

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7636650号

(P7636650)

(45)発行日 令和7年2月27日(2025.2.27)

(24)登録日 令和7年2月18日(2025.2.18)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 5/10

Z N A

A 6 1 K 35/12 (2015.01)

A 6 1 K 35/12

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 35/02

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

A 6 1 P 37/02

請求項の数 15 (全142頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2021-533530(P2021-533530)

(86)(22)出願日 令和1年12月13日(2019.12.13)

(65)公表番号 特表2022-513460(P2022-513460
A)

(43)公表日 令和4年2月8日(2022.2.8)

(86)国際出願番号 PCT/US2019/066223

(87)国際公開番号 WO2020/123938

(87)国際公開日 令和2年6月18日(2020.6.18)

審査請求日 令和4年12月12日(2022.12.12)

(31)優先権主張番号 62/779,971

(32)優先日 平成30年12月14日(2018.12.14)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/835,659

(32)優先日 平成31年4月18日(2019.4.18)

最終頁に続く

(73)特許権者 597160510

リジェネロン・ファーマシューティカル
ズ・インコーポレイテッドREGENERON PHARMACE
UTICALS, INC.

アメリカ合衆国10591-6707ニ

ューヨーク州タリータウン、オールド・

ソー・ミル・リバー・ロード777番

(74)代理人 100078282

弁理士 山本 秀策

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(72)発明者 ジャージョル, ジョーダン

アメリカ合衆国 ワシントン 98146

, シアトル, 37ティーエイチ アベ

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 二量体形成剤調節性免疫受容体複合体

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

非天然細胞であって、

(a) 第一の多量体形成ドメインポリペプチド、第一の膜貫通ドメイン、C D 1 3 7共刺激性ドメイン、およびC D 3一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに

(b) 細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチド、第二の膜貫通ドメイン、およびT N F R 2共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含み、

前記第一の多量体形成ドメインは、F K B Pポリペプチドを含み、前記第二の多量体形成ドメインは、F R Bポリペプチドを含むか、または

前記第一の多量体形成ドメインは、F R Bポリペプチドを含み、前記第二の多量体形成ドメインは、F K B Pポリペプチドを含み、

架橋因子は、前記非天然細胞表面上のポリペプチド複合体の形成を促進し、前記架橋因子は、前記第一および第二の多量体形成ドメインと関連付けられ、かつそれらの間に配置され、

前記架橋因子が、A P 2 1 9 6 7、シロリムス、エベロリムス、ノボリムス、ピメクロリムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス、およびゾタロリムスからなる群から選択される、非天然細胞。

【請求項2】

前記第一のポリペプチドが、C D 1 3 7共刺激性ドメインおよびC D 3一次シグナル

10

20

伝達ドメインを含む、請求項 1 に記載の非天然細胞。

【請求項 3】

前記第一および第二の多量体形成ドメインは、FRB T2098L および FKBP 12 から選択され、前記架橋因子は、シロリムスまたは AP21967 である、請求項 1 ~ 2 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

【請求項 4】

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、T 細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、CD3 α 、CD3 β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD4、CD5、CD8 α 、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、CD278、アムニオンレス (AMN: amnionless)、および programmed cell death 1 (PDCD1) からなる群から選択されるポリペプチドから選択される、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

10

【請求項 5】

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、CD4 膜貫通ドメイン、CD8 膜貫通ドメイン、および AMN 膜貫通ドメインからなる群から選択される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

【請求項 6】

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは、異なっている、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

20

【請求項 7】

前記細胞外結合ドメインは、抗体もしくはその抗原結合断片、受容体細胞外ドメイン、またはリガンドを含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

