

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- (i) 細胞外 (EC) ドメイン；
- (ii) トロンボポエチン膜貫通 (TM) ドメイン；および
- (iii) 第 1 の細胞内 (IC) ドメイン；および任意に、
- (iv) 第 2 の細胞内ドメイン

を含むキメラ組換え増殖因子受容体 (CrGFR) を含む T 細胞または NK 細胞。

【請求項 2】

リガンドの CrGFR への結合が T 細胞または NK 細胞の増殖を誘導する、請求項 1 に記載の T 細胞または NK 細胞。

10

【請求項 3】

リガンドがヒトトロンボポエチン、トロンボポエチン受容体アゴニスト、または腫瘍関連抗原である、請求項 2 に記載の T 細胞または NK 細胞。

【請求項 4】

トロンボポエチン受容体アゴニストが TM ドメインに結合する、請求項 3 に記載の T 細胞または NK 細胞。

【請求項 5】

トロンボポエチン受容体アゴニストがエルトロンボパグおよびロミプロスチムから選択される、請求項 3 または請求項 4 に記載の T 細胞または NK 細胞。

【請求項 6】

20

EC ドメインがヒト c-mpl (トロンボポエチン) EC ドメインを含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の T 細胞または NK 細胞。

【請求項 7】

EC ドメインが、i) 切断型 EC ドメイン、ii) 切断型 c-mpl EC ドメイン、iii) 腫瘍関連抗原に結合するドメイン、iv) 腫瘍関連抗原に結合する抗体もしくは抗体フラグメント；および v) 選択マーカーのうちの 1 つまたは複数を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の T 細胞または NK 細胞。

【請求項 8】

第 1 の IC ドメインがヒト成長ホルモン受容体、ヒトプロラクチン受容体、ヒトトロンボポエチン受容体 (c-mpl)、G-CSF 受容体、GM-CSF 受容体、LMP、IL 2、CD 28 または CD 137 から選択される、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の T 細胞または NK 細胞。

30

【請求項 9】

第 1 の IC ドメインがヒトトロンボポエチン受容体 (c-mpl) 由来の IC ドメイン、またはヒトトロンボポエチン受容体 (c-mpl) 由来の切断型 IC ドメインを含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の T 細胞または NK 細胞。

【請求項 10】

第 2 の IC ドメインが、ヒト成長ホルモン受容体、ヒトプロラクチン受容体、ヒトトロンボポエチン受容体 (c-mpl)、G-CSF 受容体もしくは GM-CSF 受容体、共刺激受容体、サイトカイン受容体または共シグナル伝達受容体由来である、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の T 細胞または NK 細胞。

40

【請求項 11】

第 2 の IC ドメインがヒトトロンボポエチン受容体 (c-mpl)、またはヒトトロンボポエチン受容体 (c-mpl) 由来の切断型 IC ドメイン、好ましくは TpORΔ60、CD40、IL2rβ、IL2Rγ、ITAM1 または LMP1 から選択される、請求項 8 または請求項 9 に記載の T 細胞または NK 細胞。

【請求項 12】

CrGFR が配列番号 1 に示す TM 配列、またはヒトトロンボポエチンまたはトロンボポエチン受容体アゴニストに結合する少なくとも 80 % の配列同一性を有するそれらのバリエーションを含む、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の T 細胞または NK 細胞。

50

【請求項 13】

配列番号 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13 または 14 として示した配列、またはヒトトロポポエチンもしくはトロポポエチン受容体アゴニストに結合する少なくとも 80%、85%、90%、95%、97% もしくは 99% の配列同一性を有するそれらのバリエーションを含むキメラ組換え増殖因子受容体 (CrGFR) を含む T 細胞または NK 細胞。

【請求項 14】

トロポポエチンまたはヒトトロポポエチン受容体アゴニストによる結合が細胞増殖および／または生存を誘導する、請求項 13 に記載の T 細胞または NK 細胞。

【請求項 15】

エルトロポバグに結合する、請求項 1～14 のいずれか 1 項に記載の T 細胞または NK 細胞。

【請求項 16】

T 細胞が腫瘍浸潤リンパ球 (TIL)、制御性 T 細胞 (Treg) または一次 T 細胞から選択される、請求項 1～15 のいずれか 1 項に記載の T 細胞または NK 細胞。

【請求項 17】

組換え T 細胞受容体 (TCR) および／またはキメラ抗原受容体 (CAR) をさらに含む、請求項 1～16 のいずれか 1 項に記載の T 細胞または NK 細胞。

【請求項 18】

請求項 1～17 のいずれか 1 項に定義されているキメラ組換え増殖因子受容体 (CrGFR)。

【請求項 19】

請求項 18 に記載のキメラ組換え増殖因子受容体 (CrGFR) を含む細胞。

【請求項 20】

請求項 1～19 のいずれか 1 項に定義されている CrGFR をコードする核酸配列。

【請求項 21】

配列番号 15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27 または 28 として示した配列を含む、請求項 20 に記載の核酸配列。

【請求項 22】

請求項 20 または 21 に記載の核酸配列を含むベクター。

【請求項 23】

請求項 20 もしくは 21 に記載の核酸、または請求項 22 に記載のベクターを T 細胞または NK 細胞に導入するステップを含む、請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載の T 細胞または NK 細胞を作製する方法。

【請求項 24】

請求項 22 に記載のベクター、または請求項 1～17 に記載の T 細胞もしくは NK 細胞を、薬学的に許容可能な担体、希釈剤または賦形剤と共に含む医薬組成物。

【請求項 25】

請求項 1～17 の細胞、または請求項 24 に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む、*in vivo* で細胞増殖させる方法。

【請求項 26】

トロポポエチン、またはトロポポエチン受容体アゴニスト、例えばエルトロポバグもしくはロミプロスチムを対象に投与することを含む、請求項 25 に記載の *in vivo* で細胞を増殖させる方法。

【請求項 27】

養子細胞療法において使用するための、請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載の T 細胞もしくは NK 細胞、または請求項 22 に記載のベクター。

【請求項 28】

がんを治療する方法において使用するための、請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載の T 細胞もしくは NK 細胞、または請求項 22 に記載のベクター。

10

20

30

40

50

【請求項 29】

請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載の T 細胞または NK 細胞を対象に投与するステップを含む、がんを治療する方法。

【請求項 30】

がんを治療するための医薬の製造における、請求項 22 に記載のベクター、または請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載の T 細胞もしくは NK 細胞の使用。

【請求項 31】

請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載の T 細胞または NK 細胞の *in-vitro* 増殖または *in-vivo* 増殖において使用するためのエルトロノバグ。

【請求項 32】

がんの治療においてトロンプオエチンまたはトロンプオエチン受容体アゴニストと組み合わせて使用するための、請求項 1～17 に記載の T 細胞または NK 細胞を含む組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

がん退縮の媒介に自己 T 細胞を使用する養子細胞療法 (ACT) は、初期の臨床試験において非常に有望であることが明らかになっている。いくつかの一般的なアプローチ、例えば、天然に存在する腫瘍反応性の、または *ex vivo* で増殖された腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) の使用などが取られてきた。さらに、T 細胞は、所定の腫瘍抗原に向けてそれらを再標的化するために遺伝的に改変され得る。これは、ペプチド (p) - 主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 特異的 T 細胞受容体 (TCR) の遺伝子導入、または腫瘍特異的単鎖抗体フラグメント (scFv) と T 細胞シグナル伝達ドメイン (例えば CD3ζ) の間の合成融合によって実施することができるが、後者はキメラ抗原受容体 (CAR) と呼ばれている。TIL および TCR の導入は、メラノーマを標的とする場合に特に良好であることが分かっており (Rosenberg et al. 2011; Morgan 2006)、一方、CAR 療法は特定の B 細胞悪性腫瘍の治療において非常に有望であることが明らかになっている (Grupe et al. 2013)。

【0002】

ACT に関する現在の一般的な治療プロトコルは、*ex vivo* 増殖細胞を再注入する前に患者の循環リンパ球の大部分を除去する、シクロホスファミドおよび／またはフルダラビンを使用した初期非骨髄破壊的プレコンディショニング治療を行うことが必要である。これによって新しい細胞が増殖するための余地を得ることができ、正常細胞が新たに注入された細胞と増殖および生存シグナルを競合する「サイトカインシンク (cytokine sink)」が一掃される。細胞と一緒に、患者は、新しい細胞の移植および増殖を促進する高用量のインターロイキン (IL) - 2 の注入を介してサイトカインサポートを受ける。

現在、T 細胞 ACT の技術を制限している要因が多数存在する。上記の現在のプレコンディショニング療法には入院が必要であり、患者を免疫無防備状態のままにする可能性がある。さらに、多くの患者は、この治療レジメンの過酷さに耐えることができるほど十分な健康な状態ではない。プレコンディショニングを経てもさらに、支持療法としての IL - 2 の使用が、重度の毒性および集中治療処置の可能性と関わっている。実際、TIL 療法それ自体は、TCR および CAR 療法と異なり、いかなる重大なオンまたはオフターゲット毒性とは関係しておらず、大部分の毒性事象は付随する IL - 2 注入に関係している。

プレコンディショニングと IL - 2 支持療法を最小限にするか、低減することができる方法には、次のような点で大きな利点がある：(i) 患者の入院を短縮する、(ii) ACT によって治療することができる可能性のある患者の割合を増やす、(iii) 大がかりな入院に伴う臨床コストを削減することにより、多くの患者に対して ACT の可能性をより開く。

したがって、プレコンディショニング治療および／または IL - 2 支持療法の必要性を

10

20

30

40

50

最小限にする新しい A C T 療法が求められている。

【0003】

本発明は、臨床的に検証された薬物であり得る C r G F R のリガンドを投与することによってオンまたはオフにすることができる組換えキメラ増殖因子受容体を発現する細胞を使用する。これにより、他の細胞に対する毒性は最小限にして i n - v i v o で標的細胞を増殖させることが可能となる。

多くの報告書は、細胞のある特定の集団を増殖させる手段として、または抗体操作方策のための選択方法の開発のために増殖因子受容体操作のアイデアを使用している。例えば、多数の報告では、抗体-T p o R または E p o R 融合が多くのバイオテクノロジー方策、例えば単鎖抗体選択などに使用され得ることが証明されており (Ueda et al. 2000、Kawahara et al. 2004)、また多くの報告では、増殖因子受容体融合が巨核球細胞株 B a / F 3 および / または造血幹細胞を良好に増殖させることができることを証明している (Jin et al. 2000 ; Richard et al. 2000 ; Nagashima et al. 2003 ; Kawahara et al 2011 ; Saka et al. 2013)。

【0004】

トロンボポエチン (T p o) 受容体 (T p o R ; C D 1 1 0、c - m p l) は、通常、巨核球系統の細胞において発現される。その通常の状態において、T p o R はトロンボポエチンに応答してスイッチがオンになり、血小板の巨核球産生を引き起こす。T p o R の血小板発現をシンクとして使用して T p o の循環レベルを低下させることができる活性のネガティブフィードバックループ (n e g a t i v e f e e d b a c k l o o p) もある。重要なことには、T p o R は、他のいずれの正常組織またはがん細胞でも発現されない (Columbyova 1995)。

【0005】

最近の報告で、T 細胞を野生型 T p o R で操作し、T p o またはエルトロンボパグ (E l t r o m b o p a g) の投与を介して T 細胞の生存および増殖を制御することができることが証明された (Nishimura et al. 2018)。しかし、トロンボポエチン融合受容体などのキメラ増殖因子受容体を発現するように操作されている T 細胞および他のリンパ球の報告はなく、また A C T におけるこれらの細胞の使用の報告はない。

【図面の簡単な説明】

【0006】

【図 1】増殖因子ドメインを含むキメラ組換え増殖因子受容体の概略図である。これらの受容体は、T p o R 細胞外ドメインと原形質膜にまたがる膜貫通ドメインからなる。細胞内ドメインは、受容体の全体的な活性を増大し、図の凡例で詳述されているように増殖因子ドメイン、共シグナル伝達ドメイン、または共刺激ドメインの選択に由来し得る 1 つまたは複数の追加ドメインに融合された T p o R 細胞質ドメインからなる。Δ 6 0 = 6 0 アミノ酸の C 末端が欠失した T p o R、I L 2 r β c y t = I L 2 受容体ベータ鎖の細胞質ドメイン、S L A M = S L A M / C D 1 5 0、T I A F 1 = T G F β 1 誘導性抗アポトーシス因子 1、T L R 1 = T o l l 様受容体 1、C D 4 0 = C D 4 0 / T N F R S F 5、I L 2 r γ = I L - 2 受容体共通ガンマ鎖、I T A M 1 = C D 3 ζ 由来の免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ、L M P 1 = エプスタインバーウイルス潜在膜タンパク質 1。

【図 2】共刺激ドメインを含むキメラ組換え増殖因子受容体の概略図である。これらの受容体は、T p o R 細胞外ドメインと原形質膜にまたがる膜貫通ドメインからなる。細胞内ドメインは、定義した共刺激受容体、例えば、限定するものではないが C D 2 8 または C D 1 3 7 などから得られる共刺激ドメインからなる。

【図 3】レンチウイルス導入遺伝子の遺伝子構成の概略図である。T p o R 導入遺伝子はコドン最適化され、p S F . L e n t i レンチウイルスベクターの X b a I および N h e I 制限消化対によって E F 1 α プロモーターの下流にクローニングされた。

【図 4】J u r k a t E 6 . 1 細胞における非形質導入の野生型 (W T) およびバリエーションのキメラ組換え増殖因子受容体のフロー分析を示す図である。J u r k a t E 6 . 1 T 細胞に、示した導入遺伝子を有するレンチウイルス粒子を形質導入した。発現は、抗

10

20

30

40

50

CD110-PE抗体を使用して感染の72時間後に評価した。

【図5】Ba/F3細胞におけるキメラ組換え増殖因子受容体活性の分析を示す図である。サイトカイン依存性マウスB細胞株Ba/F3に示したCrGFRを形質導入し、IL-3またはエルトロポバグのいずれかと10日間インキュベートした。CrGFRの発現は、CD110抗体を使用し、示した時点でフローサイトメトリーにより評価した。

【図6】ドナー1由来の一次ヒトT細胞に対するエルトロポバグおよびIL-2の分析を示す図である。ドナー1由来の一次ヒトT細胞にWT TpORまたはバリエントCrGFRを形質導入し、IL2またはエルトロポバグの存在下でインキュベートした。細胞を21日までの時点で取り出し、受容体を発現する細胞の割合を、PE結合型抗CD110抗体およびMACSQuantアナライザーを使用して評価した。

10

【図7】ドナー2由来の一次ヒトT細胞に対するエルトロポバグおよびIL-2の分析を示す図である。ドナー2由来の一次ヒトT細胞にWT TpORまたはバリエントCrGFRを形質導入し、IL2またはエルトロポバグの存在下でインキュベートした。細胞を21日までの時点で取り出し、受容体を発現する細胞の割合を、PE結合型抗CD110抗体およびMACSQuantアナライザーを使用して評価した。

【図8】ドナー3由来の一次ヒトT細胞に対するエルトロポバグおよびIL-2の分析を示す図である。ドナー3由来の一次ヒトT細胞にWT TpORまたはバリエントCrGFRを形質導入し、IL2またはエルトロポバグの存在下でインキュベートした。細胞を21日までの時点で取り出し、受容体を発現する細胞の割合を、PE結合型抗CD110抗体およびMACSQuantアナライザーを使用して評価した。

20

【図9】次の分析ラウンドに最適なCrGFRの選択を示す図である。エルトロポバグで21日間インキュベーションした後の3名のドナーの一次ヒトT細胞におけるCrGFRの発現を示すフローサイトメトリープロット。受容体のTpOR、CD40、TpOR・IL2ry、TpOR・ITAM1、TpOR・Δ60、TpOR・LMP1-cytoおよびTpOR・TpOR-cyto、LMP1-cytoを、今後のwt TpORとの比較のために選択した。

【図10】ドナー4由来のCrGFR選別一次ヒトT細胞に対するエルトロポバグおよびIL-2の分析を示す図である。ドナー4由来の一次ヒトT細胞にWT TpORまたはバリエントCrGFRを形質導入し、IL2またはエルトロポバグについて選択され、IL2またはエルトロポバグの存在下でインキュベートされるMiltenyi MACS技術により発現を濃縮した。細胞を7日までの時点で取り出し、受容体を発現する細胞の数を、PE結合型抗CD110抗体、DRAQ7生存率用色素、およびMACSQuantアナライザーを使用して評価した。

30

【図11】ドナー5由来のCrGFR選別一次ヒトT細胞に対するエルトロポバグおよびIL-2の分析を示す図である。ドナー5由来の一次ヒトT細胞にWT TpORまたはバリエントCrGFRを形質導入し、IL2またはエルトロポバグについて選択され、IL2またはエルトロポバグの存在下でインキュベートされるMiltenyi MACS技術により発現を濃縮した。細胞を7日までの時点で取り出し、受容体を発現する細胞の数を、PE結合型抗CD110抗体、DRAQ7生存率用色素、およびMACSQuantアナライザーを使用して評価した。

40

【図12】ドナー6由来のCrGFR選別一次ヒトT細胞におけるエルトロポバグおよびIL-2の分析を示す図である。ドナー6由来の一次ヒトT細胞にWT TpORまたはバリエントCrGFRを形質導入し、IL2またはエルトロポバグについて選択され、IL2またはエルトロポバグの存在下でインキュベートされるMiltenyi MACS技術により発現を濃縮した。細胞を7日までの時点で取り出し、受容体を発現する細胞の数を、PE結合型抗CD110抗体、DRAQ7生存率用色素、およびMACSQuantアナライザーを使用して評価した。

【図13】TIL042のキメラ組換え増殖因子受容体の分析を示す図である。TIL042由来の腫瘍浸潤リンパ球にWT TpORまたは示したバリエントCrGFRを形質導入し、患者に適合した腫瘍株の存在下で、IL2、エルトロポバグ、IL-2+エル

50

トロンボパグを添加して、または増殖因子を添加しないでインキュベートした。細胞を4日目および7日目に分析およびカウントし、受容体を発現する細胞の数を、PE結合型抗CD110抗体、DRAQ7生存率用色素、およびMACSQuantアナライザーを使用して評価した。グラフは、TILの回復が、腫瘍調節因子および／または活性化誘導細胞死によって引き起こされる数の最初の減少後に起こる場合の4日目～7日目のカウントを示す。

【図14】 卵巣TILにおけるキメラ組換え増殖因子受容体の分析を示す図である。3つの卵巣TIL由来の腫瘍浸潤リンパ球にWT Tp o Rまたは示したバリエーションCr GFRを形質導入し、患者に適合した腫瘍細胞の存在下で、エルトロンボパグと共に、または増殖因子なしでインキュベートした。細胞を4日目および7日目に分析およびカウントし、受容体を発現する細胞の数を、PE結合型抗CD110抗体、DRAQ7生存率用色素、およびMACSQuantアナライザーを使用して評価した。グラフは、TILの回復が、腫瘍調節因子および／または活性化誘導細胞死によって引き起こされる数の最初の減少後に起こる場合の4日目～7日目のカウントを示す。

10

【図15】 キメラ組換え増殖因子受容体によるpSTATの誘導を示す図である。一次ヒトT細胞を単離し、示したCr GFRを形質導入した。細胞を、Miltenyi MACS技術を使用してCr GFR発現について濃縮し、ポリクローナル刺激によって増殖させた。濃縮した細胞を、培地単独(RPMI)、IL2、IL12、Tp o、またはエルトロンボパグ(Elt)のいずれかで4時間刺激し、その後、メタノール固定およびホスホSTAT5に向けての抗体による細胞内染色を行った。

20

【発明の概要】

【0007】

本発明者らは、増殖スイッチとして機能し得るCr GFRを含むT細胞およびNK細胞を含むリンパ球を操作により作製することができることを明らかにした。これによって、Cr GFRリガンドを患者に投与することによりリンパ球をin vivoで増殖させることができるようになる。本発明者らは、例えば、トロンボポエチン(Tp o)受容体(Tp o R; CD110、c-mpl)をベースとしたCr GFRが、受容体へのCr GFRリガンドの結合後に、操作されたリンパ球の増殖を誘導することを明らかにした。したがって、リガンドは、Cr GFRを発現する細胞の増殖または活性化誘導性細胞死からの保護をもたらすが、患者における他の細胞における受容体の欠如または低発現に起因して、毒性は低いと予想される。Tp o Rまたは他の関連する増殖因子受容体をベースとしたCr GFRは、養子細胞療法において、in vitroおよびin vivoでリンパ球増殖を増大させる有益なツールとなり得る。

30

【0008】

したがって、第1の態様では、本発明は、

- (i) 細胞外(EC)ドメイン;
- (ii) トロンボポエチン膜貫通(TM)ドメイン; および
- (iii) 第1の細胞内(IC)ドメイン、および任意に、
- (iv) 第2の細胞内ドメイン

を含むキメラ組換え増殖因子受容体(Cr GFR)を含むT細胞またはNK細胞を含むリンパ球を提供する。

40

【0009】

Cr GFRは、受容体リガンドがCr GFRに結合することにより、受容体の活性化および細胞への増殖シグナル伝達が生じ、増殖および／または生存が誘導されるように設計されている。

リガンドは、ヒトトロンボポエチン、またはトロンボポエチン受容体アゴニスト、例えば、エルトロンボパグ、ルストロンボパグ(Lusotrombopag)、アバトロンボパグ(Avatorombopag)またはロミプロスチム(Romiplostim)であり得る。

【0010】

50

ECドメインは、ヒトc-mpl ECドメイン（ヒトTpoに結合する）であり得るか、またはi) 切断型ECドメイン、ii) 切断型c-mpl ECドメイン、iii) 選択マーカー、例えばCD34のうちの1つもしくは複数であり得る。

CrGFRのICドメインは、JAK結合ドメインを含み得る。ICドメインは、2つ以上の増殖因子受容体または他のシグナル伝達ドメインからなり、1つはヒト成長ホルモン受容体、ヒトプロラクチン受容体またはヒトトロポポエチン受容体（c-mpl）のリストからのものであり得、追加の増殖因子または他のシグナル伝達ドメインはサイトカイン受容体シグナル伝達ドメイン（例えばIL2受容体）、共シグナル伝達ドメイン（例えばCD40）、ウイルス発がん性タンパク質（例えばLMP1）、共刺激ドメイン（例えばCD28、CD137、CD150など）または他のマイトジェンドメイン（例えば、Toll様受容体、免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ、CD3シグナル伝達ドメインなど）のリストからのもの（ただし限定するものではない）であり得るとからなる。

10

【0011】

リンパ球は、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、制御性T細胞（Treg）もしくは一次T細胞を含むT細胞、またはNK細胞、または樹状細胞であり得る。

CrGFRに加えて、リンパ球、T細胞またはNK細胞は、組換えT細胞受容体（TCR）またはキメラ抗原受容体（CAR）を含んでいてもよい。

【0012】

第2の態様では、本発明は、CrGFRをコードする核酸配列を提供する。

20

第3の態様では、本発明は、第2の態様に記載の核酸配列を含み、存在する場合、TCRおよび／またはCAR核酸配列を含むベクターを提供する。

第4の態様では、本発明は、本発明の第1の態様に記載のリンパ球、またはT細胞もしくはNK細胞を作製する方法であって、CrGFRをコードする核酸、またはベクターをリンパ球に導入するステップを含む方法を提供する。

第5の態様では、本発明は、第3の態様に記載のベクター、または第1の態様に記載のリンパ球（T細胞もしくはNK細胞を含む）を、薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤と共に含む医薬組成物を提供する。

第6の態様では、本発明は、第1の態様のリンパ球、またはT細胞もしくはNK細胞、あるいは第5の態様の医薬組成物を対象に投与することを含む、in-vivo細胞増殖の方法を提供する。細胞は、トロポポエチン、またはトロポポエチンアゴニスト、例えばエルトロポバグを対象に投与することによりin-vivoで増殖され得る。

30

第7の態様では、本発明は、養子細胞療法において使用するための、第1の態様に記載のT細胞もしくはNK細胞を含むリンパ球、または第3の態様に記載のベクターを提供する。

第8の態様では、本発明は、がんを治療する方法において使用するための、第1の態様に記載のT細胞もしくはNK細胞を含むリンパ球、または第3の態様に記載のベクターを提供する。

