【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】令和6年9月3日(2024.9.3)

【国際公開番号】WO2022/043483
【公表番号】特表2023-539596(P2023-539596A)
【公表日】令和5年9月15日(2023.9.15)
【年通号数】公開公報(特許)2023-175
【出願番号】特願2023-513414(P2023-513414)
【国際特許分類】
C12N 15/12(2006.01)
C12N 15/63(2006.01)
C12N 15/113(2010.01)
C12N 15/86(2006.01)
C12N 15/867(2006.01)
C12N 5/10(2006.01)
C12N 1/21(2006.01)
C12N 1/19(2006.01)
C12N 1/15(2006.01)
A61K 35/12(2015.01)
A61K 35/17(2015.01)
A61K 35/545(2015.01)
A61K 48/00(2006.01)
A61K 35/76(2015.01)
A61P 31/00(2006.01)
A61P 25/00(2006.01)
A61P 29/00(2006.01)
A61P 37/06(2006.01)
A61P 37/02(2006.01)
A61P 37/08(2006.01)
A61P 17/06(2006.01)
A61P 17/00(2006.01)
A61P 1/04(2006.01)
A61P 17/04(2006.01)
A61P 11/06(2006.01)
A61P 19/02(2006.01)
A61P 13/12(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)
A61K 38/16(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ １５/１２ ＺＮＡ
Ｃ１２Ｎ １５/６３ Ｚ
Ｃ１２Ｎ １５/１１３１００Ｚ
Ｃ１２Ｎ １５/８６ Ｚ
Ｃ１２Ｎ １５/８６７ Ｚ
Ｃ１２Ｎ ５/１０
Ｃ１２Ｎ １/２１
Ｃ１２Ｎ １/１９
Ｃ１２Ｎ １/１５
Ａ６１Ｋ ３５/１２

Ａ６１Ｋ　３５/１７
Ａ６１Ｋ　３５/５４５
Ａ６１Ｋ　４８/００
Ａ６１Ｋ　３５/７６
Ａ６１Ｐ　３１/００
Ａ６１Ｐ　２５/００
Ａ６１Ｐ　２９/００
Ａ６１Ｐ　３７/０６
Ａ６１Ｐ　３７/０２
Ａ６１Ｐ　３７/０８
Ａ６１Ｐ　１７/０６
Ａ６１Ｐ　１７/００
Ａ６１Ｐ　　１/０４
Ａ６１Ｐ　１７/０４
Ａ６１Ｐ　１１/０６
Ａ６１Ｐ　１９/０２
Ａ６１Ｐ　１３/１２
Ａ６１Ｐ　　３/１０
Ａ６１Ｋ　３８/１６

【手続補正書】
【提出日】令和６年８月２６日(２０２４.８.２６)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
５'から３'へ、以下（ｉ）、（ｉｉ）、および（ｉｉｉ）を含む核酸分子を含む発現構築物：
（ｉ）自殺部分を含む安全スイッチポリペプチドをコードする第１のヌクレオチド配列；
（ｉｉ）ＦＯＸＰ３をコードする第２のヌクレオチド配列；
（ｉｉｉ）キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）をコードする第３のヌクレオチド配列、
ここで、前記第１、第２、及び第３のヌクレオチド配列は、ＳＦＦＶプロモーターに作動可能に連結されている。
【請求項２】
請求項１記載の発現構築物であって、
ここで、
（ａ）前記安全スイッチポリペプチド、前記ＦＯＸＰ３および前記ＣＡＲが、別個のポリペプチド実体として前記核酸分子から発現可能である；
（ｂ）前記第１、第２および第３のヌクレオチド配列が、自己切断配列をコードするヌクレオチド配列によって分離されている；
（ｃ）前記核酸分子は、他のいかなるコードヌクレオチド配列を含まない；
（ｄ）前記安全スイッチポリペプチドが、抗体によって認識される自殺部分を含み、
前記安全スイッチポリペプチドが細胞の表面に発現すると、前記抗体が前記安全スイッチポリペプチドに結合することにより前記細胞の消失が起こり、任意選択的に、前記自殺部分は、抗体リツキシマブによって認識されるＣＤ２０エピトープである；
