかの実施形態において、受容体の各成分が、一緒にまたは別々に、配列番号４３の対応する成分に対して８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有する。

【００１７】

本明細書はまた、本明細書で提供されるキメラ受容体をコードする核酸も提供する。

【００１８】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供されるキメラ受容体をコードする核酸を含む操作された細胞が提供される。

【００１９】

いくつかの実施形態において、アミロイド沈着物を本明細書に提供されるキメラ受容体または本明細書に提供されるキメラ受容体を含む請求項の操作された細胞と接触させることを含む、アミロイドを除去するための方法が提供される。いくつかの実施形態では、アミロイドはＡＡ、ＡＬ、ＡＨ、ＡＴＴＲ、Ａβ２Ｍ、野生型ＴＴＲ、ＡＡｐｏＡＩ、ＡＡｐｏＡＩＩ、ＡＧｅｌ、ＡＬｙｓ、ＡＬｅｃｔ２、Ａｆｉｂ、ＡＣｙｓ、ＡＣａｌ、ＡＭｅｄｉｎ、ＡＩＡＰＰ、ＡＰｒｏ、ＡＩｎｓ、ＡＰｒＰ、またはＡβである。

【００２０】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体のアミロイド結合領域は、アミロイドへの結合親和性を有する。

【００２１】

いくつかの実施形態において、アミロイド沈着物をキメラ受容体と接触させることによ

り、アミロイドの少なくとも部分的なクリアランスがもたらされる。

【００２２】

また、本明細書で提供されるキメラ受容体または本明細書で提供される操作された細胞を対象に投与することを含む、アミロイド障害を有する対象を治療する方法も提供される。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を対象に投与することは、キメラ受容体を発現するマクロファージまたは単球を投与することを含む。

【図面の簡単な説明】

【００２３】

【図１】１１－１Ｆ４　ｓｃＦｖ（左、「（ｉ）１１－１Ｆ４」とラベル付け）及びｐ５＋１４ペプチドベース（右、「（ｉｉ）ペプチド」とラベル付け）のアミロイド特異的ＣＡＲ構造の概略図である。左側の１１－１Ｆ４ベースのＣＡＲは、Ｎ末端からＣ末端まで、１１－１Ｆ４抗体ｓｃＦｖ（ＶＬ（濃い灰色の楕円形で表される）、ｓｃＦｖリンカー（ＶＬとＶＨを結ぶ線）、及びＶＨ（中程度の灰色の楕円形）を含む）からなる細胞外ドメイン、スペーサー配列（ダイヤモンド形）、膜貫通ドメイン（長方形）、及び細胞質ドメイン（より大きな中程度の灰色の楕円形）を含む。右側のペプチドベースのＣＡＲは、Ｎ末端からＣ末端まで、ｐ５＋１４ペプチドからなる細胞外ドメイン、第１のスペーサー配列（より小さなダイヤモンド形）、ＣＨ２ドメイン（市松模様の楕円形）、第２のスペーサー配列（より大きなダイヤモンド形）、膜貫通ドメイン（長方形）、及び細胞質ドメイン（より大きな中程度の灰色の楕円形）を含む。

【図２】モノクローナル抗体注入の直前（左）及びモノクローナル抗体注入後４２日目（右）の全身前方^{123}Ｉ－ＳＡＰシンチグラフィーを示す。肝アミロイド負荷の顕著な減少が観察された。Ｒｉｃｈａｒｄｓ　ｅｔ　ａｌ．（Ｓｃｉ　Ｔｒａｎｓｌ　Ｍｅｄ，２０１８１０（４２２））より。

【図３】キメラ抗原受容体の特徴の概略図である。

【図４Ａ】ｍ１１－１Ｆ４のインビボ投与を評価する実験の結果を示す。^{125}Ｉ－ｍ１１－１Ｆ４を使用するＳＰＥＣＴ／ＣＴ画像によって検出された、マウス（矢印）に皮下移植されたヒトＡＬアミロイド抽出物を示す。

【図４Ｂ】ｍ１１－１Ｆ４のインビボ投与を評価する実験の結果を示す。皮下ヒトＡＬアミロイド（矢印）を有するマウスをｍ１１－１Ｆ４で治療すると、病変の退行が引き起こされたことを示す。

【図４Ｃ】ｍ１１－１Ｆ４のインビボ投与を評価する実験の結果を示す。対照処置動物を示す。

【図４Ｄ】ｍ１１－１Ｆ４のインビボ投与を評価する実験の結果を示す。ＰＥＴ／ＣＴイメージングによるＡＬアミロイドーシス患者における^{124}Ｉ－ｍ１１－１Ｆ４の生体内分布を示す。矢印は、拡大したアミロイドを含んだ肝臓でのｍＡｂの取り込みである。

【図５】ペプチドｐ５＋１４が組織切片においてヒトＡＬアミロイドに結合することを示す結果を示す。Ａは、放射性ヨウ素化された場合、^{124}Ｉ－ｐ５＋１４が、ＡＬアミロイドーシスの患者においてアミロイドを含む可能性のある器官（腎臓、脾臓、及び膵臓）と共局在するのが見られたことを示す。Ｂは、患者のＰＥＴ／ＣＴ画像を示す。

【図６】提案された１１－１Ｆ４　ｓｃＦｖ（左、「（ｉ）１１－１Ｆ４」とラベル付け）及びｐ５＋１４ペプチドベース（右、「（ｉｉ）ペプチド」とラベル付け）のＣＡＲ構造の概略図である。

【発明を実施するための形態】

【００２４】

Ｉ．定義

特に明記されていない限り、専門用語は従来の使用法に従って使用される。分子生物学の一般的な用語の定義は、Ｂｅｎｊａｍｉｎ　Ｌｅｗｉｎ，Ｇｅｎｅｓ　ＩＸ，ｐｕｂｌｉｓｈｅｄ　ｂｙ　Ｊｏｎｅｓ　ａｎｄ　Ｂａｒｔｌｅｔ，２００８　（ＩＳＢＮ　０７６３７５２２２３）；Ｋｅｎｄｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．（ｅｄｓ．）、Ｔｈｅ　Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ　ｏｆ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，ｐｕｂｌｉｓｈｅｄ　ｂ

ｙ Ｂｌａｃｋｗｅｌｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｌｔｄ．，１９９４ （ＩＳＢＮ ０６３２０２１８２９）、Ｒｏｂｅｒｔ Ａ．Ｍｅｙｅｒｓ（ｅｄ．），Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ：ａ Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｄｅｓｋ Ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ，ｐｕｂｌｉｓｈｅｄ ｂｙ ＶＣＨ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ，Ｉｎｃ．，１９９５（ＩＳＢＮ ９７８０４７１１８５７１０）、及びその他の同様の参考資料に記載されている。本明細書で使用される場合、単数形「一つ（ａ）」、「一つ（ａｎ）」、及び「この（ｔｈｅ）」は、文脈が明らかに他のことを示さない限り、単数形及び複数形の両方を指す。略語「例（ｅ．ｇ．）」はラテン語の例に由来し、本明細書では非限定的な例を示すために使用される。したがって、略語「例」は「例えば」という用語と同義である。本明細書で使用される場合、「を含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」という用語は、「を含む（ｉｎｃｌｕｄｅｓ）」を意味する。

【００２５】

範囲は、本明細書では、「約」ある特定の値から、及び／または「約」別の特定の値までとして表すことができる。そのような範囲が表現されるとき、別の態様は、範囲のある特定の値から、及び／または範囲の他の特定の値までを含む。さらに、各範囲のエンドポイントは、他のエンドポイントとの関係でも、他のエンドポイントとは独立しても重要であることが理解されるであろう。同様に、値が近似値として表される場合、先行詞「約」を使用することにより、特定の値が別の態様を形成することが理解されよう。特定の例示的な実施形態では、「約」という用語は、当技術分野における通常の許容範囲内、例えば、平均の２標準偏差内であると理解される。約は、記載されている値の１０％、９％、８％、７％、６％、５％、４％、３％、２％、１％、０．５％、０．１％、０．０５％、または０．０１％以内と理解できる。文脈から明らかでない限り、本明細書で提供されるすべての数値は、約の用語によって変更することができる。さらに、本明細書で使用される「例（ｅｘａｍｐｌｅ）」、「例示的（ｅｘｅｍｐｌａｒｙ）」、または「例示された（ｅｘｅｍｐｌｉｆｉｅｄ）」などの用語は、選好を示すことを意味するのではなく、その後に論じられる態様が提示される態様の一例にすぎないことを説明するためのものである。

【００２６】

さらに、核酸またはポリペプチドについて与えられたすべての塩基サイズまたはアミノ酸サイズ、及びすべての分子量または分子量値は概算であり、説明のために提供されていることを理解されたい。本明細書に記載されているものと類似または同等の方法及び材料を本開示の実施または試験に使用することができるが、適切な方法及び材料を以下に説明する。矛盾がある場合は、用語の説明を含む本明細書が優先するものとする。さらに、材料、方法、及び実施例は例示にすぎず、限定することを意図するものではない。

【００２７】

本開示の様々な実施形態のレビューを容易にするために、特定の用語についての説明を以下に提供する。

【００２８】

投与：選択した経路による組成物の対象への導入。例えば、選択した経路が静脈内である場合、組成物は、組成物を対象の静脈に導入することによって投与される。いくつかの例では、ペプチドが対象に投与される。

【００２９】

アミロイド、アミロイド沈着物、アミロイド原線維、及びアミロイド線維という用語は、特定の構造的特徴を共有する不溶性繊維状タンパク質凝集体を指す。タンパク質凝集体は、例えば、いくつかの異なるタンパク質のいずれかの凝集によって形成され、繊維軸に垂直に積み重ねられたβシートの規則正しい配列からなる三次構造を有する。Ｓｕｎｄｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．（１９９７）２７３：７２９－３９を参照されたい。臓器におけるアミロイドの異常な蓄積は、アミロイドーシスを引き起こし得る。それらは発生が多様であるが、すべてのアミロイドは、コンゴーレッドなどの特定の染料で染色され、染色後の偏光で特徴的な赤緑色の複屈折の外観を持つという点で、共通の形態学

的特性を持っている。アミロイドはまた、共通の超微細構造の特徴、共通のＸ線回折、及び赤外線スペクトルを共有する。

【００３０】

アミロイドーシスとは、アミロイド沈着物の存在など、アミロイドの存在を特徴とする病的状態または疾患を指す。「アミロイド疾患」または「アミロイドーシス」は、アミロイド原線維の形成、沈着、蓄積または持続に関連する疾患である。このような疾患は、アルツハイマー病、ダウン症、オランダ型アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血、及び脳ベータアミロイド血管症を含むが、これらに限定されない。他のアミロイド疾患、例えば全身性ＡＡアミロイドーシス、ＡＬアミロイドーシス、ＡＴＴＲアミロイドーシス、ＡＬｅｃｔ２アミロイドーシス、ＩＩ型糖尿病のＩＡＰＰアミロイドーシスなどもアミロイド疾患である。

【００３１】

アミロイド形成的とは、アミロイド沈着物を産生する、または産生する傾向があることを指す。例えば、特定の可溶性単量体タンパク質は、広範なコンフォメーション変化を受けて、秩序だった、分岐していない、８～１０ｎｍ幅の原線維に凝集し、アミロイド凝集体を形成する。例えば、３０を超えるタンパク質がヒトにアミロイド沈着物（またはアミロイド）を形成することがわかっている。免疫グロブリン軽鎖などの多様なタンパク質のクラス内のすべてのタンパク質がアミロイドを形成できるわけではない。つまり、一部のタンパク質は非アミロイド形成的であり、アミロイドを形成する傾向がないことを意味する。しかし、このクラスの他のタンパク質はアミロイド沈着物を形成する可能性があるため、アミロイド形成的である。さらに、軽鎖タンパク質のクラス内では、アミロイド線維を形成する容易さに基づいて、他のものよりも「アミロイド形成的」であると見なされるものもある。特定の軽鎖タンパク質は、患者またはインビトロでアミロイド原繊維を容易に形成できないため、非アミロイド形成的またはアミロイド形成性が低いと見なされる。

【００３２】

動物：生きている多細胞脊椎動物。例えば、哺乳類や鳥などのカテゴリー。哺乳類という用語は、ヒト及び非ヒトの両方の哺乳動物を含む。同様に、「対象」という用語は、ヒトと獣医学的対象の両方の対象を含む。いくつかの例では、対象は、アミロイド疾患に罹患している対象などの対象である。

【００３３】

クリアランス：「除去（ｃｌｅａｒ）」または「クリアランス（ｃｌｅａｒａｎｃｅ）」という用語は、測定可能な程度で減少または除去することを指す。例えば、本明細書に記載されるアミロイド沈着物のクリアランスは、測定可能または識別可能な程度まで沈着物を減少または除去することに関係する。クリアランスにより１００％除去される場合があるが、必須ではない。むしろ、クリアランスは、１００％未満の除去、例えば、約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％またはそれ以上の除去をもたらす可能性がある。

【００３４】

抗体とは、ポリクローナル、モノクローナル、キメラ、及びヘテロ免疫グロブリンのクラスに属する一本鎖、二本鎖、及び多鎖タンパク質及び糖タンパク質を指す（モノクローナル抗体が好ましい）。また、これらの免疫グロブリンの合成及び遺伝子操作された変異体も含まれる。「抗体フラグメント」は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、ｓｃＦｖ及びＦｖフラグメント、ならびに所望の標的エピトープまたは複数のエピトープに対して特異性を有する抗体の任意の部分を含む。「モノクローナル抗体」は、Ｂリンパ球の単一クローンによって産生される抗体である。モノクローナル抗体は、当業者に知られている方法によって、例えば、骨髄腫細胞と免疫脾臓細胞との融合からハイブリッド抗体形成細胞を作製することによって産生される。

【００３５】

エピトープとは、抗体のアミノ酸配列の特異性によって決定される、抗体によって認識される抗原上の部位を指す。エピトープは抗原決定基とも呼ばれる。例えば、エピトープ

は、特定の抗体によって認識される組換えタンパク質の一部であり得る。さらに、エピトープは、配座エピトープ及び線状エピトープであり得る。

【００３６】

キメラ抗体とは、典型的には異なる種である２つの異なる抗体に由来する配列を含む抗体を指す。最も典型的には、キメラ抗体は、ヒト及びマウスの抗体フラグメント、一般的にはヒトの定常領域及びマウスの可変領域を含む。

【００３７】

ヒト化抗体とは、非ヒト抗体、典型的にはマウスに由来する抗体、及び親抗体の抗原結合特性を保持するかまたは実質的に保持するが、ヒトでは免疫原性が低いヒト抗体を指す。

【００３８】

相補性決定領域またはＣＤＲは、ネイティブ免疫グロブリン結合部位の天然Ｆｖ領域の結合親和性と特異性を一緒に定義するアミノ酸配列を指す。免疫グロブリンの軽鎖及び重鎖はそれぞれ、Ｌ－ＣＤＲ１、Ｌ－ＣＤＲ２、Ｌ－ＣＤＲ３及びＨ－ＣＤＲ１、Ｈ－ＣＤＲ２、Ｈ－ＣＤＲ３とそれぞれ指定された３つのＣＤＲを持っている。定義上、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，（１９９１） Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ（ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２）によって描写された番号付け規則を使用して、軽鎖のＣＤＲは、２４位と３４位（Ｌ－ＣＤＲ１）、５０位と５６位（Ｌ－ＣＤＲ２）、８９位と９７位（Ｌ－ＣＤＲ３）の残基に囲まれており、重鎖のＣＤＲは、３１位と３５ｂ位（Ｈ－ＣＤＲ１）、５０位と６５位（Ｈ－ＣＤＲ２）、９５位と１０２位（Ｈ－ＣＤＲ３）の残基に囲まれている。

【００３９】

フレームワーク領域とは、ＣＤＲの間に挿入されたアミノ酸配列を指す。抗体のこれらの部分は、ＣＤＲを抗原結合のために適切な方向に保持するのに役立つ。

【００４０】

有効量または治療有効量：障害または疾患の症状及び／または根本的な原因を予防、治療（予防を含む）、軽減及び／または改善するのに十分な薬剤の量、例えば、及び／またはアミロイドーシスを予防、抑制するのに十分な薬剤の量。いくつかの実施形態では、「有効量」は、疾患の症状を軽減または排除するのに十分である。有効量は１回以上投与できる。

【００４１】

発現制御配列：それが作動可能に連結されている異種核酸配列の発現を調節する核酸配列。発現制御配列が、核酸配列の転写及び適切な場合には翻訳を制御及び調節する場合、発現制御配列は、核酸配列に作動可能に連結される。したがって、発現制御配列は、適切なプロモーター、エンハンサー、転写ターミネーター、タンパク質をコードする遺伝子の前の開始コドン（ＡＴＧ）、イントロンのスプライシングシグナル、ｍＲＮＡの適切な翻訳を可能にする遺伝子の正しいリーディングフレームの維持、及び停止コドンを含めることができる。「制御配列」という用語は、最低でも、その存在が発現に影響を及ぼし得る構成要素を含み、その存在が有利である追加の構成要素（例えば、リーダー配列及び融合パートナー配列）も含み得ることが意図される。発現制御配列はプロモーターを含むことができる。

【００４２】

プロモーターは、転写を指示するのに十分な最小の配列である。プロモーター依存性遺伝子発現を細胞型特異的、組織特異的、または外部シグナルもしくは薬剤によって誘導可能にするのに十分なプロモーター要素も含まれる。このような要素は、遺伝子の５’または３’領域に位置し得る。構成的及び誘導性プロモーターの両方が含まれる（例えば、Ｂｉｔｔｅｒ ｅｔ ａｈ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ １５３：５１

６－５４４，１９８７を参照）。例えば、細菌系でクローニングする場合、バクテリオファージラムダのｐＬ、ｐｌａｃ、ｐｔｒｐ、ｐｔａｃ（ｐｔｒｐ－ｌａｃハイブリッドプロモーター）などの誘導性プロモーターを使用することができる。一実施形態では、哺乳動物細胞系でクローニングする場合、哺乳動物細胞のゲノムに由来するプロモーター（メタロチオネインプロモーターなど）または哺乳動物ウイルスに由来するプロモーター（レトロウイルスの長い末端反復、アデノウイルス後期プロモーター、ワクシニアウイルス７．５Ｋプロモーターなど）が使用し得る。組換えＤＮＡまたは合成技術によって産生されるプロモーターもまた、核酸配列の転写を提供するために使用し得る。ポリヌクレオチドは、宿主の挿入された遺伝子配列の効率的な転写を促進するプロモーター配列を含む発現ベクターに挿入することができる。発現ベクターは通常、複製起点、プロモーター、及び形質転換細胞の表現型選択を可能にする特定の核酸配列を含む。

【００４３】

抑制：測定可能な程度に減少すること。抑制は、例えば、機能の完全な喪失または測定されている側面の完全な停止を必要としない。例えば、プラーク形成を抑制することは、プラークのさらなる成長を停止すること、プラークのさらなる成長を遅らせること、またはプラークのサイズを縮小することを意味し得る。

【００４４】

疾患の抑制または治療：例えば、アミロイドーシスの抑制など、疾患または状態の完全な発症を抑制すること。「治療」とは、疾患または病的状態の発症の兆候または症状を改善する治療的介入を指す。疾患または病的状態に関連する「改善する」という用語は、治療の観察可能な有益な効果を指す。有益な効果は、例えば、感受性のある対象における疾患の臨床症状の発症の遅延、疾患の一部またはすべての臨床症状の重症度の低下、疾患の進行の遅延、対象の全体的な健康または幸福の改善、または特定の疾患に特有である当技術分野でよく知られている他のパラメーターによって証明することができる。「予防的」治療は、病状を発症するリスクを低減する目的で、疾患の兆候を示さないか、または初期の兆候のみを示す対象に投与される治療である。

【００４５】

アミロイド沈着物の形成に関して、「抑制」は、対照と比較した場合など、アミロイド沈着物の形成の減少の防止を指す。例えば、抑制は、対照と比較して、アミロイド沈着物の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％またはそれ以上の減少をもたらし得る。

【００４６】

単離された：ペプチド、細胞、核酸、または血清サンプルなどの「単離された」生物学的成分は、その成分が自然に存在する生物の細胞内の他の生物学的成分、例えば、他の染色体及び染色体外ＤＮＡ及びＲＮＡ、ならびにタンパク質から実質的に分離、生成、または精製されていること。したがって、「単離された」核酸、ペプチド、及びタンパク質は、標準的な精製方法によって精製された核酸及びタンパク質を含む。この用語はまた、細胞内での組換え発現によって調製された核酸、ペプチド及びタンパク質、ならびに化学的に合成されたペプチド及び核酸を包含する。「単離された」または「精製された」という用語は、絶対的な純度を必要としない。むしろ、相対的な用語として意図される。したがって、例えば、単離されたペプチド調製物は、ペプチドまたはタンパク質が細胞内のその自然環境にあるよりもペプチドまたはタンパク質がより濃縮されているものである。好ましくは、タンパク質またはペプチドが調製物の総ペプチドまたはタンパク質含有量の少なくとも５０％、例えば、ペプチドまたはタンパク質濃度の少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９９％を表すように調製物を精製する。

【００４７】

結合：本明細書で使用される場合、「結合する」、「結合される」、「リンクする」、または「リンクされる」という用語は、タンパク質及び／またはタンパク質ドメインを機能的に接続するための当技術分野で知られている任意の方法を指す。例えば、あるタンパ

ク質ドメインは、介在する配列またはドメインの有無にかかわらず、組換え融合タンパク質などの共有結合を介して別のタンパク質ドメインに連結し得る。結合は、例えば、２つの核酸配列を同じ核酸鎖に一緒に配置して配列が一緒に発現されるようにするなど、２つの配列を一緒に統合することも含む。

【００４８】

核酸：ホスホジエステル結合を介して連結したヌクレオチド単位（リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、関連する天然に存在する構造変異体、及びそれらの合成非天然に存在する類似体）、関連する天然に存在する構造変異体、及びそれらの合成非天然に存在する類似体から構成されるポリマー。したがって、この用語は、ヌクレオチド及びそれらの間の結合が、例えば、これらに限定されないが、ホスホロチオエート、ホスホルアミデート、メチルホスホネート、キラルメチルホスホネート、２－Ｏ－メチルリボヌクレオチド、ペプチドー核酸（ＰＮＡ）などの非天然に存在する合成類似体を含むヌクレオチドポリマーを含む。そのようなポリヌクレオチドは、例えば、自動化されたＤＮＡシンセサイザーを使用して合成することができる。「オリゴヌクレオチド」という用語は、典型的には、短いポリヌクレオチドを指し、一般に約５０ヌクレオチド以下のものを指す。ヌクレオチド配列がＤＮＡ配列（すなわち、Ａ、Ｔ、Ｇ、Ｃ）によって表される場合、これはまた、「Ｔ」が「Ｕ」によって置換されるＲＮＡ配列（すなわち、Ａ、Ｕ、Ｇ、Ｃ）を含むことが理解されよう。

【００４９】

ヌクレオチドは、ピリミジン、プリンまたはそれらの合成類似体などの糖に結合した塩基、またはペプチド核酸（ＰＮＡ）のようにアミノ酸に結合した塩基を含むモノマーを含むが、これらに限定されない。ヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの１つのモノマーである。ヌクレオチド配列は、ポリヌクレオチドの塩基配列を指す。

【００５０】

本明細書では、従来の表記法を使用してヌクレオチド配列を説明している。一本鎖ヌクレオチド配列の左端は５’末端である。二本鎖ヌクレオチド配列の左側の方向は、５’方向と呼ばれる。新生ＲＮＡ転写物へのヌクレオチドの５’から３’への付加の方向は、転写方向と呼ばれる。ｍＲＮＡと同一の配列を持つＤＮＡ鎖は「コード鎖」と呼ばれる。そのＤＮＡから転写されたｍＲＮＡと同じ配列を持ち、ＲＮＡ転写の５’から５’端であるＤＮＡ鎖上の配列は、「上流配列」と呼ばれ、ＲＮＡと同一の配列を有し、コーディングＲＮＡ転写物の３’から３’端であるＤＮＡ鎖上の配列は、「下流配列」と呼ばれる。

【００５１】

ｃＤＮＡは、一本鎖または二本鎖のいずれかの形態で、ｍＲＮＡと相補的または同一であるＤＮＡを指す。

【００５２】

エンコーディングとは、遺伝子、ｃＤＮＡ、またはｍＲＮＡなどのポリヌクレオチド内のヌクレオチドの特定の配列の固有の特性を指し、これは、定義されたヌクレオチド配列（例えば、ｒＲＮＡ、ｔＲＮＡ、及びｍＲＮＡ）または定義されたアミノ酸配列及びそれらから生じる生物学的特性のいずれかを有する生物学的プロセスにおける他のポリマー及び高分子の合成のためのテンプレートとして機能する。したがって、遺伝子によって生成されたｍＲＮＡの転写及び翻訳が細胞または他の生物学的システムでタンパク質を生成する場合、その遺伝子はタンパク質をコードする。ヌクレオチド配列がｍＲＮＡ配列と同一であり、通常は配列リストに記載されているコード鎖と、転写のテンプレートとして使用される遺伝子またはｃＤＮＡの非コード鎖の両方は、その遺伝子またはｃＤＮＡのタンパク質または他の産物をコードしていると言うことができる。特に明記しない限り、「アミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列」は、互いに縮重したバージョンであり、同じアミノ酸配列をコードするすべてのヌクレオチド配列を含む。タンパク質及びＲＮＡをコードするヌクレオチド配列には、イントロンが含まれる場合がある。

【００５３】

組換え核酸とは、自然に結合していないヌクレオチド配列を有する核酸を指す。これは

、適切な宿主細胞を形質転換するために使用することができる増幅または組み立てられた核酸を含む、アデノウイルスベクターなどの核酸ベクターを含む。組換え核酸を含む宿主細胞は、「組換え宿主細胞」と呼ばれる。次に、遺伝子は組換え宿主細胞で発現され、「組換えポリペプチド」などを産生する。組換え核酸はまた、非コード機能（プロモーター、複製起点、リボソーム結合部位など）をする可能性がある。第１の配列は、その配列が第１の配列であるポリヌクレオチドが、その配列が第２の配列であるポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズする場合、第２の配列に関する「アンチセンス」である。

【００５４】

薬学的に許容される担体：薬学的に許容される使用担体は従来のものである。Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，ｂｙ Ｅ．Ｗ．Ｍａｒｔｉｎ，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，ＰＡ，１９ｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ（１９９５）は、本明細書に開示される融合タンパク質の医薬送達に適した組成物及び製剤を記載している。

【００５５】

一般に、担体の性質は、使用されている特定の投与方法に依存する。例えば、非経口製剤は通常、ビヒクルとして、水、生理食塩水、平衡塩類溶液、水性デキストロース、グリセロールなどの薬学的及び生理学的に許容される流体を含む注射可能な流体を含む。固体組成物（例えば、粉末、ピル、錠剤、またはカプセル形態）の場合、従来の非毒性固体担体は、例えば、医薬品グレードのマンニトール、ラクトース、デンプン、またはステアリン酸マグネシウムを含み得る。生物学的に中性の担体に加えて、投与される医薬組成物は、湿潤剤または乳化剤、防腐剤、及びｐＨ緩衝剤など、例えば酢酸ナトリウムまたはモノラウリン酸ソルビタンなどの少量の非毒性補助物質を含むことができる。

【００５６】

ポリペプチド：モノマーがアミド結合を介して結合されたアミノ酸残基であるポリマー。アミノ酸がアルファアミノ酸である場合、Ｌ－光学異性体またはＤ－光学異性体のいずれかを使用することができ、Ｌ－異性体が好ましい。本明細書で使用される「ポリペプチド」または「タンパク質」という用語は、任意のアミノ酸配列を包含し、糖タンパク質などの修飾配列を含むことを意図している。「ポリペプチド」という用語は、特に、天然に存在するタンパク質、及び組換えまたは合成的に産生されるタンパク質を包含することを意図している。いくつかの例では、ペプチドは、本明細書に開示されるペプチドの１つまたは複数である。