第9の態様では、本発明は、がんを治療するための医薬の製造における第1の態様に記載のリンパ球の使用、または第3の態様に記載のベクターの使用を提供する。

40

第10の態様では、本発明は、養子細胞療法において使用するためのエルトロポバグまたはTpoを提供する。

第11の態様では、本発明は、T細胞またはNK細胞を含むリンパ球のin-vivo増殖において使用するためのエルトロポバグまたはTpoを提供する。

第12の態様では、本発明は、がんの治療において、トロポポエチンまたはトロポポエチン受容体アゴニスト、例えばエルトロポバグと組み合わせて使用するための第1の態様のリンパ球を提供する。

【発明を実施するための形態】

【0013】

キメラ組換え増殖因子受容体（CrGFR）

50

本明細書では、(i)細胞外(EC)ドメイン；(ii)トロンボポエチン膜貫通(TM)ドメイン；および(iii)キメラ増殖因子受容体細胞内(IC)ドメイン含む、組換え増殖因子受容体(CrGFR)を提供する。シンプル形態では、CrGFRは、完全長ヒトTpo受容体(本明細書の図1に示したもの)またはリガンド結合に応答してシグナル伝達および細胞増殖を維持するその誘導体もしくはバリエーション(例えば、これはシグナル伝達能力を維持することが示された切断型トロンボポエチンシグナル伝達ドメインを含んでいてもよい)を含み得る。CrGFRは、異なる受容体に由来するECドメイン、TMドメインおよびICドメインを有するモジュラー形態であってもよい。しかし、CrGFRは、リガンド結合の際に増殖シグナルを細胞に伝達するその能力を維持する必要がある。CrGFRは、TMドメインにリガンドが結合した際に、活性化され、増殖シグナルを細胞に伝達し得る。シグナル伝達ドメインは、1つまたは複数の追加のシグナル伝達ドメインを含んでいてもよい。

10

【0014】

適切なCrGFRは、正常なヒト組織で発現が制限されているGFR、例えば、小さな細胞集団のみで発現されるか、または特定の細胞タイプに制限されるGFR、例えばc-kitに基づいて選択することができる。あるいは、増殖因子受容体の天然リガンド結合ドメインは、除去され、例えば、マーカーまたは他のECドメインで置き換えられ得る。

CrGFRは、増殖因子結合機能を有さないECドメイン(例えば、TpoR ECドメインの切断型)および/またはマーカー(例えばCD34)、ならびにTpoR由来のTMドメインおよびICドメインを含むことができる。このタイプの受容体を有する細胞の増殖は、その後、TMドメインへのエルトロンボグの結合によって刺激され得る。

20

CrGFRは、治療活性を有する細胞の治療性集団、例えば腫瘍浸潤リンパ球(TIL)においてプロモーターの制御下で単独で発現され得る。

【0015】

あるいは、CrGFRは、例えば図14で説明されているように、治療用導入遺伝子、例えばキメラ抗原受容体(CAR)および/またはT細胞受容体(TCR)と共に発現され得る。適切なTCRおよびCARは、文献、例えば、HLA-A*02-NYESO-1特異的TCR(Rapoport et al. Nat Med 2015)または抗CD19scFv、CD3ζ融合体CAR(Kochenderfer et al. J Clin Oncol 2015)で周知であり、それぞれ、骨髄腫またはB細胞悪性腫瘍を治療するために良好に使用されている。本明細書に記載されているCrGFRは、任意の公知のCARまたはTCRと共に発現させることができ、したがって、in-vitroまたはin-vivoでの細胞の増殖/生存を可能にする制御可能な増殖スイッチ、および抗がん活性に関するTCRまたはCARの形態での従来の活性化メカニズムを有する細胞を提供する。したがって、本発明は、本明細書に記載されているCrGFRと、腫瘍関連抗原に特異的に結合するTCRおよび/またはCARとを含む、養子細胞療法において使用するための細胞を提供する。

30

【0016】

CrGFRは、ヒトTpo受容体のTMドメインおよび第1のICドメインと、野生型または切断型のTpo受容体ECドメイン(天然のリガンド結合機能なし)とを有し得る。

40

CrGFRの特定の実施形態は、図1および図2に示すものを含む。

いくつかの実施形態では、増殖因子受容体(CrGFR)は、TpoR受容体をベースとし、少なくともTM領域およびIC領域(TpoR TMドメインおよび514~635およびTpoR細胞質ドメインを示す配列番号1を参照)が保持されており、また追加の(第2の)ICドメインがTpoまたはTpoアゴニスト結合に応答してシグナル伝達を増強するように構築物に付加されているように構築されている。したがって、いくつかの実施形態では、CrGFRは、(i)TpoR細胞外(EC)ドメイン、または切断型TpoR ECドメイン；(ii)トロンボポエチン膜貫通(TM)ドメイン；(iii)ヒトトロンボポエチンICドメイン(またはその切断型バージョン、例えばデルタ60)を含む第1の細胞内(IC)ドメイン；および(iv)共刺激受容体、サイトカイン受

50

容体、共シグナル伝達受容体またはヒトトロポポエチン受容体 (c-mp1) 由来の ICドメインから選択される、第2の細胞内ドメインを含む。例えば、第2の ICドメインは、CD40、IL2R (IL2r β 、IL2R γ)、ITAM1またはLMP1由来の ICドメインであり得る。

【0017】

いくつかの実施形態では、CrGFRは、i) ECドメインと；配列番号3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、もしくは14に示したTMドメインおよびICドメイン、または少なくとも80%、85%、90%、95%97%もしくは99%の配列同一性を有するそれらのバリエーションを含む。適切なECドメインは、本明細書に記載されているもの、例えば、切断型TpOR ECドメインを含む。これらの受容体は、ヒトトロポポエチンまたはトロポポエチン受容体アゴニストに結合する能力を保持する。

10

他の実施形態では、wt TpOのICドメインは、適切な受容体、例えば、LMP1、IL2R、CD28、CD137由来のICドメインで置き換えられる；そのような構築物の例は、図1に「TpOR, LMP1」「TpOR, IL2r β -cyt, TpOR-cyt」として示し、図2に「TpORec, TpORtm CD28cyto」および「TpORec, TpORtm CD137cyto」として示している。

【0018】

ECドメイン

ECドメインは、TpOR (配列番号1) 由来のECドメイン、または受容体へのリガンド結合に応答してシグナル伝達および細胞増殖を維持するその誘導体もしくはバリエーションであり得る。

20

例えば、リガンド結合時に受容体活性化を引き起こし得るTMドメイン、例えばTpOR TMドメインが使用される場合、ECドメインはCrGFRシグナル伝達に必要な場合がある。ECドメインは、次に、切断型または変異型の天然ドメイン (例えば、リガンド結合機能なし)、例えば切断型TpOR ECドメインであってもよい。天然ECドメインは、選択および／またはin vivoモニタリングのためのマーカー、例えば切断型CD34に置き換えることができる。

【0019】

TMドメイン

TpO受容体 (TpOR) 由来のTMドメイン (図1に示す) を、受容体へのリガンド結合に応答してシグナル伝達および細胞増殖を維持するその誘導体またはバリエーションを含めて、使用することができる。TpORは正常なヒト組織で発現が制限されていることが知られており、またエルトロポバグ、ルストロポバグおよびアバトロポバグに結合することも知られているので、これは有用である可能性があり、したがって、TpO受容体由来のTMドメインを含むCrGFRは、公知の毒性プロファイルを有する臨床検証された化合物に対してin vitroまたはin vivoでこの細胞を暴露させることにより活性化させることができる。

30

【0020】

ICドメイン

TpO受容体由来の増殖因子受容体細胞内 (IC) ドメイン (配列番号1に示す) は、受容体へのリガンド結合に応答してシグナル伝達および細胞増殖を維持するその誘導体またはバリエーション (例えば、配列番号2に示したような切断型TpORシグナル伝達ドメイン) を含めて、使用することができる。これをTpO受容体由来のTMドメインと組み合わせて、リガンド結合に応答して良好なレベルの細胞増殖を達成することができる。

40

増殖因子受容体様の他のICドメインは、これらの受容体がTpO受容体と同じ細胞シグナル伝達経路を活性化することが知られていることから、本発明のCrGFRの構築における使用に適し得る。例えば、G-CSF、GM-CSF、プロラクチンまたはヒト成長ホルモン由来のICドメインを使用して、TpOR TMドメインと組み合わせた場合にCrGFRを構築することができる。次いで、受容体アゴニスト、例えばエルトロポ

50

パグに応答して細胞増殖を誘導するこれらの I C ドメインを含む C r G F R の能力は、本明細書の実施例で説明されている方法を使用して決定することができる。T p o R の I C ドメインは、C 末端で最大 79 アミノ酸まで切断され得る。これを上回る切断は、T p o R 活性を完全にノックアウトすることが明らかにされている (Gurney et al. PNAS 1995)。

さらに、I C ドメインはまた、(限定するものではないが) 以下のうちの 1 つに由来する第 2 のドメインを含むことができる: サイトカイン受容体シグナル伝達ドメイン (例えば I L 2 受容体)、共シグナル伝達ドメイン (例えば C D 40)、ウイルス発がん性タンパク質 (例えば L M P 1)、共刺激ドメイン (例えば C D 28、C D 137、C D 150 など) または他のマイトジェンドメイン (例えば T o l l 様受容体、免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ、C D 3 シグナル伝達ドメインなど)。

10

【0021】

サイトカイン受容体は、多くの細胞タイプで発現される受容体の広範囲の群であり、可溶性サイトカインに結合することによって細胞外環境の合図を感知することに関与している。この結合の事象は、J A K / S T A T シグナル伝達を介してシグナル伝達カスケードを誘発し、生存および増殖に関与する遺伝子のアップレギュレーションをもたらす。そのような受容体としては、I L - 2 受容体、I L - 4 受容体およびトロンボポエチン受容体が挙げられる (Liongue et al. 2016)。共刺激受容体は、細胞が T 細胞受容体によって一次シグナルを受ける場合に、T 細胞の活性を増強することに関与するタンパク質である。これは、シグナル 1 およびシグナル 2 の概念に基づいており、それによって、シグナル 1 は T 細胞受容体とペプチド-MH C との結合を介して送達され、シグナル 2 は T 細胞の共刺激受容体と標的細胞 (例えば樹状細胞) の共刺激リガンドとの結合を介して送達される。共刺激ドメインを介して送達されるシグナル 2 は、T 細胞に重要な生存シグナルを提供する。一般的な共刺激受容体としては、C D 28、C D 137、および C D 150 が挙げられる (Leitner et al. 2010)。用語の共シグナル伝達とは、共刺激受容体について説明したものと同様の支持シグナルを提供する細胞膜タンパク質のグループを定義するが、ある特定の状況下では、T 細胞でそれらが発現されない可能性があるため、通常は共刺激性であるとは考えられない場合があり、そのような受容体には抗原提示細胞で通常発現される C D 40 が含まれ、T 細胞で発現される C D 40 - リガンドの結合の際に生存率を増強する (He et al. 2012; Kumar et al. 2018)。

20

30

【0022】

この第 2 の I C ドメインは、第 1 の I C ドメイン (例えば、膜貫通 T p o ドメインの隣に配置される T p o R I C ドメイン) の C 末端に直接融合され得るか、またはリンカードメインを介して融合され得る。したがって、キメラ増殖因子受容体は、T p o R 膜貫通ドメインおよび T p o R I C ドメイン (第 1 の I C ドメイン)、および T p o R に由来し得るか、または前の段落で説明したようなサイトカイン受容体シグナル伝達ドメイン、共シグナル伝達ドメイン、ウイルス発がん性タンパク質 (例えば L M P 1) もしくは共刺激ドメインであってもよい、第 2 の I C ドメインを含み得る。

さらに、共刺激ドメイン、共抑制ドメイン、または共シグナル伝達ドメインを T p o R 膜貫通ドメインに直接融合させて、図 2 ならびに配列番号 13 および 14 に示したような受容体を作製することができる。これらの受容体は、さらなる (第 2 の) I C ドメイン、例えば T p o R ドメインを含んでもよい。

40

【0023】

細胞

本発明で使用される細胞は、養子細胞療法において有用な任意のリンパ球であってよく、例えば、T 細胞またはナチュラルキラー (NK) 細胞、NK T 細胞、ガンマ/デルタ T 細胞または制御性 T 細胞などであり得る。細胞は、同種異系細胞であってもよく、または自己細胞であってもよい。

T 細胞または T リンパ球は、細胞性免疫において中心的な役割を有するリンパ球の一種である。それらは、細胞表面の T 細胞受容体 (T C R) の存在によって、他のリンパ球、

50

例えばB細胞およびナチュラルキラー細胞（NK細胞）などと識別され得る。以下に要約しているように、様々なタイプのT細胞がある。

【0024】

細胞傷害性T細胞（TC細胞、またはCTL）は、ウイルス感染細胞および腫瘍細胞を破壊し、また移植片拒絶反応にも関係している。CTLは、それらの表面でCD8分子を発現する。これらの細胞は、すべての有核細胞の表面に存在するMHCクラスIに関連した抗原に結合することによってそれらの標的を認識する。制御性T細胞により分泌されるIL-10、アデノシンおよび他の分子を介して、CD8+細胞はアネルギー状態に不活化され得るが、これにより自己免疫疾患、例えば実験的自己免疫性脳脊髄炎などが阻止される。

10

メモリーT細胞は、感染が解消した後も長期間持続する抗原特異的T細胞のサブセットである。それらは、同族の抗原への再曝露の際に多数のエフェクターT細胞を速やかに増殖することにより、過去の感染に対する「記憶」を免疫系に提供する。メモリーT細胞は、次の3つのサブタイプ：セントラルメモリーT細胞（TCM細胞）および2つのタイプのエフェクターメモリーT細胞（TEM細胞およびTEMRA細胞）を含む。メモリー細胞は、CD4+またはCD8+のいずれかであり得る。メモリーT細胞は、典型的には、細胞表面タンパク質CD45ROを発現する。

以前はサプレッサーT細胞として知られていた制御性T細胞（Treg細胞）は、免疫寛容の維持にとって重要である。それらの主要な役割は、免疫反応の終了に向けてT細胞性免疫をシャットダウンすること、また胸腺でのネガティブ選択のプロセスを回避した自己反応性T細胞を抑制することである。

20

【0025】

CD4+ Treg細胞の2つの主要なクラスである、天然に存在するTreg細胞と適応性Treg細胞が開示されている。

天然に存在するTreg細胞（CD4+CD25+FoxP3+ Treg細胞としても知られている）は胸腺において発生し、TSLPで活性化された骨髓性（CD11c+）樹状細胞と形質細胞様（CD123+）樹状細胞の両方と発達中のT細胞との間の相互作用に関連していた。天然に存在するTreg細胞は、FoxP3と呼ばれる細胞内分子の存在によって、他のT細胞と識別され得る。

適応性Treg細胞（Tr1細胞またはTh3細胞としても知られている）は、正常な免疫応答中に発生し得る。

30

【0026】

ナチュラルキラー細胞（またはNK細胞）は、自然免疫系の一部を形成する細胞傷害性の細胞の一種である。NK細胞は、MHC非依存的方法でウイルス感染細胞からの自然シグナルに対して速やかな応答を提供する。

NK細胞（自然リンパ球の群に属する）は、大顆粒リンパ球（LGL）として定義され、Bリンパ球およびTリンパ球を産生する一般的なリンパ球前駆体から分化した第3の種類の細胞を構成する。

【0027】

核酸

40

本発明の一態様は、本明細書に記載されているCrGFR、ポリペプチド、またはタンパク質（それらの機能的部分および機能的バリエーションを含む）のいずれかをコードする、本発明の核酸配列を提供する。

本明細書で使用される場合、用語の「ポリヌクレオチド」、「ヌクレオチド」、および「核酸」とは、相互に同義であるものとする。

遺伝コードの縮重の結果、多数の異なるポリヌクレオチドおよび核酸が同じポリペプチドをコードし得ることは、当業者には理解されよう。さらに、日常的な技術を使用して、ポリペプチドを発現させようとする任意の特定の宿主生物のコード使用を反映するように、本明細書に記載のポリヌクレオチドによってコードされているポリペプチド配列に影響を及ぼさないヌクレオチド置換を作製することが当業者はできることを理解されたい。

50

【0028】

本発明による核酸は、DNAまたはRNAを含み得る。それらは一本鎖であってもよく、または二本鎖であってもよい。それらはまた、合成ヌクレオチドまたは修飾ヌクレオチドをそれらの中に含むポリヌクレオチドであってもよい。オリゴヌクレオチドに対する多くの異なるタイプの修飾が当技術分野において公知である。これらには、メチルホスホネート骨格およびホスホロチオエート骨格、分子の3'末端および／または5'末端でのアクリジン鎖またはポリリジン鎖の付加が含まれる。本発明の目的において、ポリヌクレオチドは当技術分野で利用可能な任意の方法によって修飾され得ることを理解されたい。そのような修飾は、目的のポリヌクレオチドの *in vivo* 活性または寿命を増強するために実施することができる。

10

ヌクレオチド配列に関連する用語の「バリエーション」、「相同体」または「誘導体」とは、配列からの、または配列への1つ（または複数）の核酸の任意の置換、変更、修飾、置き換え、欠失、または付加を含む。

【0029】

核酸配列は、配列番号2に示したようなTp受容体の切断型をコードするかまたはそれを含む核酸配列を含む、配列番号3～14に示したタンパク質配列またはそれらのバリエーションをコードし得る。

ヌクレオチド配列は、配列番号17～28に示したTpRのヌクレオチド配列、またはそれらのバリエーションを含み得る。

また本発明は、CrGFRをコードする核酸配列と、T細胞受容体(TCR)および／またはキメラ抗原受容体(CAR)をコードするさらなる核酸配列とを含む核酸配列を提供する。

20

核酸配列は、2つ以上の核酸配列を共発現させることが可能な配列によって連結され得る。例えば、構築物は、内部プロモーター、内部リボソーム進入配列(IRES)、または切断部位をコードする配列を含むことができる。ポリペプチドが生成された場合に、いかなる外部切断活性も必要とすることなく直ちに個別のタンパク質に切断されるように、切断部位は自己切断され得る。

口蹄疫ウイルス(FMDV)および2a自己切断ペプチドを含む様々な自己切断部位が知られている。

共発現配列は、内部リボソーム進入配列(IRES)であってもよい。共発現配列は、内部プロモーターであってもよい。

30

【0030】

ベクター

一態様では、本発明は、本発明の核酸配列または核酸構築物を含むベクターを提供する。

そのようなベクターを使用して、核酸配列または核酸構築物を宿主細胞に導入することができ、その結果、これは本発明の第1の態様に記載の1つまたは複数のCrGFRを発現し、任意に1つまたは複数の他の目的のタンパク質(POI)、例えばTCRまたはCARを発現する。

ベクターは、例えば、プラスミドまたはウイルスベクター、例えばレトロウイルスベクターもしくはレンチウイルスベクター、またはトランスポゾンベースのベクターもしくは合成mRNAであり得る。レトロウイルス、例えばレンチウイルス由来のベクターは、1つまたは複数の導入遺伝子の長期的で安定した組み込みと娘細胞におけるその増殖を可能にするので、長期的な遺伝子導入を達成する適切なツールである。

40

ベクターは、T細胞またはNK細胞を含むリンパ球をトランスフェクトするか、または形質導入することができる。

本発明はまた、本発明の核酸が挿入されているベクターを提供する。

CrGFRおよび任意にTCRまたはCARをコードしている天然または合成の核酸の発現は、典型的には、CrGFRおよびTCR/CARポリペプチドまたはその一部をコードする核酸を1つまたは複数のプロモーターに作動可能に連結し、構築物を発現ベクタ

50

ーに組み込むことにより達成される。ベクターは、真核細胞における複製および組み込みに適し得る。典型的なクローニングベクターは、所望の核酸配列の発現の調節に有用な転写および翻訳のターミネーター、開始配列、およびプロモーターを含む。

ウイルスベクター技術は当技術分野においては周知であり、例えば、Sambrook et al. (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)、ならびに他のウイルス学および分子生物学のマニュアルに記載されているが、またWO 01/96584; WO 01/29058; および米国特許第 6, 3 2 6, 1 9 3 号も参照されたい。

【0031】

いくつかの実施形態では、核酸構築物は、本明細書の図面に示した通りである。いくつかの実施形態では、核酸は、単一プロモーターの制御下で、複数の導入遺伝子（例えば C r G F R ならびに T C R および／または C A R など）の発現を可能にするマルチシストロン性構築物である。いくつかの実施形態では、導入遺伝子（例えば、C r G F R ならびに T C R および／または C A R など）は、自己切断 2 A ペプチドによって分離される。本発明の核酸構築物において有用な 2 A ペプチドの例としては、F 2 A、P 2 A、T 2 A および E 2 A が挙げられる。本発明の他の実施形態において、本発明の核酸構築物は、2 つのプロモーター；C r G F R の発現を駆動する 1 つのプロモーターと、T C R または C A R の発現を駆動する別のプロモーターとを含むマルチシストロン性構築物である。いくつかの実施形態では、本発明の二重プロモーター構築物は一方向性である。他の実施形態では、本発明の二重プロモーター構築物は双方向性である。

C r G F R ポリペプチドまたはその一部の発現を評価するために、細胞に導入される発現ベクターは、選択可能なマーカー遺伝子もしくはレポーター遺伝子のいずれかまたはその両方を含み、ウイルスベクターを介してトランスフェクトされるか、または形質導入されることが求められる細胞の集団からの発現細胞の同定および選択を容易にすることもできる。C r G F R ポリペプチドは、マーカー、例えば C D 3 4 など E C ドメインの一部として組み込むことができる。

【0032】

医薬組成物

本発明はまた、本発明のベクターまたは C r G F R 発現細胞を、薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤、任意に 1 つまたは複数のさらなる薬学的に活性なポリペプチド および／または化合物を共に含む、医薬組成物に関する。そのような製剤は、例えば、静脈内注入に適した剤形であり得る。

【0033】

治療方法

本発明の方法において使用するための C r G F R を発現する、T 細胞および N K 細胞を含む細胞は、患者自身の末梢血（自己）から e x v i v o で作製され得るか、またはドナー末梢血もしくは無関係のドナー（同種異系）由来の末梢血からの造血幹細胞移植の設定において e x v i v o で作製され得る。あるいは、T 細胞または N K 細胞は、誘導性前駆細胞または胚性前駆細胞の T 細胞または N K 細胞への e x v i v o 分化に由来していてもよい。これらの事例において、C r G F R ならびに任意に C A R および／または T C R を発現する T 細胞は、C r G F R ならびに任意に C A R および／または T C R をコードする D N A または R N A を、ウイルスベクターによる形質導入、D N A または R N A によるトランスフェクションを含む多数の手段の 1 つによって導入することによって生成される。

本発明の C r G F R ならびに任意に T C R および／または C A R を発現する T 細胞または N K 細胞は、血液のがんまたは固形腫瘍の治療において使用することができる。

【0034】

疾患を治療する方法は、本発明のベクターまたは T 細胞もしくは N K 細胞を含む細胞の治療的使用に関する。この点において、ベクター、または T 細胞もしくは N K 細胞は、疾患に関連する少なくとも 1 つの症状を緩和、軽減もしくは改善するため、および／または

疾患の進行を減速、軽減もしくは阻止するために、既存の疾患または状態を有する対象に投与することができる。本発明の方法は、T細胞媒介性のがん細胞の死滅を引き起こすか、または促進することができる。

本発明によるベクター、またはT細胞もしくはNK細胞は、1つまたは複数の追加の治療薬と共に患者に投与することができる。1つまたは複数の追加の治療薬を患者に同時投与することができる。「同時投与する」とは、1つまたは複数の追加の治療薬と、本発明のベクター、またはT細胞もしくはNK細胞を、時間的に十分に接近して投与することによりベクター、またはT細胞もしくはNK細胞が1つまたは複数の追加の治療薬の効果を増強できるようにすること、またはその逆を意味する。この点に関して、ベクターまたは細胞を最初に投与することができ、次に1つまたは複数の追加の治療薬を投与することができるか、またはその逆で投与することができる。あるいは、ベクターまたは細胞と1つまたは複数の追加の治療薬とを同時に投与することができる。本発明のベクターまたは細胞と同時投与することができる適切な治療薬としては、CrGFRを活性化する任意の増殖因子受容体アゴニスト、例えば、エルトロンプバグ（rINN、コード名称SB-497115-GR）、ルストロンボパグおよびアバトロンボパグまたはロミプロスチムが挙げられる。