（ｅ）前記安全スイッチポリペプチドが、下記式の配列を含む：

Ｒ１－Ｌ－Ｒ２－Ｓｔ
式中、Ｒ１およびＲ２は、リツキシマブ結合エピトープであり、
Ｓｔは、前記ポリペプチドが細胞の表面に発現すると、前記Ｒ１エピトープおよび前記Ｒ２エピトープを前記細胞表面から突出させるストーク配列であり、
Ｌは、リンカー配列である；
（ｆ）前記安全スイッチポリペプチドが、前記（ｅ）の安全スイッチポリペプチドであり、前記安全スイッチポリペプチドが、以下（ｉ）または（ｉｉ）である、
（ｉ）配列番号１の配列もしくは当該配列に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列を有するポリペプチドＲＱＲ８；
（ｉｉ）配列番号９２もしくは９３の配列または配列番号９２もしくは９３に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列を有するポリペプチド；
および／または
（ｇ）前記第１、第２および第３のヌクレオチド配列が、２Ａ配列である前記各自己切断配列をコードするヌクレオチド配列によって分離されており、任意選択的に、前記安全スイッチポリペプチドと前記ＦＯＸＰ３との間の自己切断配列がＰ２Ａ配列であり、前記ＦＯＸＰ３と前記ＣＡＲとの間の自己切断配列がＴ２Ａ配列である、
発現構築物。
【請求項３】
請求項１または２に記載の発現構築物であって、
（ａ）前記ＦＯＸＰ３が、配列番号２もしくは７に対して少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド、または、配列番号２もしくは７に対してアミノ酸７２位～１０６位もしくはアミノ酸２４６位～２７２位の欠失を含むアミノ酸配列を含むポリペプチドであり、好ましくは、前記ＦＯＸＰ３が、配列番号２を含むか、または配列番号２からなる、ポリペプチドである；
（ｂ）（ｉ）前記ＣＡＲが、ＨＬＡ分子に対して向けられたものであり、任意選択的に、前記ＨＬＡ分子がＨＬＡ－Ａ２である、または、
（ｉｉ）前記ＣＡＲが、ＭＨＣクラスＩＩに対して向けられたものではない；
（ｃ）（ｉ）前記ＣＡＲが、配列番号１１、１２、および１３にそれぞれ記載のＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列、およびＶＨ　ＣＤＲ３配列と、配列番号１４、１５、および１６にそれぞれ記載のＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列、およびＶＬ　ＣＤＲ３配列とを含む抗原結合ドメインを含むか、または、
（ｉｉ）前記ＣＡＲが、配列番号２０、２１、および２２にそれぞれ記載のＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列、およびＶＨ　ＣＤＲ３配列と、配列番号２３、２４、および２５にそれぞれ記載のＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列、およびＶＬ　ＣＤＲ３配列とを含む抗原結合ドメインを含み、
ここで、（ｉ）または（ｉｉ）の前記ＣＤＲ配列の１つ以上が、該ＣＤＲ配列に対してアミノ酸の改変を１～３個任意選択的に含んでいてもよく、特に、前記ＣＤＲ配列の１つ以上が、１～３個のアミノ酸の置換、付加、もしくは欠失によって任意選択的に改変されていてもよい；
（ｄ）（ｉ）前記ＣＡＲが、配列番号１７に記載の配列もしくは当該配列に対して少なくとも７０％の配列同一性を有する配列を含むＶＨドメインと、配列番号１８に記載の配列もしくは当該配列に対して少なくとも７０％の配列同一性を有する配列を含むＶＬドメインとを含む、抗原結合ドメインを含むか、または、
（ｉｉ）前記ＣＡＲが、配列番号２６に記載の配列もしくは当該配列に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列を含むＶＨドメインと、配列番号２７に記載の配列もしくは当該配列に対して少なくとも７０％の配列同一性を有する配列を含むＶＬドメインとを含む、、抗原結合ドメインを含む；
（ｅ）前記ＣＡＲが、ｓｃＦｖの形態の抗原結合ドメインを含む；