【００５７】

精製された：「精製された」という用語は、絶対的な純度を必要としない。むしろ、相対的な用語として意図されている。したがって、例えば、精製されたタンパク質調製物は、言及されるタンパク質が、細胞内または生産反応チャンバー内（必要に応じて）の自然環境におけるタンパク質よりも純粋であるものである。

【００５８】

組換え：組換え核酸は、天然に存在しない配列を有するか、または配列の他の２つの方法で分離されたセグメントの人工的な組み合わせによって作製される配列を有するものである。この人工的な組み合わせは、多くの場合、化学合成によって、またはより一般的には、例えば遺伝子工学技術による、核酸の単離されたセグメントの人工的な操作によって達成する。

【００５９】

配列同一性：２つの核酸配列または２つのアミノ酸配列間の類似性は、配列間の類似性によって表され、さもなければ配列同一性と呼ばれる。配列の同一性はよく、同一性（または類似性または相同性）のパーセンテージで測定する。パーセンテージが高いほど、２つの配列の類似性はより高い。

【００６０】

比較のための配列のアラインメント方法は、当該技術分野で周知である。さまざまなプログラム及びアライメントアルゴリズムは、Ｓｍｉｔｈ＆Ｗａｔｅｒｍａｎ Ａｄｖ．Ａ

ｐｐｌ．Ｍａｔｈ．２：４８２，１９８１；Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ＆Ｗｕｎｓｃｈ Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４３，１９７０；Ｐｅａｒｓｏｎ＆Ｌｉｐｍａｎ Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：２４４４，１９８８；Ｈｉｇｇｉｎｓ＆Ｓｈａｒｐ Ｇｅｎｅ ７３：２３７－２４４，１９８８；Ｈｉｇｇｉｎｓ＆Ｓｈａｒｐ ＣＡＢＩＯＳ ５：１５１－１５３，１９８９；Ｃｏｒｐｅｔ ｅｔ ａｌ．Ｎｕｃ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．１６，１０８８１－９０，１９８８；Ｈｕａｎｇ ｅｔ ａｌ．Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ａｐｐｌｓ．Ｉｎ ｔｈｅ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ ８，１５５－６５，１９９２；及びＰｅａｒｓｏｎ ｅｔ ａｌ．Ｍｅｔｈ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏ．２４，３０７－３１，１９９４．Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．（Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－４１０，１９９０）に記載されており、配列アラインメント法と相同性計算の詳細な考察を示している。

【００６１】

ＮＣＢＩ Ｂａｓｉｃ Ｌｏｃａｌ Ａｌｉｇｎｍｅｎｔ Ｓｅａｒｃｈ Ｔｏｏｌ（ＢＬＡＳＴ）（Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－４１０，１９９０）は、米国国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ、メリーランド州ベセスダ）を含むいくつかの情報源から、及びインターネット上で、配列分析プログラムｂｌａｓｔｐ、ｂｌａｓｔｎ、ｂｌａｓｔｘ、ｔｂｌａｓｔｎ及びｔｂｌａｓｔｘに関連して使用するために入手できる。

【００６２】

作動可能に連結される：第１の核酸配列は、第１の核酸配列が第２の核酸配列との機能的関係へと配置されるとき、第２の核酸配列と「作動可能に連結される」。例えば、プロモーターは、そのプロモーターがコード配列の転写または発現に影響を及ぼす場合、コード配列に作動可能に連結される。一般に、作動可能に連結されるＤＮＡ配列は、同じリーディングフレームにおいて、隣接しており、必要な場合、２つのタンパク質コード領域を繋げるためのものである。

【００６３】

薬学的薬剤：対象または細胞に適切に投与されるときに所望される治療的作用または予防効果を誘導することができる化学化合物または組成物。

【００６４】

ベクター：宿主細胞に導入され、それによって形質転換された宿主細胞を産生する核酸分子。組換えＤＮＡベクターは組換えＤＮＡを有するベクターである。ベクターは、複製起点などの宿主細胞内での複製を可能にする核酸配列を含むことができる。ベクターはまた、１つ以上の選択可能なマーカー遺伝子及び当技術分野で知られている他の遺伝的要素を含むことができる。ウイルスベクターは、１つまたは複数のウイルスに由来する少なくとも一部の核酸配列を有する組換えＤＮＡベクターである。ベクターという用語には、プラスミド、線状核酸分子、そして全体で説明されているアデノウイルスベクター及びアデノウイルスが含まれる。

【００６５】

対象は脊椎動物を指す。脊椎動物は、哺乳動物、例えば、ヒトであり得る。対象はヒト患者であり得る。対象は、疾患または状態に罹患している、または罹患している疑いのある患者であり得、治療または診断を必要としている可能性があり、または疾患もしくは状態の進行を監視する必要がある可能性がある。患者はまた、有効性を監視する必要がある治療療法を受けている可能性がある。いくつかの例示的な実施形態において、対象は、アルツハイマー病、ハンチントン病またはプリオン病などのアミロイドーシス、または軽鎖（ＡＬ）アミロイドーシス及び２型糖尿病の患者に見られるような末梢アミロイドーシスに罹患している対象を含む。

【００６６】

治療するまたは治療という用語とは、疾患または病的状態の発症の兆候または症状を改善する治療的介入を指す。疾患または病的状態に関連する「改善する」という用語は、治療の観察可能な有益な効果を指す。有益な効果は、例えば、感受性のある対象における疾

患の臨床症状の発症の遅延、疾患の一部またはすべての臨床症状の重症度の低下、疾患の進行の遅延、対象の全体的な健康または幸福の改善、または特定の疾患に特有である当技術分野でよく知られている他のパラメーターによって証明することができる。「予防的」治療は、病状を発症するリスクを低減する目的で、疾患の兆候を示さないか、または初期の兆候のみを示す対象に投与される治療である。

【００６７】

好ましくは、同一ではない残基位置は、保存的アミノ酸置換によって異なる。「保存的アミノ酸置換」という用語は、類似した側鎖を有する残基の互換性を指す。例えば、脂肪族側鎖を有するアミノ酸の群は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、及びイソロイシンであり、脂肪族－ヒドロキシル側鎖を有するアミノ酸の群は、セリン及びスレオニンであり、アミド含有側鎖を有するアミノ酸の群は、アスパラギン及びグルタミンであり、芳香族側鎖を有するアミノ酸の群は、フェニルアラニン、チロシン、及びトリプトファンであり、塩基性側鎖を有するアミノ酸の群は、リジン、アルギニン、及びヒスチジンであり、硫黄含有側鎖を有するアミノ酸の群は、システイン及びメチオニンである。好ましい保存的アミノ酸置換基は、バリン－ロイシン－イソロイシン、フェニルアラニン－チロシン、リジン－アルギニン、アラニンバリン、グルタミン酸－アスパラギン酸、及びアスパラギン－グルタミンである。

【００６８】

本明細書において考察されるように、抗原受容体のアミノ酸配列のわずかな変化形は、本発明によって包含されることが企図されるが、但し、そのアミノ酸配列の変化形が、少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、９０％、９５％、最も好ましくは９９％を維持することを条件とする。具体的には、保存的アミノ酸置換が企図される。保存的置換は、それらの側鎖において関連するアミノ酸のファミリー内で起こる置換である。遺伝的にコードされたアミノ酸は一般的にファミリーに分けられる：（１）酸性アミノ酸は、アスパラギン酸、グルタミン酸であり、（２）塩基性アミノ酸は、リジン、アルギニン、ヒスチジンであり、（３）非極性アミノ酸は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファンであり、（４）無電荷極性アミノ酸は、グリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、スレオニン、チロシンである。親水性アミノ酸としては、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン、グルタミン酸、ヒスチジン、リジン、セリン、及びスレオニンが挙げられる。疎水性アミノ酸としては、アラニン、システイン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、トリプトファン、チロシン、及びバリンが挙げられる。アミノ酸の他のファミリーとしては、（ｉ）脂肪族ヒドロキシファミリーであるセリン及びスレオニン、（ｉｉ）アミド含有ファミリーであるアスパラギン及びグルタミン、（ｉｉｉ）脂肪族ファミリーであるアラニン、バリン、ロイシン、及びイソロイシン、ならびに（ｉｖ）芳香族ファミリーであるフェニルアラニン、トリプトファン、及びチロシンが挙げられる。例えば、ロイシンのイソロイシンまたはバリンとの、アスパラギン酸のグルタミン酸との、スレオニンのセリンとの単離された置換、またはアミノ酸の構造的に関連したアミノ酸との類似した置換は、特に、置換がフレームワーク部位内のアミノ酸に関与しない場合、結合または結果として得られる分子の特性に対して主要な影響を有さないと予想することが妥当である。アミノ酸変化が機能性ペプチドをもたらすかどうかは、ポリペプチド誘導体の特異的活性をアッセイすることによって容易に決定することができる。アッセイは、本明細書に詳細に記載されている。抗体または免疫グロブリン分子の断片または類似体は、当業者によって容易に調製することができる。フラグメントまたは類似体の好ましいアミノ末端及びカルボキシ末端は、機能ドメインの境界近くに存在する。構造的及び機能的ドメインは、ヌクレオチド及び／またはアミノ酸配列データを好適または専有配列データベースと比較することによって特定することができる。好ましくは、構造及び／または機能が既知である他のタンパク質内で生じる、配列モチーフまたは予想されるタンパク質立体構造ドメインを特定するために、コンピュータ化比較法が使用される。既知の三次元構造へと折り畳まれるタンパク質配列を特定するための方法は、既

知である（Ｂｏｗｉｅ ｅｔ ａｌ．Ｓｃｉｅｎｃｅ ２５３：１６４（１９９１）。したがって、前述の例は、当業者が、本発明に従う構造的及び機能的ドメインを定義するために使用することができる配列モチーフ及び構造的立体構造を認識できることを実証する。

【００６９】

好ましいアミノ酸置換は、（１）タンパク質分解に対する感受性を低減するもの、（２）酸化に対する感受性を低減するもの、（３）タンパク質複合体を形成するための結合親和性を変更するもの、（４）の結合親和性を変更するもの、（４）そのような類似体の他の物理化学的または機能的特性を与えるか、修飾するものである。類似体は、天然に存在するペプチド配列以外の、ある配列の様々な変異タンパク質を含み得る。例えば、単一または複数のアミノ酸置換（好ましくは保存的アミノ酸置換）は、天然に存在する配列において（例えば、分子内接触を形成するドメイン（複数可）の外部のポリペプチドの部分において）行われてもよい。保存的アミノ酸置換は、親配列の構造的特徴を実質的には変更しないだろう（好ましくは置換アミノ酸は、親配列において生じるヘリックスを切断する傾向も、親配列を特徴付ける他の種類の二次構造を妨害する傾向もないだろう）。芸術的に認められているポリペプチドの二次及び三次構造の例は、Ｐｒｏｔｅｉｎｓ，Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｓ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ（Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ，Ｅｄ．，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４））；Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ（Ｃ．Ｂｒａｎｄｅｎ ａｎｄ Ｊ．Ｔｏｏｚｅ，ｅｄｓ．，Ｇａｒｌａｎｄ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．（１９９１））；及びＴｈｏｒｎｔｏｎ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ ３５４：１０５（１９９１）に記載されている。

【００７０】

「フレームワーク」または「ＦＲ」は、ＣＤＲ残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのＦＲは、一般に、ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及びＦＲ４の４つのＦＲドメインからなる。したがって、ＣＤＲ及びＦＲ配列は、一般に、ＶＨ（またはＶＬ）において次の配列で現れる：ＦＲ１－Ｈ１（Ｌ１）－ＦＲ２－Ｈ２（Ｌ２）－ＦＲ３－Ｈ３（Ｌ３）－ＦＲ４；またはＦＲ１－ＣＤＲ－Ｈ１（Ｌ１）－ＦＲ２－ＣＤＲ－Ｈ２（Ｌ２）－ＦＲ３－ＣＤＲ３－Ｈ３（Ｌ３）－ＦＲ４。

【００７１】

ＩＩ．アミロイドに結合するキメラ受容体

ＡＬアミロイドーシスの患者に現在利用可能な不十分な治療オプションに照らして、組織アミロイドを効果的に除去するための代替アプローチが緊急に臨床的に必要とされている。したがって、本開示は、ＣＡＲ－Ｔリンパ球抗腫瘍技術をモデルにしたキメラ抗原受容体食細胞（ＣＡＲ－Ｐ）マクロファージ（「Ｍφ」）（Ｍｏｒｒｉｓｓｅｙ，Ｍ．Ａ．，ｅｔ ａｌ．，Ｅｌｉｆｅ，２０１８．７）の構築物の設計に部分的に基づいている。いくつかの実施形態では、キメラ抗原受容体は、以下の３つの機能領域を含むモジュール式の合成一本鎖タンパク質である：（ｉ）結合受容体（細胞外ドメイン）；（ｉｉ）スペーサー及び膜貫通領域、ならびに；（ｉｉｉ）細胞質シグナル伝達ドメイン（細胞内）（Ｚｈａｎｇ，Ｃ．，ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｍａｒｋ Ｒｅｓ，２０１７．５：ｐ．２２）。いくつかの実施形態において、切断可能なリーダー、またはシグナルペプチドは、タンパク質のＮ末端に配置されて、小胞体を通過するように指示し、原形質膜上での表示を促進する（例えば、図３を参照）。各「モジュール」は、細胞質シグナル伝達ドメイン、例えば、ＣＤ３ζドメインを介して誘発される、特定の標的結合及び所望の細胞応答を達成するためのタンパク質に由来し得る（Ｄａｎｉｙａｎ，Ａ．Ｆ．ａｎｄ Ｒ．Ｊ．Ｂｒｅｎｔｊｅｎｓ，Ｊ Ｌｅｕｋｏｃ Ｂｉｏｌ，２０１６．１００（６）：ｐ．１２５５－１２６４；Ｏｌｕｗｏｌｅ，Ｏ．Ｏ．ａｎｄ Ｍ．Ｌ．Ｄａｖｉｌａ，Ｊ Ｌｅｕｋｏｃ Ｂｉｏｌ，２０１６．１００（６）：ｐ．１２６５－１２７２）。一般に、細胞表面に発現したキメラ受容体が適切な標的に結合すると、ＣＡＲ提示細胞のクラスター化と活性化が起こる。

【００７２】
本明細書で詳細に説明するように、キメラ受容体（例えば、キメラ抗原受容体、または「ＣＡＲ」）構築物は、ＡＬアミロイドなどのアミロイドの食作用を特異的に認識及び促進するために設計された。構築物はマクロファージで発現し得る。実施例に記載されているように、ＣＡＲは、標的結合受容体としてアミロイド反応性単鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）またはアミロイド反応性合成ペプチドのいずれかを組み込んで設計された（例えば、図１及び図６；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，２０１５．２０（５）：ｐ．７６５７－８２；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ，２０１８．１１５（４６）：ｐ．Ｅ１０８３９－Ｅ１０８４８を参照）。アミロイドは無細胞性の壊滅的な病状であり、したがって腫瘍細胞に関連する「私を食べない」タンパク質を欠いていることを考えると、アミロイドはこのアプローチの優れた未開発の標的であると考えられている（例えば、ＣＤ４７（Ｇｕ，Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｒｅｓ，２０１８．２０１８：ｐ．６１５６７５７；Ｒｕｓｓ，Ａ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ　Ｒｅｖ，２０１８．３２（６）：ｐ．４８０－４８９；Ｔｏｎｇ，Ｂ．ａｎｄ　Ｍ．Ｗａｎｇ，Ｆｕｔｕｒｅ　Ｏｎｃｏｌ，２０１８．１４（２１）：ｐ．２１７９－２１８８を参照）及びＭＨＣクラスＩ（Ｂａｒｋａｌ，Ａ．Ａ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ　Ｉｍｍｕｎｏｌ，２０１８．１９（１）：ｐ．７６－８４を参照）。さらに、アミロイドは血管系から容易にアクセスできる。

【００７３】
本明細書で提供されるのは、アミロイド（例えば、ヒトアミロイド原線維）に結合するキメラ受容体である。いくつかの実施形態では、キメラ受容体は、活性化されると食細胞（例えば、マクロファージ）を活性化する受容体のシグナル伝達ドメインを含む細胞質ドメイン；膜貫通ドメイン；及びアミロイド結合領域を含む細胞外ドメインを含む。

【００７４】
Ａ．アミロイド結合領域を含む細胞外ドメイン
本明細書で提供されるのは、細胞外ドメインを含むキメラ受容体である。いくつかの実施形態では、細胞外ドメインは、ヒトアミロイド原線維のエピトープなどの領域と相互作用するか、そうでなければ結合する領域を含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるアミロイド結合領域は、アミロイド沈着物または原線維（例えば、ヒトアミロイド沈着物または原線維）に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、アミロイド中の１つ以上のアミロイド形成ペプチドに結合する。いくつかの実施形態では、アミロイド結合領域によって結合されるアミロイドは、アミロイド形成性λ６可変ドメインタンパク質（Ｖλ６Ｗｉｌ）もしくはアミロイド形成性免疫グロブリン軽鎖（ＡＬ）、Ａβ（１－４０）アミロイド様原線維もしくはアミロイド形成性Ａβ前駆体タンパク質、または血清アミロイドプロテインＡ（ＡＡ）を含む。他の実施形態では、アミロイド結合領域によって結合されるアミロイドは、アミロイド形成型の免疫グロブリン重鎖（ＡＨ）、β_2－ミクログロブリン（Ａβ_2Ｍ）、トランスチレチン変異体（ＡＴＴＲ）、アポリポタンパク質ＡＩ（ＡＡｐｏＡＩ）、アポリポタンパク質ＡＩＩ（ＡＡｐｏＡＩＩ）、ゲルゾリン（ＡＧｅｌ）、リゾチーム（ＡＬｙｓ）、白血球走化性因子（ＡＬｅｃｔ２）、フィブリノーゲン変異体（ＡＦｉｂ）、シスタチン変異体（ＡＣｙｓ）、カルシトニン（（ＡＣａｌ）、ラクタドヘリン（ＡＭｅｄ）、膵島アミロイドポリペプチド（ＡＩＡＰＰ）、プロラクチン（ＡＰｒｏ）、インスリン（ＡＩｎｓ）、プリオンタンパク質（ＡＰｒＰ）；α－シヌクレイン（ＡαＳｙｎ）、タウ（ＡＴａｕ）、心房ナトリウム利尿因子（ＡＡＮＦ）、またはＩＡＡＰ、ＡＬκ４、Ａｌλ１、その他のアミロイド形成ペプチドを含む。アミロイド結合領域によって結合されるアミロイド形成ペプチドは、タンパク質、タンパク質フラグメント、またはタンパク質ドメインであり得る。いくつかの実施形態において、アミロイド沈着物またはアミロイド原線維は、組換えアミロイド形成タンパク質を含む。いくつかの実施形態において、アミロイドは、疾患の病理の一部である。

【００７５】

１．アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含むアミロイド結合領域
本明細書で提供されるのは、細胞外ドメインを含むキメラ受容体であり、細胞外ドメインは、アミロイド結合領域を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、表Ａに記載されるようなアミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、表Ａに示すように、Ｐ５、Ｐ５Ｒ、Ｐ５Ｇ、Ｐ８、Ｐ９、Ｐ１９、Ｐ２０、Ｐ３１、Ｐ３７、Ｐ３９、Ｐ４２、Ｐ４３、Ｐ４４、Ｐ４８、Ｐ５０、Ｐ５８、Ｐ５＋１４、またはｐ５Ｒ＋１４のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドは、表Ａに示すように、Ｐ５、Ｐ５Ｒ、Ｐ５Ｇ、Ｐ８、Ｐ９、Ｐ１９、Ｐ２０、Ｐ３１、Ｐ３７、Ｐ３９、Ｐ４２、Ｐ４３、Ｐ４４、Ｐ４８、Ｐ５０、Ｐ５８、Ｐ５＋１４、またはｐ５Ｒ＋１４である。特定の理論に拘束されることを望まないが、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、キメラ受容体をアミロイド沈着物に標的化すると考えられている。

【表１】

表Ａ．アミロイド結合ペプチド配列の例

ペプチド	一次配列：	配列番号
P5	KAQKA QAKQA KQAQK AQKAQ AKQAK Q	配列番号1
P5R	RAQRA QARQA RQAQR AQRAQ ARQAR Q	配列番号2
P5G	GAQGA QAGQA GQAQG AQGAQ AGQAG Q	配列番号3
P8	KAKAK AKAKA KAKAK	配列番号4
P9	KAQAK AQAKA QAKAQ AKAQA KAQAK AQAK	配列番号5
P19	KAQQA QAKQA QQAQK AQQAQ AKQAQ Q	配列番号6
P20	QAQKA QAQQA KQAQQ AQKAQ AQQAK Q	配列番号7
P31	KAQKA QAKQA KQAQK AQKAQ AKQAK Q	配列番号8
P37	KTVKT VTKVT KVTVK TVKTV TKVTK V	配列番号9
P39	[KAQKA QAKQA KQAQK AQKAQ AKQAK Q]$_D$	配列番号10
P42	V[Y]$_D$KVK TKVKT KVKTK VKT	配列番号11
P43	[AQA]$_D$YS KAQKA QAKQA KQAQK AQKAQ AKQAK Q	配列番号12
P44	[AQA]$_D$YA RAQRA QARQA RQAQR AQRAQ ARQAR Q	配列番号13
P48	AQA[YS KAQKA QAKQA KQAQK AQKAQ AKQAK Q]$_D$	配列番号14
P50	AQAYS KAQKA QAKQA KQAQK AQKAQ AKQAK Q	配列番号15
P58	AQA[Y]$_D$S KAQKA QAKQA KQAQK AQKAQ AKQAK Q	配列番号16
P5+14	KAQKA QAKQA KQAQK AQKAQ AKQAK QAQKA QKAQA KQAKQ	配列番号17
p5R+14	RAQRA QARQA RQAQR AQRAQ ARQAR QAQRA QRAQA RQARQ	配列番号18

ここで、Ｄ＝「Ｄ型」エナンチオマー。

【００７６】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載のキメラ受容体のアミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１～１８のいずれか１つに示されるアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、８５％、９０％またはそれ以上の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、例えば、配列番号１～１８のいずれか１つに示されるアミノ酸配列に対して少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、約１０から約５５アミノ酸を含むか、または約１０から約５５アミノ酸からなる。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３

８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、または５５アミノ酸を含むか、またはそれらからなる。そのようなペプチドは、例えば、国際公開番号ＷＯ２０１６０３２９４９に記載されており、その全体が本明細書に組み込まれる。

【００７７】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたは機能的フラグメントは、配列番号１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号１のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１から５個のアミノ酸が配列番号１で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００７８】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号２のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号２のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号２のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１から５個のアミノ酸が配列番号２で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００７９】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号３のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号３のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号３のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号３のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１から５個のアミノ酸が配列番号３で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００８０】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号４のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号４のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号４のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号４のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１から５個のアミノ酸が配列番号４で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００８１】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメント

は、配列番号５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号５のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号５のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号５のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１から５個のアミノ酸が配列番号５で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００８２】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号６のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号６のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１から５個のアミノ酸が配列番号６で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００８３】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号７のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号７のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１から５個のアミノ酸が配列番号７で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００８４】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号８のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号８のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号８のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号８のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１から５個のアミノ酸が配列番号８で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００８５】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号９のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号９のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号９のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号９のアミノ酸配列

を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１から５個のアミノ酸が配列番号９で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００８６】

いくつかの実施形態では、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１０のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１０のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１０のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号１０のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１から５個のアミノ酸が配列番号１０で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００８７】

いくつかの実施形態では、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１１のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号１１のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１～５個のアミノ酸が、配列番号１１内で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００８８】

いくつかの実施形態では、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１２のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１２のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１２のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号１２のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１～５個のアミノ酸が、配列番号１２内で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００８９】

いくつかの実施形態では、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１３のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１３のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１３のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号１３のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１～５個のアミノ酸が、配列番号１３内で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００９０】

いくつかの実施形態では、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１４のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプ

チドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１４のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１４のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号１４のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１～５個のアミノ酸が、配列番号１４内で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００９１】

いくつかの実施形態では、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１５のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１５のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号１５のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１～５個のアミノ酸が、配列番号１５内で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００９２】

いくつかの実施形態では、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１６のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１６のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号１６のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１～５個のアミノ酸が、配列番号１６内で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００９３】

いくつかの実施形態では、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１７のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号１７のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１～５個のアミノ酸が、配列番号１７内で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００９４】

いくつかの実施形態では、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１８のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１８のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１８のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号１８のアミノ酸配列を含むアミロイド結合ペプチドとしてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸

配列を含む。特定の実施形態において、合計１～５個のアミノ酸が、配列番号１８内で置換、挿入、及び／または欠失された。

【００９５】

いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、複数のアミロイド結合ペプチドを含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドは、アレイに（すなわち、次々に）編成されている。

【００９６】

アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントの全部または一部を形成するアミノ酸は、天然に存在するアミノ酸、非天然に存在するアミノ酸、翻訳後修飾アミノ酸、酵素的に合成されたアミノ酸、誘導体化アミノ酸、アミノ酸を模倣するように設計された構築物または構造などの立体異性体及び修飾であり得る。本発明のペプチドを形成するアミノ酸は、天然に存在するタンパク質に見られる２０の一般的なアミノ酸の１つまたは複数、または修飾された異常なアミノ酸の１つまたは複数であり得る。

【００９７】

いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、球状タンパク質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、球状タンパク質ドメインは、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを受容体の膜貫通ドメインから離れて、したがってキメラ受容体を含む細胞の表面から離れて配置するためのスペーサーとして機能する。いくつかの実施形態において、球状タンパク質ドメインは、長さが約１００、１０１、１０２、１０３、１０４、１０５、１０６、１０７、１０８、１０９、１１０、１１１、１１２、１１３、１１４、または１１５アミノ酸である。いくつかの実施形態では、球状タンパク質ドメインは免疫グロブリンドメインである。いくつかの実施形態では、球状タンパク質ドメインは不活性である。いくつかの実施形態において、球状タンパク質ドメインは、基質に対する特異的結合を欠いている。いくつかの実施形態において、球状タンパク質ドメインは、重鎖定常ドメインまたはそのフラグメント、例えば、ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントである。いくつかの実施形態において、球状タンパク質ドメインは、蛍光タンパク質、例えば、ＧＦＰである。いくつかの実施形態において、球状タンパク質ドメインは、担体タンパク質である。

【００９８】

いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、免疫グロブリン定常ドメインまたはそのフラグメントをさらに含む。いくつかの実施形態では、細胞外ドメインが重鎖定常ドメインまたはそのフラグメントを含む。いくつかの実施形態では、細胞外ドメインがＣＨ２またはそのフラグメントを含む。いくつかの実施形態では、ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントは、マウスＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントである。いくつかの実施形態では、ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントは、ヒトＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントである。いくつかの実施形態では、ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントは、ＩｇＧ２　ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントである。

【００９９】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、免疫グロブリン定常ドメインまたはそのフラグメントに直接または間接的に結合している。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、重鎖定常ドメインまたはそのフラグメントに直接または間接的に結合している。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントに直接または間接的に結合している。いくつかの実施形態では、ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントは、マウスＣＨ２ドメインである。いくつかの実施形態では、ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントは、ヒトＣＨ２ドメインである。いくつかの実施形態では、ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントは、ＩｇＧ２　ＣＨ２ドメインである。いくつかの実施形態では、ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントは、ｐＦｕｓｅベクターに由来する。

【０１００】

いくつかの実施形態において、ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントは、表２または表３に示されるＣＨ２ドメイン配列に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１０１】