【0035】

エルトロンプバグは、その傷害性プロファイルが知られているので、本発明の方法において特に有用であり得る。前臨床試験においては、この化合物がトロンプボエチン受容体と選択的に相互作用し、JAK-STATシグナル伝達経路の活性化ならびに巨核球の増殖および分化の増加に結びつくことが明らかになった。動物実験では、投与によって血小板の数が増加し得ることが確認された。73名の健康なボランティアにおいて、高用量のエルトロンプバグは、循環血小板の数を顕著に増加させ、許容性に問題はなかった。例えば、Jenkins JM, Williams D, Deng Y, Uhl J, Kitchen V, Collins D, Erickson-Miller CL (Jun 2007). "Phase 1 clinical study of eltrombopag, an oral, nonpeptide thrombopoietin receptor agonist". Blood 109 (11): 4739-41を参照されたい。したがって、本発明の方法において、適切な用量のエルトロンプバグは、既に開示されている臨床研究および本明細書に記載のin-vitroアッセイに基づいて決定することができる。

【0036】

有用な可能性のある別の薬剤はIL-2であるが、現在、これが既存の細胞療法で使用されており、投与された細胞の活性を増大させていることによる。しかし、前述のように、IL-2治療は傷害性および許容性の問題と関係している。したがって、本発明の目的は、CrGFRに結合するアゴニストを使用して細胞増殖を刺激することで、投与する必要があるIL-2の量を（例えば、低い毒性レベルまで）低減すること、またはIL-2投与の必要性を排除することである。

細胞が患者に投与される本発明の方法の目的において、細胞は、患者に対して同種異型または自己の細胞であり得る。

【0037】

本発明の様々なさらなる態様および実施形態は、本開示を考慮すれば当業者には明らかであろう。

本明細書に言及されているすべての文書は、参照によってそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

本明細書で使用される場合の「および／または」とは、他方の有無にかかわらず、2つの明示された特徴または構成要素のそれぞれの特定の開示として理解されるものである。例えば、「Aおよび／またはB」は、あたかもそれぞれが個別に本明細書に記載されているかのように、(i) A、(ii) B、ならびに(iii) AおよびBのそれぞれの特定の開示として理解されるものとする。

文脈が別段の指示をしない限り、上記の特徴の説明および定義は、本発明の任意の特定の態様または実施形態に限定的でなく、記載されているすべての態様および実施形態に等しく適用される。

10

20

30

40

50

本発明のある特定の態様および実施形態を、ここで、例として、また上記の図面および下記の表を参照することにより説明する。

【実施例】

【0038】

(実施例1)

CrGFRを発現するT細胞の産生および評価

材料および方法

プラスミド

pSF. Lenti. EF1αプラスミドは、Oxford Geneticsにより、pSF. Lenti. CMV. PGK. puro内の既存のCMVプロモーターを伸長因子(EF)1αプロモーターで置き換えてpSF. Lenti. EF1α. PGK. puroを生成することによって生成された。次いで、PGK. Puroセグメントを除去し、ピューロマイシン耐性遺伝子の下流にあるNheI部位でXbaI/NheI消化することによりTpOR構築物をクローニングした。パッケージングプラスミドpVSVg、pCgpVおよびpRSV. Rev(ViraSafeレンチウイルスパッケージングシステム-Pantropic)は、Cell Biolabs(VPK-206)から入手した。

10

【0039】

試薬

以下の試薬は、以下の製造業者から供給された：－

20

Abcam – DRAQ7 (AB109202-1ml)

Miltenyi Biotec – 抗メラノーマ(MCSP)－PE(130-099-413)；抗CD34-APC(130-090-954)、抗CD45-FITC(130-080-202)、抗CD71-APC(130-099-239)、抗CD110-PE

BD Biosciences – 抗CD34-PE (555822)；

E-Biosciences – Fixable Viability色素eFlor 450(65-0863-18)、Fixable Viability色素eFlor 780(65-0865-18)。

【0040】

30

細胞株

Jurkat E6.1細胞株およびBa/F3細胞株は、10%のFCS(F9665-500ml:Sigma)、1%の1M HEPES(H0887-100ml)および1%ペニシリン/ストレプトマイシン(P0781-100ml)を補充したRPMI(T細胞培地:TCM)で培養した。細胞株293Tは、10%FCSおよび1%ペニシリン/ストレプトマイシン(P0781-100ml)(D10)を補充したDMEMで通常通り培養した。

【0041】

T細胞の単離

T細胞は、バフィーコートからのPBMCから単離した。簡単に説明すると、バフィーコートをNHSBTから入手し、PBMCはフィコールによる密度遠心分離によって単離した。アンタッチドT細胞は常磁性ビーズを使用して単離した(以下を参照)。T細胞は、10%FCS(F9665-500ml:Sigma)、1%の1M HEPES(H0887-100ml)および1%ペニシリン/ストレプトマイシン(P0781-100ml)を補充したRPMI(T細胞培地:TCM)で培養した。

40

【0042】

レンチウイルスの産生

6×10⁶個の293T細胞を、トランスフェクションの前日に、ポリ-d-リジンをコーティングしたT75フラスコ(Greiner)に入れた10mlのD10に播種した。トランスフェクション当日、0.025MのHEPES緩衝無血清DMEM(pH7

50

． 1) および 0.025 M の HEPES 緩衝 D10 (pH 7.9) を調製した。1.5 ml のトランスフェクションミックスは、フラスコ 1 個につき 10 μ g のレンチウイルストランスファープラスミド (pSF. Lent i) および各 10 μ g の pVSVg、pCg pV および pRSV. Rev ならびに CaCl₂ を使用し、pH 7.1 培地で最終濃度を 0.05 M に調整した。トランスフェクション複合体を 30 分間形成させた後、6 ml の pH 7.9 培地を入れたフラスコに滴下添加した。24 時間後に、培地を 10 ml の新しい D10 と交換した。24 時間後および 48 時間後に培地を回収して合わせ、Lent i-X 濃縮機 (Clontech-Takara: 631232) を使用して濃縮した。濃縮したレンチウイルス粒子を元の上清容量の 10 倍に再懸濁し、使用するまで -80 °C で保存した。

10

【0043】

T 細胞形質導入

1 $\times$ 10⁵ 個の T 細胞を平底 96 ウェルプレートのウェルごとに加えた。プレートを遠心分離にかけ、上清を吸引した後、4 μ g/ml のポリブレン (臭化ヘキサジメトリン-Sigma: H9268-5G) および示した濃度の IL-2 を補充したレンチウイルス上清 50 ~ 100 μ l を添加した。場合によっては、次の活性化試薬を加えた：製造業者の推奨する濃度の Dynabeads (商標) ヒト T-Activator CD3/CD28 (Thermo Fisher: 11131 D)、Dynabeads (商標) ヒト T-Activator CD3/CD28/CD137 (Thermo Fisher 11162 D)。

20

【0044】

常磁性ビーズによる選別

常磁性ビーズによる選別は、製造業者の指示に従って、抗 PE マイクロビーズ (Miltenyi Biotec or StemCell Technologies) または T 細胞単離ビーズ (17951: StemCell Technologies) のいずれかを使用して実施した。

【0045】

急速増殖プロトコル (REP)

T 細胞は、照射したバフィーコートフィーダーを使用して増殖させた。簡単に説明すると、10 個の照射済みバフィーコートを NHSBT から入手し、PBMC をフィコールによる密度遠心分離によって単離し、合わせてから凍結保存した。解凍したバフィーコートフィーダーを、1:20 ~ 1:100 の比率の T 細胞と混合し、細胞の最終濃度は T25 培養液フラスコに入れた TCM + 200 IU/ml の IL-2 および 1 μ g/ml のフィトヘマグルチニン中 1 $\times$ 10⁶ 個/ml とした。直立フラスコを、最初の 5 日間 45 ° の角度で配置した後、フラスコを直立に戻し、培地を半量培地交換により交換した。培地交換は、14 日間 2 ~ 3 日ごとに新しい IL-2 を最終濃度 200 IU/ml になるよう実施し、その後、細胞を凍結保存するか、または直接アッセイにかけた。

30

【0046】

構築物の設計

既に、本発明者らは、Tp o R が一次ヒト T 細胞で活性を有し得ることを検証している。しかし、受容体を改変する試みは、必ずしも簡単ではなかった。例えば、Tp o R E c ドメインと G C S F I C ドメインとの間の融合では、細胞表面での発現が失敗した。さらに、プロラクチン受容体融合体は、表面安定性が完全であるように思われなかった。さらに、本発明者らは、IL-2 シグナル伝達には関与するが Tp o R シグナル伝達には関与しないシグナル伝達分子の J A K 3 を活性化することで、操作した細胞において IL-2 様のシグナルを駆動する可能性が高いシグナル伝達成分を含めることにより、T 細胞における Tp o R ベース受容体のシグナル伝達能力を改善できると考えた。

40

したがって、本発明者らは、追加のドメインが Tp o R I C ドメインの C 末端に直接融合された融合受容体を生成することを目的とした。本発明者らは、まず、Tp o R と I L 2 r β シグナル伝達ドメインの間の融合体を生成した。Tp o R 細胞内ドメインを完全

50

に除去することによりT p o RとI L 2 r βの間の融合体を生成する以前の試みでは、良好な発現が十分ではない受容体を得られた。したがって、本発明者らは、ハイブリッドT p o R－I L 2 r βシグナル伝達ドメインを作製することによって、I l 2 r βシグナル伝達領域をT p o Rシグナル伝達ドメインのN末端またはC末端に融合させる代替手法をとった。次いで、C D 3 ζ由来のT I A F 1、T L R 1、C D 1 5 0、I L 2 r γ、C D 4 0、L M P 1およびI T A M 1の細胞質ドメインがC末端でT p o Rシグナル伝達ドメインに融合された受容体を生成した。これらの受容体の選択理由は以下の通りであった：T I A F 1 — T I A F 1がJ A K 3に結合するという証拠がある（Ji et al. 2000）；T L R 1／C D 4 0 — T L RとC D 4 0の間の相乗効果によってT細胞の増殖が誘導されることが明らかになっており（Ahonen et al. 2004）、さらに、C D 4 0はJ A K 3に結合し、B細胞におけるシグナル伝達にJ A K 3を必要とすることが明らかになっている（Hanissian & Geha 1997）；C D 1 5 0 — C D 1 5 0がT細胞をI L－2枯渇から保護し得るという証拠がある（Aversa et al. 1997）；I T A M 1 — 本発明者らは、マイトジェン応答を誘導するために、C D 3 ζ由来の単一I T A MをT p o RのC末端に融合させることに決定した；L M P 1 — E B Vウイルス由来のL M P 1は、J A K 3と相互作用することが明らかにされており（Gires et al. 1999）、さらに、本発明者らはまた、T p o R細胞質ドメイン融合体が非常に大きく、十分良好に発現がされない可能性があると考えたので、L M P 1をT p o R膜貫通ドメインに直接融合した。本発明者らはまた、エルトロネボバグを投与した際に共刺激増殖シグナルが提供され得ると思われたので、C D 2 8およびC D 1 3 7の細胞質ドメインに融合されたT p o R細胞外ドメインおよび膜貫通ドメインからなるC r G F Rを生成した。これらの構築物の配列は以下に示している。

【0047】

構築物は、X b a I部位およびN h e I部位を介してp S F. L e n t i（O x f o r d G e n e t i c s）にクローニングした。すべてのフラグメントおよび構築物は、G e n e w i zによって、コドン最適化および遺伝子合成され、クローニングされた。

【0048】

レンチウイルスの産生 — レンチウイルスの産生は、3種プラスミドパッケージングシステム（C e l l B i o l a b s、サンディエゴ、米国）を使用し、10 μgの各プラスミドと10 μgの導入遺伝子含有p S F. レンチウイルスプラスミドを、50 mMのC a C l 2を含有する無血清R P M I中で一緒に混合することにより実施した。この混合物を、75 cm²フラスコ中の293 T細胞の50%コンフルエントな単層に滴下添加した。ウイルス上清をトランスフェクションの48時間後および72時間後に収集し、プールし、L e n t i P a cレンチウイルス上清濃度（G e n e C o p o e i a、ロックビル、メリーランド、米国）溶液を製造業者の指示に従って使用して濃縮した。レンチウイルス上清を10倍に濃縮し、4 μg/mlのポリブレン（S i g m a－A l d r i c h、ドーセット、英国）の存在下で、一次ヒトT細胞に直接感染させるために使用した。

【0049】

末梢血単核細胞を正常な健康なドナーから単離し、製造業者の指示に従ってT細胞活性化増殖ビーズ（I n v i t r o g e n）で24時間活性化した後、レンチウイルス上清を添加した。

増殖後、細胞を過剰洗浄して外因性I L 2を除去し、96ウェルのU底プレートに播種した。細胞には、I L 2（P r o l e u k i n）またはエルトロネボバグ（S t r a t e c h S c i e n t i f i c、サフォーク、英国）を補充した。それ以降の様々な時点で、細胞を1：400希釈のe F l o r－450固定可能な生存率用色素（e B i o s c i e n c e、英国）で染色し、M A C S Q u a n t血球計数計を使用してウェルから直接カウントするか、またはD R A Q 7生存率用色素およびフィコエリトリン結合型抗C D 1 1 0抗体（M i l t e n y i B i o t e c、英国）で染色し、M A C S Q u a n t血球計数計を使用して分析した。次いで、細胞生存率および／または形質導入レベルを、M A C S Q u a n t i f yソフトウェア（M i l t e n y i B i o t e c、英国）を使用して

分析した。

【0050】

結果

本発明者らは、最初に、C r G F Rの機能性および発現のプロファイルを、それぞれ、ヒトT細胞リンパ腫およびI L - 3依存性マウスB細胞株であるJ u r k a t E 6 . 1細胞およびB a / F 3細胞のw t受容体との比較で試験した。B a / F 3はヒト細胞でもT細胞でもないが、それらは受容体が適切に折り畳まれて発現できるかどうか、またそれらがシグナルを伝達できるかどうかを少なくとも示す。レンチウイルス粒子を作製し、J u r k a t E 6 . 1細胞およびB a / F 3細胞の直接感染に使用した。J u r k a t細胞は、P E結合型抗C D 1 1 0抗体を使用することにより、発現について48時間後に分析した。B a / F 3細胞をエルトロポバグまたはマウスI L - 3とインキュベートし、C r G F Rの発現をフローサイトメトリーによるC D 1 1 0発現の分析によって数日間にわたって評価した。図4に示すように、すべての受容体がJ u r k a t E 6 . 1細胞において良好に検出できたが、3つの受容体（T p o R . S L A M、T p o R . T I A F 1、およびT p o R . I L 2 r β - c y t . T p o R - c y t）は、表面で特に十分に発現しないことを示唆する低発現プロファイルを有していた。B a / F 3細胞では、すべての受容体が発現し、エルトロポバグを添加することにより集団内で濃縮することができたが、I L - 3は予測したように濃縮できなかった（図5）。しかし、2つのI L 2 r β融合受容体については、集団内で濃縮することはできるが、B a / F 3での生存プロファイルは不十分であり生細胞が不足していることから、アッセイをこれらの受容体では切り上げる必要があった。

10

20

【0051】

次に、本発明者らはこれらの受容体を取り、一次ヒトT細胞でそれらを発現させ、これらの細胞をI L - 2またはエルトロポバグに曝露した。ドナー3名の一次ヒトT細胞集団をバフィーコートから単離し、C D 3 / C D 2 8ダイナビーズの存在下、示したレンチウイルス構築物を形質導入した。増殖後、細胞をI L - 2またはエルトロポバグとインキュベートした。結果を図6、7、8（ドナー3名）に示す。本発明者らは、一部のドナーの一部の受容体でT細胞の増殖／生存の増加を確認した。本発明者らは、21日後に、C D 1 1 0 +細胞の別個の集団で良好な割合の生存細胞を示す細胞割合を調査することにより、このデータセット全体を分析した。これによって、さらに分析するための本発明者らの受容体パネルが次のようにさらに絞り込まれた：T p o R . C D 4 0、T p o R . I L 2 r γ、T p o R . I T A M 1、T p o R . L M P 1 - c y t、およびT p o R . T p o R - c y t - L M P 1 - c y t。またT p o R . A 6 0も良好であるように思われたが、これは後の世代の融合受容体に後で組み込むことが可能であるという考えから最初はこれを探求しなかった。

30

【0052】

次に、本発明者らは実験を繰り返し、選択の最初のラウンドで特定された受容体を使用し、常磁性ビーズ選択によるC D 1 1 0 +選択を使用してC r G F R +細胞を選別した（図10、11および12）。本発明者らは、3名のドナーすべてにおいて多数のC r G F Rが移植されたT細胞の生存の増強を観察した。特に、本発明者らは、第2のドナー（図12）におけるW T - T p o R、T p o R . C D 4 0、T p o R . I L 2 r γおよびT p o R . L M P 1 - c y t oの細胞の増殖が、培地単独の場合を上回ることを確認した。

40

【0053】

次に、本発明者らは、これらの受容体が養子細胞療法のモデルにおいて生存／増殖を促進する能力を、腫瘍浸潤リンパ球を操作することにより評価した。患者T I L 0 4 2（ブドウ膜黒メラノーマ）由来のT I Lをバリエーションまたはw t C r G F Rで操作し、患者に適合した腫瘍細胞（C T U M 4 2 . 1）と混合した。4日目および7日目に、全細胞ならびにC D 1 1 0 +細胞をカウントした。本発明者らは、おそらくA I C Dまたは内因性抑制因子によって引き起こされる細胞数の初期の減少を確認した。しかし、4日目～7日目の間に、本発明者らは、エルトロポバグまたはエルトロポバグ＋低用量I L - 2で

50

試験したすべての受容体でCD110+細胞の数の増加を観察した。特に、TpoR、CD40の効果については、IL2単独で非特異的濃縮はなく、試験した他の受容体においてこの効果が示されたため有望であった。

【0054】

本発明者らは、卵巢TILにおけるCrGFRの効果さをさらに評価した。3つの卵巢TIL集団を、WT、またはTpoR、CD40、TpoR、IL2ryもしくはTpoR、LMP1-Cytバリエーション受容体のいずれかを発現するように操作し、エルトロポバグの存在下または非存在下で、患者に適合した腫瘍細胞と混合した。全細胞およびCD110+細胞を4日後および7日後にカウントした。本発明者らは、CrGFR+細胞の特異的増殖を、TpoR、LMP1、cytを除いたすべての受容体で、ドナー2およびドナー3において4日目～7日目に、腫瘍の存在下で観察した。ドナー1においては、CrGFR+細胞の非特異的増殖はなかったが、エルトロポバグの添加によって細胞がAICD（活性化誘導細胞死）から保護されるように見えることを本発明者らは確認した。重要なことには、本発明者らは、3名のすべてのドナーにおいて、TpoR、IL2ryバリエーションおよびTpoR、CD40バリエーションの活性がWT受容体の活性よりも優れていることを確認した（図13）。

【0055】

最後に、本発明者らは、CrGFR発現T細胞を培地、サイトカイン、または薬物で処理した際にホスホSTAT分析を行うことによって、新規CrGFRのシグナル伝達の可能性を検証した。この目的のため、4名のドナー由来のT細胞にwt TpoR、TpoR、CD40またはTpoR、IL2ryのいずれかを形質導入し、常磁性ビーズ選択プロトコルを使用してCrGFR発現を濃縮し、次いでポリクローナル刺激を使用して増殖させた。細胞を培地単独（RPMI）、IL-2、Tpoまたはエルトロポバグ（Elt）で4時間処理した後、メタノール固定、透過処理、およびpSTAT特異的抗体を使用する分析を実施した。STAT分子は、細胞のサイトカイン活性化の際の細胞シグナル伝達の重要なドライバーであり、pSTAT5は特にIL-2活性にとって重要である。実際、本発明者らは、IL-2のインキュベーションでpSTAT5の誘導を確認したが、培地のインキュベーションでは誘導は確認されなかった。対照としてのIL-12は、この実験で観察されたように、STAT5の活性化を誘導することはできない。Tpoおよびエルトロポバグは、特にSTAT5活性の誘導を示した。このことは、TpoR、IL2ry CrGFRで極めて明確であり、エルトロポバグで刺激された場合に的確なSTAT5活性化経路の明らかな活性化があることを証明している。

【0056】

結論

臨床的に利用可能な薬物に応答する増殖因子受容体は、遺伝子導入技術によってT細胞に導入され、T細胞において細胞増殖／生存のシグナルを送達する機能的な能力を維持する。重要なことには、本発明者らは、例として、TpoRベースCrGFRを移植した一次ヒトT細胞が臨床的に利用可能な薬物エルトロポバグに応答し、最適なT細胞増殖に通常必要とされるIL-2の非存在下で、増殖および生存することを明らかにしている。

【0057】

ここでは、本発明者らは、多くの共刺激分子もしくは共シグナル伝達分子または他の増殖因子受容体からのシグナル伝達ドメインに融合されたTpoRに基づいて、多くの機能的バリエーションを試験した。本発明者らは、これらの受容体が、TpoRアゴニストであるエルトロポバグの存在下で、一次ヒトT細胞および腫瘍浸潤リンパ球においてIL-2非依存性の増殖および生存を付与することを示した。特に、本発明者らは、TpoR、CD40融合体CrGFRが、非常に特異的なエルトロポバグ媒介性のTILの生存／増殖を付与し、一次ヒトT細胞において最適な活性を示すことを見出した。

本発明の態様および実施形態はまた、以下の項目にも記載されている。

【0058】

1. (i) 細胞外（EC）ドメイン；

(i i) トロンボポエチン膜貫通 (TM) ドメイン；および

(i i i) キメラ増殖因子受容体細胞内 (IC) ドメイン

を含むキメラ組換え増殖因子受容体 (CrGFR) を含む T 細胞または NK 細胞。

2. リガンドの CrGFR への結合が T 細胞または NK 細胞の増殖を誘導する、項目 1 に記載の T 細胞または NK 細胞。

3. リガンドがヒトトロンボポエチン、トロンボポエチン受容体アゴニスト、または腫瘍関連抗原である、項目 2 に記載の T 細胞または NK 細胞。

4. トロンボポエチン受容体アゴニストが TM ドメインに結合する、項目 3 に記載の T 細胞または NK 細胞。

5. トロンボポエチン受容体アゴニストがエルトロンボパグおよびロミプロスチムから選択される、項目 3 または項目 4 に記載の T 細胞または NK 細胞。

10

【0059】

6. EC ドメインがヒト c-mpl EC ドメインを含む、項目 1～5 に記載の T 細胞または NK 細胞。

7. EC ドメインが、i) 切断型 EC ドメイン、i i) 切断型 c-mpl EC ドメイン、i i i) 腫瘍関連抗原に結合するドメイン、i v) 腫瘍関連抗原に結合する抗体もしくは抗体フラグメント；および v) 選択マーカーのうちの 1 つまたは複数を含む、項目 1～6 に記載の T 細胞または NK 細胞。

8. IC ドメインが任意の共刺激分子、共抑制分子または共シグナル伝達分子に由来する共刺激ドメイン、共抑制ドメインまたは共シグナル伝達ドメイン、例えば、限定する

20

ものではないが、CD 2、CD 27、CD 28、CD 29、CD 134、CD 137、CD 150、PD 1 などを含む、項目 1～7 に記載の T 細胞または NK 細胞。

9. 第 1 の IC ドメインがヒト成長ホルモン受容体、ヒトプロラクチン受容体、ヒト

トロンボポエチン受容体 (c-mpl)、G-CSF 受容体または GM-CSF 受容体から選択される、項目 1～8 に記載の T 細胞または NK 細胞。

10. 追加の IC ドメインがヒト成長ホルモン受容体、ヒトプロラクチン受容体、ヒトトロンボポエチン受容体 (c-mpl)、G-CSF 受容体もしくは GM-CSF 受容体、または共刺激受容体または共シグナル受容体から選択される、項目 1～9 に記載の T 細胞または NK 細胞。さらに、IC ドメインはまた、(限定するものではないが) 以下のいずれかに由来する第 2 のドメインを含む：サイトカイン受容体シグナル伝達ドメイン (例えば IL 2 受容体)、共シグナル伝達ドメイン (例えば CD 40)、ウイルス発がん性タンパク質 (例えば LMP 1)、共刺激ドメイン (例えば CD 28、CD 137、CD 150 など)、または他のマイトジェンドメイン (例えば T o l l 様受容体、免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ、CD 3 シグナル伝達ドメインなど)。この第 2 のドメインは、Tp o R IC ドメインの C 末端または N 末端に直接融合されているか、またはリンカードメインを介して融合されている。

30

【0060】

10. ヒトトロンボポエチン受容体 TM ドメイン、またはヒトトロンボポエチンもしくはトロンボポエチン受容体アゴニストに結合する少なくとも 80% の配列同一性を有するそれらのバリエーションを有する、項目 1～9 に記載の T 細胞または NK 細胞。