（ｆ）前記ＣＡＲが、以下（ｉ）または（ｉｉ）を含む、抗原結合ドメインを含む：
（ｉ）配列番号１９もしくは８８に記載の配列または当該配列に対して少なくとも８０％

の配列同一性を有する配列；
（ｉｉ）配列番号２８に記載の配列または当該配列に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列；
（ｇ）前記ＣＡＲが、以下（ｉ）、（ｉｉ）、（ｉｉｉ）、および（ｉｖ）を含む：
（ｉ）ＣＤ８、ＣＤ２８、ＣＤ４、ＣＤ７もしくは免疫グロブリン、またはそれらの一部もしくは変異体のヒンジ領域から選択される、ヒンジドメイン；
（ｉｉ）ＣＤ８α、ＣＤ２８、ＣＤ４、ＣＤ３ζ、ＣＤ４５、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４（ＯＸ４０）、ＣＤ１３７（４－１ＢＢ）もしくはＣＤ１５４の膜貫通ドメイン、またはそれらの一部もしくはそれらの変異体から選択される、膜貫通ドメイン；
（ｉｉｉ）任意選択的に、ＣＤ２８、ＯＸ４０、４１ＢＢ、ＩＣＯＳまたはＴＮＦＲＳＦ２５の細胞内ドメインから選択される、共刺激ドメイン；
（ｉｖ）Ｔ細胞受容体のζ鎖のエンドドメインもしくはその相同体のいずれか、ＣＤ３ポリペプチドエンドドメイン、ｓｙｋファミリーチロシンキナーゼ、ｓｒｃファミリーチロシンキナーゼ、ＣＤ２、ＣＤ５、ＣＤ２８、ＦｃｙＲＩＩＩ、ＦｃｓＲＩ、Ｆｃ受容体の細胞質尾部、および免疫受容体チロシン活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）をもつ細胞質受容体、またはこれらの組み合わせから選択される、細胞内シグナル伝達ドメイン；
および／または
（ｈ）（ｉ）前記ＣＡＲが、ヒトＣＤ８ヒンジドメインもしくはその変異体とヒトＣＤ８膜貫通ドメインとを含み、かつ／または、
（ｉｉ）前記ＣＡＲが、ヒトＣＤ２８共刺激ドメインとヒトＣＤ３ζシグナル伝達ドメインとを含むエンドドメインを含み、かつ／または、
（ｉｉｉ）前記ＣＡＲが、ＳＴＡＴ５会合モチーフと、ＪＡＫ１および／もしくはＪＡＫ２結合モチーフと、任意選択的にＪＡＫ３結合モチーフと、を含むエンドドメインを含み、好ましくは、該ＣＡＲのエンドドメインが、インターロイキン受容体（ＩＬ）受容体のエンドドメイン由来の１つ以上の配列を含む、
発現構築物。
【請求項４】
請求項１から３のいずれか一項に記載の発現構築物であって、
前記核酸分子が、５'から３'へ、以下（ｉ）、（ｉｉ）、（ｉｉｉ）、（ｉｖ）、および（ｖ）を含む：
（ｉ）配列番号１０、９４もしくは９５の配列または当該配列に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列を含む安全スイッチポリペプチドをコードする第１のヌクレオチド配列；
（ｉｉ）Ｐ２Ａ切断配列をコードするヌクレオチド配列；
（ｉｉｉ）配列番号２の配列または当該配列に対して少なくとも７０％の配列同一性を有する配列を含むＦＯＸＰ３ポリペプチドをコードする第２のヌクレオチド配列；
（ｉｖ）Ｔ２Ａ切断配列をコードするヌクレオチド配列；
（ｖ）ＨＬＡ－Ａ２に対して作られたＣＡＲをコードする第３のヌクレオチド配列、
前記ＣＡＲは、以下（ａ）、（ｂ）、（ｃ）、（ｄ）、および（ｅ）を含む：
（ａ）配列番号６６に記載の配列または当該配列に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列を含むか、あるいはこのような配列からなる、リーダー配列；
（ｂ）配列番号１９もしくは８８に記載の配列または当該配列に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列を含むか、あるいはこのような配列からなる、抗原結合ドメイン；
（ｃ）配列番号６８に記載の配列または当該配列に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列を含むか、あるいはこのような配列からなる、ＣＤ８αヒンジ・膜貫通ドメイン配列；
（ｄ）配列番号７１に記載の配列または当該配列に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列を含むか、あるいはこのような配列からなる、ＣＤ２８共刺激ドメイン