いくつかの実施形態では、ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントは、配列番号３３のアミノ酸セットを含む。いくつかの実施形態において、ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントは、配列番号３３に示されるアミノ酸に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントは、配列番号３３のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、ＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントは、配列番号３３のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１０個のアミノ酸が、配列番号３３で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１０２】

いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、スペーサーに結合されたアミロイド結合領域を含む。いくつかの実施形態において、スペーサーは、アミロイド結合領域のＮ末端及び／またはＣ末端である。いくつかの実施形態では、スペーサーは、約３から約５５アミノ酸を含むか、または約３から約５５アミノ酸からなる。本発明のスペーサーペプチドは、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、または５５アミノ酸を含み得るか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態において、スペーサーの長さは、約３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、５０、１００、または１５５（これらの値の間の任意の値または範囲を含む）アミノ酸である。いくつかの実施形態では、スペーサーは、柔軟なリンカーである。いくつかの実施形態では、スペーサーは帯電していない。いくつかの実施形態において、スペーサーは、グリシンセリンリンカーである。いくつかの実施形態では、スペーサーは、ＶＴＰＴＶ（配列番号３６）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、スペーサーに結合したアミロイド結合領域は、配列番号３２のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、スペーサーに結合したアミロイド結合領域は、配列番号３９のアミノ酸配列を含む。

【０１０３】

いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、Ｎ末端分泌リーダー配列を含む。いくつかの実施形態において、Ｎ末端分泌リーダー配列は、ＣＤ８のフラグメントを含む。いくつかの実施形態において、Ｎ末端分泌リーダー配列は、ＣＤ８ヒンジドメインのフラグメントを含む。いくつかの実施形態において、Ｎ末端分泌リーダー配列は、配列番号３８のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、Ｎ末端分泌リーダーは、配列番号３８に示されるアミノ酸に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１０４】

いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、Ｎ末端からＣ末端まで、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含むアミロイド結合領域、及び定常ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、Ｎ末端からＣ末端まで、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含むアミロイド結合領域、スペーサー、及び定常ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含むアミロイド結合領域、スペーサー、及び定常ドメインを含む。いくつ

かの実施形態において、細胞外ドメインは、Ｎ末端からＣ末端まで、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含むアミロイド結合領域、及びＣＨ２ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、Ｎ末端からＣ末端まで、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含むアミロイド結合領域、スペーサー、及びＣＨ２ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含むアミロイド結合領域、スペーサー、及びＣＨ２ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含むアミロイド結合領域、スペーサー、ＣＨ２ドメイン、及び第２のスペーサーを含む。

【０１０５】

いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、表２に示されるようなアミロイド結合領域を含む（例えば、表２に示されるｐ５＋１４スペーサー及びＣＨ２ドメインのアミノ酸配列を含む）。

【０１０６】

一部の実施形態では、細胞外ドメインは、配列番号３７のアミノ酸配列を含むアミロイド結合領域を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域が、配列番号３７に示されるアミノ酸に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、配列番号３７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合領域は、配列番号３７のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号３７のアミノ酸配列を含むアミロイド結合領域としてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号３７で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１０７】

いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、表３に示されるようなアミロイド結合領域を含む（例えば、表３に示される「最終ＣＡＲ－Ｐ構築物」の細胞外ドメインを含む）。

【０１０８】

一部の実施形態では、細胞外ドメインは、配列番号４４のアミノ酸配列を含むアミロイド結合領域を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域が、配列番号４４に示されるアミノ酸に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、配列番号４４のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合領域は、配列番号４４のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号４４のアミノ酸配列を含むアミロイド結合領域としてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号４４で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１０９】

特定の例示的な実施形態において、同じもしくは異なるアミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントの複数は、細胞外ドメインに結合することができる。

【０１１０】

２．ヒトアミロイド原線維に結合する抗体に由来するアミロイド結合領域

本明細書で提供されるのは、細胞外ドメインを含むキメラ受容体であり、細胞外ドメインは、アミロイド結合領域を含む。いくつかの実施形態では、アミロイド結合領域は、抗体またはその抗原結合フラグメントである。いくつかの実施形態において、アミロイド結

合領域は、重鎖可変領域（ＶＨ）を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、１１－１Ｆ４抗体フラグメントを含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、１１－１Ｆ４に由来する。

【０１１１】

いくつかの実施形態では、アミロイド結合領域は、表Ｂに示されるように、抗体１１－１Ｆ４の１、２、３、４、５、または６つのＣＤＲを含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、抗体１１－１ＦのＶＨ及び／またはＶＬを含む。

【表２】

表Ｂ．１１－１Ｆ４ＣＤＲのアミノ酸配列

11-1F4 CDR	アミノ酸配列	配列番号
CDR-L1	RSSQSLVHRNGNTYLH	24
CDR-L2	KVSNRFS	25
CDR-L3	FQTTYVPNT	26
CDR-H1	GFSLSSYGVS	21
CDR-H2	VIWGDGSTNYHPNLMS	22
CDR-H3	LDY	23

【０１１２】

特定の実施形態では、アミロイド結合領域は、（ａ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２、及び（ｃ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨを含む。

【０１１３】

特定の実施形態では、アミロイド結合領域は、（ａ）配列番号２４のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２、及び（ｃ）配列番号２６のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬを含む。

【０１１４】

一実施形態では、アミロイド結合領域は、配列番号１９のアミノ酸配列を含むＶＬ、及び配列番号２０のアミノ酸配列を含むＶＨを含む。

【０１１５】

一実施形態では、アミロイド結合領域は、配列番号３４のアミノ酸配列を含むＶＬ、及び配列番号３５のアミノ酸配列を含むＶＨを含む。

【０１１６】

別の態様において、アミロイド結合領域は、配列番号２１のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２、及び配列番号２３のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含むＶＨ；配列番号２４のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、配列番号２５のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２、及び配列番号２６のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３を含むＶＬを含む。

【０１１７】

別の態様では、アミロイド結合領域は、配列番号２０に示される配列を有するＶＨのＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３、ならびに、配列番号１９に記載の配列を有するＶＬのＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬを含む。

【０１１８】

別の態様では、アミロイド結合領域は、配列番号３５に示される配列を有するＶＨのＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ　ＣＤＲ３、ならびに、配列番号３５に記載の配列を有するＶＬのＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬを含む。

【０１１９】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、配列番号２０のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するＶＨ配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合領域は、配列番号２０のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号２０のアミノ酸配列を含むＶＨを含むアミロイド結合領域としてアミロイドを結合する能力を保持するＶＨ配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１３個のアミノ酸が、配列番号２０で置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、ＣＤＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。特定の実施形態では、アミロイド結合領域は、（ａ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２、及び（ｃ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３から選択される、１、２、または３つのＣＤＲを含むＶＨを含む。

【０１２０】

別の態様において、アミロイド結合領域は、配列番号１９のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するＶＬを含む。特定の実施形態において、アミロイド結合領域は、配列番号１９のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号１９のアミノ酸配列を含むＶＬを含むアミロイド結合領域としてアミロイドを結合する能力を保持するＶＬ配列を含む。ある特定の実施形態において、合計１～１１個のアミノ酸が、配列番号１９内で置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、ＣＤＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。特定の実施形態では、アミロイド結合領域は、（ａ）配列番号２４のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２、及び（ｃ）配列番号２６のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３から選択される、１、２、または３つのＣＤＲを含むＶＬを含む。

【０１２１】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、配列番号３５のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するＶＨ配列を含む。特定の実施形態において、アミロイド結合領域は、配列番号３５のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号３５のアミノ酸配列を含むＶＨを含むアミロイド結合領域としてアミロイドを結合する能力を保持するＶＨ配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１３個のアミノ酸が、配列番号３５で置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、ＣＤＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。特定の実施形態では、アミロイド結合領域は、（ａ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２、及び（ｃ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３から選択される、１、２、または３つのＣＤＲを含むＶＨを含む。

【０１２２】

別の態様において、アミロイド結合領域は、配列番号３４のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するＶＬを含む。特定の実施形態において、アミロイド結合領域は、配列番号３４のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号３４のアミノ酸配列を含むＶＬを含むアミロイド結合領域としてアミロイドを結合する能力を保持するＶＬ配列を含む。ある特定の実施形態において、合計１～１１個のアミノ酸が、配列番号３４内で置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、ＣＤＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。特定の実施形態では、アミロイド結合領域は、（ａ）配列番号２４のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２、及び（ｃ）配列番号２６のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３から選択

される、１、２、または３つのＣＤＲを含むＶＬを含む。
【０１２３】
いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、１つ以上の保存的アミノ酸置換を有する抗体１１－１Ｆ４の１、２、３、４、５、または６つのＣＤＲを含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、１つ以上の保存的アミノ酸置換を有する抗体１１－１Ｆ４のＶＨ及び／またはＶＬを含む。
【０１２４】
いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、軽鎖可変領域（ＶＬ）及び重鎖可変領域（ＶＨ）を含み、ＶＬは、１つ以上の保存的アミノ酸置換を有する配列番号２４に示されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、１つ以上の保存的アミノ酸置換を有する配列番号２５に示されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２、及び１つ以上の保存的アミノ酸置換を有する配列番号２６に示されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３を含み、ＶＨは、１つ以上の保存的アミノ酸置換を有する配列番号２１に示されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１、１つ以上の保存的アミノ酸置換を有する配列番号２２に示されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２、及び１つ以上の保存的アミノ酸置換を有する配列番号２３に示されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、ＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、及びＣＤＲ－Ｈ３、ならびにＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、及びＣＤＲ－Ｌ３を含み、ＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、及びＣＤＲ－Ｈ３はそれぞれ、１つ以上の保存的アミノ酸置換を有する配列番号２０に示される配列を有するＶＨのＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２、及びＣＤＲ－Ｈ３のアミノ酸配列を含み、ＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、及びＣＤＲ－Ｌ３はそれぞれ、１つ以上の保存的アミノ酸置換を有する配列番号１９に示される配列を有するＶＬのＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、及びＣＤＲ－Ｌ３のアミノ酸配列を含む。
【０１２５】
いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、ヒト化抗体フラグメント（例えば、１１－１Ｆ４のヒト化フラグメント）を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、１１－１Ｆ４に由来するヒト化ｓｃＦｖを含む。
【０１２６】
いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、リンカーによって融合されたＶＨ及びＶＬを含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、ｓｃＦｖリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、約３から約５５アミノ酸を含むか、または約３から約５５アミノ酸からなる。本発明のリンカーペプチドは、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、または５５アミノ酸を含み得るか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態において、リンカーの長さは、約３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、５０、１００、または１５５（これらの値の間の任意の値または範囲を含む）アミノ酸である。いくつかの実施形態では、リンカーは、柔軟なリンカーである。いくつかの実施形態において、リンカーは帯電していない。いくつかの実施形態において、リンカーは、グリシンセリンリンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、配列番号２７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、Ｎ末端からＣ末端まで、ＶＬ、リンカー、及びＶＨを含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、Ｎ末端からＣ末端まで、ＶＨ、リンカー、及びＶＬを含む。
【０１２７】
いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、スペーサーに結合されたアミロイド結合領域を含む。いくつかの実施形態において、スペーサーは、アミロイド結合領域のＮ末端及び／またはＣ末端である。いくつかの実施形態では、スペーサーは、約３から約５５アミノ酸を含むか、または約３から約５５アミノ酸からなる。本発明のスペーサーペプ

チドは、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、または５５アミノ酸を含み得るか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態において、スペーサーの長さは、約３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、５０、１００、または１５５（これらの値の間の任意の値または範囲を含む）アミノ酸である。いくつかの実施形態では、スペーサーは、柔軟なリンカーである。いくつかの実施形態では、スペーサーは帯電していない。いくつかの実施形態において、スペーサーは、グリシンセリンリンカーである。いくつかの実施形態では、スペーサーは、配列番号５６のアミノ酸配列を含む。

【０１２８】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、Ｎ末端分泌リーダー配列を含む。いくつかの実施形態において、Ｎ末端分泌リーダー配列は、切断可能なＮ末端分泌リーダー配列である。いくつかの実施形態において、Ｎ末端分泌リーダー配列は、ＣＤ８α鎖のフラグメント、例えば、マウスＣＤ８α鎖のフラグメントを含む。いくつかの実施形態において、Ｎ末端分泌リーダー配列は、マウスＣＤ８α鎖の残基１～２７（例えば、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ　Ｎｏ．Ｐ０１７３１［ＣＤ８Ａ＿ＭＯＵＳＥ］の残基１～２７）を含む。いくつかの実施形態において、Ｎ末端分泌リーダー配列は、配列番号２８のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、Ｎ末端分泌リーダー配列は、配列番号２８に示されるアミノ酸に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、ＶＬ、リンカー、及びＶＨを含む。いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、ＶＨ、リンカー、及びＶＬを含む。

【０１２９】

いくつかの実施形態では、アミロイド結合領域は、単鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）である。いくつかの実施形態では、ｓｃＦｖは、ＶＨ及びＶＬを含む。いくつかの実施形態では、ＶＨ及び／またはＶＬは、本明細書に記載のＶＨ及びＶＬのいずれか１つである。いくつかの実施形態では、ｓｃＦｖは、配列番号１９のアミノ酸配列を含むＶＬ、及び配列番号２０のアミノ酸配列を含むＶＨを含む。いくつかの実施形態では、ｓｃＦｖは、配列番号３５のアミノ酸配列を含むＶＬ、及び配列番号３５のアミノ酸配列を含むＶＨを含む。いくつかの実施形態において、ｓｃＦｖは、Ｎ末端からＣ末端まで、ＶＬ、リンカー、及びＶＨを含む。いくつかの実施形態において、リンカーは、配列番号２７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ｓｃＦｖは、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、ＶＬ、リンカー、及びＶＨを含む。いくつかの実施形態において、Ｎ末端分泌リーダー配列は、配列番号２８のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、Ｎ末端分泌リーダー配列は、配列番号２８に示されるアミノ酸に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１３０】

いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、ｓｃＦｖを含むアミロイド結合領域を含む。いくつかの実施形態では、ｓｃＦｖは、配列番号４７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ｓｃＦｖが、配列番号４７に示されるアミノ酸に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ｓｃＦｖは、配列番号４７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、ｓｃＦｖは、配列番号４７のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号４７のアミノ酸配列を含むアミロイド結合

領域としてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号４７で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１３１】

いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、ｓｃＦｖを含むアミロイド結合領域を含む。いくつかの実施形態では、ｓｃＦｖは、配列番号４８のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ｓｃＦｖが、配列番号４８に示されるアミノ酸に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ｓｃＦｖは、配列番号４８のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、ｓｃＦｖは、配列番号４８のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号４８のアミノ酸配列を含むアミロイド結合領域としてアミロイドを結合する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号４８で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１３２】

いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、Ｎ末端からＣ末端まで、ＶＬ、リンカー、ＶＨ、及びスペーサーを含む。いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、Ｎ末端からＣ末端まで、ＶＨ、リンカー、ＶＬ、及びスペーサーを含む。いくつかの実施形態において、細胞外ドメインは、Ｎ末端からＣ末端まで、ｓｃＦｖ及びスペーサーを含む。細胞外ドメインの例示的な構造が図６に示されている（例えば、図（ｉ）１１－１Ｆ４を参照）。

【０１３３】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、約１００、１０、１、０．１、０．０１μＭ未満の解離定数（K_d）でヒトアミロイド原線維に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、約０．０１、０．０５、０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、５０、７５、または１００μＭ（これらの値の間の任意の値または範囲を含む）である解離定数（K_d）でヒトアミロイド原線維に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、５００、１００、１０、または１ｎＭ未満の解離定数（K_d）でヒトアミロイド原線維に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、約５、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、２５０、５００、７５０、１０００、２０００、または２２００ｎＭ未満の解離定数（K_d）でヒトアミロイド原線維に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、約５、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、２５０、５００、７５０、１０００、２０００、または２２００ｎＭ（これらの値の間の任意の値または範囲を含む）である解離定数（K_d）でヒトアミロイド原線維に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、約４０～５０ｎＭの解離定数（K_d）でヒトアミロイド原線維に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、４０～５０ｎＭの解離定数（K_d）でヒトアミロイド原線維に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、５０ｎＭ未満の解離定数（K_d）でヒトアミロイド原線維に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、ヒトアミロイド原線維に結合するｃ１１－１Ｆ４のK_dよりも小さい解離定数（K_d）でヒトアミロイド原線維に結合する。

【０１３４】

いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、約０．０１、０．１、または１μＭ未満の抗体濃度（EC_{50}）で最大の半分の結合でヒトアミロイド原線維に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、約０．０１、０．０５、０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１、２、３、４

、５、６、７、８、９、または１０μＭ（これらの値の間の任意の値または範囲を含む）である抗体濃度（ＥＣ$_{50}$）で最大の半分の結合でヒトアミロイド原線維に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、約１、１０、１００、または１０００ｎＭ未満の抗体濃度（ＥＣ$_{50}$）で最大の半分の結合でヒトアミロイド原線維に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、約１、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００、１００、２５０、５００、７５０、または１０００ｎＭ（これらの値の間の任意の値または範囲を含む）である抗体濃度（ＥＣ$_{50}$）で最大の半分の結合でヒトアミロイド原線維に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、約１７ｎＭ、７ｎＭ、１６ｎＭ、７５ｎＭ、または９５ｎＭの抗体濃度（ＥＣ$_{50}$）で最大の半分の結合でヒトアミロイド原線維に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、約１０ｎＭ、２０ｎＭ、８０ｎＭ、または１００ｎＭ未満の抗体濃度（ＥＣ$_{50}$）で最大の半分の結合でヒトアミロイド原線維に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド結合領域は、ヒトアミロイド原線維に結合するｃ１１－１Ｆ４のＥＣ$_{50}$よりも低い抗体濃度（ＥＣ$_{50}$）で最大の半分の結合でヒトアミロイド原線維に結合する。

【０１３５】

解離定数及びＥＣ$_{50}$を計算するための方法は、当技術分野で知られており、例えば、表面プラズモン共鳴及びＥｕＬＩＳＡを含む。いくつかの実施形態において、解離定数は、例えば、表面プラズモン共鳴を使用して、Ｌｅｎ（１～２２）モノマーペプチドへの結合を測定することによって決定される。いくつかの実施形態において、ＥＣ$_{50}$は、ＥｕＬＩＳＡを使用して決定される。いくつかの実施形態において、ＥＣ$_{50}$は、ＥｕＬＩＳＡを使用して決定され、ｒＶλ６Ｗｉｌ原線維、Ｐｅｒ１２５　ｗｔＡＴＴＲ抽出物、Ｋｅｎ　ＡＴＴＲ抽出物、ＳＨＩ　ＡＬλ肝臓抽出物、またはＴＡＬ　ＡＬκ肝臓抽出物への結合レベルを測定する。

【０１３６】

Ｂ．膜貫通ドメイン

本明細書で提供されるのは、膜貫通ドメインを含むキメラ受容体である。いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、細胞外ドメインを細胞質ドメインに接続する。

【０１３７】

膜貫通ドメインは、天然源または合成源のいずれかに由来し得る。タンパク質の由来が天然源であるいくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは、任意の膜結合タンパク質または膜貫通タンパク質に由来し得る。いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、Ｔ細胞受容体、ＣＤ２８、ＣＤ３イプシロン、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ８、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ３７、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５４、トール様受容体１（ＴＬＲ１）、ＴＬＲ２、ＴＬＲ３、ＴＬＲ４、ＴＬＲ５、ＴＬＲ６、ＴＬＲ７、ＴＬＲ８、及びＴＬＲ９のアルファ、ベータ、またはゼータ鎖に由来する（すなわち、少なくともそれらの膜貫通領域を含む）。いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、ヒンジ、例えば、ヒトＩｇ（免疫グロブリン）ヒンジを含む。

【０１３８】

いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、Ｎ末端スペーサー（例えば、図６に図解されるように、細胞外ドメインと膜貫通ドメインとの間のスペーサー）に融合される。いくつかの実施形態では、スペーサーは、約３から約５５アミノ酸を含むか、または約３から約５５アミノ酸からなる。本発明のスペーサーペプチドは、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、または５５アミノ酸を含み得るか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態において、スペーサーの長さは、約３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、

１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、５０、１００、または１５５（これらの値の間の任意の値または範囲を含む）アミノ酸である。いくつかの実施形態では、スペーサーは、柔軟なリンカーである。いくつかの実施形態では、スペーサーは帯電していない。いくつかの実施形態において、スペーサーは、グリシンセリンリンカーである。いくつかの実施形態では、スペーサーは、配列番号４６のアミノ酸配列を含む。

【０１３９】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは、表１に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは、表３に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは、ＣＤ８に由来する。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは、ＣＤ８α鎖に由来する。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは、マウスＣＤ８α鎖に由来する。いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、マウスＣＤ８α鎖からの残基１４８～２１８（例えば、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ　Ｎｏ．Ｐ０１７３１の残基１４８～２１８）を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは、配列番号２９のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、配列番号２９のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは、配列番号４０のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、配列番号４０のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは、ヒトＣＤ８α鎖に由来する。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは、配列番号５７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、配列番号５７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１４０】

いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、合成膜貫通ドメインである。膜貫通ドメインが合成であるいくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、ロイシン及びバリンなどの主に疎水性残基を含む。いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、合成膜貫通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。

【０１４１】

Ｃ．細胞質ドメイン

本明細書で提供されるのは、細胞質ドメインを含むキメラ受容体である。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、活性化されると食細胞（例えば、マクロファージ）を活性化する受容体のシグナル伝達ドメインを含む。

【０１４２】

いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、食作用シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）を含む（例えば、Ｍｏｒｒｉｓｓｅｙ，Ｍ．Ａ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｅｌｉｆｅ，２０１８．７を参照）。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、ＣＤ１９のフラグメントまたは領域を含む。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、ＣＤ３ζのフラグメントまたは領域を含む。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、ＦｃＲのフラグメントまたは領域、例えば、ＦｃＲγサブユニットを含む。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、ＣＤ１９、ＣＤ３ζ、及び／またはＦｃＲに由来する。例示的な細胞質ドメインは、Ｍｏｒｒｉｓｓｅｙ，Ｍ．Ａ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｅｌｉｆｅ，２０１８．７にさらに記載されている。

【０１４３】

いくつかの実施形態において、細胞質ドメインが、細胞質ドメインＩ、細胞質ドメイン

ＩＩ、またはそれらの機能的フラグメントを含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインが、表１または表３に示される細胞質ドメインＩまたは細胞質ドメインＩＩの配列に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０１４４】

いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、ＣＤ１９に由来する。いくつかの実施形態において、ＣＤ１９に由来する細胞質ドメインは、「細胞質ドメインＩ」と呼ばれる。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、マウスＣＤ１９に由来する。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、ヒトＣＤ１９に由来する。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、マウスＣＤ１９のアミノ酸残基５００～５３４（例えば、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ　Ｎｏ．Ｐ２５９１８のアミノ酸残基５００～５３４）を含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号３０のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号３０のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号３０のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号３０のアミノ酸配列を含む細胞質ドメインとして食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１から５個のアミノ酸が配列番号３０で置換、挿入、及び／または欠失された。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、配列番号４２のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号４２のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号４２のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号４２のアミノ酸配列を含む細胞質ドメインとして食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１～５個のアミノ酸が、配列番号４２内で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１４５】

いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）に由来する。いくつかの実施形態において、Ｆｃ受容体に由来する細胞質ドメインは、「細胞質ドメインＩＩ」と呼ばれる。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、マウスＦｃＥＲＧ前駆体のアミノ酸残基１９～８６（例えば、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ　Ｎｏ．Ｐ２０４９１のアミノ酸残基１９～８６）を含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号３１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号３１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号３１のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号３１のアミノ酸配列を含む細胞質ドメインとして食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１から５個のアミノ酸が配列番号３１で置換、挿入、及び／または欠失された。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、配列番号４１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号４１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号４１のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号４１のアミノ酸配列を含む細胞質ドメインとして食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１から５個のアミノ酸が配列番号４１で置換、挿入、及び／または欠失された。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、配列番号４５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号４５のアミノ

酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号４５のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号４５のアミノ酸配列を含む細胞質ドメインとして食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、合計１から５個のアミノ酸が配列番号４５で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１４６】

いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、ＣＤ１９及びＦｃＲに由来する。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、マウスＣＤ１９及びＦｃＲに由来する。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、マウスＣＤ１９のアミノ酸残基５００～５３４（例えば、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ　Ｎｏ．Ｐ２５９１８のアミノ酸残基５００～５３４）及びマウスＦｃ　ＥＲＧ前駆体のアミノ酸残基１９～８６（例えば、ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ　Ｎｏ．Ｐ２０４９１のアミノ酸残基１９～８６）を含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号３０のアミノ酸配列及び配列番号３１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号３０のアミノ酸配列及び配列番号３１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、細胞質ドメインは、配列番号３０及び／または配列番号３１のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号３０及び配列番号３１のアミノ酸配列を含む細胞質ドメインとして食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、合計１～５個のアミノ酸が、配列番号３０及び／または配列番号３１内で置換、挿入、及び／または欠失された。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、Ｎ末端からＣ末端まで、ＦｃＲに由来するドメイン及びＣＤ１９に由来するドメインを含む。

【０１４７】

いくつかの実施形態では、２つ以上の細胞質ドメインがペプチドスペーサーによって接続されている。

【０１４８】

いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、マンノース受容体、補体受容体１、３もしくは４、スカベンジャー受容体、またはＦＣガンマ受容体である。

【０１４９】

いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、共刺激ドメインを含む。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、トール様受容体２に由来するドメインを含む。

【０１５０】

いくつかの実施形態において、アミロイドの細胞外ドメインへの結合は、キメラ受容体の細胞質ドメインを活性化する。いくつかの実施形態では、キメラ受容体の細胞質ドメインの活性化は、受容体のシグナル伝達ドメインの活性化を含む。いくつかの実施形態では、キメラ受容体の細胞質ドメインの活性化は、食細胞（例えば、マクロファージ）の活性化をもたらす。いくつかの実施形態では、活性化された食細胞はアミロイドを貪食する。

【０１５１】

Ｄ．全長キメラ受容体構築物

本明細書で提供されるのは、アミロイド（例えば、ヒトアミロイド原線維）に結合するキメラ受容体である。いくつかの実施形態では、キメラ受容体は、活性化されると食細胞（例えば、マクロファージ）を活性化する受容体のシグナル伝達ドメインを含む細胞質ドメイン；膜貫通ドメイン；及びアミロイド結合領域を含む細胞外ドメインを含む。キメラ受容体の細胞質ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞外ドメインは、本明細書に記載の細胞質ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞外ドメインのいずれか１つであり得る。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は

、細胞外ドメインのＮ末端にＮ末端分泌リーダー配列をさらに含む。キメラ受容体の構造の例示的な図を図１及び図６に提供し、キメラ受容体の例示的なアミノ酸配列を表Ｃに提供する。