40

11. CrGFR が、配列番号 3 として示した配列を含むか、またはタンパク質レベルで少なくとも 80% の配列同一性を有するか、もしくは C 末端で最大 79 アミノ酸まで切断された Tp o R IC ドメインを含むか、もしくは合成アゴニスト薬、例えばエルトロンボパグに応答する能力を維持する代替 EC ドメインを含む、それらのバリエーションを含む、請求項 1～10 に記載の T 細胞または NK 細胞。

12. CrGFR が、配列番号 4 として示した配列を含むか、またはタンパク質レベルで少なくとも 80% の配列同一性を有するか、もしくは最大 79 アミノ酸まで切断された Tp o R IC ドメインを含むか、もしくは合成アゴニスト薬、例えばエルトロンボパグに応答する能力を維持する代替 EC ドメインを含む、それらのバリエーションを含む、請求項 1～11 に記載の T 細胞または NK 細胞。

50

13. CrGFRが、配列番号5として示した配列を含むか、またはタンパク質レベルで少なくとも80%の配列同一性を有するか、もしくはC末端で最大79アミノ酸まで切断されたTpOR ICドメインを含むか、もしくは合成アゴニスト薬、例えばエルトロンボパグに応答する能力を維持する代替ECドメインを含む、それらのバリエーションを含む、請求項1～12に記載のT細胞またはNK細胞。

【0061】

14. CrGFRが、配列番号6として示した配列を含むか、またはタンパク質レベルで少なくとも80%の配列同一性を有するか、もしくはC末端で最大79アミノ酸まで切断されたTpOR ICドメインを含むか、もしくは合成アゴニスト薬、例えばエルトロンボパグに応答する能力を維持する代替ECドメインを含む、それらのバリエーションを含む、請求項1～13に記載のT細胞またはNK細胞。

10

15. CrGFRが、配列番号7として示した配列を含むか、またはタンパク質レベルで少なくとも80%の配列同一性を有するか、もしくはC末端で最大79アミノ酸まで切断されたTpOR ICドメインを含むか、もしくは合成アゴニスト薬、例えばエルトロンボパグに応答する能力を維持する代替ECドメインを含む、それらのバリエーションを含む、請求項1～14に記載のT細胞またはNK細胞。

16. CrGFRが、配列番号8として示した配列を含むか、またはタンパク質レベルで少なくとも80%の配列同一性を有するか、もしくはC末端で最大79アミノ酸まで切断されたTpOR ICドメインを含むか、もしくは合成アゴニスト薬、例えばエルトロンボパグに応答する能力を維持する代替ECドメインを含む、それらのバリエーションを含む、請求項1～15に記載のT細胞またはNK細胞。

20

17. CrGFRが、配列番号9として示した配列を含むか、またはタンパク質レベルで少なくとも80%の配列同一性を有するか、もしくはC末端で最大79アミノ酸まで切断されたTpOR ICドメインを含むか、もしくは合成アゴニスト薬、例えばエルトロンボパグに応答する能力を維持する代替ECドメインを含む、それらのバリエーションを含む、請求項1～16に記載のT細胞またはNK細胞。

【0062】

18. CrGFRが、配列番号10として示した配列を含むか、またはタンパク質レベルで少なくとも80%の配列同一性を有するか、もしくはC末端で最大79アミノ酸まで切断されたTpOR ICドメインを含むか、もしくは合成アゴニスト薬、例えばエルトロンボパグに応答する能力を維持する代替ECドメインを含む、それらのバリエーションを含む、請求項1～17に記載のT細胞またはNK細胞。

30

19. CrGFRが、配列番号11として示した配列を含むか、またはタンパク質レベルで少なくとも80%の配列同一性を有するか、もしくはC末端で最大79アミノ酸まで切断されたTpOR ICドメインを含むか、もしくは合成アゴニスト薬、例えばエルトロンボパグに応答する能力を維持する代替ECドメインを含む、それらのバリエーションを含む、請求項1～18に記載のT細胞またはNK細胞。

20. CrGFRが、配列番号12として示した配列を含むか、またはタンパク質レベルで少なくとも80%の配列同一性を有するか、もしくはC末端で最大79アミノ酸まで切断されたTpOR ICドメインを含むか、もしくは合成アゴニスト薬、例えばエルトロンボパグに応答する能力を維持する代替ECドメインを含む、それらのバリエーションを含む、請求項1～19に記載のT細胞またはNK細胞。

40

21. CrGFRが、配列番号13として示した配列を含むか、またはタンパク質レベルで少なくとも80%の配列同一性を有するか、もしくは合成アゴニスト薬、例えばエルトロンボパグに応答する能力を維持する代替ECドメインを含む、それらのバリエーションを含む、請求項1～20に記載のT細胞またはNK細胞。

【0063】

22. CrGFRが、配列番号14として示した配列を含むか、またはタンパク質レベルで少なくとも80%の配列同一性を有するか、もしくは合成アゴニスト薬、例えばエルトロンボパグに応答する能力を維持する代替ECドメインを含む、それらのバリエーションを含む、請求項1～21に記載のT細胞またはNK細胞。

50

を含む、請求項 1～21 に記載の T 細胞または NK 細胞。

23. CrGFR が、配列番号 3～14 のいずれかに示した配列か、または少なくとも 80% の配列同一性を有するが、i) ヒトトロポポエチンもしくはヒトトロポポエチン受容体アゴニストに結合する能力を保持し；ii) 細胞の増殖または生存を誘導する、それらのバリエーションを含む、請求項 1～22 に記載の T 細胞または NK 細胞。

24. エルトロンボパグに結合する 1～23 のいずれかの項目に記載の T 細胞または NK 細胞。

25. T 細胞が腫瘍浸潤リンパ球 (TIL)、制御性 T 細胞 (Treg) または一次 T 細胞から選択される、1～24 のいずれかの項目に記載の T 細胞または NK 細胞。

【0064】

26. 組換え T 細胞受容体 (TCR) および／またはキメラ抗原受容体 (CAR) をさらに含む、1～25 のいずれかの項目に記載の T 細胞または NK 細胞。

27. 1～26 のいずれかの請求項に定義されている CrGFR をコードする核酸配列。

28. 配列番号 17～28 として示した配列、または翻訳されたタンパク質配列を変化させないそれらのバリエーションを含む、項目 27 に記載の核酸配列。

29. 配列番号 3～12 に示した配列を含むが、配列番号 2 に示した IC ドメインを含む、項目 27 に記載の核酸配列。

30. 項目 27～29 に記載の核酸配列、または翻訳されたタンパク質配列を変化させないその任意のバリエーションを含むベクター。

【0065】

31. 項目 27～29 に記載の核酸配列、または項目 19～28 に記載のベクターを T 細胞または NK 細胞に導入するステップを含む、項目 1～26 のいずれかに記載の T 細胞または NK 細胞を作製する方法。

32. 項目 30 に記載のベクター、または項目 1～26 に記載の T 細胞もしくは NK 細胞を、薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤と共に含む医薬組成物。

33. 項目 1～26 の細胞、または項目 32 の医薬組成物を対象に投与することを含む *in-vivo* で細胞増殖させる方法。

34. トロポポエチン、またはトロポポエチン受容体アゴニスト、例えばエルトロンボパグもしくはロミプロスチムを対象に投与することを含む、項目 33 に記載の *in-vivo* で細胞増殖させる方法。

35. 養子細胞療法において使用するための、項目 1～26 のいずれかに記載の T 細胞もしくは NK 細胞、または項目 30 に記載のベクター。

【0066】

36. がんを治療する方法において使用するための、項目 1～26 のいずれかに記載の T 細胞もしくは NK 細胞、または項目 30 に記載のベクター。

37. 項目 1～26 のいずれかに記載の T 細胞または NK 細胞を対象に投与するステップを含む、がんを治療する方法。

38. がんを治療するための医薬の製造における、項目 30 に記載のベクター、または項目 1～26 のいずれかに記載の T 細胞もしくは NK 細胞の使用。

39. 養子細胞療法において使用するためのエルトロンボパグ。

40. 項目 1～26 のいずれかに記載の T 細胞または NK 細胞の *in-vitro* 増殖または *in-vivo* 増殖において使用するためのエルトロンボパグ。

41. がんの治療においてトロポポエチンまたはトロポポエチン受容体アゴニストと組み合わせて使用するための、項目 1～26 に記載の T 細胞または NK 細胞を含む組成物。

【0067】

10

20

30

40

Ahonen CL, Doxsee CL, McGurran SM, Riter TR, Wade WF, Barth RJ, Vasilakos JP, Noelle RJ, Kedl RM. J Exp Med. 2004 Mar 15;199(6):775-84. Combined TLR and CD40 triggering induces potent CD8+ T cell expansion with variable dependence on type I IFN.

Aversa G, Chang CC, Carballido JM, Cocks BG, de Vries JE. J Immunol. 1997 May 1;158(9):4036-44. Engagement of the signaling lymphocytic activation molecule (SLAM) on activated T cells results in IL-2-independent, cyclosporin A-sensitive T cell proliferation and IFN-gamma production.

Columbyova L, Loda M, Scadden DT. Cancer Res. 1995 Aug 15;55(16):3509-12. Thrombopoietin receptor expression in human cancer cell lines and primary tissues.

10

Grupp SA, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter DL, Rheingold SR, Teachey DT, Chew A, Hauck B, Wright JF, Milone MC, Levine BL, June CH. N Engl J Med. 2013 Apr 18;368(16):1509-18. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia.

Erickson-Miller CL, Delorme E, Tian SS, Hopson CB, Landis AJ, Valoret EI, Sellers TS, Rosen J, Miller SG, Luengo JI, Duffy KJ, Jenkins JM. Stem Cells. 2009 Feb;27(2):424-30. Preclinical activity of eltrombopag (SB-497115), an oral, nonpeptide thrombopoietin receptor agonist.

20

Fox NE, Lim J, Chen R, Geddis AE. *Exp Hematol*. 2010 May;38(5):384-91. F104S c-Mpl responds to a transmembrane domain-binding thrombopoietin receptor agonist: proof of concept that selected receptor mutations in congenital amegakaryocytic thrombocytopenia can be stimulated with alternative thrombopoietic agents.

Gires O, Kohlhuber F, Kilger E, Baumann M, Kieser A, Kaiser C, Zeidler R, Scheffer B, Ueffing M, Hammerschmidt W. *EMBO J*. 1999 Jun 1;18(11):3064-73. Latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus interacts with JAK3 and activates STAT proteins.

Hanissian SH, Geha RS. *Immunity*. 1997 Apr;6(4):379-87. Jak3 is associated with CD40 and is critical for CD40 induction of gene expression in B cells.

10

Kawahara M, Kimura H, Ueda H, Nagamune T. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004 Feb 27;315(1):132-8. Selection of genetically modified cell population using hapten-specific antibody/receptor chimera.

Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH, Somerville RP, Carpenter RO, Stetler-Stevenson M, Yang JC, Phan GQ, Hughes MS, Sherry RM, Raffeld M, Feldman S, Lu L, Li YF, Ngo LT, Goy A, Feldman T, Spaner DE, Wang ML, Chen CC, Kranick SM, Nath A, Nathan DA, Morton KE, Toomey MA, Rosenberg SA. *J Clin Oncol*. 2015 33(6):540-9. Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor.

20

Jin L, Zeng H, Chien S, Otto KG, Richard RE, Emery DW, Blau CA. *Nat Genet*. 2000 Sep;26(1):64-6. In vivo selection using a cell-growth switch.

Ji H, Zhai Q, Zhu J, Yan M, Sun L, Liu X, Zheng Z. A novel protein MAJN binds to Jak3 and inhibits apoptosis induced by IL-2 deprivation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Apr 2;270(1):267-71.

Kawahara M, Chen J, Sogo T, Teng J, Otsu M, Onodera M, Nakauchi H, Ueda H, Nagamune T. *Cytokine*. 2011 Sep;55(3):402-8. Growth promotion of genetically modified hematopoietic progenitors using an antibody/c-Mpl chimera.

30

Morgan RA, Dudley ME, Wunderlich JR, Hughes MS, Yang JC, Sherry RM, Royal RE, Topalian SL, Kammula US, Restifo NP, Zheng Z, Nahvi A, de Vries CR, Rogers-Freezer LJ, Mavroukakis SA, Rosenberg SA. *Science*. 2006 Oct 6;314(5796):126-9. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes.

Nagashima T, Ueda Y, Hanazono Y, Kume A, Shibata H, Ageyama N, Terao K, Ozawa K, Hasegawa M. *J Gene Med*. 2004 Jan;6(1):22-31. In vivo expansion of gene-modified hematopoietic cells by a novel selective amplifier gene utilizing the erythropoietin receptor as a molecular switch.

40

Nishimura CD, Brenner DA, Mukherjee M, Hirsch RA, Ott L, Wu MF, Liu H, Dakhova O, Orange JS, Brenner MK, Lin CY, Arber C. Blood. 2017 Dec 21;130(25):2739-2749. c-MPL provides tumor-targeted T-cell receptor-transgenic T cells with costimulation and cytokine signals.

Rapoport AP, Stadtmauer EA, Binder-Scholl GK, Goloubeva O, Vogl DT, Lacey SF, Badros AZ, Garfall A, Weiss B, Finklestein J, Kulikovskaya I, Sinha SK, Kronsberg S, Gupta M, Bond S, Melchiori L, Brewer JE, Bennett AD, Gerry AB, Pumphrey NJ, Williams D, Tayton-Martin HK, Ribeiro L, Holdich T, Yanovich S, Hardy N, Yared J, Kerr N, Philip S, Westphal S, Siegel DL, Levine BL, Jakobsen BK, Kalos M, June CH. Nat Med. 2015 Aug;21(8):914-21. NY-ESO-1-specific TCR-engineered T cells mediate sustained antigen-specific antitumor effects in myeloma.

10

Richard RE, Wood B, Zeng H, Jin L, Papayannopoulou T, Blau CA. Blood. 2000 Jan 15;95(2):430-6. Expansion of genetically modified primary human hemopoietic cells using chemical inducers of dimerization.

Rosenberg SA, Yang JC, Sherry RM, Kammula US, Hughes MS, Phan GQ, Citrin DE, Restifo NP, Robbins PF, Wunderlich JR, Morton KE, Laurencot CM, Steinberg SM, White DE, Dudley ME. Clin Cancer Res. 2011 Jul 1;17(13):4550-7. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy.

20

Saka K, Kawahara M, Teng J, Otsu M, Nakauchi H, Nagamune T. J Biotechnol. 2013 Dec;168(4):659-65. Top-down motif engineering of a cytokine receptor for directing ex vivo expansion of hematopoietic stem cells.

Saka K, Kawahara M, Ueda H, Nagamune T. Biotechnol Bioeng. 2012 Jun;109(6):1528-37. Activation of target signal transducers utilizing chimeric receptors with signaling-molecule binding motifs.

Yamane N, Tanaka Y, Ohya N, Yamane S, Maekawa K, Ishizaki J, Suzuki R, Itoh T, Takemoto H. Eur J Pharmacol. 2008 May 31;586(1-3):44-51. Characterization of novel non-peptide thrombopoietin mimetics, their species specificity and the activation mechanism of the thrombopoietin receptor.

30

配列

以下のアミノ酸配列において、太字は T p o R 由来の配列を示す。

【表 1】

以下のヌクレオチド配列において、略号塩基は標準のIUPACコードを使用して表示している：

IUPACヌクレオチド コード	塩基	IUPACヌクレオチド ドコード	塩基
A	アデニン	K	GまたはT
C	シトシン	M	AまたはC
G	グアニン	B	CまたはGまたはT
T(またはU)	チミン(またはウラシル)	D	AまたはGまたはT
R	AまたはG	H	AまたはCまたはT
Y	CまたはT	V	AまたはCまたはG
S	GまたはC	N	任意の塩基
W	AまたはT	. または -	ギャップ

10

※※は終止コドンを示す

膜貫通ドメインには下線を付けた（配列番号 1 ～ 15 中）

20

【0068】

配列番号 1：野生型 T p o R

635 アミノ酸を N 末端から C 末端の方向に示した。そのうち、1～491（太字）：T p o R 細胞外ドメイン、492～513（太字、下線付き）：T p o R T M ドメイン、514～635（太字、斜体）：T p o R 細胞質ドメイン。

【0069】

【化 1】

MPSWALFMVTSCLLLPQNLAQVSSQDVSLASDSEPLKCFSRTEFDTLCFWDEEEAAPSG
 TYQLLYAYPREKPRACPLSSQSMPHFGTRYVCQFPDQEEVRLFFPLHLWVKNVFLNQTRTQ
 RVLFDVSVGLPAPPSIIKAMGGSQPGELQISWEEPAPEISDFLRYELRYGPRDPKNSTGPTVIQ
 LIATETCCPALQRPHSASALDQSPCAQPTMPWQDGPQTSPSREASALTAEGGSCLISGLQ
 PGNSYWLQLRSEPDGISLGGSWGSWSLPTVDLPGDAVALGLQCFTLDLKNVTCQWQQQD
 HASSQGFFYHSRARCPRDRYPIWENCEEEEEKTNPGLQTPQFSRCHFKSRNDSIIHILVEVTT
 APGTVHSYLGSPFWIHQAVRLPTPNLHWREISSGHLELEWQHPSWAAQETCYQLRYTGEG
 HQDWKVLEPPLGARGGTLELRPSRYRLQLRARLNGPTYQGPWSSWSDPTRVETATETAW
ISLVTALHLVLGLSAVLGLLLRWQFPAHYRRLRHALWPSLPDLHRVLGQYLRDTAALSPPK
ATVSDTCEEVEPSLLEILPKSSERTPLPLCSSQAQMDYRRLQPSCLGT MPLSVCPMAESGS
CCTTHIANHSYLPLSYWQQP※※

30

配列番号 15：野生型 T p o R

40

【化 2】

atgccnwsntgggcnyntnttyatggtnacnwsntgyytnytnyngcncncaraayytngcncargtnwsnwsncargaygtnw
 snytnyngcncwsngaywsngarccnytnaartgytywsnmgnacnttygargaytnacntgytytgggagargargcn
 gcncnwsnggnacntaycarytnytnaygcntayccnmgnagaraarccnmngcngcnytnwsnwsncarwsnatgc
 ncaytygggnacnmgtaygntgyccarttyccngaycargargargtnmgnynttytyccnytncayyntgggtnaaraaygt
 nttytnaaycaracnmgnacncarmgngtnytnyngaywsngtnggnytnccngcncncnwsnathathargcnat
 gggnggnwsncarccnggngarytnarathwsntgggargarccngcncngarathwsngaytyytnmgntaygarytnm
 gntayggncnmgngayccnaaraaywsnacnggncnccnagtnathcarytnathgcnacngaracntgytyccngcnytn
 carmgncncaywsngcncwsngcnytnaycarwsnccntgygcncarccnacntgccntggcargayggncnaarcara
 cnwsnccnwsnmngargcnwsngcnytnacngcngarggnggnwsntgyytnathwsnggnytnarccnggnaayws
 ntaytggynarytnmgngarccngayggnathwsnytnnggngnwsntggggnwsntggwsnytnccngtnacngtn
 gaytnccnggngaygngtngcnytnnggnytnartgytyacnytnayytnaaraaygtacntgyccartggcarcarcargay
 caygcnwsnwsncarggnttytyaycaywsnmngcncmngntgytyccnmngaymgntayccnathtgggaraaytyg
 argargargaraaracnaayccnggnytnaracnccncarttywsnmgtgyccaytyaarwsnmgnaaygaywsnathath
 cayathyngtngargtnacnacngcncnggnacngtnaywsntayytnngnwsnccnttyggathcaycargcngtnmg
 ytnccnacnccnaayytnaytgmgngarathwsnwsnggncayytnarytnartggcarcayccnwsnwsntgggng
 cncargaracntgytaycarytnmgntayacnggngarggncaycargaytggaargtnytnarccnccnytnnggngcncmng
 gnggnacnytnarytnmgncnmgntaymgnytnarytnmgngcncmngnytnaayggncnacntaycargg
 nccntggwsnwsntggwsngayccnacnmngntngaracngcncngaracngcngtggathwsnytnngtnacngcnytnca
 yytnytnnggnytnwsngcngtnytnnggnytnytnytnmgntggcarttyccngcncaytaymgngnytnmgncaygc
 nytnnggcnwsnytnccngayytnaymgngtnytnnggncartayytnmgngayacngcngcnytnwsnccnccnaargcn
 acngtnwsngayacntgygargargtnarccnwsnytnytnarathytnccnaarwsnwsngarmgnacnccnytnccny
 ntgywsnwsncargcncaratggaytaymgngnytnarccnwsntgyytnnggnacnatgccnytnwsngntngyccnccn
 atggcngarwsnggnwsntgytyacnacncayathgcnayaywsntayytnccnytnwsntaytggcarcarcncntrtrr

10

20

配列番号 2 : T p o R . Δ 6 0

580 アミノ酸をN末端からC末端の方向に示した。そのうち、1～491（太字）：
 T p o R 細胞外ドメイン、492～513（太字、下線付き）：T p o R TMドメイン
 、514～580（太字、斜体）：C末端が切断されたT p o R 細胞質ドメイン。

【化 3】

MPSWALFMVTSCLLLPQNLAQVSSQDVSLASDSEPLKCFSRTEFEDLTCFWDEEEAAPSG
 TYQLLYAYPREKPRACPLSSQSMPHFTRYVCQFPDQEEVRLFFPLHLWVKNVFLNQTRTQ
 RVLFVDSVGLPAPPSIIKAMGGSQPGEIQISWEEPAPFISDFLRYELRYGPRDPKNSTGPTVIQ
 LIATETCCPALQRPHSASALDQSPCAQPTMPWQDGPQKQTSRSPREASALTAEGGSCLISGLQ
 PGNSYWLQLRSEPDGSLGGSWGSWSLPVTVDLPGDAVALGLQCFTLDLKNVTCQWQQQD
 HASSQGFFYHSRARCPRDRYPIWENCEEEEEKTNPGLQTPQFSRCHFKSRNDSIIHILVEVTT
 APGTVHSYLGSPFWIHQAVRLPTPNLHWREISSGHLELEWQHPSSWAAQETCYQLRYTGEG
 HQDWKVLEPPLGARGGTLELRPSRYRLQLRLNGPTYQGPWSSWSDPTRVETATETAW
ISLVTALHLVLGLSAVLGLLLRWQFPAHYRRLRHALWPSLPDLHRVLGQYLRDTAALSPPK
ATVSDTCEEVEPSLLEILPKSSERTPL**

30

配列番号 16 : T p o R . Δ 6 0

40

【化 4】

atgccnwsntgggcnynttlyatggtnacnwsntgyytnytnyngcncncaraaaytngcncargtnwsnwsncargaygtnw
 snytnyngcncnwsngaywsngarccnytnaartgytlywsnmgnacnttygargaytnacntgytlygggagargargargcn
 gcncnwsnggnacntaycarytnytnaygcntayccnmgnngaraarccnmgnngcntgyccnytnwsnwsncarwsnatgc
 cncaytlygggnacnmgnntaygtntgycarttyccngaycargargargtnmgnynttlytccnytncaaytntgggtnaaraaygt
 nttytnaaycaracnmgnacncarmngntnynttlytngaywsngtnggnytnccngcncncnwsnathathaargcnat
 gggnggnwsncarccngngarytnarathwsntgggargarccngcncngarathwsngaytlytnmgntaygarytnm
 gntayggncnmgnngayccnaaraaywsnacnggncnacngtnathcarytnathgcnacngaracntgytgyccngcnytn
 carmgncncaywsngcncnwsngcnytnngaycarwsnccntgygcncarccnacnatgccntggcargayggncncaarcara
 cnwsnccnwsnmgnngargcnwsngcnytnacngcngarggnggnwsntgyytnathwsnggnytnarccnggnaayws
 ntaytgytncarytnmgngarccngayggnathwsnytnnggngnwsntggggnwsntggwsnytnccngtnacngtn
 gayttnccngngaygcngtngcnytnnggnytnartgytlyacnytnngaytnaaraaygtacntgytggcargcargay
 caygcnwsnwsncarggnttytlaycaywsnmgnngcnmgnntgytgyccnmgnngaymgntayccnathgggaraaytgyg
 argargargaraaracnaayccnggnytnaracnccncarttywsnmgnntgytcaaytyaarwsnmgnaaygaywsnathath
 cayathyngtngargtnacnacngcncngnacngtnacaywsntaytngggnwsnccnttytgathcaycargcngtnmg
 ytnccnacnccnaaytncaytgmgngarathwsnwsnggncaytngarytnartggcargayccnwsnwsntgggng
 cncargaracntgytlaycarytnmgntayacngngarggncaycargaytgaargtnyngarccnccnytnnggngcnmgn
 gnggnacnytnarytnmgncnmgnwsnmgnntaymgnytnarytnmgngcnytnaayggncnacntaycargg
 nccntggwsnwsntggwsngayccnacnmgnntngaracngcncngaracngcntggathwsnytnngtnacngcnytnca
 yytngtnytnnggnytnwsngcngtnytnnggnytnytnytnmgntggcarttyccngcncaytlaymgnmgnnytnmgncaygc
 nytnngggnwsnytnccngayttncaymngntnytnnggncartaytnmgngayacngcngcnytnwsnccnccnaargcn
 acngtnwsngayacntgygargargtnarccnwsnytnytnngarathytnccnaarwsnwsngarmgnacnccnytntrtrr