；
（ｅ）配列番号７２に記載の配列または当該配列に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する配列を含むか、あるいはこのような配列からなる、ＣＤ３ζシグナル伝達ドメイン、
発現構築物。
【請求項５】
請求項１から４のいずれか一項に記載の発現構築物を含むベクターであって、
任意選択的に、前記ベクターが、ウイルスベクターであり、任意選択的にレンチウイルスベクターまたはガンマレトロウイルスベクターである、ベクター。
【請求項６】
請求項１から４のいずれか一項に記載の発現構築物、または請求項５に記載のベクターを含む、細胞であって、任意選択的に生産宿主細胞である、細胞。
【請求項７】
請求項６に記載の細胞であって、
（ａ）前記細胞が、前記安全スイッチポリペプチドと前記ＣＡＲとを細胞表面に共発現する；
（ｂ）前記細胞が、以下（ｉ）または（ｉｉ）である：
（ｉ）免疫細胞またはその前駆細胞もしくは前駆体、好ましくはＴ細胞またはその前駆体、より好ましくはＴｒｅｇ細胞もしくはＴｃｏｎ細胞またはその前駆体；
（ｉｉ）幹細胞、好ましくはｉＰＳＣ細胞；
および／または
（ｃ）前記細胞が、Ｔｒｅｇ細胞である、
細胞。
【請求項８】
請求項６または７に記載の細胞を含む細胞集団。
【請求項９】
請求項６または７に記載の細胞、請求項８に記載の細胞集団、または請求項５に記載のベクターを含む、医薬組成物。
【請求項１０】
養子細胞移入療法に使用するための、請求項６または７に記載の細胞、請求項８に記載の細胞集団、または請求項９に記載の医薬組成物。
【請求項１１】
感染症、神経変性疾患、もしくは炎症性疾患の治療に使用するための、または免疫抑制の誘導に使用するための、請求項６または７に記載の細胞、請求項８に記載の細胞集団、または請求項９に記載の医薬組成物。
【請求項１２】
移植片に対する寛容の誘導；移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、自己免疫疾患、もしくはアレルギー疾患の治療および／または予防；組織修復および／または組織再生の促進；あるいは、対象における炎症の寛解、に使用するための、請求項６または７に記載の細胞、請求項８に記載の細胞集団、または請求項９に記載の医薬組成物であって、
特に、前記細胞がＴｒｅｇ細胞である、請求項６または７に記載の細胞、請求項８に記載の細胞集団、または請求項９に記載の医薬組成物。
【請求項１３】
移植片に対する寛容を誘導するため、細胞性移植拒絶反応および／または液性移植拒絶反応を治療および／または予防するため、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、自己免疫疾患、もしくはアレルギー疾患を治療および／または予防するため、組織修復および／または組織再生を促進するため、あるいは、対象における炎症を寛解させるための薬剤の製造における、請求項請求項６または７に記載の細胞、請求項８に記載の細胞集団の使用であって、特に、前記細胞がＴｒｅｇ細胞である、使用。
【請求項１４】

請求項１２に記載の細胞、細胞集団もしくは医薬組成物、または、請求項１３に記載の使用であって、
（ａ）前記対象が、免疫抑制療法を受けている移植レシピエントである；
（ｂ）前記対象が、免疫抑制療法を受けている移植レシピエントであり、かつ、前記移植が、肝臓移植、腎臓移植、心臓移植、肺移植、膵臓移植、腸管移植、胃移植、骨髄移植、血液柄付複合組織移植、および皮膚移植から選択される移植である、
（ｃ）前記ＣＡＲが、移植された肝臓には存在するが前記レシピエントには存在しないＨＬＡ抗原、またはＮＴＣＰ等の肝臓特異的抗原から選択される抗原に特異的に結合可能な抗原結合ドメインを含む；
（ｄ）前記ＣＡＲが、拒絶反応時もしくは組織炎症時に発現が上昇する抗原であって、ＣＣＬ１９、ＭＭＰ９、ＳＬＣ１Ａ３、ＭＭＰ７、ＨＭＭＲ、ＴＯＰ２Ａ、ＧＰＮＭＢ、ＰＬＡ２Ｇ７、ＣＸＣＬ９、ＦＡＢＰ５、ＧＢＰ２、ＣＤ７４、ＣＸＣＬ１０、ＵＢＤ、ＣＤ２７、ＣＤ４８、ＣＸＣＬ１１等の抗原に特異的に結合可能な抗原結合ドメインを含む；
（ｅ）前記ＣＡＲが、移植片ドナーには存在するが移植片レシピエントには存在しないＨＬＡ抗原に特異的に結合可能な抗原結合ドメインを含む；