【表３－１】

表Ｃ．例示的な完全長キメラ受容体構築物のアミノ酸配列

構築物名	説明	アミノ酸配列	配列番号
ＣＡＲ－Ｐ構築物－３４５ａａ、表３を参照。	（Ｎ末端からＣ末端まで）Ｎ末端分泌リーダー配列、ｐ５、スペーサー、ＣＨ２ドメイン、スペーサー、膜貫通ドメイン、細胞質ドメインＩＩ、及び細胞質ドメインＩを有するペプチドベースのＣＡＲ。	MALPVTALLLPLALLLHAARPSQFRVSPTVG GGYSKAQKAQAKQAKQAQKAQKAQAKQAKQV TPTVPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPI VTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLPAPIERTISKPKTTTKPVLRTPS PVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGTGLDFAC DIYIWAPLAGICVALLLSLIITLICLGEPQL CYILDAVLFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKAAI ASREKADAVYTGLNTRSQETYETLKHEKPPQ LYAAPQLHSIQSGPSHEEDADSYENMDKSDD LEPA	43
細胞質ドメインＩを欠くＣＡＲ－Ｐ構築物。	（Ｎ末端からＣ末端まで）Ｎ末端分泌リーダー配列、ｐ５、スペーサー、ＣＨ２ドメイン、スペーサー、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインＩＩを有するペプチドベースのＣＡＲ。細胞質ドメインＩを欠いている。	MALPVTALLLPLALLLHAARPSQFRVSPTVG GGYSKAQKAQAKQAKQAQKAQKAQAKQAKQV TPTVPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPI VTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFK CKVNNKDLPAPIERTISKPKTTTKPVLRTPS PVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGTGLDFAC DIYIWAPLAGICVALLLSLIITLICLGEPQL CYILDAVLFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKAAI ASREKADAVYTGLNTRSQETYETLKHEKPPQ	51
Ｎ末端分泌リーダー配列を欠くＣＡＲ－Ｐ構築物	（Ｎ末端からＣ末端まで）ｐ５、スペーサー、ＣＨ２ドメイン、スペーサー、膜貫通ドメイン、細胞質ドメインＩＩ、及び細胞質ドメインＩを有するペプチドベースのＣＡＲ。Ｎ－末端分泌リーダー配列を欠いている。	TVGGGYSKAQKAQAKQAKQAQKAQKAQAKQA KQVTPTVPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISL SPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHT AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGK EFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKTTTKPVLR TPSPVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGTGLD FACDIYIWAPLAGICVALLLSLIITLICLGE PQLCYILDAVLFLYGIVLTLLYCRLKIQVRK AAIASREKADAVYTGLNTRSQETYETLKHEK PPQLYAAPQLHSIQSGPSHEEDADSYENMDK SDDLEPA	52
Ｎ末端分泌リーダー配列及び細胞質ドメインＩを欠くＣＡＲ－Ｐ構築物。	（Ｎ末端からＣ末端まで）ｐ５、スペーサー、ＣＨ２ドメイン、スペーサー、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインＩＩを有するペプチドベースのＣＡＲ。Ｎ－末端分泌リーダー配列細胞質ドメインＩを欠いている。	TVGGGYSKAQKAQAKQAKQAQKAQKAQAKQA KQVTPTVPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISL SPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHT AQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGK EFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKTTTKPVLR TPSPVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGTGLD FACDIYIWAPLAGICVALLLSLIITLICLGE PQLCYILDAVLFLYGIVLTLLYCRLKIQVRK AAIASREKADAVYTGLNTRSQETYETLKHEK PPQ	53
１１－１Ｆ４ＣＡＲタンデム、表１を参照。	（Ｎ末端からＣ末端まで）Ｎ末端分泌リーダー配列、	MASPLTRFLSLNLLLLGESIILGSGEADIVL TQSPASLAVSLGQRATISYRASKSVSTSGYS YMHWNQQKPGQPPRLLIYLVSNLESGVPARF	50

【表３－２】

	１１－１Ｆ４　ＶＬ、ｓｃＦｖリンカー、１１－１Ｆ４ＶＨ、スペーサー、膜貫通ドメイン、細胞質ドメインＩＩ、及び細胞質ドメインＩを有するｓｃｏｆｆベースのＣＡＲ。	SGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHIRE LTRFGGGTKLEIKRGGSSRSSSSGGGGSGGG GQVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLS SYGVSWVRQPPGKGLEWLGVIWGDGSTNYHP NLMSRSLSISKDISKSQVLFKLNSLQTDDTA TYYCVTLDYWGQGTSVTVSKVNSTTTKPVLR TPSPVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGTGLD FACDIYIWAPLAGICVALLLSLIITLICGEP QLCYILDAVLFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKA AIASREKADAVYTGLNTRSQETYETLKHEKP PQAESYENADEELAQPVGRMMDFLSPHGSAW DPSRE	
細胞質ドメインＩを欠く１１－１Ｆ４ＣＡＲタンデム。	（Ｎ末端からＣ末端まで）Ｎ末端分泌リーダー配列、１１－１Ｆ４　ＶＬ、ｓｃＦｖリンカー、１１－１Ｆ４ＶＨ、スペーサー、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインＩＩを有するｓｃＦｖベースのＣＡＲ。細胞質ドメインＩを欠いている。	MASPLTRFLSLNLLLLGESIILGSGEADIVL TQSPASLAVSLGQRATISYRASKSVSTSGYS YMHWNQQKPGQPPRLLIYLVSNLESGVPARF SGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHIRE LTRFGGGTKLEIKRGGSSRSSSSGGGGSGGG GQVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLS SYGVSWVRQPPGKGLEWLGVIWGDGSTNYHP NLMSRSLSISKDISKSQVLFKLNSLQTDDTA TYYCVTLDYWGQGTSVTVSKVNSTTTKPVLR TPSPVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGTGLD FACDIYIWAPLAGICVALLLSLIITLICGEP QLCYILDAVLFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKA AIASREKADAVYTGLNTRSQETYETLKHEKP PQ	49
Ｎ末端分泌リーダー配列を欠く１１－１Ｆ４ＣＡＲタンデム。	（Ｎ末端からＣ末端まで）１１－１Ｆ４　ＶＬ、ｓｃＦｖリンカー、１１－１Ｆ４ＶＨ、スペーサー、膜貫通ドメイン、細胞質ドメインＩＩ、及び細胞質ドメインＩを有するｓｃＦｖベースのＣＡＲ。Ｎ－末端分泌リーダー配列を欠いている。	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISYRASKSVST SGYSYMHWNQQKPGQPPRLLIYLVSNLESGV PARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQ HIRELTRFGGGTKLEIKRGGSSRSSSSGGGG SGGGGQVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSG FSLSSYGVSWVRQPPGKGLEWLGVIWGDGST NYHPNLMSRSLSISKDISKSQVLFKLNSLQT DDTATYYCVTLDYWGQGTSVTVSKVNSTTTK PVLRTPSPVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKG TGLDFACDIYIWAPLAGICVALLLSLIITLI CGEPQLCYILDAVLFLYGIVLTLLYCRLKIQ VRKAAIASREKADAVYTGLNTRSQETYETLK HEKPPQAESYENADEELAQPVGRMMDFLSPH GSAWDPSRE	55
Ｎ末端分泌リーダー配列及び細胞質ドメインＩを欠く１１－１Ｆ４ＣＡＲタンデム。	（Ｎ末端からＣ末端まで）１１－１Ｆ４　ＶＬ、ｓｃＦｖリンカー、１１－１Ｆ４　ＶＨ、スペーサー、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインＩＩを有するｓｃＦｖベースのＣＡＲ。Ｎ－末端分泌リーダー配列及び細胞質ドメインＩを欠いている。	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISYRASKSVST SGYSYMHWNQQKPGQPPRLLIYLVSNLESGV PARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQ HIRELTRFGGGTKLEIKRGGSSRSSSSGGGG SGGGGQVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSG FSLSSYGVSWVRQPPGKGLEWLGVIWGDGST NYHPNLMSRSLSISKDISKSQVLFKLNSLQT DDTATYYCVTLDYWGQGTSVTVSKVNSTTTK PVLRTPSPVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKG TGLDFACDIYIWAPLAGICVALLLSLIITLI CGEPQLCYILDAVLFLYGIVLTLLYCRLKIQ VRKAAIASREKADAVYTGLNTRSQETYETLK HEKPPQ	54

【０１５２】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含む細胞外ドメイン；膜貫通ドメイン；及び細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメント、第１のスペーサー、ＣＨ２ドメイン、第２のスペーサー、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメント、第１のスペーサー、ＣＨ２ドメイン、第２のスペーサー、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを含む。いくつかの

実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、ＦｃＲに由来する。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、ＦｃＲ及びＣＤ１９に由来する。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、表３に示されるように、細胞質ドメインＩＩを含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、表３に示されるように、細胞質ドメインＩ及び細胞質ドメインＩＩを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、表３に示されるように、ＣＡＲ－Ｐである。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、表Ｃに示されるように、ペプチドベースのＣＡＲである。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端分泌リーダー配列の有無にかかわらず、表３のＣＡＲ－Ｐ構築物‐３４５ａａとして示される配列に対して８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体の各成分が、一緒にまたは別々に、表３のＣＡＲ－Ｐ構築物‐３４５ａａの対応する成分に対して８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有する。

【０１５３】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、ｐ５を含む細胞外ドメイン、第１のスペーサー、ＩｇＧ２　ＣＨ２ドメイン、第２のスペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、及びＦｃＲに由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、ｐ５を含む細胞外ドメイン、第１のスペーサー、ＩｇＧ２　ＣＨ２ドメイン、第２のスペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、ならびにＦｃＲ及びＣＤ１９に由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、ｐ５を含む細胞外ドメイン、第１のスペーサー、ＩｇＧ２　ＣＨ２ドメイン、第２のスペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、及びＦｃＲに由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、ｐ５を含む細胞外ドメイン、第１のスペーサー、ＩｇＧ２　ＣＨ２ドメイン、第２のスペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、ならびにＦｃＲ及びＣＤ１９に由来する細胞質ドメインを含む。

【０１５４】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、ｐ５＋１４を含む細胞外ドメイン、第１のスペーサー、ＩｇＧ２　ＣＨ２ドメイン、第２のスペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、及びＦｃＲに由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、ｐ５＋１４を含む細胞外ドメイン、第１のスペーサー、ＩｇＧ２　ＣＨ２ドメイン、第２のスペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、ならびにＦｃＲ及びＣＤ１９に由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、ｐ５＋１４を含む細胞外ドメイン、第１のスペーサー、ＩｇＧ２　ＣＨ２ドメイン、第２のスペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、及びＦｃＲに由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、ｐ５＋１４を含む細胞外ドメイン、第１のスペーサー、ＩｇＧ２　ＣＨ２ドメイン、第２のスペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、ならびにＦｃＲ及びＣＤ１９に由来する細胞質ドメインを含む。

【０１５５】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、配列番号３２に示されるアミノ酸配列によるｐ５＋１４及び第１のスペーサーと、配列番号３３に示されるアミノ酸配列によるＣＨ２ドメインとを含む細胞外ドメイン；第２のスペーサー；膜貫通ドメイン；及び細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、配列番号３２に示されるアミノ酸配列によるｐ５＋１４及び第１のスペーサーと、配列番号３３に示されるアミノ酸配列によるＣＨ２ドメインとを含

む細胞外ドメイン；第２のスペーサー；ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン；ならびにＦｃＲ及びＣＤ１９に由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、配列番号３２に示されるアミノ酸配列によるｐ５＋１４及び第１のスペーサーと、配列番号３３に示されるアミノ酸配列によるＣＨ２ドメインとを含む細胞外ドメイン；第２のスペーサー；ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン；及びＦｃＲに由来する細胞質ドメインを含む。

【０１５６】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、配列番号３８に示されるアミノ酸配列によるＮ末端分泌リーダー配列、配列番号３９に示されるアミノ酸配列によるアミロイド結合ペプチドまたは機能的フラグメントと第１のスペーサー、及び配列番号３３に示されるアミノ酸配列によるＣＨ２ドメインを含む細胞外ドメイン；配列番号４０に示されるアミノ酸配列による第２のスペーサーと膜貫通ドメイン；ならびに、配列番号４１に示されるアミノ酸配列による細胞質ドメインＩＩと、配列番号４２に示されるアミノ酸配列による細胞質ドメインＩを含む細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、配列番号３８に示されるアミノ酸配列によるＮ末端分泌リーダー配列、配列番号３９に示されるアミノ酸配列によるアミロイド結合ペプチドまたは機能的フラグメントと第１のスペーサー、及び配列番号３３に示されるアミノ酸配列によるＣＨ２ドメインを含む細胞外ドメイン；配列番号４０に示されるアミノ酸配列による第２のスペーサーと膜貫通ドメイン；ならびに、配列番号４１に示されるアミノ酸配列による細胞質ドメインＩＩを含む細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、配列番号３９に示されるアミノ酸配列によるアミロイド結合ペプチドまたは機能的フラグメントと第１のスペーサー、及び配列番号３３に示されるアミノ酸配列によるＣＨ２ドメインを含む細胞外ドメイン；配列番号４０に示されるアミノ酸配列による第２のスペーサーと膜貫通ドメイン；ならびに、配列番号４１に示されるアミノ酸配列による細胞質ドメインＩＩと、配列番号４２に示されるアミノ酸配列による細胞質ドメインＩとを含む細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、配列番号３９に示されるアミノ酸配列によるアミロイド結合ペプチドまたは機能的フラグメントと第１のスペーサー、及び配列番号３３に示されるアミノ酸配列によるＣＨ２ドメインを含む細胞外ドメイン；配列番号４０に示されるアミノ酸配列による第２のスペーサーと膜貫通ドメイン；ならびに、配列番号４１に示されるアミノ酸配列による細胞質ドメインＩＩを含む細胞質ドメインを含む。

【０１５７】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメント（例えば、ｐ５またはｐ５－１４）、第１のスペーサー、及びＣＨ２ドメインを含む細胞外ドメイン；第２のスペーサー；ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン；ならびにＦｃＲ及びＣＤ１９に由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態では、キメラ受容体は、配列番号４３のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、配列番号４３のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、キメラ受容体は、配列番号４３のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号４３のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号４３で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１５８】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメント（例えば、ｐ５また

はｐ５－１４）、第１のスペーサー、及びＣＨ２ドメインを含む細胞外ドメイン；第２のスペーサー；ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン；ならびにＦｃＲに由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態では、キメラ受容体は、配列番号５１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、配列番号５１のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、キメラ受容体は、配列番号５１のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号５１のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号５１で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１５９】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメント（例えば、ｐ５またはｐ５－１４）、第１のスペーサー、及びＣＨ２ドメインを含む細胞外ドメイン；第２のスペーサー；ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン；ならびにＦｃＲ及びＣＤ１９に由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態では、キメラ受容体は、配列番号５２のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、配列番号５２のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、キメラ受容体は、配列番号５２のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号５２のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号５２で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１６０】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメント（例えば、ｐ５またはｐ５－１４）、第１のスペーサー、及びＣＨ２ドメインを含む細胞外ドメイン；第２のスペーサー；ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン；ならびにＦｃＲに由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態では、キメラ受容体は、配列番号５３のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、配列番号５３のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、キメラ受容体は、配列番号５３のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号５３のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号５３で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１６１】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、抗体フラグメントまたはその機能的フラグメントを含む細胞外ドメイン（例えば、１１－１Ｆ４に由来する抗体フラグメントまたはその機能的フラグメント）、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、ＶＬ、リンカー、ＶＨ、スペーサー、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、ＶＬ、リンカー、ＶＨ、スペーサー、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、ＶＨは、（ａ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＣＤ

Ｒ－Ｈ１、（ｂ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２、及び（ｃ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含み、ＶＬは、（ａ）配列番号２４のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２、及び（ｃ）配列番号２６のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、ＦｃＲに由来する。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインは、ＦｃＲ及びＣＤ１９に由来する。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、表１に示されるように、細胞質ドメインＩＩを含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、表１に示されるように、細胞質ドメインＩ及び細胞質ドメインＩＩを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、表１に示されるように、１１－１Ｆ４ＣＡＲタンデム受容体である。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、表Ｇに示されるように、ｓｃＦｖベースのＣＡＲである。

【０１６２】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、１１－１Ｆ４に由来する抗体フラグメントまたはその機能的フラグメントを含む細胞外ドメイン、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、及びＦｃＲに由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、１１－１Ｆ４に由来する抗体フラグメントまたはその機能的フラグメントを含む細胞外ドメイン、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、ならびにＦｃＲ及びＣＤ１９に由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、１１－１Ｆ４に由来するＶＬ、リンカー、１１－１Ｆ４に由来するＶＨ、スペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、及びＦｃＲに由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、１１－１Ｆ４に由来するＶＬ、リンカー、１１－１Ｆ４に由来するＶＨ、スペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、ならびにＦｃＲ及びＣＤ１９に由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、１１－１Ｆ４に由来するＶＬ、リンカー、１１－１Ｆ４に由来するＶＨ、スペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、及びＦｃＲに由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、１１－１Ｆ４に由来するＶＬ、リンカー、１１－１Ｆ４に由来するＶＨ、スペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、ならびにＦｃＲ及びＣＤ１９に由来する細胞質ドメインを含む。

【０１６３】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、配列番号２８に示されるアミノ酸配列を含むＮ末端分泌リーダー配列、配列番号１９に示されるアミノ酸配列を含むＶＬ、配列番号２７に示されるアミノ酸配列を含むｓｃＦｖリンカー、配列番号２０に示されるアミノ酸配列を含むＶＨ、配列番号２９に示されるアミノ酸配列を含むスペーサーと膜貫通ドメイン、及び配列番号３１に示されるアミノ酸配列を含む細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、配列番号２８に示されるアミノ酸配列を含むＮ末端分泌リーダー配列、配列番号１９に示されるアミノ酸配列を含むＶＬ、配列番号２７に示されるアミノ酸配列を含むｓｃＦｖリンカー、配列番号２０に示されるアミノ酸配列を含むＶＨ、配列番号２９に示されるアミノ酸配列を含むスペーサーと膜貫通ドメイン、及び配列番号３１に示されるアミノ酸配列と配列番号３０に示されるアミノ酸配列とを含む細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、配列番号１９に示されるアミノ酸配列を含むＶＬ、配列番号２７に示されるアミノ酸配列を含むｓｃＦｖリンカー、配列番号２０に示されるアミノ酸配列を含むＶＨ、配列番号２９に示されるアミノ酸配列を含むスペーサーと膜貫通ドメイン、及び配列番号３１に示されるアミノ酸配列を含む細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、配列番号１９に示されるアミノ酸配列を含むＶＬ、配列番号２７に示されるアミノ酸配列を含むｓｃＦｖリンカー、配列番号２０に示されるアミノ酸配列を含むＶＨ、配列番

号２９に示されるアミノ酸配列を含むスペーサーと膜貫通ドメイン、及び配列番号３１に示されるアミノ酸配列と配列番号３０に示されるアミノ酸配列とを含む細胞質ドメインを含む。

【０１６４】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、１１－１Ｆ４に由来するｓｃＦｖを含む細胞外ドメイン、スペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、ならびにＦｃＲ及びＣＤ１９に由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態では、キメラ受容体は、配列番号５０のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、配列番号５０のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、キメラ受容体は、配列番号５０のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号５０のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号５０で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１６５】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、１１－１Ｆ４に由来するｓｃＦｖを含む細胞外ドメイン、スペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、及びＦｃＲに由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態では、キメラ受容体は、配列番号４９のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、配列番号４９のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、キメラ受容体は、配列番号４９のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号４９のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号４９で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１６６】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、１１－１Ｆ４に由来するｓｃＦｖを含む細胞外ドメイン、スペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、ならびにＦｃＲ及びＣＤ１９に由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態では、キメラ受容体は、配列番号５５のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、配列番号５５のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、キメラ受容体は、配列番号５５のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号５５のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号５５で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１６７】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、１１－１Ｆ４に由来するｓｃＦｖを含む細胞外ドメイン、スペーサー、ＣＤ８α鎖に由来する膜貫通ドメイン、及びＦｃＲに由来する細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態では、キメラ受容体は、配列番号５４のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、配列番号５４のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態において、キメラ受容体は、配列番号５４のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号５４のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号５４で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１６８】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるキメラ受容体は、アミロイド沈着物または原線維（例えば、ヒトアミロイド沈着物または原線維）に結合する。いくつかの実施形態において、キメラ受容体のアミロイド結合領域は、アミロイド中の１つ以上のアミロイド形成ペプチドに結合する。いくつかの実施形態では、キメラ受容体のアミロイド結合領域によって結合されるアミロイドは、アミロイド形成性λ６可変ドメインタンパク質（Ｖλ６Ｗｉｌ）もしくはアミロイド形成性免疫グロブリン軽鎖（ＡＬ）、Ａβ（１－４０）アミロイド様原線維もしくはアミロイド形成性Ａβ前駆体タンパク質、または血清アミロイドプロテインＡ（ＡＡ）を含む。他の実施形態では、キメラ受容体のアミロイド結合領域によって結合されるアミロイドは、アミロイド形成型の免疫グロブリン重鎖（ＡＨ）、β_2－ミクログロブリン（Ａβ_2Ｍ）、トランスチレチン変異体（ＡＴＴＲ）、アポリポタンパク質ＡＩ（ＡＡｐｏＡＩ）、アポリポタンパク質ＡＩＩ（ＡＡｐｏＡＩＩ）、ゲルゾリン（ＡＧｅｌ）、リゾチーム（ＡＬｙｓ）、白血球走化性因子（ＡＬｅｃｔ２）、フィブリノーゲン変異体（ＡＦｉｂ）、シスタチン変異体（ＡＣｙｓ）、カルシトニン（（ＡＣａｌ）、ラクタドヘリン（ＡＭｅｄ）、膵島アミロイドポリペプチド（ＡＩＡＰＰ）、プロラクチン（ＡＰｒｏ）、インスリン（ＡＩｎｓ）、プリオンタンパク質（ＡＰｒＰ）；α－シヌクレイン（ＡαＳｙｎ）、タウ（ＡＴａｕ）、心房ナトリウム利尿因子（ＡＡＮＦ）、またはＩＡＡＰ、ＡＬκ４、Ａｌλ１、その他のアミロイド形成ペプチドを含む。キメラ受容体のアミロイド結合領域によって結合されるアミロイド形成ペプチドは、タンパク質、タンパク質フラグメント、またはタンパク質ドメインであり得る。いくつかの実施形態において、アミロイド沈着物またはアミロイド原線維は、組換えアミロイド形成タンパク質を含む。いくつかの実施形態において、アミロイドは、疾患の病理の一部である。

【０１６９】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のキメラ受容体の細胞質ドメインは、活性化されると食細胞（例えば、マクロファージ）を活性化するシグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施形態では、細胞質ドメインのシグナル伝達ドメインは、上記のように、キメラ受容体がアミロイド沈着物または原線維に結合すると活性化される。いくつかの実施形態では、食細胞の活性化は、アミロイド沈着物または原線維の食作用を促進する。

【０１７０】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、検出可能な標識に結合している。いくつかの実施形態において、検出可能な標識は、放射性核種（例えば、$I-^{125}$、$I-^{123}$、$I-^{131}$、$Zr-^{89}$、$Tc-^{99m}$、$Cu-^{64}$、$Br-^{76}$、$F-^{18}$）、酵素（西洋ワサビペルオキシダーゼ）、ビオチン、及びフルオロフォアなどからなる群から選択される。当技術分野で知られている、タンパク質を検出可能に標識するための任意の手段を使用することができ、及び／または本明細書に記載の方法で使用するように適合させることができる。例えば、キメラ受容体は、放射性同位元素で放射性標識するか、または蛍光タグもしくは化学発光タグで標識することができる。放射性同位元素の例としては、例えば、^{18}Ｆ、^{111}Ｉｎ、^{99m}Ｔｃ、^{123}Ｉ、及び^{125}Ｉが挙げられる。これらの放射性同位元素及び他の放射性同位元素は、例えば、キメラ受容体に共有結合したＤＴＰＡまたはＤＯＴＡなどのキレート剤の使用を伴う場合も伴わない場合もある周知の化学を使用してキメラ受容体に付着させることができる。蛍光または化学発光タグの例としては、リシン、システイン、グルタミン酸、及びアスパラギン酸側鎖との反応によってキメラ受容体に結合できるフルオレセイン、テキサスレッド、ローダミン、Ａｌｅｘａ色素、

及びルシフェラーゼが挙げられる。一実施形態では、標識は、使用されるタグに適切な励起及び発光波長を使用して、蛍光マイクロプレートリーダーまたは蛍光光度計によって検出される。放射性標識は、例えば、放射性放射の種類に応じてガンマまたはシンチレーションカウンターを使用し、特定の放射性核種の正確な検出に適したエネルギーウィンドウを使用して検出できる。ただし、放射性同位元素を検出するための他の適切な技術もまた、標識を検出するために使用することができる。いくつかの実施形態では、検出可能な標識は^{125}Ｉである。いくつかの実施形態では、キメラ受容体は、蛍光タンパク質に融合されている。いくつかの実施形態では、キメラ受容体はＧＦＰに融合されている。

【０１７１】

本明細書に説明されるキメラ受容体のいずれかを含む薬学的組成物も提供される。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、薬学的に許容される担体をさらに含む。

【０１７２】

ＩＩＩ．核酸、ベクター、宿主細胞、及びキメラ受容体の作製方法

Ａ．キメラ受容体をコードする核酸

本明細書で提供されるのは、アミロイドに結合するキメラ受容体をコードする核酸である。いくつかの実施形態では、核酸は、本明細書に記載のキメラ受容体のいずれか１つをコードする。いくつかの実施形態では、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、活性化されるとマクロファージを活性化する受容体のシグナル伝達ドメインを含む細胞質ドメイン；膜貫通ドメイン；及びアミロイド結合領域を含む細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを含む。

【０１７３】

いくつかの実施形態において、核酸は、アミロイド結合領域を含む細胞外ドメインを含むキメラ受容体をコードし、アミロイド結合領域は、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含む。アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含むアミロイド結合領域は、本明細書に記載のアミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含むアミロイド結合領域のいずれか１つであり得る。

【０１７４】

いくつかの実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含む細胞外ドメイン；膜貫通ドメイン；及び細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメント、第１のスペーサー、ＣＨ２ドメイン、第２のスペーサー、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメント、第１のスペーサー、ＣＨ２ドメイン、第２のスペーサー、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントは、配列番号１７のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、表３に示されるように、細胞質ドメインＩＩを含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、表３に示されるように、細胞質ドメインＩ及び細胞質ドメインＩＩを含む。いくつかの実施形態において、核酸は、表３に示されるＣＡＲ－Ｐをコードする。いくつかの実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、分泌リーダー配列の有無にかかわらず、表３のＣＡＲ－Ｐ構築物‐３４５ａａとして示される配列に対して８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、核酸によってコードされるキメラ受容体の各成分が、一緒にまたは別々に、表３のＣＡＲ－Ｐ構築物‐３４５ａａの対応する成分に対して８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有する。

【０１７５】
いくつかの実施形態では、核酸は、配列番号４３のアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。いくつかの実施形態において、核酸は、配列番号４３のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。特定の実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、配列番号４３のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号４３のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号４３で置換、挿入、及び／または欠失された。
【０１７６】
いくつかの実施形態では、核酸は、配列番号５１のアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。いくつかの実施形態において、核酸は、配列番号５１のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。特定の実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、配列番号５１のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号５１のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号５１で置換、挿入、及び／または欠失された。
【０１７７】
いくつかの実施形態では、核酸は、配列番号５２のアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。いくつかの実施形態において、核酸は、配列番号５２のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。特定の実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、配列番号５２のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号５２のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号５２で置換、挿入、及び／または欠失された。
【０１７８】
いくつかの実施形態では、核酸は、配列番号５３のアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。いくつかの実施形態において、核酸は、配列番号５３のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。特定の実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、配列番号５３のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号５３のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号５３で置換、挿入、及び／または欠失された。
【０１７９】
いくつかの実施形態において、核酸は、アミロイド結合領域を含む細胞外ドメインを含むキメラ受容体をコードし、アミロイド結合領域は、１１－１Ｆ４抗体フラグメントを含む。
【０１８０】
いくつかの実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、Ｎ末