10

20

配列番号 3 : T p o R . T p o R - c y t . I L 2 r β - c y t

6 2 6 アミノ酸をN末端からC末端の方向に示した。そのうち、1～491（太字）：
 T p o R 細胞外ドメイン、492～513（太字、下線付き）：T p o R T Mドメイン
 、514～538（太字、斜体）：C末端が切断されたT p o R 細胞質ドメイン、539
 ～626（書式なし）：I L 2 r β 細胞質ドメイン。

【0070】

【化 5】

MPSWALFMVTSCLLLAPQNLAQVSSQDVSLASDSEPLKCFSRTEFEDLTCFWDEEEAAPSG
 TYQLLYAYPREKPRACPLSSQSMPHFTRYVCQFPDQEEVRLFFPLHLWVKNVFLNQTRTQ
 RVLFVDSVGLPAPPSIIKAMGGSQPGELQISWEEPAPEISDFLRYELRYGPRDPKNSTGPTVIQ
 LIATETCCPALQRPHSASALDQSPCAQPTMPWQDGPQKQTSRPSREASALTAEGGSCLISGLQ
 PGNSYWLQLRSEPDGSLGGSWGSWSLPVTVDLPGDAVALGLQCFTLDLKNVTCQWQQQD
 HASQQGFFYHSRARCPRDRYPIWENCEEEEEKTNPGLQTPQFSRCHFKSRNDSIIHILVEVTT
 APGTVHSYLGSPFWIHQAVRLPTPNLHWREISSGHLELEWQHPSSWAAQETCYQLRYTGEG
 HQDWKVLEPPLGARGGTLELRPSRYRLQLRARLNGPTYQGPWSSWSDPTRVETATETAW
ISLVTALHLVLGLSAVLGLLLLRWQFPAHYRRLRHALWPSLPDLHRVPRDWDQPLGPPTPG
 VPDLVDFQPPPELVREAGEEVPDAGPREGVSFPWSRPPGQGEFRALNARLPLNTDAYLSLQ
 ELQQQDPTHLV**

30

40

配列番号 17 : T p o R . T p o R - c y t . I L 2 r β - c y t

【化 6】

atgccnwsntgggcnyntnttyatggtnacnwsntgyytnytnyngcncncaraaytngcncargtnwsnwsncargaygtnw
 snytnyngcncnwsngaywsngarccnytnaartgytywsnmgnacnttygargaytnacntgytytgaggaygargargcn
 gcncnwsnggnacntaycarytnytnaygcntayccnmgnagaraarccnmngcngtyccnytnwsnwsncarwsnatgc
 ncaytygggnacnmgtaygntgyccarttyccngaycargargargtnmgnynnttytyccnytncaayntgggtnaaraaygt
 nttytnaaycaracnmgnacncarmgngntnynttytgngaywsngtnggnytnccngcncncnwsnathathargcnat
 gggnggnwsncarccngngarytnarathwsntgggargarccngcncngarathwsngaytyytnmgntaygarytnm
 gntayggncnmngngayccnaaraaywsnacnggncnacngtnathcarytnathgcnacngaracntgytyccngcnytn
 carmgncncaywsngcncnwsngcnytnngaycarwsnccntgygcncarccnacnatgccntggcargayggncnaarcara
 cnwsnccnwsnmngngargcnwsngcnytnacngcngargggngnwsntgyytnathwsnggnytnarccnggnaayws
 ntaytggytnarytnmgngarccngayggngathwsnytnnggngnwsntggggnwsntggwsnytnccngtnacngtn
 gayytnccngngaygcngtngcnytnnggnytnartgytyacnytnngayytnaaraaygtacntgyccartggcargargay
 caygcncnwsnwsncarggnttytytaycaywsnmngncnmgtgytyccnmngaymgntayccnathtgggaaaytygy
 argargargaraaracnaayccngnytnaracncncarttywsnmgtgyccaytyaarwsnmngnaaygaywsnathath
 cayathyngtngargtnacnacngcncngnacngtncaaywsntayytnngnwsnccnttytggaathcaycargcngtnmgn
 ytnccnacncnaayytncaytggmgngarathwsnwsnggncayytnarytnngartggcargayccnwsnwsntgggng
 cncargaracntgytaycarytnmgntayacngngarggncaycargaytggaargtnyngarccncnytnngngcngmng
 gngnacnytnarytnmgncnmngnwsnmgtaymgnytnarytnmgngcngnytnaayggncnacntaycargg
 ncntggwsnwsntggwsngayccnacnmngtngaracngcncngaracngcngtggaathwsnytnngtnacngcnytnca
 yytngtnytnngnytnwsngcngtnytnngnytnytnytnmgntggcarttyccngcncaytaymgngnytnmgncaygc
 nytnngccnwsnytnccngayytncaymngntnccnmngaytgggayccncarccnytnngcncncnacncngngtn
 ccngayyngtngaytyccarccncncngarytnytnmgngargcngngargargtnccngaygcnggncnmngna
 rgngtnwsnttyccntggwsnmngcncncnggncarggngartymngncnytnaaygcnmngnytnccnytnaayacngay
 gcntayytnwsnytnargarytnarggncargayccnacncayytntrtrr

10

20

配列番号 4 : T p o R . I L 2 r B - c y t . T p o R - c y t

808 アミノ酸をN末端からC末端の方向に示した。そのうち、1～491（太字）：
 T p o R 細胞外ドメイン、492～513（太字、下線付き）：T p o R T Mドメイン
 、514～709（書式なし）：I L 2 r B 細胞質ドメイン、710～808（太字、斜
 体）：N末端が切断された T p o R 細胞質ドメイン。

【0071】

【化 7】

30

MPSWALFMVTSCLLLAPQNLAQVSSQDVSLASDSEPLKCFSRTFEDLTCFWDEEEAAPSG
 TYQLLYAYPREKPRACPLSSQSMPHFTRYVCQFPDQEEVRLFFPLHLWKNVFLNQTRTQ
 RVLFDVSVGLPAPPSIIKAMGGSQPGELQISWEEPAPEISDFLRYELRYGPRDPKNSTGPTVIQ
 LIATETCCPALQRPHSASALDQSPCAQPTMPWQDGPQKQTSRSPREASALTAEGGSCLISGLQ
 PGNSYWLQLRSEPDGISLGGSWGSWSLPVTVDLPGDAVALGLQCFTLDLKNVTCQWQQQD
 HASSQGFFYHSRARCPRDRYPIWENCEEEKTNPGLQTPQFSRCHFKSRNDSIIHILVEVTT
 APGTVHSYLGSPFWIHQAVRLPTPNLHWREISSGHLELEWQHPSWAAQETCYQLRYTGEG
 HQDWKVLPLEPLGARGGTLELRPSRYRLQLRARLNGPTYQGPWSSWSDPTRVETATETAW
ISLVTAHLVLGLSAVLGLLLLNCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFSLSSEHGGDVQKWLSS
 PFPSSSFSPGGLAPEISPLEVLERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLSCTFNQGYFFHLP
 DALEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAPTGSSPQLQPLSGEDDAYCTFPSRDDLLLFSPS
 LLGGSPSPSTAPGGSGAGEERMPPSLQERVLGQYLRDTAALSPPKATVSDTCEEVEPSLLEI
LPKSSERTPLPLCSSQAQMDYRRLQPSCLGTMPLSVCPMAESGSCCTTHIANHSYPLPSY
WQQP**

40

配列番号 18 : T p o R . I L 2 r B - c y t . T p o R - c y t

【化 8】

atgccnwsntgggcnynnttyatggtnacnwsntgyytnytnyngcncncaraaaytngcncargtnwsnwsncargaygtnw
 snytnyngcncnwsngaywsngarccnytnaartgyttywsmngnacnttygargaytnacntgyttygggagargargcnc
 gncncnwsnggnacntaycarytnytnaygcntayccnmngnaraarccnmngcngtgyccnytnwsnwsncarwsnatgc
 cncayttyggcnacmngntaygntgycarttyccngaycargargargtnmngnytnnttytccnytncaaytntgggtnaaraaygt
 nttytnaaycaracnmgnacncarmngntnytnnttygtngaywsngtnggnytnccngcncncncnwsnathathargcnat
 gggnggnwsncarccngngarytnarathwsntgggargarccngcncncngarathwsngayttytnmngntaygarytnm
 gntayggngccnmngngayccnaaraaywsnacnggncnacngtnathcarytnathgcnacngaracntgytgyccngcnytn
 carmgncncaywsngcncnwsngcnytnngaycarwsnccntgygcncarccnacntatgccntggcargayggncncnaarcara
 cnwsnccnwsnmngngargcnwsngcnytnacngcngarggnggnwsntgyytnathwsnggnytnarccnggnaayws
 ntaytgytncarytnmgnwsngarccngayggnathwsnytnnggngnwsntggggnwsntggwsnytnccngtnacngtn
 gayytnccnggngaygcngtngcnytnnggnytnartgyttyacnytnngayytnaaraaygtacntgycartggcarcarcargay
 caygcncnwsnwsncarggnttytlaycaywsnmngcncmngntgytgyccnmngaymngntayccnathtgggaraaytgyg
 argargargaraaracnaayccnggnytnaracncncarttywsnmngntgycayttaaarsnmgnaaygaywsnathath
 cayathyngtngargtnacnacngcncnggnacngtncaysntayytnngnwsnccnttytgathcaycargcngtnmgn
 ytnccnacncnaayytncaytggmngngarathwsnwsnggncayytnngarytnngartggcarcayccnwsnwsntgggng
 cncargaracntgytacytnmngntayacnggngarggncaycargaytggaargtnyngarccncnytnnggngcncmng
 gnggnacnytnngarytnmngcncmngnwsnmngntaymngnytnarytnmngcncmngnytnaayggncnacntaycargg
 nccntggwsnwsntggwsngayccnacnmngntngaracngcncngaracngcngtggathwsnytnngtnacngcnytnca
 yytnngtnynggnytnwsngcngtnynggnytnytnytnytnaaytgymgnaayaacnggncntggynaaargtnytnaart
 gyaayacncngayccnwsnaarttytysncarytnwsnwsngarcayggnggngaygtncaraartggynwsnwsnccn
 ttyccnwsnwsnwsnttywsnccnggngnytnngcncngarathwsnccnytnngargtnyngarmngngayaargtnacnca
 rytnytnytnarcarcargayaargtnccngarccngcncnwsnytnwsnwsnaaycaywsnytnacnwsntgyttyacnaaycargg
 ntayttyttycayytnccngaygcnytnngarathgargcngtgycargntayttyacntaygayccntaywsngargargayccng
 aygarggngtngcnggngcncncacnggngnwsnwsnccncarccnytnarccnytnwsnggngargaygaygcntaytgyac
 nttyccnwsnmngngaygayytnytnytnnttywsnccnwsnytnytnnggnggncnwsnccncncnwsnacngcncnggngg
 nwsnggngcnggngargarmgnatgccncncnwsnytnarcarcngngtnytnnggncartayytnmngngayacngcngcny
 nwsnccncncnaargcncngtnwsngayacntgygargargtnarccnwsnytnytnngarathytnccnaarwsnwsngar
 mgnacncnytnccnytnngywsnwsncargcncaratggaytaymngmngnytnarccnwsntgyytnngnacntatgccny
 tnwsngntgyccncncatggcngarwsnggngnwsntgytgyacnacncayathgcnaycaywsntayytnccnytnwsntay
 tggcarcarccntrrr

10

20

配列番号 5 : T p o R . S L A M

7 1 0 アミノ酸を N 末端から C 末端の方向に示した。そのうち、1 ~ 4 9 1 (太字) :
 T p o R 細胞外ドメイン、4 9 2 ~ 5 1 3 (太字、下線付き) : T p o R T M ドメイン
 、5 1 4 ~ 6 3 5 (太字、斜体) : T p o R 細胞質ドメイン、6 3 6 ~ 7 1 0 (書式なし
) : S L A M 細胞質ドメイン。

30

【 0 0 7 2 】

【化 9】

MPSWALFMVTSCLLLAPQNLAQVSSQDVSLASDSEPLKCFSRTFEDLTCFWDEEEAAPSG
 TYQLLYAYPREKPRACPLSSQSMPHFTRYVCQFPDQEEVRLFFPLHLWVKNVFLNQTRTQ
 RVLFDVSVGLPAPPSIIKAMGGSQPGELQISWEEPAPEISDFLRYELRYGPRDPKINSTGPTVIQ
 LIATETCCPALQRPHSASALDQSPCAQPTMPWQDGPQKQTSRSPREASALTAEGGSCLISGLQ
 PGNSYWLQLRSEPDGSLGGSWSWSLPTVDLPDGAVALGLQCFTLDLKNVTCQWQQQD
 HASSQGFFYHSRARCPRDRYPIWENCEEEEEKTNPGLQTPQFSRCHFKSRNDSIIHILVEVTT
 APGTVHSYLGSPFWIHQAVRLPTPNLHWREISSGHLELEWQHPSSWAAQETCYQLRYTGEG
 HQDWKVLEPPLGARGGTLELRPSRYRLQLRARLNGPTYQGPWSSWSDPTRVETATETAW
ISLVTALHLVLGLSAVLGLLLLRWQFPAHYRRLRHAWPSLPDLHRVLGQYLRDTAALSPPK
 ATVSDTCEEVEPSLLEILPKSSERTPLPLCSSQAQMDYRRLQPSCLGTMPLSVCPPMAESGS
 CCTTHIANHSYLPLSYWQQPRRRGKTNHYQTTVEKKSLTIYAQVQKPGPLQKKLDSFPAQDP
 CTTIYVAATEPVPESVQETNSITVYASVTLPES**

40

配列番号 1 9 : T p o R . S L A M

【化 1 0】

atgccnwsntgggcnynttyatggtnacnwsntgyytnytnyngcncncaraaytngcncargtnwsnwsncargaygtnw
 snytnyngcncnwsngaywsngarcnnytnaartgyttywsmgnacnttygargaytnacntgyttygggagargargargcn
 gncncnwsnggnacntaycarytnytnaygcntayccnmngngaraarccnmngcngcntgyccnytnwsnwsncarwsnatgc
 ncaytytggnacnmngntaygtntgycarttyccngaycargargargtnmngnynttytyccnytncayyntgggtnaaraaygt
 nttytnaaycaracnmgnacncarmngntnynttygtngaywsngtnggnytnccngcncncncnwsnathathargcnat
 gggnggnwsncarccngnggarytnarathwsntgggargargcngcncngarathwsngaytytnmngntaygarytnm
 gntayggncnmngayccnaaraaywsnacnggncnacngtnathcarytnathgcnacngaracntgytgyccngcnytn
 carmgncncaywsngcncnwsngcnytnngaycarwsncntgygcncarccnacnatgcntggcargayggncnaarcara
 cnwsncncnwsnmngngargcnwsngcnytnacngcngargggnggnwsntgyytnathwsnggnytnarccnggnaayws
 ntaytgytncarytnmngnwsngarccngayggngathwsnytnnggnggnwsntggggnwsntggwsnytnccngtnacngtn
 gayytnccnggngaygcngngcnytnnggnytnartgyttyacnytnngaytnaaraaygtnacntgycartggcarcarcargay
 caygcncnwsnwsncarggnttytytaycaywsnmngncnmngntgytgyccnmngaymngntayccnathgggaraaytgyg
 argargargaraaracnaayccnggnytnaracncncarttywsnmngntgycaytyaarwsnmngnaaygaywsnathath
 cayathytnngtnargtnacnacngcncnggncacngtncaaywsntaytnnggnwsncnttytgathcaycargcngtnmgn
 ytnccnacncnaaytncaytggmngngarathwsnwsnggncayytnngarytnngartggcarcayccnwsnwsntgggng
 cncargaracntgytaycarytnmngntayacnggngarggncaycargaytggaargtnytnngarccncnytnnggngcnmng
 gnggnacnytnngarytnmngncnmngnwsnmngntaymngnytnarytnmngncnmngnytnaayggncnacntaycargg
 nccntggwsnwsntggwsngayccnacnmngntngaracngcncngaracngcntggathwsnytnngtnacngcnytnca
 yytnngtnynggnytnwsngcngntnytnngnytnytnytnmngntggcarttyccngcncaytaymngmngnytnmngncaygc
 nytnnggcnwsnytnccngayytncaymngntnytnnggncartayytnmngngayacngcngcnytnwsnccncnaargcn
 acngtnwsngayacntgygargargtngarccnwsnytnytnngarathytnccnaarwsnwsngarmgnacncnytnccnytn
 ntgywsnwsncargcncaratggaytaymngmngnytnarccnwsntgyytnnggnacnatgccnytnwsngntngyccncnc
 atggcngarwsnggnwsntgytgyacnacncayathgcnaycaywsntayytnccnytnwsntaytggarcarccnmngm
 gnmnggnaaracnaaycaytaycaracnacngtngaraaraarwsnytnacnathaygcncargtncaraarccnggncn
 ytncaraaraarytnngaywsnttyccngcncargayccntgyacnacnathaygtngcngcncacngarccngtnccngarwsng
 tncargaracnaaywsnathacngtnaygcncnwsngtnacnytnccngarwsntrrrr

10

20

配列番号 6 : T p o R . I L 2 r y

7 2 1 アミノ酸を N 末端から C 末端の方向に示した。そのうち、1 ~ 4 9 1 (太字) :
 T p o R 細胞外ドメイン、4 9 2 ~ 5 1 3 (太字、下線付き) : T p o R T M ドメイン
 、5 1 4 ~ 6 3 5 (太字、斜体) : T p o R 細胞質ドメイン、6 3 6 ~ 7 2 1 (書式なし
) : I L 2 r y 細胞質ドメイン。

30

【化 1 1】

MPSWALFMVTSCLLLPQNLAQVSSQDVSLASDSEPLKCFSRTEFEDLTCFWDEEEAAPSG
 TYQLLYAYPREKPRACPLSSQSMPHFTRYVCQFPDQEEVRLFFPLHLWVKNVFLNQTRTQ
 RVLFDVSVGLPAPPSIIKAMGGSQPGEQLISWEEPAPFISDFLRYELRYGPRDPKNSTGPTVIQ
 LIATETCCPALQRPHSASALDQSPCAQPTMPWQDGPQKTSRSPREASALTAEGGSCLISGLQ
 PGNSYWLQLRSEPDGISLGGSWGSWSLPTVDLPGDAVALGLQCFTLDLKNVTCQWQQQD
 HASSQGFFYHSRARCPRDRYPIWENCEEEETNPGLQTPQFSRCHFKSRNDSIIHILVEVTT
 APGTVHSYLGSPFWIHQAVRLPTPNLHWREISSGHLELEWQHPSWAAQETCYQLRYTGEG
 HQDWKVLPLEPLGARGGTLELRPRSRYRLQLRLRLNGPTYQGPWSSWSDPTRVETATETAW
ISLVTALHLVLGLSAVLGLLLLRLWQFPAHYRRLRHALWPSLPDLHRVLGQYLRDTAALSPPK
ATVSDTCEEVEPSLLEILPKSSERTPLPLCSSQAQMDYRRLQPSCLGTMPLSVCPMAESGS
CCTTHIANHSYLPYSYWQQPERTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNFSAWSGVSKGLAESLQPDYS
 ERLCLVSEIPPKGGALGEGPGASPCNQHSPPYWAPPCYTLKPET**

40

配列番号 2 0 : T p o R . I L 2 r y

【0 0 7 3】

【化 1 2】

atgccnwsntgggcnynttlyatggtnacnwsntgyytnytnyngcncncaraaaytngcncargtnwsnwsncargaygtnw
 snytnyngcncwsngaywsngarccnytnaartgytlywsnmgnacnttygargaytnacntgytlytgggagargargcnc
 gncncnwsnggnacntaycarytnytnaygcntayccnmgnagaraarccnmngcngntgyccnytnwsnwsncarwsnatgc
 ncaytlyggcnacnmgtaygtntgycarttyccngaycargargargtnmgnynttlytyccnytncaaytntgggtnaaraaygt
 nttytnaaycaracnmgnacncarmgntnynttygtngaywsngtnggnytnccngcncncncnwsnathathaargcnat
 gggnggnwsncarccngngarytnarathwsntgggargargcncncngarathwsngaytlytnmgntaygarytnm
 gntayggncncnmngayccnaaraaywsnacnggncnacngtnathcarytnathgcnacngaracntgytgyccngcnytn
 carmgncncaywsngcncwsngcnytnaycarwsnccntgygcncarccnacnatgccntggcargayggncncnaarcara
 cnwsnccnwsnmngargcnwsngcnytnacngcngarggnggnwsntgyytnathwsnggnytnarccnggnaayws
 ntaytgytncarytnmgntwsngarccngayggntathwsnytnnggngnwsntggggnwsntggwsnytnccngtnacngtn
 gayttnccngngaygcngtngcnytnngnytnartgytlyacnytnayytnaaraaygtacntgycartggcargcargay
 caygcncnwsnwsncarggnttytlyaycaywsnmngcncmgntgytgyccnmngaymgntayccnathtgggaaaytgyg
 argargargaraaracnaayccnggnytnaracncncartlywsnmgtgycaytlyaarwsnmgnaaygaywsnathath
 cayathytngtngargtnacnacngcncnggnacngtnaywsntayytnngnwsnccntlytggathcaycargcngtnmgnt
 ytnccnacncnaayytncaytggmngarathwsnwsnggncayytnarytnartggcargayccnwsnwsntgggngc
 cncargaracntgytarytnmgntayacnggngarggncaycargaytggargtnytnarccncnytnngngcncmgnt
 gnggnacnytnarytnmgntnmgntaymgntnarytnmgntnmgntnmgntnmgntnmgntnmgntnmgntnmgntnmgnt
 nccntggwsnwsntggwsngayccnacnmngntngaracngcncngaracngcngtggathwsnytnngtnacngcnytnca
 yytngtnytnngnytnwsngcngtnytnngnytnytnytnmgntggcarttyccngcncaytaymgntnmgntnmgntnmgnt
 nytnnggcnwsnytnccngayytncaymngntnytnnggncartayytnmgntayacngcngcnytnwsnccncnaargcn
 acngtnwsngayacntgygargargtnarccnwsnytnytnarathytncnaarwsnwsngarmgnacncnytnccnytn
 ntgywsnwsncargcncaratggaytaymgntnmgntnmgntnmgntnmgntnmgntnmgntnmgntnmgntnmgntnmgnt
 atggcngarwsnggnwsntgytgyacnacncayathgcnaycaywsntayytnccnytnwsntaytggcargcargcngarmg
 nacnatgccnmgnathccnacnytnaaraayytnargayytnngtnacngartaycayggnaaytlywsngcngtggwsnggng
 tnwsnaarggnytnngarwsnytnarccngaytaywsngarmgnytnngytnngtnwsngarathccncnaarggnggng
 gcnytnngngarggncnggngcncnwsnccntgyaaycaywsnccntaytgggncncncntgytaryacnytnaarcnga
 racntrrr

10

20

配列番号 7 : T p o R - T L R 1

8 1 7 アミノ酸を N 末端から C 末端の方向に示した。そのうち、1 ~ 4 9 1 (太字) :
 T p o R 細胞外ドメイン、4 9 2 ~ 5 1 3 (太字、下線付き) : T p o R T M ドメイン
 、5 1 4 ~ 6 3 5 (太字、斜体) : T p o R 細胞質ドメイン、6 3 6 ~ 8 1 7 (書式なし
) : T L R 1 細胞質ドメイン。