（ｆ）前記ＣＡＲが、移植片ドナーには存在するが移植片レシピエントには存在しない、ＨＬＡ抗原であるＨＬＡ－Ａ２に特異的に結合可能な抗原結合ドメインを含む；
（ｇ）前記ＣＡＲが、配列番号１９、８８もしくは２８に記載の配列または配列番号１９、８８もしくは２８に対して少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む抗原結合ドメインを含む；
請求項１２に記載の使用のための細胞、細胞集団もしくは医薬組成物、または、請求項１３に記載の使用。
【請求項１５】
前記自己免疫疾患またはアレルギー疾患が、乾癬および皮膚炎を含む炎症性皮膚疾患；クローン病および潰瘍性大腸炎を含む炎症性腸疾患に関連付けられる応答；皮膚炎；食物アレルギー、湿疹、および喘息を含むアレルギー状態；関節リウマチ；ループス腎炎および皮膚ループスを含む全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）；１型糖尿病またはインスリン依存性糖尿病を含む真性糖尿病；ＣＩＰＤ、多発性硬化症、ＡＬＳを含む神経変性疾患；ならびに若年性糖尿病から選択される、請求項１２もしくは１４に記載の細胞、細胞集団もしくは医薬組成物、または請求項１３もしくは１４に記載の使用。
【請求項１６】
請求項６または７に記載の細胞を作製するための方法であって、請求項１から４のいずれか一項に記載の発現構築物、または、請求項５に記載のベクターを、細胞に導入する工程を含む、方法であって、
任意選択的に、
前記細胞がＴｒｅｇ細胞であり、前記方法がＴｒｅｇを含む細胞含有試料を単離または用意することを含み、かつ／あるいは、前記核酸分子、前記発現構築物もしくは前記ベクターを前記細胞に導入する工程の前または後に、Ｔｒｅｇを前記細胞含有試料から富化および／または生成する、方法。
【請求項１７】
細胞において、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）と安全スイッチとＦＯＸＰ３とをコードする核酸分子からのＦＯＸＰ３の発現を増強する方法であって、請求項１から４のいずれか一項に定義された核酸分子を選択すること、請求項１から４のいずれか一項に記載の発現構築物を準備すること、および前記発現構築物を前記細胞に導入することを含む、方法であって、
任意選択的に、
前記細胞において、前記核酸分子からの前記ＣＡＲの発現を増強させる、方法。
【請求項１８】
細胞内に、自殺部分、ＦＯＸＰ３およびＣＡＲを発現させるための、請求項１から４の

いずれか一項に記載の核酸分子を含む発現構築物の使用であって、前記ＦＯＸＰ３の発現を増強させる、使用であり、
任意選択的に、
前記細胞における前記ＣＡＲの発現を増強させる、使用。
【請求項１９】
前記第１、第２および第３のヌクレオチド配列を前記指定の順序で含む核酸分子を製造すること、ならびに、ＳＦＦＶプロモーターに作動可能に連結されている前記第１、第２および第３のヌクレオチド配列を含む核酸分子を含む発現構築物を準備することを含む、請求項１７に記載の方法、または、請求項１８に記載の使用。
【請求項２０】
リツキシマブによって認識される少なくとも１つのＣＤ２０エピトープの自殺部分を含む安全スイッチポリペプチドを発現する細胞のリツキシマブに対する感受性を増加させる方法であって、前記細胞に、前記安全スイッチポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であってＳＦＦＶプロモーターに作動可能に連結されたヌクレオチド配列を含む核酸分子を導入することを含む、方法。
【請求項２１】
リツキシマブに対する細胞の感受性を増加させるための、ＳＦＦＶプロモーターに作動可能に連結されたヌクレオチド配列を含む核酸分子を含む発現構築物の使用であって、前記ヌクレオチド配列が、リツキシマブによって認識される少なくとも１つのＣＤ２０エピトープの自殺部分を含む安全スイッチポリペプチドをコードする、使用。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１４７
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１４７】