端からＣ末端まで、１１－１Ｆ４抗体フラグメントを含む細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、ＶＬ、リンカー、ＶＨ、スペーサー、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、Ｎ末端からＣ末端まで、Ｎ末端分泌リーダー配列、ＶＬ、リンカー、ＶＨ、スペーサー、膜貫通ドメイン、及び細胞質ドメインを含む。いくつかの実施形態において、ＶＨは、（ａ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ２、及び（ｃ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｈ３を含み、ＶＬは、（ａ）配列番号２４のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ１、（ｂ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ２、及び（ｃ）配列番号２６のアミノ酸配列を含むＣＤＲ－Ｌ３を含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、表１に示されるように、細胞質ドメインＩＩを含む。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、表１に示されるように、細胞質ドメインＩ及び細胞質ドメインＩＩを含む。いくつかの実施形態において、核酸は、表１に示されるように、１１－１Ｆ４ＣＡＲタンデム受容体をコードする。

【０１８１】

いくつかの実施形態では、核酸は、配列番号４９のアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。いくつかの実施形態において、核酸は、配列番号４９のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。特定の実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、配列番号４９のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号４９のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号４９で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１８２】

いくつかの実施形態では、核酸は、配列番号５０のアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。いくつかの実施形態において、核酸は、配列番号５０のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。特定の実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、配列番号５０のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号５０のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号５０で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１８３】

いくつかの実施形態では、核酸は、配列番号５４のアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。いくつかの実施形態において、核酸は、配列番号５４のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。特定の実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、配列番号５４のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号５４のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号５４で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１８４】

いくつかの実施形態では、核酸は、配列番号５５のアミノ酸配列を含むキメラ受容体を

コードする。いくつかの実施形態において、核酸は、配列番号５５のアミノ酸配列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％、９９％または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ受容体をコードする。特定の実施形態において、核酸はキメラ受容体をコードし、キメラ受容体は、配列番号５５のアミノ酸配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含むが、配列番号５５のアミノ酸配列を含むキメラ受容体としてアミロイドに結合し、食細胞を活性化する能力を保持するアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、合計１～１５個のアミノ酸が、配列番号５５で置換、挿入、及び／または欠失された。

【０１８５】

Ｂ．ベクター、宿主細胞

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される核酸は、１つまたは複数のベクター内にある。例えば、いくつかの実施形態では、本明細書で提供されるのは、キメラ受容体をコードする核酸を含むベクターである。いくつかの実施形態において、ベクターは、本開示のキメラ受容体をコードする核酸を含む。

【０１８６】

いくつかの実施形態では、ベクターは、ウイルスベクターである。いくつかの実施形態では、ベクターは、レトロウイルスベクターである。いくつかの実施形態では、ベクターは、ガンマレトロウイルスベクターである。いくつかの実施形態では、ベクターは、レンチウイルスベクターである。いくつかの実施形態では、ベクターは、アデノウイルスベクターである。いくつかの実施形態では、ベクターは、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクターである。

【０１８７】

いくつかの実施形態では、ベクターは、ｐＥＦ－ＥＮＴＲ　Ａベクターである。

【０１８８】

いくつかの実施形態において、ベクターは、複数の遺伝子産物をコードする。いくつかの実施形態では、ベクターは、バイシストロン性ベクターである。いくつかの実施形態において、ベクターは、第２のタンパク質産物、例えば、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）などの蛍光タンパク質をコードする核酸を含む。

【０１８９】

いくつかの実施形態では、ベクターは、トランスポザーゼベクターである。いくつかの実施形態では、ベクターは、ｐｉｇｇｙＢａｃベクターである。

【０１９０】

いくつかの実施形態において、ベクターは、プロモーターを含む。いくつかの実施形態では、キメラ受容体をコードする核酸は、プロモーターに操作可能に連結される。一部の実施形態において、プロモータは、誘導プロモーターである。一部の実施形態において、プロモータは、遍在的に発現されるプロモーターである。いくつかの実施形態において、ベクターは、ＥＦ１－ａプロモーターを含む。いくつかの実施形態では、キメラ受容体をコードする核酸は、ＥＦ１－ａプロモーターに操作可能に連結される。

【０１９１】

いくつかの実施形態において、ベクターは、マクロファージ特異的調節エレメント、例えば、マクロファージ特異的プロモーターを含む。いくつかの実施形態では、キメラ受容体をコードする核酸は、マクロファージ特異的調節エレメントに操作可能に連結される。いくつかの実施形態において、キメラ受容体をコードする核酸は、マクロファージにおける発現を駆動するプロモーターに操作可能に連結される。

【０１９２】

また、本明細書において、本明細書に記載されるキメラ受容体のいずれかをコードする核酸を含む宿主細胞が提供される。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、本開示のキメラ受容体をコードする核酸（複数可）を含むベクターを含む。いくつかの実施形態において、脊椎動物細胞は、宿主細胞として使用され得る。例えば、懸濁液中で成長させる

のに適している哺乳動物細胞株が有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例としては、ＳＶ４０により形質転換されたサル腎臓ＣＶｌ株（ＣＯＳ－７）（例えば、Ｇｒａｈａｍ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｇｅｎ Ｖｉｒｏｌ．３６：５９（１９７７）に記載されている２９３または２９３細胞）、ベビーハムスター腎臓細胞（ＢＨＫ）、マウスセルトリ細胞（例えば、Ｍａｔｈｅｒ，Ｂｉｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．２３：２４３－２５１（１９８０）に記載されているＴＭ４細胞）、サル腎臓細胞（ＣＶｌ）、アフリカミドリザル腎臓細胞（ＶＥＲＯ－７６）、ヒト子宮頸癌細胞（ＨＥＬＡ）、イヌ腎臓細胞（ＭＤＣＫ）、バッファローラット肝臓細胞（ＢＲＬ ３Ａ）、ヒト肺細胞（Ｗ１３８）、ヒト肝臓細胞（Ｈｅｐ Ｇ２）、マウス乳房腫瘍（ＭＭＴ ０６０５６２）、例えば、Ｍａｔｈｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎａｌｓ Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．３８３：４４－６８（１９８２）に記載されているようなＴＲＩ細胞、ＭＲＣ５細胞、及びＦＳ４細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株としては、ＤＨＦＲ－ＣＨＯ細胞が含まれるチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞（Ｕｒｌａｕｂ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：４２１６（１９８０））、ならびにＹ０、ＮＳ０、及びＳｐ２／０などの骨髄腫細胞株が挙げられる。抗体産生に好適な特定の哺乳動物宿主細胞株の概説については、例えば、Ｙａｚａｋｉ ａｎｄ Ｗｕ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．２４８（Ｂ．Ｋ．Ｃ．Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ），ｐｐ．２５５－２６８（２００３）を参照されたい。

【０１９３】

ＩＶ．キメラ受容体を含む操作された細胞

本明細書で提供されるのは、本開示のキメラ受容体を含む操作された細胞である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のキメラ受容体のいずれか１つを含む操作された細胞が提供される。いくつかの実施形態において、操作された細胞は、食細胞である。いくつかの実施形態において、操作された細胞は、単球、マクロファージ、または樹状細胞である。いくつかの実施形態において、操作された細胞は、マクロファージである。いくつかの実施形態において、操作された細胞は、マウスマクロファージである。いくつかの実施形態において、操作された細胞は、ＲＡＷ２６４．７細胞（例えば、ＡＴＣＣ ＴＩＢ－７１）である。いくつかの実施形態において、操作された細胞は、ヒトマクロファージである。

【０１９４】

いくつかの実施形態において、操作された細胞は、本開示のキメラ受容体を発現する。いくつかの実施形態において、操作された細胞は、キメラ受容体をコードする核酸（例えば、本明細書に記載の核酸のいずれか１つ）からキメラ受容体を発現する。いくつかの実施形態において、操作された細胞は、ベクター（例えば、本明細書に記載のベクターのいずれか１つ）からキメラ受容体を発現する。いくつかの実施形態では、核酸及び／またはベクターは、操作された細胞に組み込まれる。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、操作された細胞において一過性に発現される。いくつかの実施形態において、操作された細胞は、キメラ受容体をコードするｍＲＮＡからキメラ受容体を発現する。いくつかの実施形態において、操作された細胞は、操作された細胞の原形質膜にキメラ受容体を含む。

【０１９５】

いくつかの実施形態では、細胞は対象から得られ、細胞は、本開示のキメラ受容体の導入によって操作される。対象の非限定的な例には、ヒト、イヌ、ネコ、マウス、ラット、及びそれらのトランスジェニック種が含まれる。いくつかの実施形態では、対象はヒトである。細胞は、末梢血単核細胞、骨髄、リンパ節組織、脾臓組織、臍帯、及び腫瘍を含むいくつかの源から得られ得る。特定の実施形態において、当技術分野で利用可能な任意の数の単球、マクロファージ、樹状細胞または前駆細胞株を使用することができる。特定の実施形態では、細胞は、Ｆｉｃｏｌｌ分離等の当業者に既知の任意の数の技法を使用して対象から収集される血液単位から得られ得る。いくつかの実施形態では、個体の循環血液

由来の細胞は、アフェレーシスまたは白血球アフェレーシスによって得られる。アフェレーシス産物は、典型的には、Ｔ細胞、単球、顆粒球、Ｂ細胞、他の有核白血球細胞、赤血球細胞、及び血小板を含むリンパ球を含有する。アフェレーシスによって収集された細胞は、後続の処理ステップ用のために、洗浄して血漿画分を除去し、細胞を適切な緩衝液または培地、例えば、カルシウムを欠き、マグネシウムを欠くか、または全てではないにしても多くの二価カチオンを欠く可能性があるリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）または洗浄液、に入れることができる。洗浄後、細胞は、様々な生体適合性緩衝液、例えば、Ｃａを含まない、Ｍｇを含まないＰＢＳ等に再懸濁され得る。あるいは、アフェレーシス試料の望ましくない成分が除去され、細胞が培養培地に直接再懸濁され得る。

【０１９６】

いくつかの実施形態では、細胞は、赤血球細胞を溶解し、例えば、ＰＥＲＣＯＬＬ（商標）勾配による遠心分離によってリンパ球と赤血球を枯渇させることによって、末梢血から単離される。あるいは、細胞を臍帯から単離することができる。いずれにせよ、単球、マクロファージ、及び／または樹状細胞の特定の亜集団は、陽性または陰性選択技術によってさらに単離することができる。

【０１９７】

そのように単離された細胞は、ＣＤ３４、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ１４、ＣＤ１９またはＣＤ２０を含むがこれらに限定されない特定の抗原を発現する細胞を枯渇させることができる。これらの細胞の枯渇は、単離された抗体、腹水などの抗体を含む生物学的サンプル、物理的支持体に結合した抗体、及び細胞結合抗体を使用して達成することができる。

【０１９８】

陰性選択による単球、マクロファージ及び／または樹状細胞集団の富化は、陰性選択された細胞に特有の表面マーカーに指向された抗体の組み合わせを用いて達成され得る。いくつかの実施形態では、富化は、陰性選択された細胞に存在する細胞表面マーカーに指向されたモノクローナル抗体のカクテルを使用する陰性磁気免疫付着またはフローサイトメトリーによる細胞選別及び／または選択によって実行される。例えば、陰性選択による単球、マクロファージ、及び／または樹状細胞の細胞集団の富化は、通常、ＣＤ３４、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ１４、ＣＤ１９、またはＣＤ２０に対する抗体を含むモノクローナル抗体カクテルを使用して達成できる。

【０１９９】

陽性または陰性選択による所望の細胞集団を単離する際、細胞及び表面（例えば、ビーズ等の粒子）の濃度を変化させることができる。ある特定の実施形態では、細胞とビーズの最大接触を確実にするために、ビーズ及び細胞が一緒に混合される体積を著しく減少させる（すなわち、細胞の濃度を増加させる）ことが望ましい場合がある。例えば、一実施形態では、２０億細胞／ｍＬの濃度が使用される。一実施形態では、１０億細胞／ｍＬの濃度が使用される。さらなる一実施形態では、１億細胞／ｍＬ超が使用される。さらなる一実施形態では、１０００万、１５００万、２０００万、２５００万、３０００万、３５００万、４０００万、４５００万、または５０００万個の細胞／ｍＬの細胞濃度が使用される。なお別の実施形態では、７５００万、８０００万、８５００万、９０００万、９５００万、または１億個の細胞／ｍＬの細胞濃度が使用される。さらなる実施形態では、１億２５００万または１億５０００万個の細胞／ｍＬの濃度が使用され得る。高濃度の細胞の使用により、細胞収率、細胞活性化、及び細胞増殖の増加がもたらされ得る。

【０２００】

いくつかの実施形態において、本発明の細胞（例えば、操作された単球、マクロファージ、及び／または樹状細胞）を含む細胞の集団が提供される。細胞集団の例としては、末梢血単核細胞に由来する操作された細胞、臍帯血液細胞、単細胞、マクロファージ、または樹状細胞の精製された集団、及び細胞株が挙げられるが、これらに限定されない。別の実施形態では、末梢血単核細胞は、単球、マクロファージ、または樹状細胞の集団を含む。いくつかの実施形態において、操作された単球、マクロファージ、または樹状細胞の集

団を含む精製された細胞の集団が提供される。

【０２０１】

いくつかの実施形態において、操作された細胞は、アップレギュレーションされたＭ１マーカー及びダウンレギュレーションされたＭ２マーカーを有する。例えば、ＨＬＡ　ＤＲ、ＣＤ８６、ＣＤ８０、ＰＤＬ１などの少なくとも１つのＭ１マーカーは、操作された細胞でアップレギュレーションされる。別の例では、ＣＤ２０６、ＣＤ１６３などの少なくとも１つのＭ２マーカーは、操作された細胞でダウンレギュレーションされる。一実施形態では、操作された細胞は、少なくとも１つのアップレギュレーションされたＭ１マーカー及び少なくとも１つのダウンレギュレーションされたＭ２マーカーを有する。

【０２０２】

いくつかの実施形態において、操作された細胞は、免疫調節細胞である。免疫調節細胞は、ＣＤ４　Ｔ細胞（ヘルパーＴ細胞）やＣＤ８　Ｔ細胞（細胞傷害性Ｔ細胞、ＣＴＬ）などのＴ細胞、及びメモリーＴ細胞またはメモリー幹細胞Ｔ細胞を含む。別の実施形態において、Ｔ細胞は、ナチュラルキラーＴ細胞（ＮＫ　Ｔ細胞）を含む。

【０２０３】

一実施形態では、操作された細胞はナチュラルキラー細胞を含む。ナチュラルキラー細胞は当技術分野でよく知られている。一実施形態では、ナチュラルキラー細胞は、ＮＫ－９２細胞などの細胞株を含む。ＮＫ細胞株のさらなる例としては、ＮＫＧ、ＹＴ、ＮＫ－ＹＳ、ＨＡＮＫ－１、ＹＴＳ細胞、及びＮＫＬ細胞が挙げられる。

【０２０４】

ＮＫ細胞は、ＧｖＨＤのリスクなしに抗腫瘍効果を媒介し、Ｔ細胞に比べて短命である。したがって、ＮＫ細胞はがん細胞を破壊した直後に使い果たされ、修飾された細胞を切除するＣＡＲ構築物上の誘導性自殺遺伝子の必要性が減少する。

【０２０５】

操作された細胞は、末梢血、臍帯血、骨髄、腫瘍浸潤リンパ球、リンパ節組織、または胸腺組織から得ることができる。操作された細胞は、胎盤細胞、胚性幹細胞、人工多能性幹細胞、または造血幹細胞を含み得る。操作された細胞は、ヒト、サル、チンパンジー、イヌ、ネコ、マウス、ラット、及びそれらのトランスジェニック種から得ることができる。操作された細胞は、確立された細胞株から得ることができる。

【０２０６】

上記の細胞は、任意の既知の手段によって得ることができる。操作された細胞は、操作された細胞のレシピエントに対して自己、同系、同種異系、または異種であり得る。

【０２０７】

「自己」という用語は、後でその個体に再導入される同一個体に由来する任意の材料を指す。「同種異系」という用語は、その材料が導入された個体と同じ種の異なる動物に由来する任意の材料を指す。１つまたは複数の遺伝子座の遺伝子が同一でない場合、２つ以上の個体は互いに同種異系であると言われる。いくつかの態様において、同じ種の個体からの同種異系の物質は、抗原的に相互作用するために遺伝的に十分に異なっている可能性がある。

【０２０８】

いくつかの実施形態において、操作された細胞における標的エフェクター活性は、ＣＤ４７またはＳＩＲＰα活性のいずれかの阻害によって増強される。細胞を抗ＣＤ４７または抗ＳＩＲＰα抗体で処理することにより、ＣＤ４７及び／またはＳＩＲＰα活性を阻害することができる。あるいは、ＣＤ４７またはＳＩＲＰα活性は、当技術分野で知られている任意の方法によって阻害することができる。

【０２０９】

いくつかの実施形態において、本開示のキメラ受容体を含む操作された細胞のアミロイドへの結合（例えば、アミロイド結合領域のアミロイドへの結合を介して）は、ヒトアミロイド原線維の食作用を促進する。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞は、ヒトアミロイド原線維をオプソニン化する。いくつかの実施形態におい

て、キメラ受容体を含む細胞は、ｒＶλ６Ｗｉｌ原線維をオプソニン化する。いくつかの実施形態において、ヒトアミロイド原線維を本開示のキメラ受容体を含む操作された細胞と接触させることは、細胞によるヒトアミロイド原線維の取り込みを促進する。いくつかの実施形態において、ヒトアミロイド原線維を本開示のキメラ受容体を含む操作された細胞と接触させることは、ヒトアミロイド原線維のオプソニン化を促進する。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞は、アミロイドを貪食する。

【０２１０】

また、キメラ受容体（例えば、本明細書に記載のキメラ受容体のいずれか１つ）を含む操作された細胞を生成する方法も本明細書で提供される。ＣＡＲ発現細胞は、ＣＡＲをコードするｃＤＮＡを用いたエフェクター細胞、例えば、Ｔ細胞、の標準的なトランスフェクションまたはレトロウイルス形質導入を使用して生成することができる。次に、ＣＡＲタンパク質が原形質細胞膜に提示される。この分子生物学技術は当技術分野で知られており、一般に腫瘍細胞に向けられたＣＡＲ－Ｔ　Ｔ細胞リンパ球の発達に関連している（例えば、Ｃｈａｖｅｚ，Ｊ．Ｃ．ａｎｄ　Ｆ．Ｌ．Ｌｏｃｋｅ，Ｂｅｓｔ　Ｐｒａｃｔ　Ｒｅｓ　Ｃｌｉｎ　Ｈａｅｍａｔｏｌ，２０１８．３１（２）：ｐ．１３５－１４６；Ｃｕｍｍｉｎｓ，Ｋ．Ｄ．ａｎｄ　Ｓ．Ｇｉｌｌ，Ｌｅｕｋ　Ｌｙｍｐｈｏｍａ，２０１８．５９（７）：ｐ．１５３９－１５５３；Ｆｉｌｌｅｙ，Ａ．Ｃ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｆｒｏｎｔ　Ｏｎｃｏｌ，２０１８．８：ｐ．４５３；Ｇｅｎｔａ，Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｅｘｐｅｒｔ　Ｏｐｉｎ　Ｂｉｏｌ　Ｔｈｅｒ，２０１８．１８（４）：ｐ．３５９－３６７；Ｇｈｉｏｎｅ，Ｐ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｃｕｒｒ　Ｈｅｍａｔｏｌ　Ｍａｌｉｇ　Ｒｅｐ，２０１８．１３（６）：ｐ．４９４－５０６；Ｇｕｏ，Ｙ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｃｅｌｌ，２０１８．９（６）：ｐ．５１６－５２６を参照）。

【０２１１】

いくつかの実施形態において、ＣＡＲを含むポリヌクレオチド（ベクターなど）は、任意の既知の手段によって細胞に導入される。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは、トランスフェクションまたは形質導入を使用して導入される。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ウイルスベクターである。

【０２１２】

上記のポリヌクレオチドが細胞に導入されて操作された細胞を提供すると、操作された細胞は増殖する。上記のポリヌクレオチドを含む操作された細胞は、任意の既知の手段によって増殖される。

【０２１３】

増殖した細胞は、本開示による単離された操作された細胞を提供するための任意の既知の手段によって単離される。

【０２１４】

Ｖ．治療法、アミロイド除去法

いくつかの実施形態において、本明細書に提供されるのは、アミロイドを除去する（例えば、アミロイド沈着物を除去する）ための方法である。いくつかの実施形態では、この方法は、アミロイド沈着物を本明細書に記載のキメラ受容体のいずれか１つと接触させることを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、アミロイド沈着物を本明細書に記載のキメラ受容体を含む操作された細胞のいずれか１つと接触させることを含む。いくつかの実施形態では、アミロイドはＡＡ、ＡＬ、ＡＨ、ＡＴＴＲ、Ａβ２Ｍ、野生型ＴＴＲ、ＡＡｐｏＡＩ、ＡＡｐｏＡＩＩ、ＡＧｅｌ、ＡＬｙｓ、ＡＬｅｃｔ２、Ａｆｉｂ、ＡＣｙｓ、ＡＣａｌ、ＡＭｅｄｉｎ、ＡＩＡＰＰ、ＡＰｒｏ、ＡＩｎｓ、ＡＰｒＰ、またはＡβである。いくつかの実施形態では、キメラ受容体と接触するアミロイドは、アミロイド形成性λ６可変ドメインタンパク質（Ｖλ６Ｗｉｌ）もしくはアミロイド形成性免疫グロブリン軽鎖（ＡＬ）、Ａβ（１－４０）アミロイド様原線維もしくはアミロイド形成性Ａβ前駆体タンパク質、または血清アミロイドプロテインＡ（ＡＡ）を含む。他の実施形態では、キメラ受容体と接触するアミロイドは、アミロイド形成型の免疫グロブリン重鎖（ＡＨ）、β_2－ミクログロブリン（Ａβ_2Ｍ）、トランスチレチン変異体（ＡＴＴＲ）、ア

ポリポタンパク質ＡＩ（ＡＡｐｏＡＩ）、アポリポタンパク質ＡＩＩ（ＡＡｐｏＡＩＩ）、ゲルゾリン（ＡＧｅｌ）、リゾチーム（ＡＬｙｓ）、白血球走化性因子（ＡＬｅｃｔ２）、フィブリノーゲン変異体（ＡＦｉｂ）、シスタチン変異体（ＡＣｙｓ）、カルシトニン（（ＡＣａｌ）、ラクタドヘリン（ＡＭｅｄ）、膵島アミロイドポリペプチド（ＡＩＡＰＰ）、プロラクチン（ＡＰｒｏ）、インスリン（ＡＩｎｓ）、プリオンタンパク質（ＡＰｒＰ）；α－シヌクレイン（ＡαＳｙｎ）、タウ（ＡＴａｕ）、心房ナトリウム利尿因子（ＡＡＮＦ）、またはＩＡＡＰ、ＡＬκ４、ＡｌＬλ１、その他のアミロイド形成ペプチドを含む。キメラ受容体が接触するアミロイド形成ペプチドは、タンパク質、タンパク質フラグメント、またはタンパク質ドメインであり得る。いくつかの実施形態において、アミロイドは、組換えアミロイド形成タンパク質を含む。いくつかの実施形態において、アミロイドは、疾患の病理の一部である。いくつかの実施形態において、キメラ受容体のアミロイド結合領域は、アミロイドに対する結合親和性を有する。いくつかの実施形態において、アミロイド沈着物をキメラ受容体と接触させることにより、アミロイドの少なくとも部分的なクリアランスがもたらされる。いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、本明細書に記載されるように、キメラ受容体を含む操作された細胞の形態で提供される。

【０２１５】

他の実施形態では、アミロイドーシスは全身性アミロイドーシスである。いくつかの実施形態では、アミロイドーシスは家族性アミロイドーシスである。他の実施形態では、アミロイドーシスは散発性アミロイドーシスである。いくつかの実施形態では、アミロイドーシスまたはアミロイド関連疾患は、ＩＩ型糖尿病のＡＡアミロイドーシス、ＡＬアミロイドーシス、ＡＨアミロイドーシス、Ａβアミロイドーシス、ＡＴＴＲアミロイドーシス、ＡＬｅｃｔ２アミロイドーシス、及びＩＡＰＰアミロイドーシス、アルツハイマー病、ダウン症候群、オランダ型アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血、脳ベータアミロイド血管症、海綿状脳症、甲状腺腫瘍、パーキンソン病、ルイス体を伴う認知症、タウオパシー、ハンチントン病、老人性全身性アミロイドーシス、家族性血液透析、老人性全身性老化、老化下垂体障害、ｉａｔｒｏｇｅｎｉｃ症候群、海綿状脳症、反応性慢性炎症、甲状腺腫瘍、骨髄腫または他の形態のがんである。

【０２１６】

また、本明細書に記載のキメラ受容体のいずれか１つを対象に投与することを含む、対象を治療する方法も本明細書に提供される。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む細胞（例えば、食細胞）が投与される。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含むマクロファージが投与される。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む単球が投与される。

【０２１７】

特定の例示的な実施形態において、アミロイドーシスを有する対象を治療する方法が提供される。例えば、本明細書に記載のキメラ受容体を含む有効量の細胞が対象に投与され、それによって対象を治療するか、またはアミロイド沈着物の画像化を可能にする。特定の例示的な態様では、対象のアミロイド沈着物を除去するための方法が提供される。この方法は、例えば、アミロイドーシスを有する対象を選択し、本明細書に記載のキメラ受容体を含む有効量の操作された細胞を対象に投与することを含む。キメラ受容体を含む操作された細胞は、例えば、アミロイド結合ペプチドもしくはその機能的フラグメントを含むキメラ受容体を含む操作された細胞、またはアミロイドに結合する抗体に由来するアミロイド結合領域を含むキメラ受容体を含む操作された細胞を含む。キメラ受容体を含む操作された細胞の投与は、アミロイドのクリアランス、したがって対象の治療をもたらす。

【０２１８】

いくつかの実施形態において、アミロイドーシスを有する対象を治療する方法及び／またはアミロイドを除去する方法は、キメラ受容体を含む一用量の操作された細胞を、それを必要とする対象（例えば、アミロイドーシスを有するヒト）に投与することを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む治療上有効な用量の操作された細胞が投

与される。

【０２１９】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞は、（ａ）単一注入または（ｂ）複数注入（例えば、複数注入に分割された単一用量）として投与される。

【０２２０】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞の一用量は、約10^4から約10^9細胞／ｋｇ、例えば、約10^4から約10^5細胞／ｋｇ、約10^5から約10^6細胞／ｋｇ、約10^6から約10^7細胞／ｋｇ、約10^7から約10^8細胞／ｋｇ、または約10^8から約10^9細胞／ｋｇを含む。実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞の一用量は、約０．６×10^6細胞／ｋｇから約２×10^7細胞／ｋｇを含む。特定の実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞の一用量は、約２×10^5、１×10^6、１．１×10^6、２×10^6、３×10^6、３．６×10^6、５×10^6、１×10^7、１．８×10^7、２×10^7、５×10^7、１×10^8、２×10^8、３×10^8、または５×10^8細胞／ｋｇを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞の一用量は、少なくとも約１×10^6、１．１×10^6、２×10^6、３．６×10^6、５×10^6、１×10^7、１．８×10^7、２×10^7、５×10^7、１×10^8、２×10^8、３×10^8、または５×10^8細胞／ｋｇを含む。

【０２２１】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞の一用量は、約１×10^6、１．１×10^6、２×10^6、３．６×10^6、５×10^6、１×10^7、１．８×10^7、２×10^7、５×10^7、１×10^8、２×10^8、または５×10^8細胞／ｋｇを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞の一用量は、少なくとも約１×10^6、１．１×10^6、２×10^6、３．６×10^6、５×10^6、１×10^7、１．８×10^7、２×10^7、５×10^7、１×10^8、２×10^8、または５×10^8細胞／ｋｇを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞の一用量は、多くとも約１×10^6、１．１×10^6、２×10^6、３．６×10^6、５×10^6、１×10^7、１．８×10^7、２×10^7、５×10^7、１×10^8、２×10^8、または５×10^8細胞／ｋｇを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞の一用量は、約１．１×10^6から１．８×10^7細胞／ｋｇを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞の一用量は、約１×10^7、２×10^7、５×10^7、１×10^8、２×10^8、５×10^8、１×10^9、２×10^9、または５×10^9細胞／ｋｇを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞の一用量は、少なくとも約１×10^7、２×10^7、５×10^7、１×10^8、２×10^8、５×10^8、１×10^9、２×10^9、または５×10^9細胞／ｋｇを含む。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞の一用量は、多くとも約１×10^7、２×10^7、５×10^7、１×10^8、２×10^8、５×10^8、１×10^9、２×10^9、または５×10^9細胞／ｋｇを含む。