30

【化 1 3】

MPSWALFMVTSCLLLAPQNLAQVSSQDVSLASDSEPLKCFSRTFEDLTCFWDEEEAAPSG
 TYQLLYAYPREKPRACPLSSQSMPHFGTRYVCQFPDQEEVRLFFPLHLWKNVFLNQTRTQ
 RVLFDVSVGLPAPPSIIKAMGGSQPGELQISWEEPAPEISDFLRYELRYGPRDPKNSTGPTVIQ
 LIATETCCPALQRPHSASALDQSPCAQPTMPWQDGPQKTSRSPREASALTAEGGSCLISGLQ
 PGNSYWLQLRSEPDGSLGGSWGSWSLPTVDLPGDAVALGLQCFTLDLKNVTCQWQQQD
 HASSQGFFYHSRARCPRDRYPIWENCEEEEEKTNPGLQTPQFSRCHFKSRNDSIIHILVEVTT
 APGTVHSYLGSPFWIHQAVRLPTPNLHWREISSGHLELEWQHPSWAAQETCYQLRYTGEG
 HQDWKVLEPPLGARGGTLELRPRSRYRLQLRARLNGPTYQGPWSSWSDPTRVETATETAW
 ISLVTALHLVLGLSAVLGLLLLRLWQFPAHYRRLRHALWPSLPLDLHRVLGQYLRDAAALSPPK
 ATVSDTCEEVEPSLLEILPKSSERTPLPLCSSQAQMDYRRLQPSCLGTMPLSVCPMAESGS
 CCTTHIANHSYLPLSYWQQPDLPWYLRMVCQWTQTRRRARNIPLEELQRNLQFHAFISYSGH
 DSFWWKNELLPNLEKEGMQICLHERNFVPGKSIVENIITCIEKSYKSIFVLSPNFVQSEWCHYEL
 YFAHNLHFEGSNLILILLEPIQYSIPSSYHKLKSLMARRTYLEWPKEKSKRGLFWANLRAAI
 NIKLTEQAKK**

40

配列番号 2 1 : T p o R - T L R 1

【化 1 4】

atgccnwsntgggcnyntfytatggtnacnwsntgyytnytnyngcncncaraaaytngcncargtnwsnwsncargaygtnw
 snytnyngcncwsngaywsngarccnytnaartgyttywsmgnacnttygargaytnacntgytftgggagargargargcn
 gncncnwsnggnacntaycarytnytnaygcntayccnmgnaraarccnmngcngntgyccnytnwsnwsncarwsnatgc
 cncaytlyggcnacnmgtaygntgycarttyccngaycargargargtnmgnynttytccnytncaaytntgggtnaaraaygt
 nttytnaaycaracnmgnacncarmgngtnytnyngaywsngtnggnytnccngcncncncnwsnathathargcnat
 gggnggnwsncarccngngarytnarathwsntgggargarccngcncncngarathwsngayttytnmgntaygarytnm
 gntayggncnmngayccnaaraaywsnacnggncnacngtnathcarytnathgcnacngaracntgytgyccngcnytn
 carmgncncaywsngcncwsngcnytnaycarwsnccntgygcncarccnacntatgcctggcargayggncncnaarcara
 cnwsnccnwsnmngngargcnwsngcnytnacngcngargggngnwsntgyytnathwsnggnytnarccnggnaayws
 ntaytggtyncarytnmgwnsngarccngaygnathwsnytnnggngnwsntgggngnwsntggwsnytnccngtnacngtn
 gayytnccnggngaygcngtngcnytnnggnytnartgytacytnayytnaaraaygtnacntgycartggcarcarcargay
 caygcncnwsnwsncarggnttytlaycaywsnmngcncmngntgytgyccnmngaymgntayccnathtgggaaaytgyg
 argargargaraaracnaayccnggnytnaracncncarttywsnmgtgycayttaaarsnmgnaaygaywsnathath
 cayathyngtngargtnacnacngcncnggnacngtncaysntayytnngnwsnccnttytgathcaycargcngtnmg
 ytnccnacncnaayytncaytggmgngarathwsnwsnggncayytnngarytnartggcarcayccnwsnwsntgggng
 cncargaracntgytlaycarytnmgntayacnggngarggncaycargaytgaargtnytnarccncnytnngngcncmng
 gnggnacnytnarytnmgncnmgnwsnmgtaymgnytnarytnmgngcncmngnytnaayggncnacntaycargg
 nccntggwsnwsntggwsngayccnacnmngntngaracngcncngaracngcngtggathwsnytnngtnacngcnytnca
 yytnngtnytnnggnytnwsngcngtnytnnggnytnytnytnmgntggcarttyccngcncaytaymgngnytnmgncaygc
 nytnngccnwsnytnccngayytncaymngntnytnnggncartayytnmgngayacngcngcnytnwsnccncnaargcn
 acngtnwsngayacntgygargargtnarccnwsnytnytnngarathytnccnaarwsnwsngarmgnacncnytnccnytn
 ntgywsnwsncargcncaratggaytaymgngnytnarccnwsntgyytnngnacntatgcnytnwsngtntgyccncnc
 atggcngarwsngggnwsntgytgyacnacncayathgcnaycaywsntayytnccnytnwsntaytggcarcarccngayytn
 ccntgglayytnmgntatggntgycartggacncaracnmngnmngngcncmngnaayathccnytnngargarytnarmgn
 aayytnarttycaygcnttyathwsntaywsnggncaygaywsnttytgggtnaaraaygarytnytnccnaayytnngaraargar
 ggnatgcarathtgyytnaygarmgnaaytygtncnggnaarwsnathgtngaraayathathacntgyathgaraarwsnta
 yaarwsnathtgytnytnwsnccnaaytygtncarwsngartggtycaytaygarytnaytygncaycayayytnnttycay
 garggnwsnaaywsnytnathytnathytnytnngarccnathccncartaywsnathccnwsnwsntaycayayytnaarwsn
 ytnatggcncmngnmgnacntayytnngartggccnaargaraarwsnaarmnggngnytnnttytgggcnayytnmgngcngcncat
 haayathaarytnacngarcarcgcnaaraartrrr

10

20

配列番号 8 : T p o R - T I A F 1

7 5 0 アミノ酸を N 末端から C 末端の方向に示した。そのうち、1 ~ 4 9 1 (太字) :
 T p o R 細胞外ドメイン、4 9 2 ~ 5 1 3 (太字、下線付き) : T p o R T M ドメイン
 、5 1 4 ~ 6 3 5 (太字、斜体) : T p o R 細胞質ドメイン、6 3 6 ~ 7 5 0 (書式なし
) : T I A F 1 細胞質ドメイン。

30

【0 0 7 4】

【化 1 5】

MPSWALFMVTSCLLLAPQNLAQVSSQDVSLASDSEPLKCFSRTFEDLTCFWDEEEAAPSG
 TYQLLYAYPREKPRACPLSSQSMPHFGTRYVCQFPDQEEVRLFFPLHLWKNVFLNQTRTQ
 RVLFDVSVGLPAPPSIIKAMGGSQPGELQISWEEPAPEISDFLRYELRYGPRDPKNSTGPTVIQ
 LIATETCCPALQRPHSASALDQSPCAQPTMPWQDGPQKQTSRSPREASALTAEGGSCLISGLQ
 PGNSYWLQLRSEPDGISLGGWSWSLPTVDLPGDAVALGLQCFTLDLKNVTCQWQQQD
 HASSQGFFYHSRARCPRDRYPIWENCEEEETNPGLQTPQFSRCHFKSRNDSIIHILVEVTT
 APGTVHSYLGSFPWIHQAVRLPTPNLHWREISSGHLELEWQHPSWAAQETCYQLRYTGEG
 HQDWKVLPLEPLGARGGTLELRPSRYRLQLRARLNGPTYQGPWSSWSDPTRVETATETAW
ISLVTALHLVLGLSAVLGLLLLRWQFPAHYRRLRHALWPSLPDLHRVLGQYLRDTAALSPPK
 ATVSDTCEEVEPSLLEILPKSSERTPLPLCSSQAQMDYRRLQPSCLGTMPLSVCPPMAESGS
 CCTTHIANHSYLPLSYWQQPMSSPSPFREQSFLCAAGDAGEESRVQVLKNEVRRGSPVLLG
 WVEQAYADKVCGPSAPPAPTPPSLSQRVCMNDLFKVNPFQLQQFRADPSTASLLLCPGGLD
 HKLNLRGKAWG**

40

50

配列番号 22 : T p o R - T I A F 1
【化 16】

atgccnwsntgggcnyntnttyatggtnacnwsntgyytnytnyngcncncaraaaytngcncargtnwsnwsncargaygtnw
snytnyngcncnwsngaywsngarccnytnaartgytysnmgnacnttygargaytnacntgyttytgggaygargargargcn
gcncnwsnggnacntaycarytnytnaygcntayccnmngnaraarccnmngcngcnytnwsnwsncarwsnatgc
cncaytygggnacnmgnfaygtntgycarttyccngaycargargargtnmgnynttytyccnytncaaytntgggtnaaraaygt
nttyytnaaycaracnmgnacncarmngntnynttytgngaywsngtnggnytnccngcncncnwsnathathaargcnat
ggnggnwsncarccnggngarytnarathwsntgggargarccngcncngarathwsngaytytnmgntaygarytnm
gntayggncnmngayccnaaraaywsnacnggncnacngtnathcarytnathgcnacngaracntgytgyccngcnytn
carmngcncaywsngcncnwsngcnytnaycarwsnccntgygcncarccnacnatgcntggcargayggncnaarcar
cnwsnccnwsnmngngargcnwsngcnytnacngcngargggngnwsntgyytnathwsnggnytnarccnggnaayws
ntaytggytnarytnmgngnwsngarccngayggngathwsnytnnggngnwsntggggnwsntggwsnytnccngtnacngtn
gayytnccngngaygcngtngcnytnngnytnartgytyacnytnayytnaaraaygnacntgycartggccarccargay
caygcncnwsnwsncarggnttytytaycaywsnmngngcngmngntgytgyccnmngaymgntayccnathgggaraaytyg
argargaraaracnaayccnggnytnaracncncarttywsnmngntgycaytyaarwsnmngnaaygaywsnathath
cayathytnngargtnacnacngcncnggnacngtnaywsntayytnngnwsnccnttytgathcaycargcngtnmg
nytnccnacncnaayytncaytggmgngarathwsnwsnggncayytnarytnartggccarccnwsnwsntgggng
cncargaracntgytaycarytnmgntayacnggngarggncaycargaytggaargtnytnarccncnytnngngcngmng
gnggnacnytnarytnmgncnmngnwsnmngntaymgnytnarytnmgngcngmngnytnaayggncnacntaycarg
nccntggwsnwsntggwsngayccnacnmngntngaracngcncngaracngcngtggathwsnytnngtnacngcnytnca
yytnngtnynggnytnwsngcngtngnytnngnytnytnytnmgntggcarttyccngcncaytaymgngnytnmgncaygc
nytnnggcnwsnytnccngayytncaymngntnytnngncartayytnmgngayaacngcngcnytnwsnccncnaarccn
acngtnwsngayacntgygargargtnarccnwsnytnytnarathytnccnaarwsnwsngarmgnacncnytnccny
ntgywsnwsncargcncaratggaytaymgngnytnarccnwsntgyytnnggnacnatgcnnytnwsngntngyccncn
atggcngarwsnggngnwsntgytgyacnacncayathgcnaaycaywsntayytnccnytnwsntaytgccarccnatgws
nwsnccnwsnwsnccntymngarcarwsnttyytnngygcngcnggngaygcnggngargarwsnmngntncargtnytn
aaraaygargtnmgngmnggngnwsnccngtnytnytnngntgggngargcngntaygcngayaartgygntgygngcnws
ngcncncncngcncnacncncncnwsnytnwsncarmngntnatgtgyaaygayytnntyaargtnaaycncnttycarytnar
cartymngngcngayccnwsnacngcncnwsnytnytnytnngyccnggngnytnaycayaaayytnaayytnmgnggnaar
cntggggntrrr

10

20

配列番号 9 : T p o R - C D 4 0

697 アミノ酸をN末端からC末端の方向に示した。そのうち、1～491（太字）：
T p o R 細胞外ドメイン、492～513（太字、下線付き）：T p o R T Mドメイン
、514～635（太字、斜体）：T p o R 細胞質ドメイン、636～697（書式なし）：
C D 4 0 細胞質ドメイン。

30

【化 17】

MPSWALFMVTSCLLLAPQNLAQVSSQDVSLASDSEPLKCFSRTFEDLTCFWDEEEAAPSG
TYQLLYAYPREKPRACPLSSQSMPHFGTRYVCQFPDQEEVRLFFPLHLVWKNVFLNQTRTQ
RVLFDVSVGLPAPPSIIKAMGGSQPGELQISWEEPAPEISDFLRYELRYGPRDPKNSTGPTVIQ
LIATETCCPALQRPHSASALDQSPCAQPTMPWQDGPKQTSPSREASALTAEGGSCLISGLQ
PGNSYWLQLRSEPDGISLGGSWGSWSLPVTVDLPGDAVALGLQCFTLDLKNVTCQWQQQD
HASSQGFFYHSRARCPRDRYPIWENCEEEKTNPGLQTPQFSRCHFKS RNDSIIHILVEVTT
APGTVHSYLGSPFWIHQAVRLPTPNLHWREISSGHLELEWQHPSWAAQETCYQLRYTGEG
HQDWKVLPEPLGARGGTLELRPSRYRLQLRARLNGPTYQGPWSSWSDPTRVETATETAW
ISLVTALHLVLGLSAVLGLLLLRWQFPAHYRRLRHALWPSLPDLHRVLGQYL RDTAALSPPK
ATVSDTCEEVEPSLLEILPKSSERTPLPLCSSQAQMDYRRLQPSC LGTMPLSVCPPMAESGS
CCTTHIANHSYLP LSYWQPKKVAKKPTNKAPHPKQEPQEINFPDDLPGSNTAAPVQETLHGC
QPVTQEDGKESRISVQERQ**

40

配列番号 23 : T p o R - C D 4 0
【0075】

【化 1 8】

atgccnwsntgggcnyntfytatggtnacnwsntgyytnytnyngcncncaraaytngcncargtnwsnwsncargaygtnw
 snytnyngcncwsngaywsngarccnytnaartgytytwsnmgnacnttygargaytnacntgytytgggagargargargcn
 gncncnwsnggnacntaycarytnytnaygcntayccnmngnaraarccnmngcngntgyccnytnwsnwsncarwsnatgc
 cncaytygggnacnmngntaygntgycarttyccngaycargargargtnmgnynttytyccnytncaaytntgggtnaaraaygt
 nttytnaaycaracnmgnacncarmngntnynttygtngaywsngtnggnytnccngcncncncnwsnathathaargcnat
 gggnggnwsncarccngngarytnarathwsntgggargarccngcncncngarathwsngaytytnmgntaygarytnm
 gntayggncnmngngayccnaaraaywsnacnggncnacngtnathcarytnathgcnacngaracntgytgyccngcnytn
 carmgncncaywsngcncwsngcnytnngaycarwsnccntgygcncarccnacnatgccntggcargayggncnaarcara
 cnwsnccnwsnmngngargcnwsngcnytnacngcngargggngnwsntgyytnathwsnggnytnarccnggnaayws
 ntaytgytncarytnmgntwsngarccngayggnaathwsnytnnggngnwsntgggngnwsntggwsnytnccngtnacngtn
 gayytnccngngaygcngtnngcnytnnggnytnartgytyacnytnngaytnaaraaygtacntgycartggcargcargay
 caygcncnwsnwsncarggnttytytacywsnmngcncmngntgytgyccnmngngaymgntayccnathtgggaraaytgyg
 argargargaraaracnaayccnggnytnaracnccncarttywsnmngntgycaytyaarwsnmngnaaygaywsnathath
 cayathyngtnargtnacnacngcncnggnacngtncaysntayytnngnwsnccnttytggathcaycargcngtnmgnt
 ytnccnacnccnaayytncaytggmngarathwsnwsnggncayytnngarytnartggcargayccnwsnwsntgggngc
 ncargaracntgytacytnmgntayacnggngarggncaycargaytgaargtnytnarccnccnytnnggngcncmngn
 gnggnacnytnngarytnmgntnccnmngnwsnmngntaymgntnarytnmgngcncmngnytnaayggncnacntaycargg
 nccntggwsnwsntggwsngayccnacnmngntgaracngcncacngaracngcngtggathwsnytnngtnacngcnytnca
 yytnngtnytnnggnytnwsngcngtnytnnggnytnytnytnmgntggcarttyccngcncaytaymgntnmgntnmgncaygc
 nytnnggcnwsnytnccngayytncaymngntnytnnggncartayytnmgngayacngcngcnytnwsnccnccnaargcn
 acngtnwsngayacntgygargargtnarccnwsnytnytnngarathytnccnaarwsnwsngarmgnacnccnytnccnytn
 ntgywsnwsncargcncaratggaytaymgntnmgntnarytnarccnwsntgyytnngnacnatgccnytnwsngntngyccnccn
 atggcngarwsnggngnwsntgytgyacnacayathgcnayaywsntayytnccnytnwsntaytggcargarccnaaraar
 gtngcnaaraarccnacnaayaargcncncayccnaarcargarccncargarathaaytyccngaygayytnccngngnwsn
 aayacngcngcncngtnaracnytncayggtngycarccngtnacncargargayggnaargarwsnmgnathwsngnt
 ncargarmgncartrrr

10

20

配列番号 10 : T p o R - I T A M 1

676 アミノ酸を N 末端から C 末端の方向に示した。そのうち、1～491（太字）：
 T p o R 細胞外ドメイン、492～513（太字、下線付き）：T p o R T M ドメイン
 、514～635（太字、斜体）：T p o R 細胞質ドメイン、636～676（書式なし）：
 I T A M 1 細胞質ドメイン。

30

【化 1 9】

MPSWALFMVTSCLLLAPQNLAQVSSQDVSLASDSEPLKCFSRTFEDLTCFWDEEEAAPSG
 TYQLLYAYPREKPRACPLSSQSMPHFGTRYVCQFPDQEEVRLFFPLHLWVKNVFLNQTRTQ
 RVLFVDSVGLPAPPSIIKAMGGSQPGELQISWEEPAPPEISDFLRYELRYGPRDPKNSTGPTVIQ
 LIATETCCPALQRPHSASALDQSPCAQPTMPWQDGPQKQTSRREASALTAEGGSCLISGLQ
 PGNSYWLQLRSEPDGISLGGSWGSWSLPVTVDLPGDAVALGLQCFTLDLKNVTCQWQQQD
 HASSQGFFYHSRARCPRDRYPIWENCEEEEEKTNPGLQTPQFSRCHFCKSRNDSIIHILVEVTT
 APGTVHSYLGSPFWIHQAVRLPTPNLHWREISSGHLELEWQHPSWAAQETCYQLRYTGEG
 HQDWKVLPLGARGGTLELRPRSRYLQLRARLNGPTYQGPWSSWSDPTRVETATETAW
 ISLVTALHLVLGLSAVLGLLLLWQFPAHYRRLRHALWPSLPDLHRVLGQYLRDTAALSPPK
 ATVSDTCEEVEPSLLEILPKSSERTPLPLCSSQAQMDYRRLQPSCLGTMPLSVCPPMAESGS
 CCTTHIANHSYLPLSYWQQPRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR*
 *

40

配列番号 24 : T p o R - I T A M 1

【0076】

【化 2 0】

atgccnwsntgggcnyinttyatggtnacnwsntgyytnytnyngcncncaraaaytngcncargtnwsnwsncargaygtnw
 snytnyngcncnwsngaywsngarccnytnaartgyttywsmgnacnttygargaytnacntgyttygggagargargargcn
 gcncnwsnggnacntaycarytnytnaygcntayccnmngnaraarccnmngcngntgyccnytnwsnwsncarwsnatgc
 cncaytygggnacnmgtaygtntgycarttyccngaycargargargtnmgnynttytyccnytncaaytntgggtnaaraaygt
 nttyytnaaycaracnmgnacncarmgngnynttygtngaywsngtnggnytnccngcncncnwsnathathargcnat
 gggnggnwsncarccngngarytnarathwsntgggargargcngcncngarathwsngaytyytnmgntaygarytnm
 gntayggncnmngayccnaaraaywsnacnggncnacngtnathcarytnathgcnacngaracntgytgyccngcnytn
 carmgncncaywsngcncnwsngcnytnaycarwsncntgygcncarccnacntatgcntggcargayggncnaarara
 cnwsncnwsnmngngargcncnwsngcnytnacngcngarggnggnwsntgyytnathwsnggnytnarccnggnaayws
 ntaytggynarytnmgngnwsngarccngayggnathwsnytnnggngnwsntggggnwsntggwsnytnccngtnacngtn
 gayytnccngngaygcnngtnyngnytnartgytyacnytnayytnaaraaygtacntgycartggcarcarcargay
 caygcncnwsnwsncarggnttytytaycaywsnmngcncmngntgytgyccnmngaymgntayccnathgggaraaytyg
 argargargaraaracnaayccngnytnaracncncarttywsnmngntgycaytyaarwsnmngnaaygaywsnathath
 cayathyngtnargtnacnacngcncnggnacngtnaywsntayytnngnwsncnttytgathcaycargcngtnmg
 ytnccnacncnaayytncaytggmgngarathwsnwsnggncayytnarytnartggcarcayccnwsnwsntgggng
 cncargaracntgytaycarytnmgntayacnggngarggncaycargaytggaargtnytnarccncnytnnggngcncmng
 gnggnacnytnarytnmgncnmngnwsnmngntaymgnytnarytnmgngcncmngnytnaayggncnacntaycargg
 ncncntggwsnwsntggwsngayccnacnmngntngaracngnacngaracngcntggathwsnytnngtnacngcnytnca
 yytnngtnynggnytnwsngcngntnytnngnytnytnytnmgntggcarttyccngcncaytaymgngnytnmgncaygc
 nytnnggcnwsnytnccngayytncaymngntnytnngncartayytnmgngayacngcngcnytnwsncncncnaarngc
 acngtnwsngayacntgygargargtnarccnwsnytnytnarathytnccnaarwsnwsngarmgnacncnytnccnytn
 ntgywsnwsncargcncaratggaytaymgngnytnarccnwsntgyytnngnacntatgcnnytnwsngntngyccncnc
 atggcngarwsnggnwsntgytgyacnacncayathgcnaaycaywsntayytnccnytnwsntaytggarcarccnmngnt
 naarttywsnmngnwsngcngaygcncncngntaycarcarggncaraaycarytnayaaygarytnaayytnngnmngnmng
 gargartaygaygtnyngayaarmngnmngngnmngnttrr

10

20

配列番号 11 : T p o R . T p o R - c y t . L M P 1 - c y t

8 3 6 アミノ酸をN末端からC末端の方向に示した。そのうち、1～491（太字）：
 T p o R 細胞外ドメイン、492～513（太字、下線付き）：T p o R T Mドメイン
 、514～635（太字、斜体）：T p o R 細胞質ドメイン、636～836（書式なし）：
 L M P - 1 細胞質ドメイン。

【化 2 1】

30

MPSWALFMVTSCLLLAPQNLAQVSSQDVSLASDSEPLKCFSRTFEDLTCFWDEEEAAPSG
 TYQLLYAYPREKPRACPLSSQSMPHFTRYVCQFPDQEEVRLFFPLHLWVKNVFLNQTRTQ
 RVLFVDSVGLPAPPSIIKAMGGSQPGELQISWEEPAPFISDFLRYELRYGPRDPKNSTGPTVIQ
 LIATETCCPALQRPHSASALDQSPCAQPTMPWQDGPQKQTSPSREASALTAEGGSCLISGLQ
 PGNSYWLQLRSEPDGSLGGSWGSWSLPVTVDLPGDAVALGLQCFTLDLKNVTCQWQQQD
 HASSQGFFYHSRARCPCPRDRYPIWENCEEEEEKTNPGLQTPQFSRCHFKSRNDSIIHILVEVTT
 APGTVHSYLGSPFWIHQAVRLPTPNLHWREISSGHLELEWQHPSSWAAQETCYQLRYTGEG
 HQDWKVLPLEPLGARGGTLELRPRSRYLQLRARLNGPTYQGPWSSWSDPTRVETATETAW
ISLVTALHLVLGLSAVLGLLLLRWQFPAHYRRLRHALWPSLPDLHRVLGQYLRDTAALSPPK
ATVSDTCEEVEPSLLEILPKSSERTPLPLCSSQAQMDYRRLQPSCLGTMPLSVCPMAESGS
CCTTHIANHSYLPLSYWQQPYHGQRHSDEHHHDDSLPHPQQATDDSGHESDSNSNEGRHHL
 LVSGAGDGPPLCSQNLGAPGGGPDNGPQDPDNTDDNGPQDPDNTDDNGPHDPLPQDPDNT
 DDNGPQDPDNTDDNGPHDPLPHSPSDSAGNDGGPPQLTEEVENKGGDQGPPLMTDGGGGH
 SHDSGHGGGDPHLPTLLLGSSEGGDDDDPHGVPVQLSYD**