「ＦＯＸＰ３ポリペプチド」は、ＦＯＸＰ３活性を有するポリペプチド、すなわち、ＦＯＸＰ３標的ＤＮＡに結合し、かつＴｒｅｇの発達と機能を調節する転写因子として機能することができるポリペプチドである。特に、ＦＯＸＰ３ポリペプチドは、野生型ＦＯＸＰ３（配列番号２）と同じまたは類似の活性を有していてもよく、例えば、野生型ＦＯＸＰ３ポリペプチドの活性の少なくとも４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、１００％、１１０％、１２０％、１３０％、１４０％、または１５０％を有していてもよい。よって、本明細書に記載の核酸、構築物またはベクター中の第２のヌクレオチド配列によってコードされるＦＯＸＰ３ポリペプチドは、野生型ＦＯＸＰ３と比較して活性が増加していてもよく、減少していてもよい。転写因子活性を測定するための技術は、当該技術分野において周知である。例えば、転写因子ＤＮＡ結合活性を、ＣｈＩＰによって測定してもよい。転写因子の転写調節活性を、それが調節する遺伝子の発現レベルを定量化することによって測定してもよい。遺伝子発現は、ノーザンブロッティング、ＳＡＧＥ、ｑＰＣＲ、ＨＰＬＣ、ＬＣ／ＭＳ、ウェスタンブロッティング、またはＥＬＩＳＡ等の技術を使用して、遺伝子から産生されるｍＲＮＡおよび／またはタンパク質のレベルを測定することによって定量化してもよい。ＦＯＸＰ３によって調節される遺伝子としては、ＩＬ－２、ＩＬ－４、およびＩＦＮ－γ等のサイトカインが挙げられる（Ｚｉｅｇｌｅｒ ｅｔ ａｌ．Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２００６，２４：２０９－２６、参照により本明細書に組み込む）。以下で詳細に述べるように、ＦＯＸＰ３またはＦＯＸＰ３ポリペプチドは、その機能的断片、変異体およびアイソフォームを含み、例えば配列番号２の、機能的断片、変異体およびアイソフォームを含む。
【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１９７
【補正方法】変更

【補正の内容】
【０１９７】
ＣＡＲの膜貫通ドメインは、人工疎水性配列も含み得る。ＣＡＲの膜貫通ドメインは、二量体化しないように選択してもよい。さらなる膜貫通ドメインは当業者に明らかであろう。ＣＡＲ構築物において使用される膜貫通（ＴＭ）領域の例としては、以下が挙げられる：１）ＣＤ２８　ＴＭ領域（Ｐｕｌｅ　ｅｔ　ａｌ，　Ｍｏｌ　Ｔｈｅｒ，　２００５，Ｎｏｖ；１２（５）：９３３－４１；　Ｂｒｅｎｔｊｅｎｓ　ｅｔ　ａｌ，　ＣＣＲ，２００７，　Ｓｅｐ　１５；１３（１８　Ｐｔ　１）：５４２６－３５；　Ｃａｓｕｃｃｉ　ｅｔ　ａｌ，　Ｂｌｏｏｄ，　２０１３，　Ｎｏｖ　１４；１２２（２０）：３４６１－７２．）、２）ＯＸ４０　ＴＭ領域（Ｐｕｌｅ　ｅｔ　ａｌ，　Ｍｏｌ　Ｔｈｅｒ，２００５，　Ｎｏｖ；１２（５）：９３３－４１）、３）４１ＢＢ　ＴＭ領域（Ｂｒｅｎｔｊｅｎｓ　ｅｔ　ａｌ，　ＣＣＲ，　２００７，　Ｓｅｐ　１５；１３（１８　Ｐｔ　１）：５４２６－３５）、４）ＣＤ３ゼータＴＭ領域（Ｐｕｌｅ　ｅｔ　ａｌ，　Ｍｏｌ　Ｔｈｅｒ，　２００５，　Ｎｏｖ；１２（５）：９３３－４１；　Ｄｉ　Ｓｔａｓｉ　ｅｔ　ａｌ，　Ｂｌｏｏｄ，　２００９，　Ｊｕｎ　１８；１１３（２５）：６３９２－４０２．）、５）ＣＤ８ａ　ＴＭ領域（Ｍａｈｅｒ　ｅｔ　ａｌ，　Ｎａｔ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ，　２００２，　Ｊａｎ；２０（１）：７０－５．；　Ｉｍａｉ　Ｃ，　Ｌｅｕｋｅｍｉａ，　２００４，　Ａｐｒ；１８（４）：６７６－８４；　Ｂｒｅｎｔｊｅｎｓ　ｅｔ　ａｌ，　ＣＣＲ，　２００７，　Ｓｅｐ　１５；１３（１８　Ｐｔ　１）：５４２６－３５；　Ｍｉｌｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ，　Ｍｏｌ　Ｔｈｅｒ，　２００９，　Ａｕｇ；１７（８）：１４５３－６４．）。使用し得るその他の膜貫通ドメインとしては、ＣＤ４、ＣＤ４５、ＣＤ９、ＣＤ１６、ＣＤ２２、ＣＤ３３、ＣＤ６４、ＣＤ８０、ＣＤ８６、またはＣＤ１５４に由来するものが挙げられる。