【０２２２】

キメラ受容体を含む操作された細胞は、免疫療法で一般的に知られている注入技術を使用して投与することができる（例えば、Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｎｅｗ Ｅｎｇ．Ｊ．ｏｆ Ｍｅｄ．３１９：１６７６，１９８８を参照）。いくつかの実施形態において、対象へのキメラ受容体を含む操作された細胞の投与は、エアロゾル吸入、注射、摂取、輸血、移植性転移または移植を含む、任意の便利な方法で実施され得る。本明細書に記載の組成物は、患者に、経動脈、皮下、皮内、腫瘍内、結節内、髄内、筋肉内、静脈内（ｉ．Ｖ．）注射、または腹腔内投与され得る。一態様では、キメラ受容体を含む操作された細胞は、皮内注射または皮下注射によって患者に投与される。一態様では、本発明のキメラ受容体を含む操作された細胞は、静脈内注射によって投与される。キメラ受容体を含む細胞の組成物は、疾患部位、例えば、アミロイド沈着を伴う体内の部位に直接注射

することができる。

【０２２３】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体は、細胞（例えば、マクロファージ）に導入され、対象（例えば、ヒト）は、キメラ受容体を含む操作された細胞の最初の投与、及びその後の、キメラ受容体を含む操作された細胞の１回以上の投与を受け、ここで、その後の１回以上の投与は、１５日未満、例えば、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、または２日後に投与する。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞の２回以上の投与は、週に投与し、例えば、キメラ受容体を含む操作された細胞を週に２、３、または４回投与する。いくつかの実施形態において、対象は、キメラ受容体を含む操作された細胞の２回以上の投与（例えば、週に２、３または４回の投与）を受け（本明細書では「サイクル」とも呼ばれる）、続いて１週間でキメラ受容体を含む操作された細胞を投与せず、次いで、キメラ受容体を含む操作された細胞の１回以上の追加投与（例えば、週にキメラ受容体を含む操作された細胞の２回以上の投与）を対象に投与する。いくつかの実施形態において、対象は、キメラ受容体を含む操作された細胞の２つ以上のサイクルを受け、各サイクル間の時間は、１０、９、８、７、６、５、４、または３日未満である。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞は、１日おきに投与され、１週間に３回投与される。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞は、少なくとも２、３、４、５、６、７、８週間またはそれ以上投与される。

【０２２４】

いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む細胞は、個体のアミロイド沈着物に結合する。いくつかの実施形態において、アミロイド沈着物は、疾患の病理に寄与する可能性がある。他の実施形態では、アミロイド沈着は、個体におけるアミロイドーシスまたはアミロイド関連疾患を示し得る。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む細胞は、アミロイドーシスを有する個体のアミロイドに結合する。いくつかの実施形態では、アミロイドーシスは、肝臓、心臓、または中枢神経系などの特定の組織または器官系に限局している。他の実施形態では、アミロイドーシスは全身性アミロイドーシスである。いくつかの実施形態では、アミロイドーシスは家族性アミロイドーシスである。他の実施形態では、アミロイドーシスは散発性アミロイドーシスである。いくつかの実施形態では、アミロイドーシスまたはアミロイド関連疾患は、ＩＩ型糖尿病のＡＡアミロイドーシス、ＡＬアミロイドーシス、ＡＨアミロイドーシス、Ａβアミロイドーシス、ＡＴＴＲアミロイドーシス、ＡＬｅｃｔ２アミロイドーシス、及びＩＡＰＰアミロイドーシス、アルツハイマー病、ダウン症候群、オランダ型アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血、脳ベータアミロイド血管症、海綿状脳症、甲状腺腫瘍、パーキンソン病、ルイス体を伴う認知症、タウオパシー、ハンチントン病、老人性全身性アミロイドーシス、家族性血液透析、老人性全身性老化、老化下垂体障害、ｉａｔｒｏｇｅｎｉｃ症候群、海綿状脳症、反応性慢性炎症、甲状腺腫瘍、骨髄腫または他の形態のがんである。いくつかの実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞は、正常な老化に関連するアミロイドに結合する。他の実施形態において、キメラ受容体を含む操作された細胞は、対象におけるアミロイドーシスまたはアミロイド関連疾患の診断、治療、または予後に使用される。

【０２２５】

特定の例示的な実施形態では、アミロイドーシスに罹患している対象を診断及び治療するための方法が提供される。そのような方法は、キメラ受容体を含む検出可能に標識された操作細胞を対象に投与すること、及び標識された操作細胞の投与に基づいて、対象がアミロイドーシスに罹患していることを判断することを含む。次に、有効量のアミロイド治療を対象に投与することができる。例えば、キメラ受容体を含む有効量の１つまたは複数の操作された細胞を投与することができる。

【０２２６】

いくつかの実施形態において、対象は、霊長類、ウシ、齧歯類、またはブタなどの哺乳動物である。いくつかの実施形態では、対象はヒトである。

【０２２７】
実施形態
本明細書で提供されるキメラ受容体、核酸、ベクター、宿主細胞、キメラ受容体を含む操作された細胞、及び方法の様々な実施形態は、以下の非限定的な実施形態のリストに含まれる。
【０２２８】
実施形態１．
活性化されるとマクロファージを活性化する受容体のシグナル伝達ドメインを含む細胞質ドメイン；
膜貫通ドメイン；及び
アミロイド結合領域を含む細胞外ドメインを含む、キメラ受容体。
【０２２９】
実施形態２．
前記アミロイド結合領域が、表Ａに示されるようなアミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントを含む、実施形態１に記載のキメラ受容体。
【０２３０】
実施形態３．
前記アミロイド結合ペプチドまたはその機能的フラグメントが、直接または間接的にＣＨ２ドメインまたはそのフラグメントに結合している、実施形態２に記載のキメラ受容体。
【０２３１】
実施形態４．
前記ＣＨ２ドメインが、表２または表３に示されるＣＨ２ドメイン配列に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態３に記載のキメラ受容体。
【０２３２】
実施形態５．
前記アミロイド結合領域が１１－１Ｆ４抗体フラグメントを含む、実施形態１に記載のキメラ受容体。
【０２３３】
実施形態６．
前記１１－１Ｆ４抗体フラグメントが、表１に示される１１－１Ｆ４　ＶＬ配列に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態５に記載のキメラ受容体。
【０２３４】
実施形態７．
前記１１－１Ｆ４抗体フラグメントがヒト化されている、実施形態５または６に記載のキメラ受容体。
【０２３５】
実施形態８．
前記細胞質ドメインが、細胞質ドメインＩ、細胞質ドメインＩＩ、またはそれらの機能的フラグメントを含む、実施形態１～７のいずれかに記載のキメラ受容体。
【０２３６】
実施形態９．
前記細胞質ドメインが、表１または表３に示される細胞質ドメインＩまたは細胞質ドメインＩＩの配列に対して少なくとも８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態８に記載のキメラ受容体。
【０２３７】
実施形態１０．
アミロイドの前記細胞外ドメインへの結合が前記キメラ受容体の前記細胞質ドメインを

活性化する、実施形態１～９のいずれかに記載のキメラ受容体。
【０２３８】
実施形態１１．
アミロイド沈着物を実施形態１～１０のいずれかのキメラ受容体と接触させることを含む、アミロイドを除去するための方法。
【０２３９】
実施形態１２．
前記アミロイドがＡＡ、ＡＬ、ＡＨ、ＡＴＴＲ、Ａβ２Ｍ、野生型ＴＴＲ、ＡＡｐｏＡＩ、ＡＡｐｏＡＩＩ、ＡＧｅｌ、ＡＬｙｓ、ＡＬｅｃｔ２、Ａｆｉｂ、ＡＣｙｓ、ＡＣａｌ、ＡＭｅｄｉｎ、ＡＩＡＰＰ、ＡＰｒｏ、ＡＩｎｓ、ＡＰｒＰ、またはＡβである、実施形態１１に記載の方法。
【０２４０】
実施形態１３．
前記キメラ受容体の前記アミロイド結合領域が前記アミロイドへの結合親和性を有する、実施形態１２に記載の方法。
【０２４１】
実施形態１４．
前記アミロイド沈着物を前記キメラ受容体と接触させることにより、前記アミロイドの少なくとも部分的なクリアランスがもたらされる、実施形態１１～１３のいずれかに記載の方法。
【０２４２】
実施形態１５．
実施形態１～１０のいずれかに記載のキメラ受容体を対象に投与することを含む、前記対象を治療する方法。
【０２４３】
実施形態１６．
前記キメラ受容体を前記対象に投与することが、前記キメラ受容体を発現するマクロファージまたは単球を投与することを含む、実施形態１５に記載の方法。
【０２４４】
実施形態１７．
前記受容体が、分泌リーダー配列の有無にかかわらず、表３のＣＡＲ－Ｐコンストラクト－３４５ａａとして示されている配列に対して８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有する、実施形態１に記載のキメラ受容体または実施形態１１～１６のいずれかに記載の方法。
【０２４５】
実施形態１８．
前記受容体の各成分が、一緒にまたは別々に、表３のＣＡＲ－Ｐコンストラクト－３４５ａａの対応する成分に対して８０、８５、９０、９５、９７、９８、または９９％の配列同一性を有する、実施形態１に記載のキメラ受容体または実施形態１１～１６のいずれかに記載の方法。
【実施例】
【０２４６】
以下の実施例は本発明をさらに例示説明するが、その範囲を制限するものとして決して解釈されるべきではない。本開示及び当技術分野における一般的なレベルの技能に照らして、当業者は、以下の実施例が単なる例示を意図するものであり、現在開示されている主題の範囲から逸脱することなく、多数の改変、修正、及び変更を採用できることを理解するであろう。添付の図は、本開示の明細書及び説明の不可欠な部分と見なされることを意図している。
【０２４７】
本明細書で使用される場合、以下の略語が適用される：ＡＴＴＲ（年齢依存性トランス

サイレチン関連）；ＡＬ（アミロイドーシス）；ＣＡＲ（キメラ抗原受容体）；ＣＡＲ－Ｐ（キメラ抗原受容体－食細胞）；ＥＬＩＳＡ（酵素結合免疫吸着アッセイ）；ＦｃＲ（Ｆｃ受容体）；ｍＡｂ（モノクローナル抗体）；ｍｏｓ（月）；Ｍφ（マクロファージ）；ＳＡＰ（血清アミロイドＰ）；ＳＣ（皮下）；及びｓｃＦｖ（単鎖可変フラグメント）。

【０２４８】

実施例１．ＡＬアミロイドーシスの受容体

次の例では、アミロイド反応性モノクローナル抗体１１－１Ｆ４及びアミロイド標的ペプチドに由来するアミロイド結合領域について説明する。

【０２４９】

１１－１Ｆ４モノクローナル抗体

アミロイド反応性モノクローナル抗体（ｍＡｂ）１１－１Ｆ４が生成され、治療薬として特徴付けられている（Ｈｒｎｃｉｃ，Ｒ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｐａｔｈｏｌ，２０００．１５７（４）：ｐ．１２３９－４６；Ｏ’Ｎｕａｌｌａｉｎ，Ｂ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｍｙｌｏｉｄ ａｎｄ Ａｍｙｌｏｉｄｏｓｉｓ：Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｘｔｈ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｓｙｍｐｏｓｉｕｍ ｏｎ Ａｍｙｌｏｉｄｏｓｉｓ．２００５．Ｔｏｕｒｓ，Ｆｒａｎｃｅ：ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ；Ｏ’Ｎｕａｌｌａｉｎ，Ｂ．，ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，２００７．４６（５）：ｐ．１２４０－７；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｎｕｃｌ Ｍｅｄ，２００６．４７（１２）：ｐ．２０１６－２０２４）。ｍＡｂは、ＡＬアミロイド原線維に存在するネオエピトープに結合したが、ＡＬ患者の循環に存在する非線維性ＬＣタンパク質には強く結合しなかった。免疫無防備状態のマウスに皮下（ＳＣ）移植されたヒトＡＬアミロイド抽出物との１１－１Ｆ４の反応性は、小動物ＳＰＥＣＴ／ＣＴイメージングによって容易に証明された（ＦＩＧ．４Ａ；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｎｕｃｌ Ｍｅｄ，２００６．４７（１２）：ｐ．２０１６－２０２）。アミロイドを含まない組織では、オフターゲット結合は観察されなかった。ＳＣヒトＡＬアミロイドーマを有するマウスを１１－１Ｆ４（５ｍｇ／Ｋｇで）で処理すると、食細胞Ｍφ及び好中球の動員を必要とするプロセスにおいて、塊の溶解が促進された（図４Ｂ、図４Ｃ）（Ｈｒｎｃｉｃ，Ｒ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｐａｔｈｏｌ，２０００．１５７（４）：ｐ．１２３９－４６；Ｏ’Ｎｕａｌｌａｉｎ，Ｂ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｍｙｌｏｉｄ ａｎｄ Ａｍｙｌｏｉｄｏｓｉｓ：Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｘｔｈ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｓｙｍｐｏｓｉｕｍ ｏｎ Ａｍｙｌｏｉｄｏｓｉｓ．２００５．Ｔｏｕｒｓ，Ｆｒａｎｃｅ：ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ；Ｓｏｌｏｍｏｎ，Ａ．，Ｄ．Ｔ．Ｗｅｉｓｓ，ａｎｄ Ｊ．Ｓ．Ｗａｌｌ，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ，２００３．９（１０ Ｐｔ ２）：ｐ．３８３１Ｓ－８Ｓ）。ヒトでの最初の生体内分布研究（ＮＣＴ０１４０９１４８）を実施し、ＰＥＴ／ＣＴイメージングによってＡＬ患者の特定のアミロイド含有臓器に特異的に放射性ヨウ素化された１１－１Ｆ４の蓄積が示された（図４Ｄ；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ，２０１０．１１６（１３）：ｐ．２２４１－４）。

【０２５０】

これらのデータは、１１－１Ｆ４が患者のＡＬアミロイドを特異的に標的化できること、及びマウスでは、ｍＡｂの結合がＭφを介したヒトアミロイドの溶解を促進できることを示している。マウス１１－１Ｆ４の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメイン（Ｆｖ領域）のアミノ酸配列を決定し、キメラ試薬を生成するために使用した（ヒトＩｇＧ１を使用）。ｃ１１－１Ｆ４は現在、ＡＬアミロイドーシス（ＮＣＴ０２２４５８６７）患者における安全性と有効性について第１相臨床評価を受けている。中間データは、ｃ１１－１Ｆ４ ｍＡｂによる治療が十分に許容され、ＡＬアミロイドーシス患者の心臓及び腎臓関連のバイオマーカーの改善を引き起こしたことを示した（Ｅｄｗａｒｄｓ，Ｃ．Ｖ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｍｙｌｏｉｄ，２０１７．２４（ｓｕｐ１）：ｐ．５８－５９）。

【０２５１】

アミロイド標的ペプチド

過去７年間で、一連の合成アミロイド反応性ペプチドが生成され、特徴づけられ、主に全身性アミロイドーシスの新規造影剤として機能していた（Ｍａｒｔｉｎ，Ｅ．Ｂ．，ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ Ｒｅｐ，２０１６．６：ｐ．２２６９５；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，２０１５．２０（５）：ｐ．７６５７－８２；Ｍａｒｔｉｎ，Ｅ．Ｂ．，ｅｔ ａｌ．，Ｐｅｐｔｉｄｅｓ，２０１４．６０：ｐ．６３－７０；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ Ｉｍａｇｉｎｇ，２０１７．１６：ｐ．１５３６０１２１１７７０８７０５；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ Ｉｍａｇｉｎｇ Ｂｉｏｌ，２０１２．１４（４）：ｐ．４０２－７）。最初に、ｐ５と指定されたペプチドが同定された：合成ＡＬ－アミロイド原線維ならびにヒトＡＬ及びＡＴＴＲアミロイド抽出物に結合することができた３１アミノ酸の非天然多塩基性（＋８）試薬（Ｍａｒｔｉｎ，Ｅ．Ｂ．，ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ｒｅｓ Ｃｏｍｍｕｎ，２０１３．４３６（１）：ｐ．８５－９；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ，２０１１．１０８（３４）：ｐ．Ｅ５８６－９４）。続いて、正味の正電荷が増加したｐ５誘導体（ペプチドｐ５＋１４）が生成され、これは、ＡＬ及びＡＴＴＲに関連するアミロイドに同様に結合したが、親和性と結合力が高くなっていた（Ｍａｒｔｉｎ，Ｅ．Ｂ．，ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ Ｒｅｐ，２０１６．６：ｐ．２２６９５；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，２０１５．２０（５）：ｐ．７６５７－８２）。

【０２５２】

ｐ５＋１４の強化された特性を考えると、このペプチドは、全身性アミロイドーシスを画像化するための新規薬剤として、放射性標識変異体を診療所に翻訳することを目的として広く特徴付けられている。基質として模範的な原線維構造、Ａβ（ＰＤＢ＃１ＢＥＧ）を使用した分子動的シミュレーションは、ｐ５＋１４－原線維相互作用が、アミロイド原線維の繰り返しタンパク質サブユニットと相互作用できる１２個のリジンアミノ酸側鎖が関与する多価静電相互作用によって支配されることを示した。アミロイド線維。さらに、リジン残基は、アミロイド沈着物に遍在する過硫酸化ヘパラン硫酸グリコサミノグリカンに結合することができる（Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，２０１５．２０（５）：ｐ．７６５７－８２）。ビオチン化されると、ペプチドｐ５＋１４は、ホルマリン固定パラフィン包埋組織切片のヒトＡＬアミロイド沈着物に特異的に結合し、これは、コンゴーレッド染色された組織切片のグリーンゴールド複屈折によって証明された（図５Ａ）。

【０２５３】

ｐ５＋１４の好ましいアミロイド結合及び画像化能力（すなわち、アミロイドへの特異的結合、ならびに健康な臓器及び組織との反応性なし）、及び優れた前臨床安全性プロファイルに基づいて、米国ＦＤＡは、全身性アミロイドーシス（ＮＣＴ０３６７８２５９）の患者を対象に、ヨウ素^{124}標識ｐ５＋１４ペプチドのフェース１のＰＥＴ／ＣＴイメージング試験を実施するための治験薬申請書（ＩＮＤ＃１３２２８２）を承認した。Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｔｅｎｎｅｓｓｅｅ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｃｅｎｔｅｒで２０１８年１１月にヒトでの最初のイメージング検査が開始され、^{124}Ｉ－ｐ５＋１４ペプチドの安全性とアミロイド反応性が評価された。ＡＬアミロイドーシスの患者からの予備データは、ペプチドがこの対象においてアミロイドを含む可能性が高い器官に局在化することを示唆した（図５Ｂ）。

【０２５４】

アミロイドーシスの造影剤としてのペプチドｐ５＋１４の臨床評価への翻訳が成功した後、このペプチド（または他のｐ５誘導体）（Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ，２０１８．１１５（４６）：ｐ．Ｅ１０８３９－Ｅ１０８４８；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ Ｉｍａｇｉｎｇ Ｂｉｏｌ，２０１７．１９（５）：ｐ．７１４－７２２；Ｍａｒｔｉｎ，Ｅ．Ｂ．，ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｔｒａｎｓｌ Ｍｅｄ，２０１７．１５（１）：ｐ．２４７）は、新規アミ

ロイド治療薬の成分としてさらに活用できるとの仮説が立てられた。

【０２５５】

したがって、本明細書に記載されるように、ペプチドは、ＣＡＲの結合受容体成分として使用され、これは、アミロイドの存在下でＭφを特異的に標的化及び活性化し、食作用をもたらす。

【０２５６】

実施例２．アミロイド食作用のためのＣＡＲデザイン

次の例では、アミロイド結合領域で構成されるＣＡＲ構築物の設計について説明する。

【０２５７】

ＣＡＲ－Ｐ細胞の１回の反復では、単鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）として提示されるアミロイド結合ｍＡｂ　１１－１Ｆ４の使用がアミロイド結合受容体として提案され、これは、ｓｃＦｖ構造がＣＡＲ設定でアクティブであることが示されているからである。（Ｍｏｒｒｉｓｓｅｙ，Ｍ．Ａ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｅｌｉｆｅ，２０１８．７）。^{124}Ｉ－１１－１Ｆ４のイメージング検査では、ｍＡｂがＡＬ患者の約６０％しか画像化されなかったことが示された（Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ，２０１０．１１６（１３）：ｐ．２２４１－４）。したがって、より一般的なＣＡＲ構築物を作成するために、第２のＣＡＲ－Ｐ設計では、結合受容体としてマルチアミロイド反応性ペプチドを使用する（以下を参照）。ほとんどのＣＡＲ構築物はｍＡｂ関連のｓｃＦｖを受容体として使用するため、これは新しいアプローチである。腫瘍（Ｌｅ　Ｊｏｎｃｏｕｒ，Ｖ．ａｎｄ　Ｐ．Ｌａａｋｋｏｎｅｎ，Ｂｉｏｏｒｇ　Ｍｅｄ　Ｃｈｅｍ，２０１８．２６（１０）：ｐ．２７９７－２８０６）及びアミロイド標的ペプチド（Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ，２０１５．２０（５）：ｐ．７６５７－８２；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ，２０１８．１１５（４６）：ｐ．Ｅ１０８３９－Ｅ１０８４８；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ，２０１３．８（６）：ｐ．ｅ６６１８１；Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ　Ｉｍａｇｉｎｇ　Ｂｉｏｌ，２０１７．１９（５）：ｐ．７１４－７２２）の有用性が高まっていることを考えると、このアプローチは、ＣＡＲ発現細胞の構築のために新しい道を開き、生活の質を高め、患者の生存を延長することにより、患者に有意義な利益をもたらし得ると考えられている。

【０２５８】

初期の研究のために６つの構造が設計されていた。３つのＣＡＲは、アミロイド結合受容体として１１－１Ｆ４　ｓｃＦｖを組み込んでおり、細胞質ドメインは、次のいずれかを含む：（ｉ）高親和性マウスＦｃＲ共通γサブユニット、（ｉｉ）マウスＣＤ１９＋ＦｃＲ（タンデム）、または；（ｉｉｉ）シグナル伝達ドメインなし（陰性対照として機能する）（図６の（ｉ））。例として、タンデム（ＣＤ１９＋ＦｃＲ）細胞質ドメイン（１１－１Ｆ４ＣＡＲ$_{タンデム}$と指定）を持つ１１－１Ｆ４ｓｃＦｖ　ＣＡＲのモジュールを構成するアミノ酸を表１に示す。膜貫通ドメインと細胞質ドメインは、以前のＣＡＲ－ＰＭφ研究で使用されたものと同じであった（Ｍｏｒｒｉｓｓｅｙ，Ｍ．Ａ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｅｌｉｆｅ，２０１８．７）。

【表４】

表１．$^{11-1F4}CAR_{タンデム}$成分の一次構造（一文字のアミノ酸コード）。

	$^{11\text{-}1F4}CAR_{tandem}$		
ドメイン	一次構造（アミノ酸）	配列番号	留意点
リーダー	MASPLTRFLS LNLLLLGESI ILGSGEA	28	残基１～２７マウスＣＤ８α鎖 (UniProtKB - P01731 [CD8A_MOUSE])
11-1F4 VL	DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISYRASKSVS TSGYSYMHWN QQKPGQPPRL LIYLVSNLES GVPARFSGSG SGTDFTLNIH PVEEEDAATY YCQHIRELTR FGGGTKLEIK R	19	11-1F4、アミノ酸 1-111
scFv リンカー	GGSSRSSSSGG GGSGGGG	27	Andris-Widhopf, J., *et al.*, *Cold Spring Harb Protoc*, 2011. 2011(9) を参照
11-1F4 VH	QVQLKESGPG LVAPSQSLSI TCTVSGFSLS SYGVSWVRQP PGKGLEWLGV IWGDGSTNYH PNLMSRSLSI SKDISKSQVL FKLNSLQTDD TATYYCVTLD YWGQGTSVTV S	20	11-1F4、アミノ酸 1-111
スペーサー－膜貫通ドメイン	KVNSTTTKPVL RTPSPVHPTGT SQPQRPEDCRP RGSVKGTGLDF ACDIYIWAPLA GICVALLLSLI ITLIC	29	残基１４８～２１８マウスＣＤ８α鎖 (UniProtKB - P01731 [CD8A_MOUSE])
細胞質ドメインＩ	AESYENADEE LAQPVGRMMD FLSPHGSAWD PSRE	30	残基５００～５３４マウスCD19 (UniProtKB - P25918 [CD19_MOUSE])
細胞質ドメインＩＩ	GEPQLCYILDA VLFLYGIVLTL LYCRLKIQVRK AAIASREKADA VYTGLNTRSQE TYETLKHEKPP Q	31	残基１９～８６マウスＦｃＥＲＧ前駆体 (UniProtKB - P20491 [FCERG_MOUSE])

【０２５９】

３つのＣＡＲの第２のセットは、アミロイド受容体としてｐ５＋１４ペプチドを組み込み、同様に、３つの多様な細胞質シグナルドメインを使用する（図６の（ｉｉ））。各モジュールのタンパク質配列は、ＣＡＲの生成に使用されるタンパク質配列データベース（ＵｎｉＰｒｏｔなど）から特定されている。

【０２６０】

ｐ５＋１４を含むＣＡＲ構築物の場合、マウスＣＨ２ドメイン（ＩｇＧ２ａ　Ｆｃドメインから）をペプチドのすぐ遠位（Ｃ末端）に含めて、ペプチドを細胞表面から離して配置した。これは、高度に正に帯電したｐ５＋１４ペプチドと原形質膜の成分、特に高い負

の電荷密度を持つグリコサミノグリカンとの相互作用を最小限に抑えるために必要であると考えられている。マウスＩｇＧ２ａ　Ｆｃ　ＣＨ２ドメインが選択されたのは、アミロイド反応性ペプチドがＣＨ２ドメインに融合されたＦｃ２ａ－ペプチド融合試薬が以前に生成されたためである。この構成では、アミロイド反応性ペプチドは、ＡＬアミロイド及び合成アミロイド様ＡＬ原線維に結合する能力を保持していた（Ｆｏｓｔｅｒ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｆｒｏｎｔ　Ｉｍｍｕｎｏｌ，２０１７．８：ｐ．１０８２）。ペプチドｐ５＋１４とマウスＦｃ２ａ　ＣＨ２の配列を表２に示す。

【表５】

表２．ｐ５＋１４の一次構造とp5+14ＣＡＲ構築物で使用されるＣＨ２ドメイン。

	$^{p5+14}CAR_{FcεR}$		
ドメイン	一次構造（アミノ酸）	配列番号	留意点
p5+14-スペーサー	ISAMQVTPTV GGGYSKAQKA QAKQAKQAQK AQKAQAKQAK QAQKAQKAQA KQAKQVTPTV	32	Wall, J.S., *et al.*, *Molecules*, 2015. 20(5): p. 7657-82. を参照。
CH2	PNLLGGPSVF IFPPKIKDVL MISLSPIVTC VVVDVSEDDP DVQISWFVNN VEVHTAQTQT HREDYNSTLR VVSALPIQHQ DWMSGKEFKC KVNNKDLPAP IERTISKPK	33	pFUSE-mIgG2A-Fc2 発現ベクター (Invivogen, San Diego, CA) から