40

配列番号 25 : T p o R . T p o R - c y t . L M P 1 - c y t

【0077】

【化 2 2】

atgccnwsntgggcnynttntatggnacnwsntgyytnytnyngcncncncaraaaytngcncargtnwsnwsncargaygtnw
 snytnyngcncnwsngaywsngarccnytnaartgytysnmgnacnttygargaytnacntgyttygggagargargargcn
 gcncnwsnggnacntaycarytnytnaygcntayccnmgnagaraarccnmngcngtgyccnytnwsnwsncarwsnatgc
 ncaytygggnacnmgnaygtntgycarttyccngaycargargargtnmgnynttytccnytncaaytntgggtnaaraaygt
 nttytnaaycaracnmgnacncarmgngtnytnyngaywsngtnggnytnccngcncncncnwsnathathargcnat
 gggnggnwsncarccnggngarytnarathwsntgggargarccngcncngarathwsngaytytnmgntaygarytnm
 gntayggncnmngayccnaaraaywsnacnggncncnagtnathcarytnathgcnacngaracntgytgyccngcnytn
 carmgncncaywsngcncnwsngcnytnaycarwsncntgygcncarccnacntatgccntggcargayggncnaarara
 cnwsncncnwsnmngargcnwsngcnytnacngcngarggnggnwsntgyytnathwsnggnytnarccnggnaayws
 ntaytgytnarytnmgntayacnggngarggncaycargaytggaargtnytnarccncnytnngcncnmng
 gayytnccnggngaygcngtngcnytnngnytnartgyttyacnytnayytnaaraaygtacntgycartggcarcarcargay
 caygcncnwsnwsncarggnttytlaycaywsnmngcncnmngntgytgyccnmngaymgntayccnathtgggaraaytyg
 argargargaraaracnaayccngnytnaracncncarttywsnmngntgycaytyaarwsnmngnaaygaywsnathath
 cayathytngtngargtnacnagcncnggnacngtncaywsntayytnngnwsncnttytggaathcaycargcngtnmg
 ytnccnacncnaayytncaytggmgngarathwsnwsnggncayytnarytnartggcarcayccnwsnwsntgggng
 cncargaracntgytarytnmgntayacnggngarggncaycargaytggaargtnytnarccncnytnngcncnmng
 gnggnacnytnarytnmgncnmngnwsnmngntaymgnytnarytnmgngcncmgnytnaayggncnacntaycargg
 nccntggwsnwsntggwsngayccnacnmngntngaracngcncngaracngcngtggathwsnytnngtnacngcnytnca
 yytngtntnggnytnwsngcngtntnggnytnytnytnmgntggcarttyccngcncaytaymgngnytnmgncaygc
 nytnngcncnwsnytnccngayytncaymgngtnytnnggncartayytnmgngayacngcngcnytnwsnccncnaargcn
 acngtnwsngayacntgygargargtnarccnwsnytnytnngarathytnccnaarwsnwsngarmgnacncnytnccnytn
 ntgywsnwsncargcncaratggaytaymgngnytnarccnwsntgyytnngnacntatccnytnwsngntntgyccncn
 atggcngarwsnggnwsntgytgyacnacncayathgcnaaycaywsntayytnccnytnwsntaytggarcarccntaycay
 ggncarmgncaywsngaygaraycaycaygaygaywsnytnccncayccncarcargcncngaygaywsnggncayga
 rwsngaywsnaaywsnaaygarggngmngncaycaytytnytnngnwsnggngcnggngayggncncnytnytnytnca
 aaytnggngcncnggnggnggncngayaayggncncargayccngayaayacngaygayaayggncncargayccn
 gayaayacngaygayaayggncncaygayccnytnccncargayccngayaayacngaygayaayggncncargaycc
 ngayaayacngaygayaayggncncaygayccnytnccncaywsnccnwsngaywsngcnggnaaygayggnggnc
 nccncarytnacngargargtngaraayaarggnggngaycarggncncnytnatgacngayggnggnggnggncaywsn
 caygaywsnggncayggnggnggngayccncayytnccncnytnytnytnngnwsnwsnggnwsnggnggngaygay
 aygayccncayggncngtncarytnwsntaytaygaytrtr

10

20

配列番号 12 : T p o R . L M P 1 - c y t

30

714 アミノ酸をN末端からC末端の方向に示した。そのうち、1～491（太字）：
 T p o R 細胞外ドメイン、492～513（太字、下線付き）：T p o R T Mドメイン
 、514～714（書式なし）：L M P - 1 細胞質ドメイン。

【化 2 3】

MPSWALFMVTSCLLLAPQNLAQVSSQDVSLASDSEPLKCFSRTEFEDLTCFWDEEEAAPSG
 TYQLLYAYPREKPRACPLSSQSMPHFTRYVCQFPDQEEVRLFFPLHLWVKNVFLNQTRTQ
 RVLFVDSVGLPAPPSIIKAMGGSQPGEIQISWEEPAPESIDFLRYELRYGPRDPKNSTGPTVIQ
 LIATETCCPALQRPHSASALDQSPCAQPTMPWQDGPQKQTSRSPREASALTAEGGSCLISGLQ
 PGNSYWLQLRSEPDGSLGGSWSWSLPTVDLPGDAVALGLQCFTLDLKNVTCQWQQQD
 HASSQGFFYHSRARCPRDRYPIWENCEEEEEKTNPGLQTPQFSRCHFKSRNDSIIHILVEVTT
 APGTVHSYLGSPFWIHQAVRLPTPNLHWREISSGHLELEWQHPSSWAAQETCYQLRYTGEG
 HQDWKVLEPPLGARGGTLELRPSRYRLQLRLRNLNGPTYQGPWSSWSDPTRVETATETAW
ISLVTALHLVLGLSAVLGLLLLYHGQRHSDEHHHDDSLPHPQQATDDSGHESDSNSNEGRHH
 LLVSGAGDGPPLCSQNLGAPGGGPDNGPQDPDNTDDNGPQDPDNTDDNGPHDPLPQDPDN
 TDDNGPQDPDNTDDNGPHDPLPHSPSDSAGNDGGPPQLTEEVENKGGDQGPPLMTDGGGG
 HSHDSGHGGGDPHLPTLLLGSSGSGGDDDDPHGVPQLSYD**

40

配列番号 26 : T p o R . L M P 1 - c y t

【0078】

50

atgccnwsntgggcnyntnttatygtgtnacnwsntgyytnytnyngcncncaraayytnngcncargtnwsnswncargaygtnw
snytnytnngcnwsngaywsngarccnytnaartgyttywsmgnacnttygargayytnacntgyttytgggaygargargargcn
gcncnwsnggnacntaycarytnytnaygcntayccnmngnaraarccnmngcngntgyccnytnwsnswncarwsnatgc
cncayttyggcnacmngntaygtntgycarttyccngaycargargargtnmgnyntnttytccnytncayynttgggtnaaraaygt
nttytnaaycaracnmgnacncarmgngtnytnnttytngaywsngtnggnytnccngcncncnwsnathathargcnat
ggngggnwsncarccnggngarytnarathwsntgggargarcngcncngarathwsngayttytnmgntaygarytnm
ntayggncnmgngayccnaaraaywsnacnggncnncngtnathcarytnathgcnacngaracntgytgyccngcnytn
carmgncncaywsngcnwsngcnytnngaycarwsncntgygcncarccnacnatgcntggcargayggncnnaarcar
cnwsncnwsnmngngargcnwsngcnytnacngcngarggnggnwsntgyytnathwsnggnytnarccnggnaayws
ntaytgytnarytnmgnwsgarccngayggnathwsnytnnggngnwsntggggnwsntggwsnytnccngtnacngtn
gayytnccnggngaygcngtngcnytnngnytncartgyttyacnytnngayytnaaraaygtnacntgycartggcarcarcargay
caygcnwsnwsncarggnttytityaycaywsnmngncnmngntgytgyccnmngaymgntayccnathtgggaraaytgyg
argargargaraaracnaayccnggnytnaracnccncarttywsnmngntgycayttaaarsnmgnaaygaywsnathath
cayathyntgtngargtnacnacngcncnggnacngtncaysntayytnngnwsncnttytggathcaycargcngtnmg
ytnccnacnccnaayytncaytggmgngarathwsnwsnggncayytngarytnartggcarcayccnwsnwsntgggng
cncargaracntgytaycarytnmgntayacnggngarggncaycargaytggaargtnytngarccnccnytnngngcncmng
ngggnacnytngarytnmgncnmgnwsnmngntaymgnytnarytnmgngcncmgnytnaayggncnccntaycargg
ncntggwsnwsntggwsngayccnacmngntngaracngcncacngaracngcngtggathwsnytnngtnacngcnytnca
yytnngtnytnngnytnwsngcngtnytnngnytnytnytnytnaycayggncarmgncaywsngaygarcaycaycaygayga
ywsnytnccncayccncarcargcncngaygaywsnggncaygarwsngaywsnaaywsnaaygarggngmncaycay
ytnytnngtnwsnggngcnggn
gayggncnccnytnngywsncaraayytnngngcncnggnggnggngncngayaayggncncargayccngayaayacn
gaygayaayggncncargayccngayaayacngaygayaayggncncaygayccnytnccncargayccngayaayac
ngaygayaayggncncargayccngayaayacngaygayaayggncncaygayccnytnccncaywsnccnwsngay
wsngcnggnaaygayggnggncncncarytnacngargargtngaraayaarggnggngaycarggncnccnytnatga
cngayggnggnggnggncaywsncaygaywsnggncayggnggnggngayccncayytnccnacnytnytnytnngnws
nwsnggnwsnggnggnggngaygaygaygayccncayggncngtnarytnwsntaytaygaytrtrr

555 アミノ酸をN末端からC末端の方向に示した。そのうち、1～491（太字）：p o R細胞外ドメイン、492～513（太字、下線付き）：T p o R T Mドメイン514～555（書式なし）：C D 1 3 7細胞質ドメイン。

MPSWALFMVTSCLLLAPQNLAQVSSQDVSLASDSEPLKCFSRTFEDLTCFWDEEEAAPSG
TYQLLYAYPREKPRACPLSSQSMPHFGTRYVCQFPDQEEVRLFFPLHLWVKNVFLNQTRTQ
RVLFDVSVGLPAPPSIIKAMGGSQPGELQISWEEPAPEISDFLRYELRYGPRDPKNSTGPTVIQ
LIATETCCPALQRPHSASALDQSPCAQPTMPWQDGPQKQTSPSREASALTAEGGSCLISGLQ
PGNSYWQLRSEPDISLGGSWGSWSLPVTVDLPGDAVALGLQCFTLDLKNVTCQWQQQD
HASSQGFFYHSRARCCPRDRYPIWENCEEEEEKTNPGLQTPQFSRCHFKSRNDSIIHILVEVTT
APGTVHSYLGSPFWIHQAVRLPTPNLHWREISSGHLELEWQHPSSWAAQETCYQLRYTGEG
HQDWKVLPLGARGGTLELRPSRYRLQLRARLNGPTYQGPWSSWSDPTRVETATETAW
ISLVTALHLVLGLSAVLGLLLLKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCE
| **

【 0 0 7 9 】

【化 2 6】

atgccnwsntgggcnyntnttyatggtnacnwsntgyytnytnyngcncncaraaaytngcncargtnwsnwsncargaygtnw
 snytnyngcncnwsngaywsngarccnytnaartgytysnmgnacnttygargaytnacntgyttygggagargargargcn
 gcncnwsnggnacntaycarytnytnaygcntayccnmngngaraarccnmngcngtyccnytnwsnwsncarwsnatgc
 cncaytygggnacnmngntaygntgycarttyccngaycargargargtnmgnynttytyccnytncaayntgggtnaaraaygt
 nttytnaaycaracnmgnacncarmngntnynttygtngaywsngtnggnytnccngcncncnwsnathathargcnat
 gggngnwsncarccngngarytnarathwsntgggargarccngcncngarathwsngaytyytnmgntaygarytnm
 gntayggncnmngayccnaaraaywsnacnggncnacngtnathcarytnathgcnacngaracntgytgyccngcnytn
 carmgncncaywsngcncnwsngcnytnaycarwsnccntgygcncarccnacntgccntggcargayggncnaarcara
 cnwsnccnwsnmngngargcnwsngcnytnacngcngargggngnwsntgyytnathwsnggnytnarccnggnaayws
 ntaytgytncarytnmgngarccngayggnathwsnytnnggngnwsntgggngnwsntggwsnytnccngtnacngtn
 gayytnccngngaygngtngcnytnngnytncartgyttyacnytnayytnaaraaygtacntgycartggcarcarcargay
 caygcnwsnwsncarggnttytytaycaywsnmngcncnmngntgytgyccnmngaymgntayccnathgggaraaytyg
 argargaraaracnaayccngnytnaracncncarttywsnmngntgycaytyaarwsnmgnaaygaywsnathath
 cayathyngtngargtnacnacngcnggnacngtnacaywsntayynggngnwsnccnttyggathcaycargcngtnmg
 nytnccnacncnaayytnaytgmgngarathwsnwsnggncayytnarytnartggcarcayccnwsnwsntggcng
 cncargaracntgytaycarytnmgntayacnggngarggncaycargaytggaargtnyngarccncnytnngngcngmng
 gngnacnytnarytnmgncnmngnwsnmngntaymgnytnarytnmgngcngnytnaayggncnacntaycargg
 ncntggwsnwsntggwsngayccnacnmngntngaracngcncngaracngcngtggathwsnytnngtnacngcnytnca
 yytnytnynggnytnwsngcngntnytnngnytnytnytnaarmnggngmngnaaraarytnytnayathtyaarcarccnt
 yatgmngcngntncaracnacncargargargayggntgywsntgymgnttycngargargargargggngntgygarytnrrt
 rr

10

20

配列番号 14 : T p o R e c . T p o R t m . C D 2 8 c y t o

5 5 4 アミノ酸をN末端からC末端の方向に示した。そのうち、1～491（太字）：
 T p o R 細胞外ドメイン、492～513（太字、下線付き）：T p o R T Mドメイン
 、514～554（書式なし）：C D 2 8 細胞質ドメイン。

【化 2 7】

MPSWALFMVTSCLLLAPQNLAQVSSQDVSLASDSEPLKCFSRTFEDLTCFWDEEEAAPSG
 TYQLLYAYPREKPRACPLSSQSMPHFGTRYVCQFPDQEEVRLFFPLHLWKNVFLNQTRTQ
 RVLFDVSVGLPAPPSIIKAMGGSQPGELQISWEEPAPPEISDFLRYELRYGPRDPKNSTGPTVIQ
 LIATETCCPALQRPHSASALDQSPCAQPTMPWQDGPQKQTSRREASALTAEGGSCLISGLQ
 PGNSYWLQLRSEPDGISLGGWSWSLPTVDLPGDAVALGLQCFTLDLKNVTCQWQQQD
 HASSQGFFYHSRARCPRDRYPIWENCEEEKTNPGLQTPQFSRCHFKSRNDSIIHILVEVTT
 APGTVHSYLGSPFWIHQAVRLPTPNLHWREISSGHLELEWQHPSWAAQETCYQLRYTGEG
 HQDWKVLEPPLGARGGTLELRPSRYRLQLRARLNGPTYQGPWSSWSDPTRVETATETAW
ISLVTAHLVLGLSAVLGLLLLRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS
 **

30

配列番号 28 : T p o R e c . T p o R t m . C D 2 8 c y t o

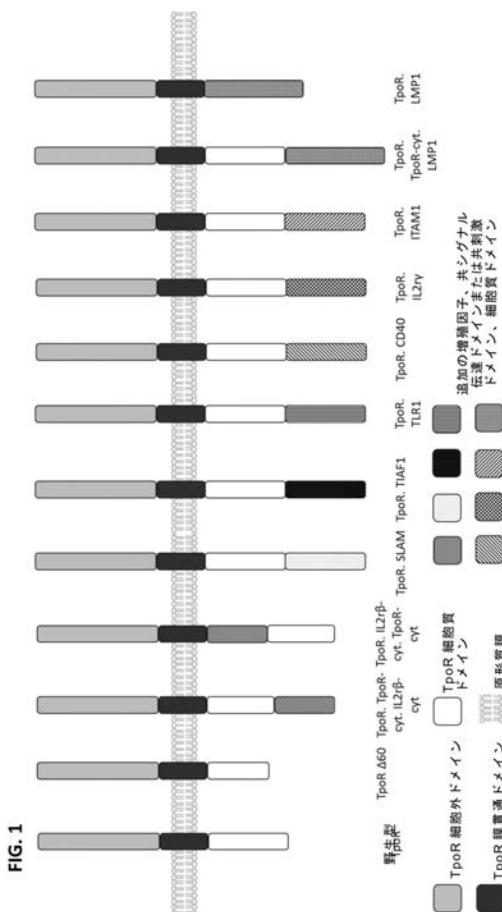
【化 2 8】

atgccnwsntgggcnynttntatggtnacnwsntgyytnytnyngcncncaraaaytngcncargtnwsnwsncargaygtnw
 snytnyngcncwsngaywsngarcnytnaartgyttnywsnmgncnitygargaytnacntgytgyggaygargargcnc
 gncncnwsnggnacntaycarytnytnaygcntayccnmngnaraarccnmngcngntgyccnytnwsnwsncarwsnatgc
 cncaytytggnacnmgtaygtntgycarttyccngaycargargargtnmgnynttnttyccnytncaayntgggtnaaraaygt
 nttytnaaycaracnmgnacncarmngntnynttntgngaywsngtnggnytnccngcncncncnwsnathathargcnat
 gggnggnwsncarccnggngarytnarathwsntgggargarcngcncncngarathwsngayttytnmgntaygarytnm
 gntayggncnmngayccnaaraaywsnacnggncnacngtnathcarytnathgcnacngaracntgytgyccngcnytn
 carmgncncaywsngcncwsngcnytnngaycarwsnccntgygcncarccnacntatgcctggcargayggncnaarcar
 cnwsnccnwsnmngargcncwsngcnytnacngcngarggngnwsntgyytnathwsnggnytnarccnggnaayws
 ntaytgytnarytnmgwsngarcngayggngathwsnytnnggngnwsntgggngwsntggwsnytnccngtnacngtn
 gyytnccngngaygcngtngcnytnngnytnartgyttnytnngaytnaaraaygnacntgycartggcarcarcargay
 caygcncnwsnwsncarggnttytlaycaywsnmgngcngmngntgytgyccnmngaymgntayccnathgggaraaytgyg
 argargargaraaracnaayccngnytnaracncncarttywsnmgntgytgyttaaarsnmngnaaygaywsnathath
 cayathytngtngargtnacnacngcncnggncngntncaywsntayytnngnwsnccnttytgathcaycargcngtnmgn
 ytnccnacncnaaytncaytggmngngarathwsnwsnggncayytnngarytnartggcarcayccnwsnwsntgggng
 cncargaracntgytlaycarytnmgntayacnggngarggncaycargaytggargtnytnarccncnytnngngcngmng
 gnggnacnytnngarytnmgncnmngnwsnmgntaymgnytnarytnmgngcngmngnytnaayggncnacntaycargg
 nccntggwsnwsntggwsngayccnacnmngntngaracngcncngaracngcngntggathwsnytnngtnacngcnytnca
 yytngtntngnytnwsngcngntngnytnytnytnmgngnwsnaarmngnwsnmngnytncaysngaytayatga
 ayatgacncncnmngmngncnggncncnacnmngnaarcataycarcncntaygcncncncnmngaytygcngcngntaymgn
 wsntrtrtr