【０２６１】

同じ目標を達成するために、ＣＨ２ドメインを他の互換性のある配列で置き換えることができることは注目に値す。同様に、多数の細胞質食作用シグナル伝達ドメインを使用することができる。Ｍφには、細胞質要素が異なる４つの標準的な食作用受容体があるが、他の受容体も関与する可能性がある（Ｔａｙｌｏｒ，Ｐ．Ｒ．，ｅｔ　ａｌ．，Ａｎｎｕ　Ｒｅｖ　Ｉｍｍｕｎｏｌ，２００５．２３：ｐ．９０１－４４）。一般に、免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）エレメントを介したシグナル伝達は、食作用プロセスの主要なコンポーネントと見なされ、これらのエレメントは、単独で使用することもでき、他のエレメントと組み合わせて使用することもできる（Ｈａｍｅｒｍａｎ，Ｊ．Ａ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｒｅｖ，２００９．２３２（１）：ｐ．４２－５８；Ｔａｙｌｏｒ，Ｐ．Ｒ．，ｅｔ　ａｌ．，Ａｎｎｕ　Ｒｅｖ　Ｉｍｍｕｎｏｌ，２００５．２３：ｐ．９０１－４４）。Ｍφの共刺激と食作用の誘導は、アミロイド線維に結合することが示されている表面結合パターン認識トール様受容体２の相互作用を介して発生する可能性があることも注目に値す（Ｆｒｉｅｄｌａｎｄ，Ｒ．Ｐ．，Ｊ　Ａｌｚｈｅｉｍｅｒｓ　Ｄｉｓ，２０１５．４５（２）：ｐ．３４９－６２；Ｔｕｋｅｌ，Ｃ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　Ｈｏｓｔ　Ｍｉｃｒｏｂｅ，２００９．６（１）：ｐ．４５－５３）。

【０２６２】

実施例３．マクロファージ細胞株におけるＣＡＲの発現

次の例は、マクロファージ細胞株における上記の実施例２に記載されたＣＡＲ構築物の発現を記載している。

【０２６３】

ＣＡＲ全体をコードするｃＤＮＡ配列は、Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ（Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）によって合成され、ｐＥＦ－ＥＮＴＲ　Ａ（Ａｄｄｇｅｎｅ）ベクターにクローン化され、ｐＬｅｎｔｉ　ＣＭＶ　ＧＦＰ　Ｄｅｓｔ（Ａｄｄｇｅｎｅ）に再結合されて

、ＶＳＶ－Ｇシュードタイピングを備えた第３世代パッケージングシステムを使用してＨＥＫ２９３Ｔ細胞にトランスフェクションすることにより、レンチウイルスとしてパッケージングされる。このバイシストロン性デスティネーションベクターには、陽性にトランスフェクトされた細胞の同定を可能にする緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）配列が含まれている。マウス食細胞Ｍφ細胞株ＲＡＷ２６４．７（ＲＡＷ；ＡＴＣＣ　ＴＩＢ－７１）は、安定した取り込みとそれに続く限定希釈クローニングのためにレンチウイルスで形質導入される。ＲＡＷ細胞株に加えて、非食細胞性マウス単球細胞株ＷＥＨＩ－２７４．１が形質導入される（ＷＥＨＩ；ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－１６７９）。マウスＲＡＷ　Ｍφは、ＣＡＲを欠いているものでさえ、基底レベルのアミロイド食作用を示すため、ＷＥＨＩ－２７４細胞は、食作用がない場合のＣＡＲへのアミロイドの結合を研究するための陰性対照細胞として機能すると考えられる。最終的な対照として、ＧＦＰを発現するＲＡＷ及びＷＥＨＩ細胞は、ｐＬｅｎｔｉ　ＣＭＶ　ＧＦＰ　ＤｅｓｔまたはＧＦＰのみを含む別のベクターによるトランスフェクションまたは形質導入によって生成される。１１－１Ｆ４ｓｃＦｖまたはｐ５＋１４ペプチドＣＡＲの表面発現は、以前に生成された１１－１Ｆ４抗イディオタイプまたはｐ５＋１４反応性ｍＡｂを用いた固定細胞での標準的な免疫蛍光抗体（Ａｌｅｘａ－５９４）によって検証される（Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｐｈａｒｍ　Ｐａｔ　Ａｎａｌ，２０１７．６（５）：ｐ．２１５－２２３）。細胞あたりの発現受容体の数は、１１－１Ｆ４抗イディオタイプ及び抗ペプチドｐ５＋１４抗体を使用して、細胞表面フローサイトメトリー（Ｑｕ，Ｃ．Ｘ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｃｌｉｎ　Ｌａｂ　Ａｎａｌ，２００６．２０（６）：ｐ．２５０－４）または放射性標識抗体結合アッセイ（Ｄａｈｌｅ，Ｊ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｎｕｃｌ　Ｍｅｄ　Ｃｏｍｍｕｎ，２００７．２８（９）：ｐ．７４２－７）のいずれかによって評価される。

【０２６４】

実施例４．合成ＡＬ原線維及びアミロイド抽出物のＣＡＲ－ＰＭφへの結合

機能研究の最初のステップとして、ＲＡＷ及びＷＥＨＩ細胞を形質導入し、ＧＦＰ関連緑色蛍光の発現によって証明し、限界希釈によってクローン化して、合成ＡＬ関連アミロイド線維及びヒトＡＬアミロイド抽出物の細胞表面結合を研究する（Ｗａｌｌ，Ｊ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，１９９９．３８（４２）：ｐ．１４１０１－８）。アミロイドは、スクシンイミジル－ＡｌｅｘａＦｌｕｏｒ－５９４（最大蛍光発光＝約６１０ｎｍ；ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を使用して標識され、ＣＡＲ－ＰＭφと１～３時間インキュベートされた後、アミロイド物質に関連する細胞がフローサイトメトリーによって定量化される。データは、Ａｔｔｕｎｅ　ＮｘＴ音響集束サイトメーター（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）を使用して、ＧＦＰでゲーティングする前に、前方及び側方散乱パラメーターを使用して無傷の細胞をまずゲーティングすることによって取得される（４８８ｎｍでの励起と５３２ｎｍフィルターで検出された発光を使用）。ＡｌｅｘａＦｌｕｏｒ－５９４（５７４ｎｍフィルター）にも陽性のＧＦＰ陽性細胞の数は、結合効率の指標として機能する。この研究では、表面に発現した１１－１Ｆ４ｓｃＦｖ及びｐ５＋１４ペプチドの完全性と、アミロイドに結合するそれらの能力を評価する。ＣＡＲ発現を欠くＲＡＷ及びＷＥＨＩ細胞は対照集団として機能する。ＣＡＲ－Ｐ陽性細胞と対照細胞を使用したｎ＝５の実験からのデータは、データが正常に分布していない場合、対応のないＴ検定またはノンパラメトリック同等物を使用して比較する。

【０２６５】

実施例５．ＡＬアミロイドのエクスビボ食作用

合成アミロイド原線維及びヒトＡＬアミロイド抽出物の食作用は、最初に、ｐＨ感受性フルオロフォアｐＨｒｏｄｏ　ｒｅｄ（最大発光＝約６００ｎｍ）で標識されたアミロイド材料を使用した蛍光顕微鏡法によって研究される。この試薬は、バクテリア、そして最近ではアミロイド原線維（Ｒｉｃｈｅｙ　ｅｔ　ａｌ．（２０１９）Ａｍ　Ｊ．Ｐａｔｈｏｌ．ａｃｃｅｐｔｅｄ）のＭφの酸性化ファゴリソソームへの取り込みを研究するために広く使用されており、ここで、フルオロフォアの蛍光発光が大幅に増強される（Ｍｉｋ

ｓａ，Ｍ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｍｅｔｈｏｄｓ，２００９．３４２（１－２）：ｐ．７１－７）。ＣＡＲを発現するＲＡＷ細胞は、セミコンフルエントになるまで、２４ウェル培養皿のＲＰＭＩ培地でウェルあたり５ｘ１０^{5}細胞で増殖及び播種される。フルオロフォア結合ＡＬアミロイドをウェルに最終濃度２５～５０μｇ／ｍＬで、最終容量１ｍＬで添加する。アミロイド物質は不溶性であり、ウェルの底に急速に沈降すると予想される。２～２４時間のインキュベーション期間の後、ウェルを温めたＲＰＭＩで洗浄し、分析のために準備する。キーエンスＢｚ－ｘ７００蛍光顕微鏡（３倍デジタルズーム付き４０倍対物レンズ）を使用して、デュアルフルオロフォア（赤と緑）の顕微鏡写真を取得する。赤色蛍光アミロイド粒子を含むＣＡＲ－Ｐ陽性（緑色）細胞の数を定量化し、対応のない両側ｔ検定、またはノンパラメトリック同等物を使用してＣＡＲ－Ｐ陰性細胞と比較する。

【０２６６】

並行して、フローサイトメトリー分析（上記の実施例３で説明）は、培養皿から持ち上げられた懸濁液中の細胞を使用して実行される。一致する赤（ｐＨｒｏｄｏ赤）及び緑（ＧＦＰ陽性）細胞の数を定量化し、ＣＡＲ陰性、ＧＦＰ発現コントロールのＲＡＷ及びＷＥＨＩ細胞と比較する。

【０２６７】

実施例６．ＡＬアミロイド保有マウスにおけるアミロイド－ＣＡＲ－ＰＭφのインビボ特性評価

ヒトＡＬアミロイド抽出物は、近赤外色素Ｄｙｌｉｇｈｔ８００－ＮＨＳエステル（最大発光＝７９４ｎｍ；Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）及び光学イメージング用のｐＨｒｏｄｏ　ｒｅｄ（ｉＢｏｘ　Ｓｃｉｅｎｔｉａ、Ａｎａｌｙｔｉｋ　Ｊｅｎａ）で標識されている。限局性ＡＬ腫瘤は、約２～２０ｍｇのフルオロフォア結合アミロイドのＩＰ注射により、オス及びメスの免疫不全（ＮＵ／ＮＵ）マウス（コホートあたりｎ＝５）に誘発される。注射後１週間で、マウスは５００μＬの滅菌ＰＢＳに１ｘ１０^{6}ＧＦＰ陽性ＣＡＲ－Ｐ　ＲＡＷまたはＣＡＲ－Ｐ　ＷＥＨＩ　Ｍφ（または、対照として、ＧＦＰ陽性、ＣＡＲ陰性細胞）のＩＰ注射を受ける。注射されたＭφとアミロイド及び食作用との共局在は、注射後１、３、４、及び７日で麻酔された（１．５％イソフルラン）マウスの光学イメージングによって視覚化される（Ｗａｌｌ，Ｊ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ，２０１８．１１５（４６）：ｐ．Ｅ１０８３９－Ｅ１０８４８）。各フルオロフォア（ＧＦＰ、ｐＨｒｏｄｏ　ｒｅｄ、及びＤｙｌｉｇｈｔ８００）の蛍光強度は、デジタル画像から定量化される。アミロイド標的化実験の最後に、残留アミロイド物質、ならびに肝臓、脾臓、肺、及び腎臓を死後に採取し、ホルマリンで固定し、組織切片を調製し、蛍光顕微鏡で評価して、ＧＦＰ陽性Ｍφの全体的な生体内分布を識別する。Ｍφの存在は、蛍光顕微鏡写真の形態計測分析から、少なくとも５つの連続した６μｍの厚さの組織切片で定量化される。ＣＡＲ－Ｐ　Ｍφを投与されたマウスからのデータは、対応のない両側ｔ検定を使用して対照細胞と比較される。

【０２６８】

実施例７．例示的なＣＡＲ構築物

以下の表３は、例示的なスペーサー、膜貫通、細胞質領域、ＣＨ２、リーダー、ｐ５、及び完全長のＣＡＲ－Ｐアミノ酸配列を提供する。

【表６－１】

表３．ＣＡＲ構築物のアミノ酸配列。

スペーサー／膜貫通
マウス（配列番号２９）
150

KVN
160 170
180 190 200
STTTKPVLRT PSPVHPTGTS QPQRPEDCRP RGSVKGTGLD FACDIYIWAP
210
LAGICVALLL SLIITLIC

ヒト （配列番号５７）
140
150

TTT PAPRPPTPAP
160 170 180

【表６－２】

190 200

TIASQPLSLR PEACRPAAGG AVHTRGLDFA CDIYIWAPLA GTCGVLLLSL VITLYC

細胞質領域Ｉ（ＰＩ３Ｋ動員）（配列番号４２）

500 510 520
530
L YAAPQLHSIQ SGPSHEEDAD SYENMDKSDD LEPA

細胞質領域ＩＩ（ＦｃＥＲＧ）（下線部分：配列番号４１；全長配列：配列番号４５）

10 20
30 40 50
MISAVILFLL LLVEQAAA LG EPQLCYILDA VLFLYGIVLT LLYCRLKIQV
60 70
80
RKAAIASREK ADAVYTGLNT RSQETYETLK HEKPPQ

マウスＣＨ２（ｐＦｕｓｅ）（配列番号３３）

PNLLGGPSVF IFPPKIKDVL MISLSPIVTC VVVDVSEDDP DVQISWFVNN
VEVHTAQTQT HREDYNSTLR VVSALPIQHQ DWMSGKEFKC KVNNKDLPAP
IERTISKPK

リーダー（配列番号３８；太字）、Ｐ５（配列番号３９；斜体）、細胞質ドメインＩ（配列番号３０、下線付き）、細胞質領域１（配列番号４２、太字及び斜体）；完全長配列：配列番号５６

MALPVTALLL PLALLLHAAR PSQFR VSP**

TV GGGYSKAQKAQAKQAKQAQKAQKAQAKQAKQ VTPTV

410 420
430 440 450

AYEEPDSEEG SEFYENDSNL GQDQVSQDGS GYENPEDEPM GPEEEDSFSN
460 470
480 490 500
AESYENADEE LAQPVGRMMD FLSPHGSAWD PSREASSLGS QSYEDMRGI****L
510 520
530 540 547
YAAPQLHSIQ SGPSHEEDAD SYENMDKSDD LEPA*WEGEGH MGTWGTT

デザインパラメータ（ＣＡＲ－Ｐ）

シグナルペプチド: aa 1–21 CD8 (Uniprot Q96QR6_HUMAN)

細胞外抗体配列：

V-L 鎖：ａａ ２３－１３０抗 -CD19 CAR (Genbank AMZ04819) –

ＧＳリンカー：ggtggcggtggctcgggcggtggtgggtcgggtggcggcggatct (配列番号４６－

Ｖ－Ｈ鎖：ａａ１４８－２６７抗 -CD19 CAR (Genbank AMZ04819)

茎／膜貫通：aa 138–206 CD8 (Uniprot Q96QR6_HUMAN)

【表６－３】

細胞質ゾル配列：ａａ　１９－８６マウスＦｃ　ＥＲＧ前駆体（ＦＣＥＲＧ＿ＭＯＵＳＥ）に融合したａａ　５００－５３４マウスＣＤ１９（Ｕｎｉｐｒｏｔ　ＣＤ１９＿ＭＯＵＳＥ） フルオロフォア：ｍＧＦＰ
最終ＣＡＲ－Ｐ構築物－３４５ａａ（完全長配列：配列番号４３） **MALPVTALLLPLALLLHAARPSQFRVSP***TVGGGYSKAQKAQAKQAKQAQKAQKAQAKQAK* *QVTPTV*PNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVH TAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPK***TTTKP*** ***VLRTPSPVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGTGLDFACDIYIWAPLAGICVALLLSLIITL*** ***ICLGEPQLCYILDAVLFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKAAIASREKADAVYTGLNTRSQETY*** *ETLKHEKPPQ***LYAAPQLHSIQSGPSHEEDADSYENMDKSDDLEPA** 太字＝分泌リーダー（配列番号３８） 斜体＝アミロイド結合ペプチド及びスペーサー（Ｐ５）（配列番号３９） 下線＝Ｉｇ　ＣＨ２ドメイン（配列番号３３） 太字及び斜体＝スペーサー及び膜貫通ドメイン（配列番号４０） 斜体及び下線付き＝細胞質領域ＩＩ（配列番号４１） 太字及び下線付き－細胞質領域Ｉ（配列番号４２）

【０２６９】

配列

すべてのポリペプチド配列は、Ｎ末端からＣ末端の方向に描かれている。

１１－１Ｆ４　ＶＬ（配列番号１９）

ＤＩＶＬＴＱＳＰＡＳ　ＬＡＶＳＬＧＱＲＡＴ　ＩＳＹＲＡＳＫＳＶＳ　ＴＳＧＹＳＹＭ
ＨＷＮ　ＱＱＫＰＧＱＰＰＲＬ　ＬＩＹＬＶＳＮＬＥＳ　ＧＶＰＡＲＦＳＧＳＧ　ＳＧＴ
ＤＦＴＬＮＩＨ　ＰＶＥＥＥＤＡＡＴＹ　ＹＣＱＨＩＲＥＬＴＲ　ＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫ　Ｒ

１１－１Ｆ４　ＶＨ（配列番号２０）

ＱＶＱＬＫＥＳＧＰＧ　ＬＶＡＰＳＱＳＬＳＩ　ＴＣＴＶＳＧＦＳＬＳ　ＳＹＧＶＳＷＶ
ＲＱＰ　ＰＧＫＧＬＥＷＬＧＶ　ＩＷＧＤＧＳＴＮＹＨ　ＰＮＬＭＳＲＳＬＳＩ　ＳＫＤ
ＩＳＫＳＱＶＬ　ＦＫＬＮＳＬＱＴＤＤ　ＴＡＴＹＹＣＶＴＬＤ　ＹＷＧＱＧＴＳＶＴＶ　Ｓ

１１－１Ｆ４　ＣＤＲ－Ｈ１（配列番号２１）

ＧＦＳＬＳＳＹＧＶＳ

１１－１Ｆ４　ＣＤＲ－Ｈ２（配列番号２２）

ＶＩＷＧＤＧＳＴＮＹＨＰＮＬＭＳ

１１－１Ｆ４　ＣＤＲ－Ｈ３（配列番号２３）

ＬＤＹ

１１－１Ｆ４　ＣＤＲ－Ｌ１（配列番号２４）

ＲＳＳＱＳＬＶＨＲＮＧＮＴＹＬＨ

１１－１Ｆ４　ＣＤＲ－Ｌ２（配列番号２５）

ＫＶＳＮＲＦＳ

１１－１Ｆ４　ＣＤＲ－Ｌ３（配列番号２６）

ＦＱＴＴＹＶＰＮＴ

ｓｃＦｖリンカー（配列番号２７）

ＧＧＳＳＲＳＳＳＳＧＧ　ＧＧＳＧＧＧＧ

ＣＡＲリーダー配列（配列番号２８）

ＭＡＳＰＬＴＲＦＬＳ　ＬＮＬＬＬＬＧＥＳＩ　ＩＬＧＳＧＥＡ

スペーサー－ＴＭドメイン（配列番号２９）

ＫＶＮＳＴＴＴＫＰＶＬ　ＲＴＰＳＰＶＨＰＴＧＴ　ＳＱＰＱＲＰＥＤＣＲＰ　ＲＧＳＶ
ＫＧＴＧＬＤＦ　ＡＣＤＩＹＩＷＡＰＬＡ　ＧＩＣＶＡＬＬＬＳＬＩ　ＩＴＬＩＣ
細胞質ドメインＩ（配列番号３０）
ＡＥＳＹＥＮＡＤＥＥ　ＬＡＱＰＶＧＲＭＭＤ　ＦＬＳＰＨＧＳＡＷＤ　ＰＳＲＥ
細胞質ドメインＩＩ（配列番号３１）
ＧＥＰＱＬＣＹＩＬＤＡ　ＶＬＦＬＹＧＩＶＬＴＬ　ＬＹＣＲＬＫＩＱＶＲＫ　ＡＡＩＡ
ＳＲＥＫＡＤＡ　ＶＹＴＧＬＮＴＲＳＱＥ　ＴＹＥＴＬＫＨＥＫＰＰ　Ｑ
ｐ５　＋　１４－スペーサー（配列番号３２）
ＩＳＡＭＱＶＴＰＴＶ　ＧＧＧＹＳＫＡＱＫＡ　ＱＡＫＱＡＫＱＡＱＫ　ＡＱＫＡＱＡＫ
ＱＡＫ　ＱＡＱＫＡＱＫＡＱＡ　ＫＱＡＫＱＶＴＰＴＶ
ＣＨ２（配列番号３３）
ＰＮＬＬＧＧＰＳＶＦ　ＩＦＰＰＫＩＫＤＶＬ　ＭＩＳＬＳＰＩＶＴＣ　ＶＶＶＤＶＳＥ
ＤＤＰ　ＤＶＱＩＳＷＦＶＮＮ　ＶＥＶＨＴＡＱＴＱＴ　ＨＲＥＤＹＮＳＴＬＲ　ＶＶＳ
ＡＬＰＩＱＨＱ　ＤＷＭＳＧＫＥＦＫＣ　ＫＶＮＮＫＤＬＰＡＰ　ＩＥＲＴＩＳＫＰＫ
１１－１Ｆ４　ＶＬ配列変異体（シーケンス番号３４）
ＤＶＶＭＴＱＴＰＬＳＬＰＶＳＬＧＤＱＡＳＩＳＣＲＳＳＱＳＬＶＨＲＮＧＮＴＹＬＨＷ
ＹＬＱＫＰＧＱＳＰＫＬＬＩＹＫＶＳＮＲＦＳＧＶＰＤＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＫＩ
ＳＲＶＥＡＥＤＬＧＬＹＦＣＦＱＴＴＹＶＰＮＴＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫ
１１－１Ｆ４　ＶＨ配列変異体（シーケンス番号３５）
ＱＶＱＬＫＥＳＧＰＧＬＶＡＰＳＱＳＬＳＩＴＣＴＶＳＧＦＳＬＳＳＹＧＶＳＷＶＲＱＰ
ＰＧＫＧＬＥＷＬＧＶＩＷＧＤＧＳＴＮＹＨＰＮＬＭＳＲＬＳＩＳＫＤＩＳＫＳＱＶＬＦ
ＫＬＮＳＬＱＴＤＤＴＡＴＹＹＣＶＴＬＤＹＷＧＱＧＴＳＶＴＶＳＳ
スペーサー（配列番号３６）
ＶＴＰＴＶ
ｐ５＋１４－スペーサー＋ＣＨ２（配列番号３７）
ＩＳＡＭＱＶＴＰＴＶ　ＧＧＧＹＳＫＡＱＫＡ　ＱＡＫＱＡＫＱＡＱＫ　ＡＱＫＡＱＡＫ
ＱＡＫ　ＱＡＱＫＡＱＫＡＱＡ　ＫＱＡＫＱＶＴＰＴＶ　ＰＮＬＬＧＧＰＳＶＦ　ＩＦＰ
ＰＫＩＫＤＶＬ　ＭＩＳＬＳＰＩＶＴＣ　ＶＶＶＤＶＳＥＤＤＰ　ＤＶＱＩＳＷＦＶＮＮ
ＶＥＶＨＴＡＱＴＱＴ　ＨＲＥＤＹＮＳＴＬＲ　ＶＶＳＡＬＰＩＱＨＱ　ＤＷＭＳＧＫＥ
ＦＫＣ　ＫＶＮＮＫＤＬＰＡＰ　ＩＥＲＴＩＳＫＰＫ
「最終ＣＡＲ－Ｐ構築物」からの分泌リーダー（配列番号３８）
ＭＡＬＰＶＴＡＬＬＬＰＬＡＬＬＬＨＡＡＲＰＳＱＦＲＶＳＰ
「最終ＣＡＲ－Ｐ構築物」（配列番号３９）からのアミロイド結合ペプチド及びスペーサー（Ｐ５）
ＴＶＧＧＧＹＳＫＡＱＫＡＱＡＫＱＡＫＱＡＱＫＡＱＫＡＱＡＫＱＡＫＱＶＴＰＴＶ
「最終ＣＡＲ－Ｐ構築物」からのスペーサー及び膜貫通ドメイン（配列番号４０）
ＴＴＴＫＰＶＬＲＴＰＳＰＶＨＰＴＧＴＳＱＰＱＲＰＥＤＣＲＰＲＧＳＶＫＧＴＧＬＤＦ
ＡＣＤＩＹＩＷＡＰＬＡＧＩＣＶＡＬＬＬＳＬＩＩＴＬＩＣ
「最終ＣＡＲ－Ｐ構築物」からの細胞質領域ＩＩ（配列番号４１）
ＬＧＥＰＱＬＣＹＩＬＤＡＶＬＦＬＹＧＩＶＬＴＬＬＹＣＲＬＫＩＱＶＲＫＡＡＩＡＳＲ
ＥＫＡＤＡＶＹＴＧＬＮＴＲＳＱＥＴＹＥＴＬＫＨＥＫＰＰＱ
「最終ＣＡＲ－Ｐ構築物」からの細胞質領域Ｉ（配列番号４２）
ＬＹＡＡＰＱＬＨＳＩＱＳＧＰＳＨＥＥＤＡＤＳＹＥＮＭＤＫＳＤＤＬＥＰＡ
最終ＣＡＲ－Ｐ構築物－３４５ａａ（配列番号４３）
ＭＡＬＰＶＴＡＬＬＬＰＬＡＬＬＬＨＡＡＲＰＳＱＦＲＶＳＰＴＶＧＧＧＹＳＫＡＱＫＡ
ＱＡＫＱＡＫＱＡＱＫＡＱＫＡＱＡＫＱＡＫＱＶＴＰＴＶＰＮＬＬＧＧＰＳＶＦＩＦＰＰ
ＫＩＫＤＶＬＭＩＳＬＳＰＩＶＴＣＶＶＶＤＶＳＥＤＤＰＤＶＱＩＳＷＦＶＮＮＶＥＶＨ
ＴＡＱＴＱＴＨＲＥＤＹＮＳＴＬＲＶＶＳＡＬＰＩＱＨＱＤＷＭＳＧＫＥＦＫＣＫＶＮＮ
ＫＤＬＰＡＰＩＥＲＴＩＳＫＰＫＴＴＴＫＰＶＬＲＴＰＳＰＶＨＰＴＧＴＳＱＰＱＲＰＥ
ＤＣＲＰＲＧＳＶＫＧＴＧＬＤＦＡＣＤＩＹＩＷＡＰＬＡＧＩＣＶＡＬＬＬＳＬＩＩＴＬ