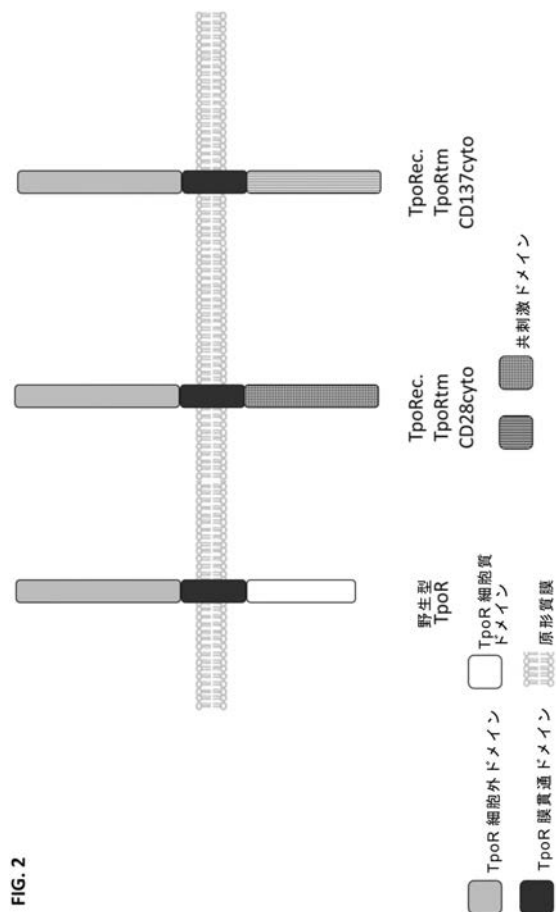
10

20

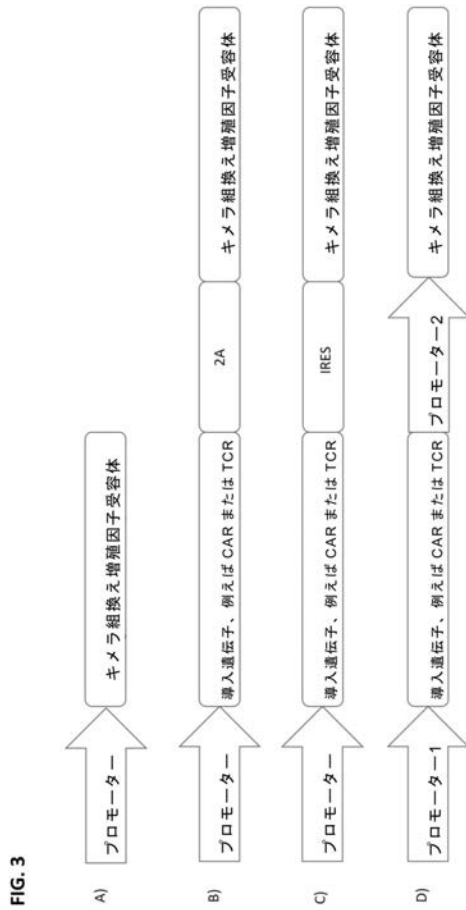
【図 1】



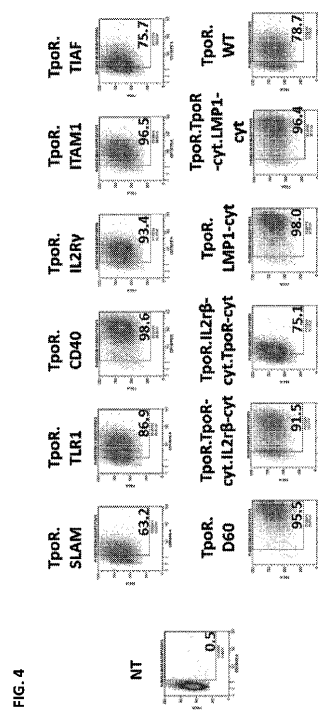
【図 2】



【図 3】

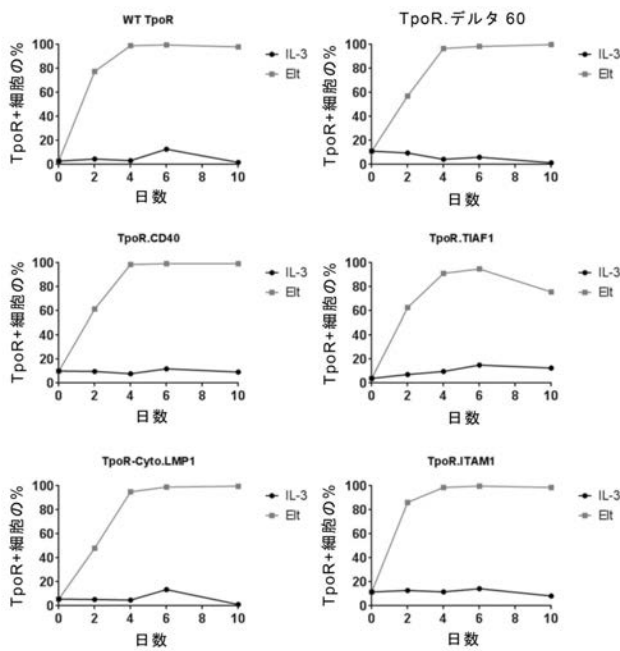


【図 4】



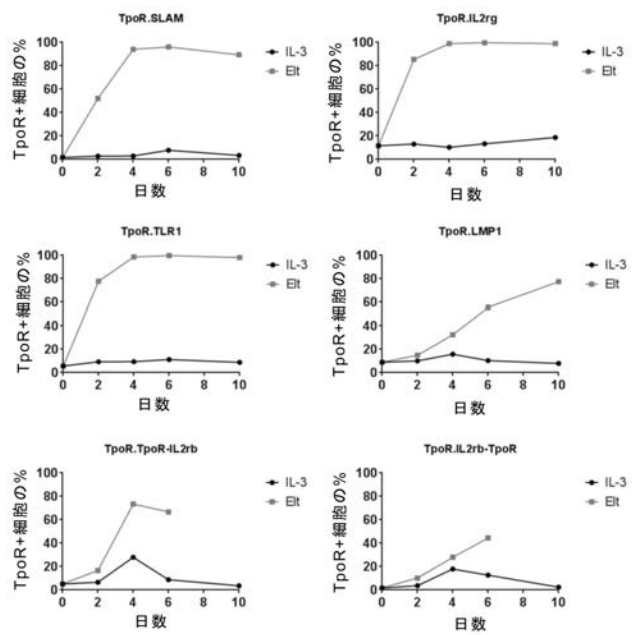
【図 5 A】

FIG. 5A



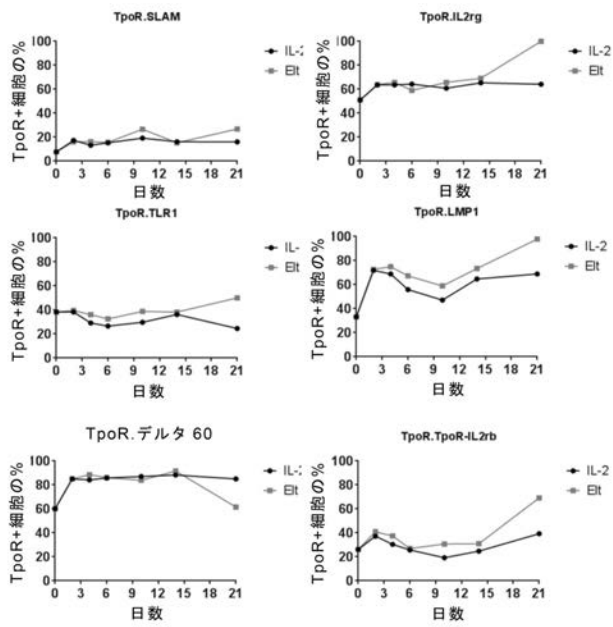
【図 5 B】

FIG. 5B



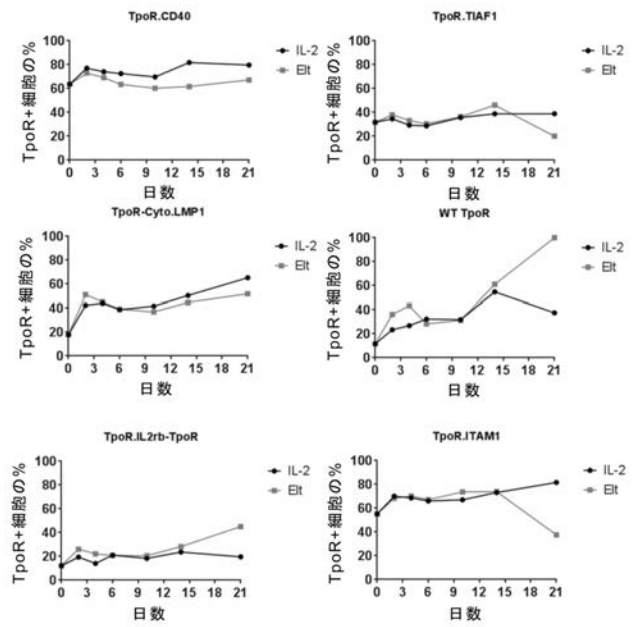
【図 6 A】

FIG. 6A



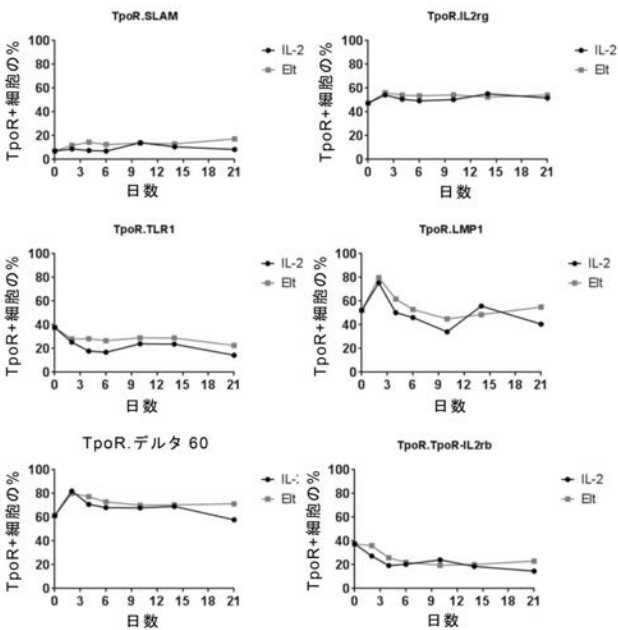
【図 6 B】

FIG. 6B



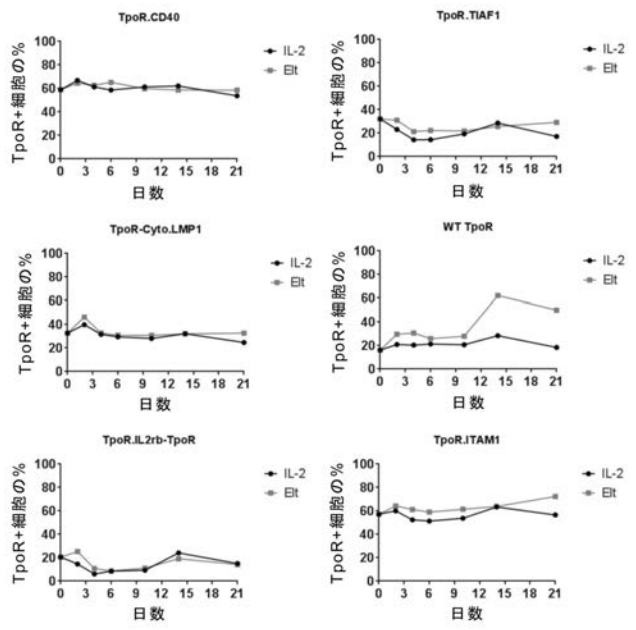
【図 7 A】

FIG. 7A



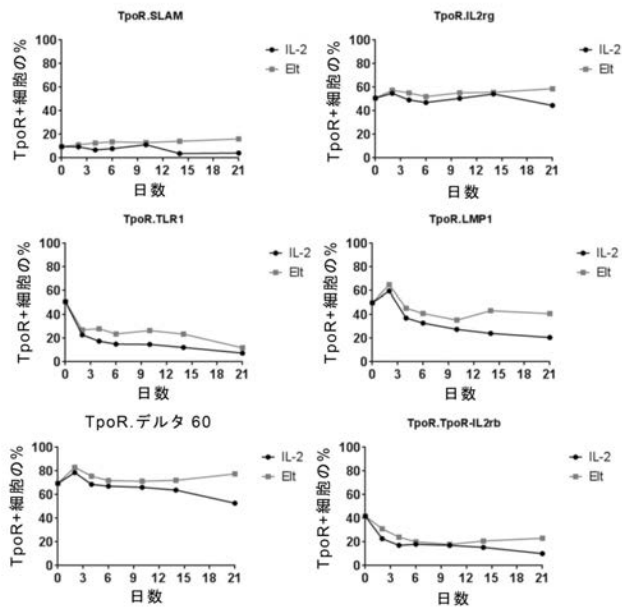
【図 7 B】

FIG. 7B



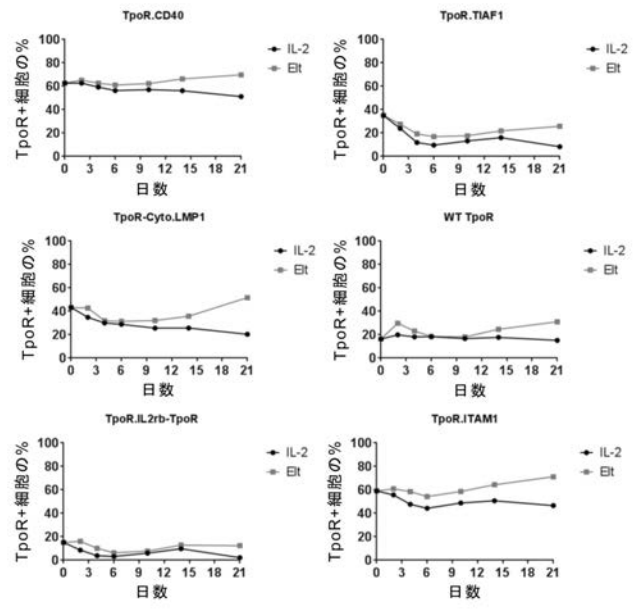
【図 8 A】

FIG. 8A



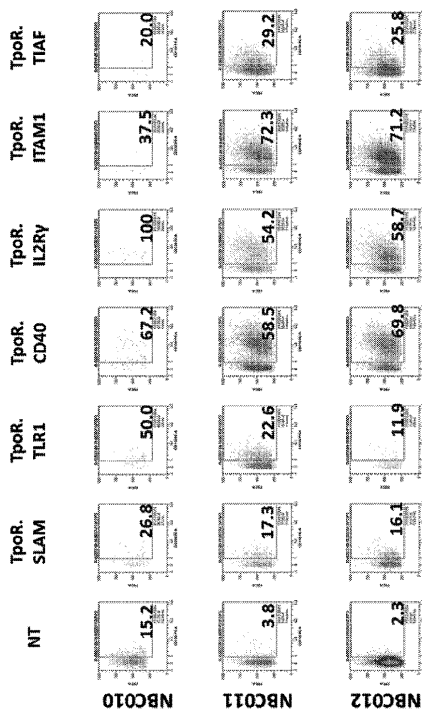
【図 8 B】

FIG. 8B



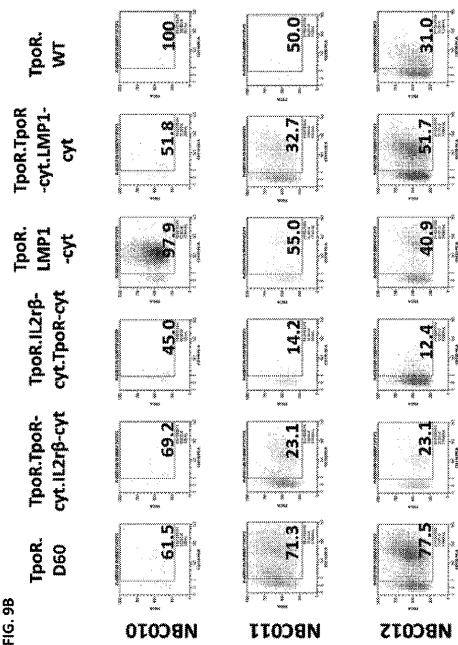
【図 9 A】

FIG. 9A

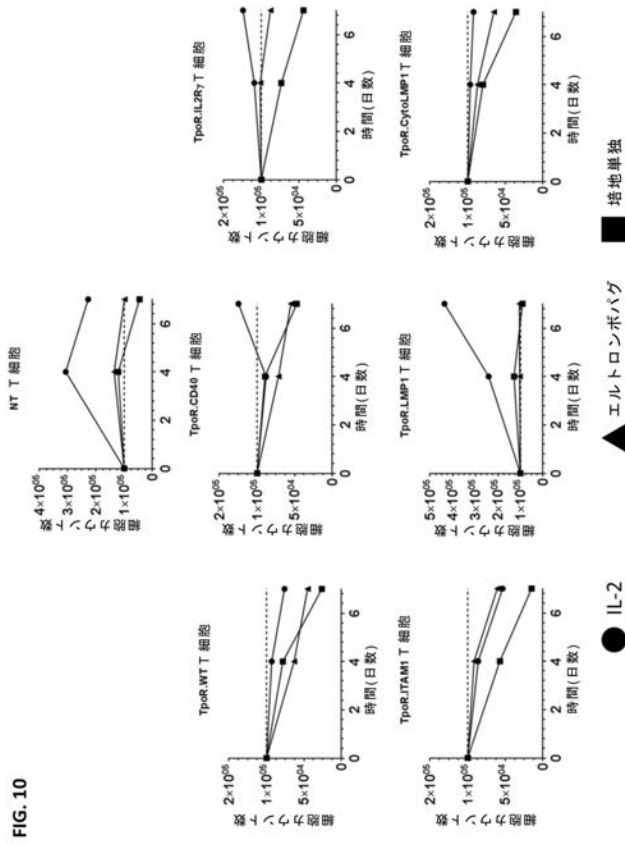


【図 9 B】

FIG. 9B



【図 10】



【図 12】

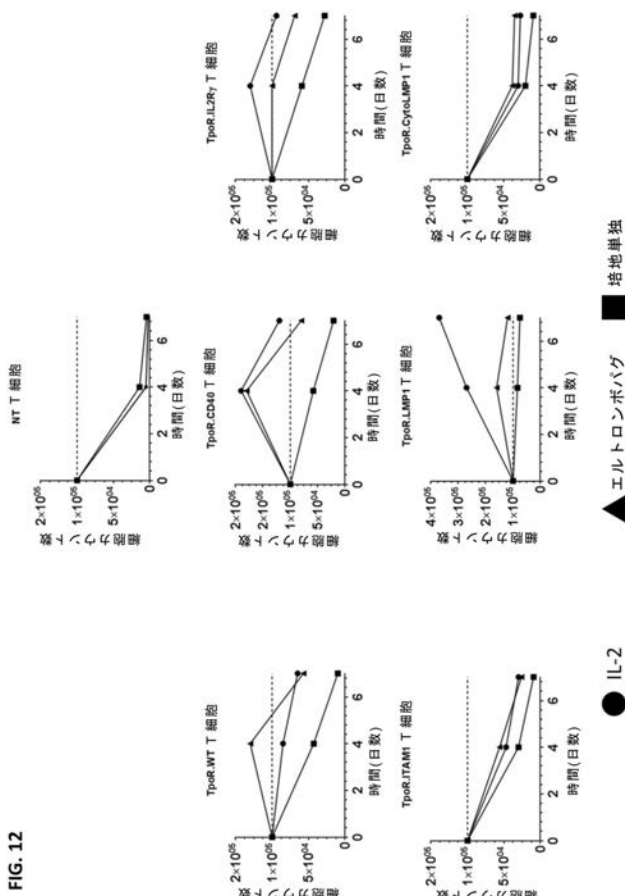


FIG. 12

【図 11】

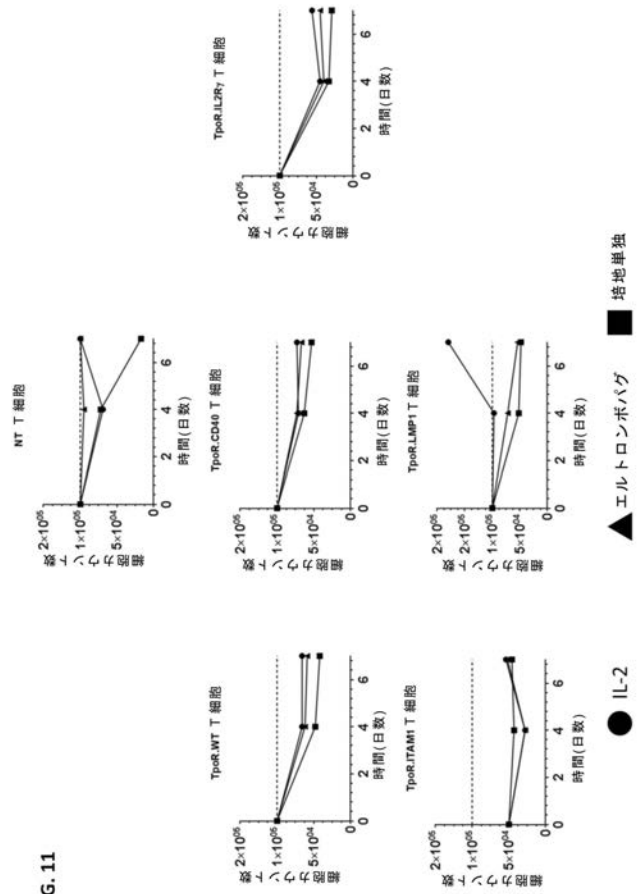


FIG. 11

【図 13】

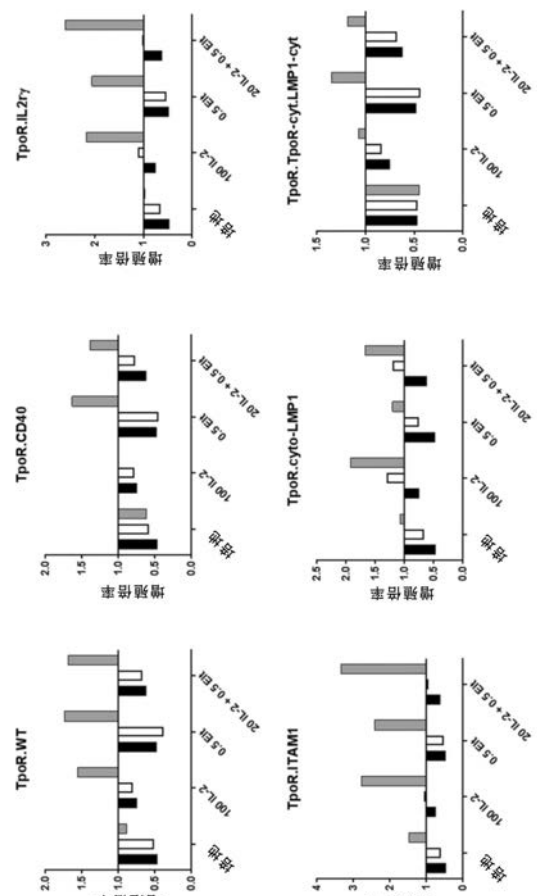
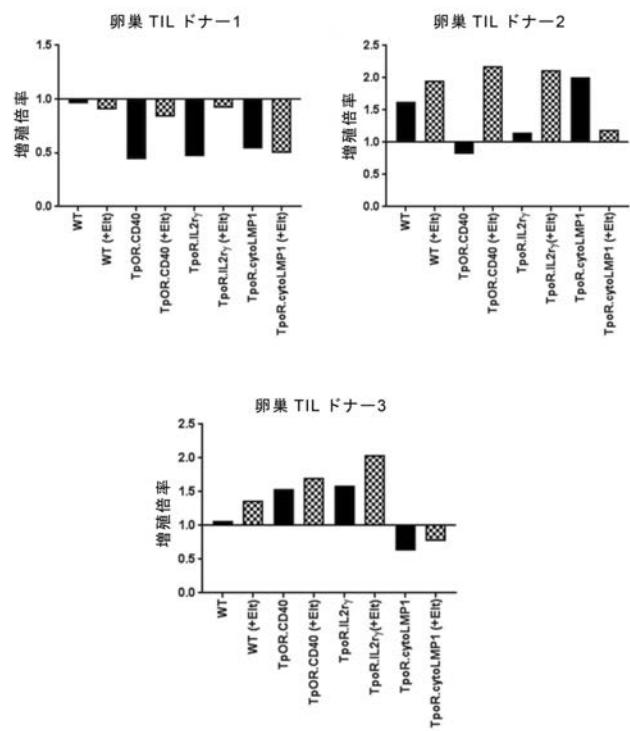


FIG. 13

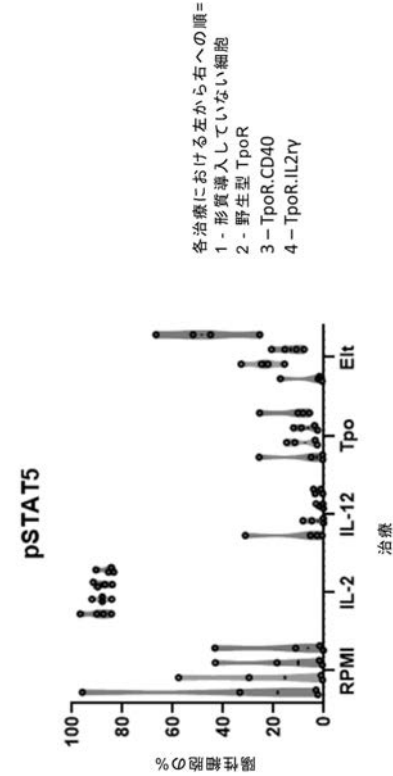
【図 1 4】

FIG. 14



【図 1 5】

FIG. 15



【配列表】

2021527425000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2019/051745

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K14/72 C12N5/0783
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K C12N

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

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

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017/103596 A1 (CELLULAR THERAPEUTICS LTD [GB]) 22 June 2017 (2017-06-22) abstract; claims 1-9, 14-16, 17, 19-27, 29, 30 and 32; SEQ ID NO: 1 and 5, 7-9 -----	1-32
X	MASAHIRO KAWAHARA ET AL: "Engineering of mammalian cell membrane proteins", CURRENT OPINION IN CHEMICAL ENGINEERING, vol. 1, no. 4, 1 November 2012 (2012-11-01), pages 411-417, XP055267820, Netherlands ISSN: 2211-3398, DOI: 10.1016/j.coche.2012.05.002 abstract; p 411, 412 fig 1(b) ----- -/--	18-20,22

☒ 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

"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

2 October 2019

Date of mailing of the international search report

18/10/2019

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Brero, Alessandro

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2019/051745

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2014/047572 A1 (CHEN YUHCHYAU [US] ET AL) 13 February 2014 (2014-02-13) abstract; claim 35, [0046]ff. -----	18-20,22
X	JONATHAN G. DRACHMAN ET AL: "Studies with Chimeric Mpl/JAK2 Receptors Indicate That Both JAK2 and the Membrane-proximal Domain of Mpl Are Required for Cellular Proliferation", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 277, no. 26, 28 June 2002 (2002-06-28), pages 23544-23553, XP055580151, US ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.M201120200 abstract; p 23545; fig 1 -----	18-20,22
A	CHRISTOPHER D NISHIMURA ET AL: "c-MPL provides tumor-targeted T-cell receptor-transgenic T cells with costimulation and cytokine signals", BLOOD, vol. 130, no. 25, 27 October 2017 (2017-10-27), pages 2739-2750, XP055627437, DOI: 10.1182/blood-2017-02-cited in the application the whole document -----	1-32

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2019/051745

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017103596 A1	22-06-2017	EP 3390436 A1 WO 2017103596 A1	24-10-2018 22-06-2017
US 2014047572 A1	13-02-2014	US 2014047572 A1 US 2014234322 A1 WO 2014028509 A2	13-02-2014 21-08-2014 20-02-2014

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I			テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63		Z
A 6 1 K 35/17 (2015.01)	A 6 1 K	35/17		Z
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 K 38/17 (2006.01)	A 6 1 K	38/17		
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	
C 1 2 N 5/0783 (2010.01)	C 1 2 N	5/0783		

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

(74)代理人 100123777
弁理士 市川 さつき

(74)代理人 100111796
弁理士 服部 博信

(74)代理人 100215670
弁理士 山崎 直毅

(72)発明者 プライス ニコラ ケイ
イギリス エム 1 3 9 エックスエックス グレーター マンチェスター マンチェスター グラ
フトン ストリート 4 8 インメタサイト リミテッド内

(72)発明者ブリッジマン ジョン スティーブン
イギリス エム 1 3 9 エックスエックス グレーター マンチェスター マンチェスター グラ
フトン ストリート 4 8 インメタサイト リミテッド内

F ターム(参考) 4B065 AA92X AA92Y AA94X AA94Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA44
4C084 AA02 AA03 BA44 MA66 NA05 ZB261 ZB262 ZC751
4C087 AA01 AA02 AA03 BB65 MA66 ZB26
4H045 AA10 AA20 AA30 CA40 DA50 EA20 FA74