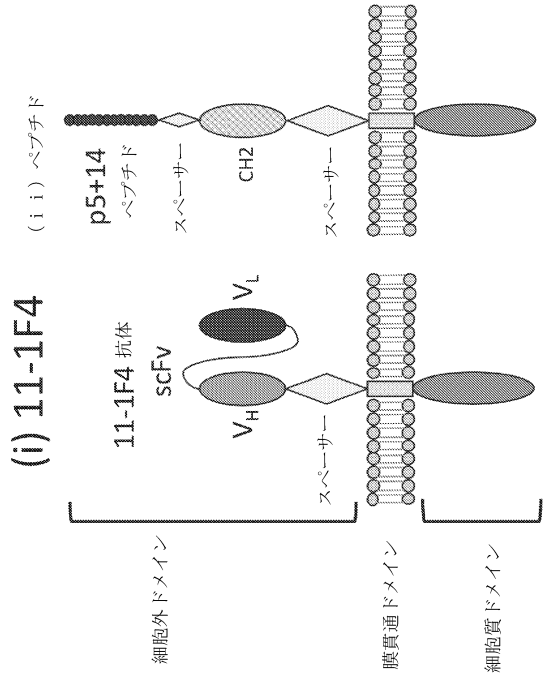
ＩＣＬＧＥＰＱＬＣＹＩＬＤＡＶＬＦＬＹＧＩＶＬＴＬＬＹＣＲＬＫＩＱＶＲＫＡＡＩＡ
ＳＲＥＫＡＤＡＶＹＴＧＬＮＴＲＳＱＥＴＹＥＴＬＫＨＥＫＰＰＱＬＹＡＡＰＱＬＨＳＩ
ＱＳＧＰＳＨＥＥＤＡＤＳＹＥＮＭＤＫＳＤＤＬＥＰＡ
「最終ＣＡＲ－Ｐ構築物」からの分泌リーダー＋ｐ５＋１４－スペーサー＋ＣＨ２（配列
番号４４）ＭＡＬＰＶＴＡＬＬＬＰＬＡＬＬＬＨＡＡＲＰＳＱＦＲＶＳＰＴＶＧＧＧＹＳ
ＫＡＱＫＡＱＡＫＱＡＫＱＡＱＫＡＱＫＡＱＡＫＱＡＫＱＶＴＰＴＶＰＮＬＬＧＧＰＳＶ
ＦＩＦＰＰＫＩＫＤＶＬＭＩＳＬＳＰＩＶＴＣＶＶＶＤＶＳＥＤＤＰＤＶＱＩＳＷＦＶＮ
ＮＶＥＶＨＴＡＱＴＱＴＨＲＥＤＹＮＳＴＬＲＶＶＳＡＬＰＩＱＨＱＤＷＭＳＧＫＥＦＫ
ＣＫＶＮＮＫＤＬＰＡＰＩＥＲＴＩＳＫＰＫ
細胞質領域ＩＩ（ＦｃＥＲＧ）、全長、表３を参照（配列番号４５）
ＭＩＳＡＶＩＬＦＬＬ　ＬＬＶＥＱＡＡＡ　ＬＧ　ＥＰＱＬＣＹＩＬＤＡ　ＶＬＦＬＹＧ
ＩＶＬＴ　ＬＬＹＣＲＬＫＩＱＶ　ＲＫＡＡＩＡＳＲＥＫ　ＡＤＡＶＹＴＧＬＮＴ　ＲＳ
ＱＥＴＹＥＴＬＫ　ＨＥＫＰＰＱ
デザインパラメータからのＧＳリンカー、表３を参照（配列番号４６）
ＧＧＴＧＧＣＧＧＴＧＧＣＴＣＧＧＧＣＧＧＴＧＧＴＧＧＧＴＣＧＧＧＴＧＧＣＧＧＣＧ
ＧＡＴＣＴ
表１に示すｓｃＦｖ配列、１１－１Ｆ４　ＶＬと、ｓｃＦｖリンカーと、１１－１Ｆ４
ＶＨとの組み合わせ（配列番号４７）
ＤＩＶＬＴＱＳＰＡＳ　ＬＡＶＳＬＧＱＲＡＴ　ＩＳＹＲＡＳＫＳＶＳ　ＴＳＧＹＳＹＭ
ＨＷＮ　ＱＱＫＰＧＱＰＰＲＬ　ＬＩＹＬＶＳＮＬＥＳ　ＧＶＰＡＲＦＳＧＳＧ　ＳＧＴ
ＤＦＴＬＮＩＨ　ＰＶＥＥＥＤＡＡＴＹ　ＹＣＱＨＩＲＥＬＴＲ　ＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫ
Ｒ　ＧＧＳＳＲＳＳＳＳＧＧ　ＧＧＳＧＧＧＧ　ＱＶＱＬＫＥＳＧＰＧ　ＬＶＡＰＳＱＳ
ＬＳＩ　ＴＣＴＶＳＧＦＳＬＳ　ＳＹＧＶＳＷＶＲＱＰ　ＰＧＫＧＬＥＷＬＧＶ　ＩＷＧ
ＤＧＳＴＮＹＨ　ＰＮＬＭＳＲＳＬＳＩ　ＳＫＤＩＳＫＳＱＶＬ　ＦＫＬＮＳＬＱＴＤＤ
ＴＡＴＹＹＣＶＴＬＤ　ＹＷＧＱＧＴＳＶＴＶ　Ｓ
表１に示すＮ末端リーダーを有するｓｃＦｖ配列、リーダーと、１１－１Ｆ４　ＶＬと、
ｓｃＦｖリンカーと、１１－１Ｆ４　ＶＨとの組み合わせ（配列番号４８）
ＭＡＳＰＬＴＲＦＬＳ　ＬＮＬＬＬＬＧＥＳＩ　ＩＬＧＳＧＥＡ　ＤＩＶＬＴＱＳＰＡＳ
ＬＡＶＳＬＧＱＲＡＴ　ＩＳＹＲＡＳＫＳＶＳ　ＴＳＧＹＳＹＭＨＷＮ　ＱＱＫＰＧＱＰ
ＰＲＬ　ＬＩＹＬＶＳＮＬＥＳ　ＧＶＰＡＲＦＳＧＳＧ　ＳＧＴＤＦＴＬＮＩＨ　ＰＶＥ
ＥＥＤＡＡＴＹ　ＹＣＱＨＩＲＥＬＴＲ　ＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫ　Ｒ　ＧＧＳＳＲＳＳＳ
ＳＧＧ　ＧＧＳＧＧＧＧ　ＱＶＱＬＫＥＳＧＰＧ　ＬＶＡＰＳＱＳＬＳＩ　ＴＣＴＶＳＧ
ＦＳＬＳ　ＳＹＧＶＳＷＶＲＱＰ　ＰＧＫＧＬＥＷＬＧＶ　ＩＷＧＤＧＳＴＮＹＨ　ＰＮ
ＬＭＳＲＳＬＳＩ　ＳＫＤＩＳＫＳＱＶＬ　ＦＫＬＮＳＬＱＴＤＤ　ＴＡＴＹＹＣＶＴＬ
Ｄ　ＹＷＧＱＧＴＳＶＴＶ　Ｓ
全長１１－１Ｆ４ＣＡＲタンデム、表１の配列の組み合わせ、細胞質ドメインＩＩのみ（
配列番号４９）
ＭＡＳＰＬＴＲＦＬＳＬＮＬＬＬＬＧＥＳＩＩＬＧＳＧＥＡＤＩＶＬＴＱＳＰＡＳＬＡＶ
ＳＬＧＱＲＡＴＩＳＹＲＡＳＫＳＶＳＴＳＧＹＳＹＭＨＷＮＱＱＫＰＧＱＰＰＲＬＬＩＹ
ＬＶＳＮＬＥＳＧＶＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＮＩＨＰＶＥＥＥＤＡＡＴＹＹＣＱ
ＨＩＲＥＬＴＲＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫＲＧＧＳＳＲＳＳＳＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＱＶＱＬ
ＫＥＳＧＰＧＬＶＡＰＳＱＳＬＳＩＴＣＴＶＳＧＦＳＬＳＳＹＧＶＳＷＶＲＱＰＰＧＫＧ
ＬＥＷＬＧＶＩＷＧＤＧＳＴＮＹＨＰＮＬＭＳＲＳＬＳＩＳＫＤＩＳＫＳＱＶＬＦＫＬＮ
ＳＬＱＴＤＤＴＡＴＹＹＣＶＴＬＤＹＷＧＱＧＴＳＶＴＶＳＫＶＮＳＴＴＴＫＰＶＬＲＴ
ＰＳＰＶＨＰＴＧＴＳＱＰＱＲＰＥＤＣＲＰＲＧＳＶＫＧＴＧＬＤＦＡＣＤＩＹＩＷＡＰ
ＬＡＧＩＣＶＡＬＬＬＳＬＩＩＴＬＩＣＧＥＰＱＬＣＹＩＬＤＡＶＬＦＬＹＧＩＶＬＴＬ
ＬＹＣＲＬＫＩＱＶＲＫＡＡＩＡＳＲＥＫＡＤＡＶＹＴＧＬＮＴＲＳＱＥＴＹＥＴＬＫＨ
ＥＫＰＰＱ
全長１１－１Ｆ４ＣＡＲタンデム、表１の配列の組み合わせ、細胞質ドメインＩ及びＩＩ
（配列番号５０）

MASPLTRFLSLNLLLLGESIILGSGEADIVLTQSPASLAV
SLGQRATISYRASKSVSTSGYSYMHWNQQKPGQPPRLLIY
LVSNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQ
HIRELTRFGGGTKLEIKRGGSSRSSSSGGGGSGGGGQVQL
KESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLSSYGVSWVRQPPGKG
LEWLGVIWGDGSTNYHPNLMSRSLSISKDISKSQVLFKLN
SLQTDDTATYYCVTLDYWGQGTSVTVSKVNSTTTKPVLRT
PSPVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGTGLDFACDIYIWAP
LAGICVALLLSLIITLICGEPQLCYILDAVLFLYGIVLTL
LYCRLKIQVRKAAIASREKADAVYTGLNTRSQETYETLKH
EKPPQAESYENADEELAQPVGRMMDFLSPHGSAWDPSRE
表３（配列番号５１）に基づく最終ＣＡＲ－Ｐ構築物、細胞質ドメインＩＩのみ
MALPVTALLLPLALLLHAARPSQFRVSPTVGGGYSKAQKA
QAKQAKQAQKAQKAQAKQAKQVTPTVPNLLGGPSVFIFPP
KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVH
TAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNN
KDLPAPIERTISKPKTTTKPVLRTPSPVHPTGTSQPQRPE
DCRPRGSVKGTGLDFACDIYIWAPLAGICVALLLSLIITL
ICLGEPQLCYILDAVLFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKAAIA
SREKADAVYTGLNTRSQETYETLKHEKPPQ
表３に基づく最終ＣＡＲ－Ｐ構築物－３４５ａａ、分泌リーダー配列なし（配列番号５２
）　TVGGGYSKAQKAQAKQAKQAQKAQKAQAKQVTPTV
PNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDP
DVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQ
DWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKTTTKPVLRTPS
PVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGTGLDFACDIYIWAPLA
GICVALLLSLIITLICLGEPQLCYILDAVLFLYGIVLTLL
YCRLKIQVRKAAIASREKADAVYTGLNTRSQETYETLKHE
KPPQLYAAPQLHSIQSGPSHEEDADSYENMDKSDDLEPA
最終ＣＡＲ－Ｐ構築物、細胞質ドメインＩＩのみ、分泌リーダー配列なし（配列番号５３
）　TVGGGYSKAQKAQAKQAKQAQKAQKAQAKQVTPTV
PNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDP
DVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQ
DWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKTTTKPVLRTPS
PVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGTGLDFACDIYIWAPLA
GICVALLLSLIITLICLGEPQLCYILDAVLFLYGIVLTLL
YCRLKIQVRKAAIASREKADAVYTGLNTRSQETYETLKHE
KPPQ
全長１１－１Ｆ４ＣＡＲタンデム、表１の配列の組み合わせ、細胞質ドメインＩＩのみ、
分泌リーダーなし（配列番号５４）
DIVLTQSPASLAVSLGQRATISYRASKSVSTSGYSYMHWN
QQKPGQPPRLLIYLVSNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIH
PVEEEDAATYYCQHIRELTRFGGGTKLEIKRGGSSRSSSS
GGGGSGGGGQVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLSS
YGVSWVRQPPGKGLEWLGVIWGDGSTNYHPNLMSRSLSIS
KDISKSQVLFKLNSLQTDDTATYYCVTLDYWGQGTSVTVS
KVNSTTTKPVLRTPSPVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGT
GLDFACDIYIWAPLAGICVALLLSLIITLICGEPQLCYIL
DAVLFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKAAIASREKADAVYTGL
NTRSQETYETLKHEKPPQ

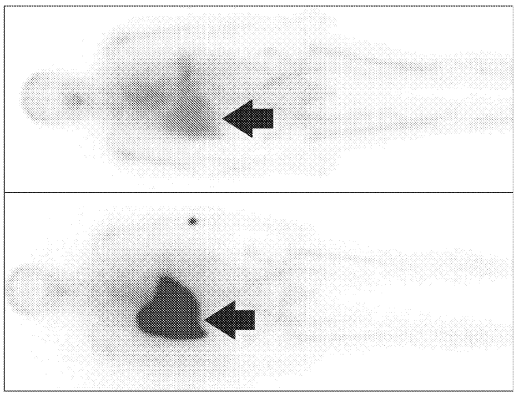
全長１１－１Ｆ４ＣＡＲタンデム、表１の配列の組み合わせ、分泌リーダーなし（配列番号５５）
ＤＩＶＬＴＱＳＰＡＳＬＡＶＳＬＧＱＲＡＴＩＳＹＲＡＳＫＳＶＳＴＳＧＹＳＹＭＨＷＮ
ＱＱＫＰＧＱＰＰＲＬＬＩＹＬＶＳＮＬＥＳＧＶＰＡＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＮＩＨ
ＰＶＥＥＥＤＡＡＴＹＹＣＱＨＩＲＥＬＴＲＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫＲＧＧＳＳＲＳＳＳＳ
ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＱＶＱＬＫＥＳＧＰＧＬＶＡＰＳＱＳＬＳＩＴＣＴＶＳＧＦＳＬＳＳ
ＹＧＶＳＷＶＲＱＰＰＧＫＧＬＥＷＬＧＶＩＷＧＤＧＳＴＮＹＨＰＮＬＭＳＲＳＬＳＩＳ
ＫＤＩＳＫＳＱＶＬＦＫＬＮＳＬＱＴＤＤＴＡＴＹＹＣＶＴＬＤＹＷＧＱＧＴＳＶＴＶＳ
ＫＶＮＳＴＴＴＫＰＶＬＲＴＰＳＰＶＨＰＴＧＴＳＱＰＱＲＰＥＤＣＲＰＲＧＳＶＫＧＴ
ＧＬＤＦＡＣＤＩＹＩＷＡＰＬＡＧＩＣＶＡＬＬＬＳＬＩＩＴＬＩＣＧＥＰＱＬＣＹＩＬ
ＤＡＶＬＦＬＹＧＩＶＬＴＬＬＹＣＲＬＫＩＱＶＲＫＡＡＩＡＳＲＥＫＡＤＡＶＹＴＧＬ
ＮＴＲＳＱＥＴＹＥＴＬＫＨＥＫＰＰＱＡＥＳＹＥＮＡＤＥＥＬＡＱＰＶＧＲＭＭＤＦＬ
ＳＰＨＧＳＡＷＤＰＳＲＥ
リーダー、Ｐ５、細胞質ドメインＩ、細胞質領域；全長配列、表３を参照（配列番号５６）
ＭＡＬＰＶＴＡＬＬＬＰＬＡＬＬＬＨＡＡＲＰ＊＊ＳＱＦＲＶＳＰＴＶＧＧＧＹＳＫＡＱ
ＫＡＱＡＫＱＡＫＱＡＱＫＡＱＫＡＱＡＫＱＡＫＱＶＴＰＴＶＡＹＥＥＰＤＳＥＥＧＳＥ
ＦＹＥＮＤＳＮＬＧＱＤＱＶＳＱＤＧＳＧＹＥＮＰＥＤＥＰＭＧＰＥＥＥＤＳＦＳＮＡＥ
ＳＹＥＮＡＤＥＥＬＡＱＰＶＧＲＭＭＤＦＬＳＰＨＧＳＡＷＤＰＳＲＥＡＳＳＬＧＳＱＳ
ＹＥＤＭＲＧＩ＊＊＊＊ＬＹＡＡＰＱＬＨＳＩＱＳＧＰＳＨＥＥＤＡＤＳＹＥＮＭＤＫＳ
ＤＤ　ＬＥＰＡ＊＊＊＊ＷＥＧＥＧＨ　ＭＧＴＷＧＴＴ
スペーサー／膜貫通ドメイン、ヒト、表３を参照（配列番号５７）
ＴＴＴＰＡＰＲＰＰＴＰＡＰＴＩＡＳＱＰＬＳＬＲＰＥＡＣＲＰＡＡＧＧＡＶＨＴＲＧＬ
ＤＦＡＣＤＩＹＩＷＡＰＬＡＧＴＣＧＶＬＬＬＳＬＶＩＴＬＹＣ
スペーサー（配列番号５８）
ＫＶＮＳＴＴＴＫＰＶＬＲＴＰＳＰＶＨＰＴＧＴＳＱＰＱＲＰＥＤＣＲＰＲＧＳＶＫＧＴ
ＧＬＤＦ　ＡＣＤ
膜貫通ドメイン（配列番号５９）
ＩＹＩＷＡＰＬＡＧＩＣＶＡＬＬＬＳＬＩ　ＩＴＬＩＣ

【図面】

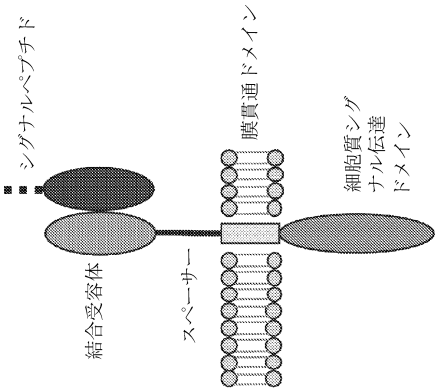
【図１】



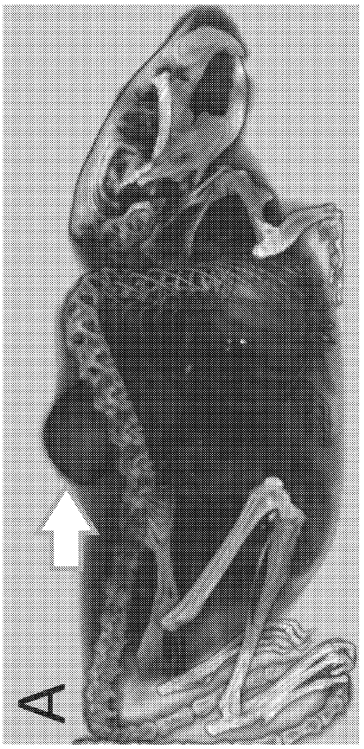
【図２】



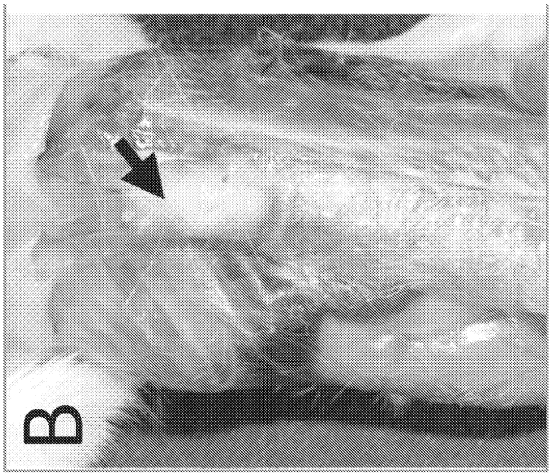
【図３】



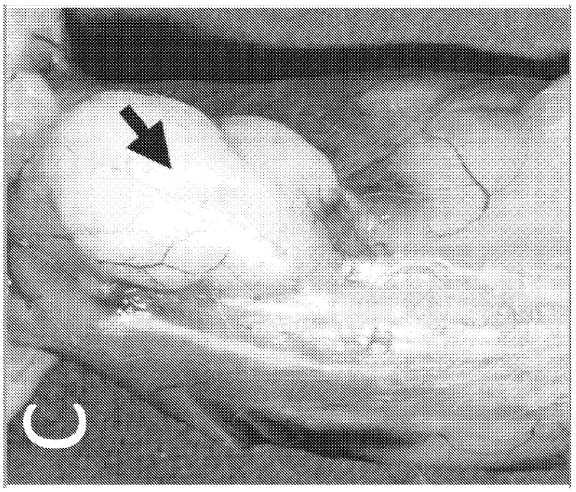
【図４Ａ】



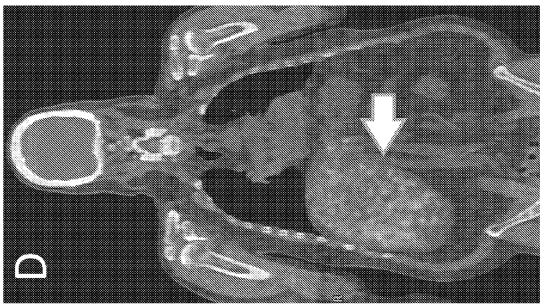
【図４Ｂ】



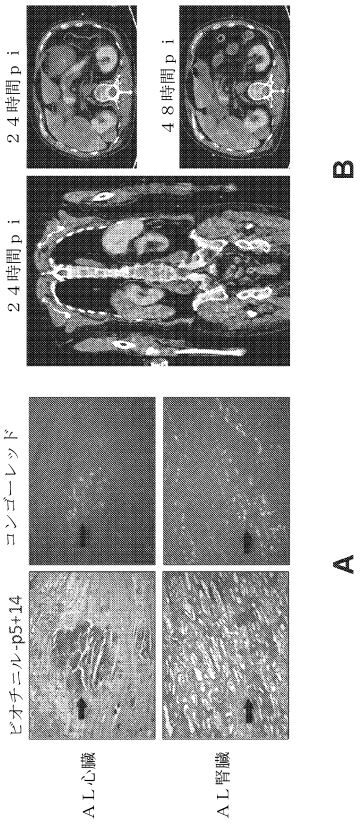
【図４Ｃ】



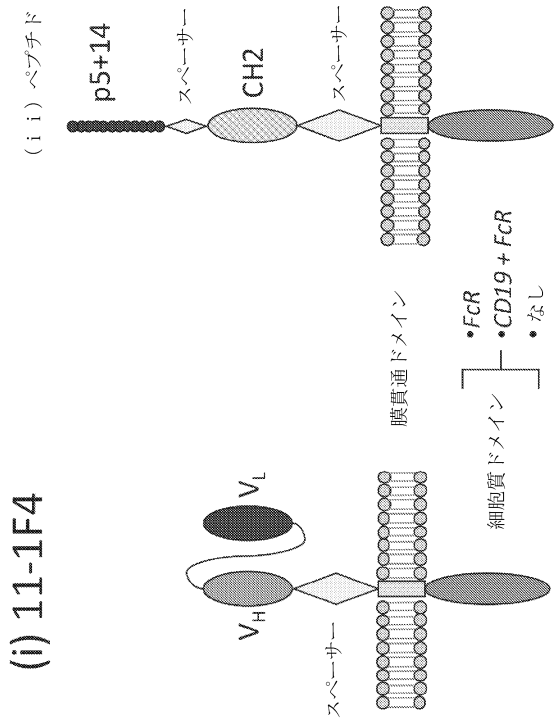
【図４Ｄ】



【図５】



【図６】



【配列表】

<u>20235106030000001.app</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/13727

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - A61K 39/00, A61K 39/395, A61K 49/16 (2021.01)
CPC - A61K 39/3955, A61K 49/16, A61K 2039/505, A61K 2039/58

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)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- Y --- A	US 2019/0233496 A1 (ALECTOR LLC) 01 August 2019 (01.08.2019) abstract; claims 1, 4, 13, 15; para [0066]	1-3 --- 4, 6, 8-11 --- 15
Y	US 2019/0038745 A1 (THE TRUSTEES OF COLUMBIA UNIVERSITY IN THE CITY OF NEW YORK) 07 February 2019 (07.02.2019) claims 78-83; para [0014]; [0101]-[0103]; SEQ ID NOs: 35, 36, 48	4, 6
Y	US 2019/0083616 A1 (UNIVERSITY OF TENESSEE RESEARCH FOUNDATION) 21 March 2019 (21.03.2019) abstract; para [0014]-[0015]; [0159]; SEQ ID NO: 1	8-11
Y	US 2017/0298129 A1 (NOVIMMUNE SA) 19 October 2017 (19.10.2017) claims 1, 8; para [0012]-[0015]; [0027]; SEQ ID NO: 59	10, 11
A	CN 109837246 A (SHENZHEN BINDE BIOTECHNOLOGY CO LTD.) 04 June 2019 (04.06.2019) [English translation] para [0007]-[0008]; SEQ ID NO: 2	15

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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	Date of mailing of the international search report
13 July 2021	JUL 26 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Lee Young Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/13727

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☒ forming part of the international application as filed:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/13727

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.: 5, 7, 12-14, 16-24
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:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I+, claims 1-4, 6, 8-11, 15, directed to a chimeric receptor. The chimeric receptor will be searched to the extent that the extracellular domain encompasses an antibody or functional fragment thereof. It is believed that claims 1-4 and 6 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that the extracellular domain encompasses an antibody or functional fragment thereof. Additional extracellular domain(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected extracellular domain(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be where the extracellular domain comprises an amyloid-reactive peptide, (claims 1, 8-11, 15).
--continued on extra 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 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.:

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 SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/13727

--continued from: Box No. III Observations where unity of invention is lacking--

[Note, instant Application Specification p. 85, SEQ ID NO:43 is the Final CARP Construct-345aa, and comprises amyloid binding peptide and spacer (P5), and not an antibody or fragment thereof]

The inventions listed as Group I+ do not relate to a single special technical feature under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special technical features

The inventions of Group I+ each include the special technical feature of a different extracellular domain, and is considered a distinct technical feature.

Common technical features

The inventions of Group I+ share the common technical feature of a chimeric receptor comprising:
a cytoplasmic domain, wherein the cytoplasmic domain comprises a signaling domain of a receptor that when activated activates a macrophage;
a transmembrane domain; and
an extracellular domain, wherein the extracellular domain comprises an amyloid binding region.

However, these shared technical features are previously disclosed by US 2019/0233496 A1 to Alector LLC (hereinafter 'Alector').

Alector teaches a chimeric receptor (claim 1 "a chimeric receptor, wherein the chimeric receptor comprises") comprising:
a cytoplasmic domain, wherein the cytoplasmic domain comprises a signaling domain of a receptor that when activated activates a macrophage (claim 1 "(3) a signaling domain, wherein binding of the ligand to the chimeric receptor expressed in an immune cell activates the signaling domain, and the activated signaling domain induces and/or enhances (i) cell survival of the immune cell, (ii) proliferation of the immune cell, (iii) migration of the immune cell, (iv) functionality of the immune cell, or any combination thereof"; claim 13 "wherein the immune cell is an innate immune cell or an adaptive immune cell"; claim 15 "wherein the innate immune cell is an innate immune cell selected from the group consisting of macrophages");
a transmembrane domain (claim 1 "(2) a transmembrane domain"); and
an extracellular domain (claim 1 "(1) an extracellular ligand-binding domain, wherein the ligand is an agent associated with a neurological disease, disorder, or injury"), wherein the extracellular domain comprises an amyloid binding region (claim 4 "wherein the ligand-binding domain is selected from the group consisting of a single-domain antibody, a nanobody, a heavy-chain antibody, a VNAR fragment, a single-chain Fv domain (scFv), a VL domain linked to a VH domain by a flexible linker, an antibody Fab, an extracellular domain of a receptor, an anti-amyloid beta single-chain variable fragment (scFv) domain").

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Therefore, Group I+ inventions lack unity under PCT Rule 13 because they do not share the same or corresponding special technical feature.

NOTE, continuation of Item 4 above: claims 5, 7, 12-14, 16-24 are held unsearchable because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
A61P	*25/28*	*(2006.01)*	A61K	35/15	Z	
A61P	*9/10*	*(2006.01)*	A61P	25/28		
A61P	*3/10*	*(2006.01)*	A61P	9/10		
C07K	*14/705*	*(2006.01)*	A61P	3/10		
C07K	*16/18*	*(2006.01)*	C07K	14/705		
C12N	*15/62*	*(2006.01)*	C07K	16/18		
			C12N	15/62	Z	

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,IT,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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

ー９６１エー．ユニバーシティー・オブ・テネシー・リサーチ・ファウンデーション

Fターム（参考） 4B063 QA20 QQ79 QR48 QR77
4B065 AA92X AB01 AC14 BA02 CA24 CA25 CA44
4C085 AA13 AA14 AA16 BB44
4C087 AA01 AA02 BB37 BB65 DA31 NA05 NA14 ZA16 ZA36 ZC35
4H045 AA10 AA11 AA30 BA41 DA50 DA76 EA28