【請求項 8】

前記細胞外結合ドメインは、ラクダ Ig、リヤマ Ig、アルパカ Ig、Ig NAR、Fab' 断片、F(ab')₂ 断片、二特異性 Fab 二量体 (Fab₂)、三特異性 Fab 三量体 (Fab₃)、Fv、一本鎖 Fv タンパク質 (scFv)、bis-scFv、(scFv)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化 Fv タンパク質 (dsFv)、およびシングルドメイン抗体 (sdAb、ラクダ科 VHH、ナノボディ) からなる群から選択される抗体またはその抗原結合断片を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

30

【請求項 9】

前記細胞外結合ドメインが、一つ以上のラクダ科 VHH 抗体を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

【請求項 10】

前記細胞外結合ドメインは、アルファ葉酸受容体 (FR α)、 α _v β 6 インテグリン、B 細胞成熟抗原 (BCMA)、B7-H3 (CD276)、B7-H6、炭酸脱水素酵素 IX 型 (CAIX)、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、癌胎児性抗原 (CEA)、クローディン 6 (CLDN6)、クローディン 18 アイソフォーム 2 (CLDN18.2)、C-type lectin-like molecule-1 (CLL-1)、CD2 subset 1 (CS-1)、chondroitin sulfate proteoglycan 4 (CSPG4)、cutaneous T cell lymphoma-associated antigen 1 (CTAGE1)、delta like canonical Notch ligand 3 (DLL3)、上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR)、上皮細胞増殖因子受容体バリエーション II (EGFRvII)、epithelial glycoprotein 2 (EGP2)、epithelial glycoprotein 40 (EGP40)、上皮細胞接着分子 (EPCAM)

40

50

M)、ephrin type - A receptor 2 (EPHA2)、erb - b2 receptor tyrosine kinase 4 (ERBB4)、fibroblast activation protein (FAP)、Fc Receptor Like 5 (FCRL5)、fetal acetylcholinesterase receptor (AChR)、ガングリオシドG2 (GD2)、ガングリオシドG3 (GD3)、グリピカン - 3 (GPC3)、ErbB2 (HER2)を含むEGFRファミリー、HER2 p95、IL - 10R、IL - 13R2、Kappa、cancer / testis antigen 2 (LAGE - 1A)、Lambda、Lewis - Y (LeY)、L1 cell adhesion molecule (L1 - CAM)、melanoma antigen gene (MAGE) - A1、MAGE - A3、MAGE - A4、MAGE - A6、MAGEA10、melanoma antigen recognized by T cells 1 (MelanAまたはMART1)、メソテリン (MSLN)、MUC1、MUC16、MHC class I chain related proteins A (MICA)、MHC class I chain related proteins B (MICB)、神経細胞接着分子 (NCAM)、cancer / testis antigen 1 (NY - ESO - 1)、ポリシアル酸 ; placenta - specific 1 (PLAC1)、preferentially expressed antigen in melanoma (PRAME)、prostate stem cell antigen (PSCA)、前立腺特異的膜抗原 (PSMA)、receptor tyrosine kinase - like orphan receptor 1 (ROR1)、synovial sarcoma、X breakpoint 2 (SSX2)、サバイピン、tumor associated glycoprotein 72 (TAG72)、tumor endothelial marker 1 (TEM1 / CD248)、tumor endothelial marker 7 - related (TEM7R)、trophoblast glycoprotein (TPBG)、UL16 - binding protein (ULBP) 1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、血管内皮細胞増殖因子受容体2 (VEGFR2)、およびWilms tumor 1 (WT - 1)からなる群から選択される抗原に結合する、請求項1～9のいずれか一項に記載の非天然細胞。

【請求項11】

薬学的に許容される担体、および請求項1～10のいずれか一項に記載の非天然細胞を含む医薬組成物。

【請求項12】

癌または自己免疫性疾患の少なくとも一つの症状の治療、予防または改善における使用のための請求項11に記載の医薬組成物。

【請求項13】

前記癌は、肝癌、膵臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、精巣癌、膀胱癌、脳腫瘍、肉腫、頭頸部癌、骨癌、甲状腺癌、腎癌、または皮膚癌を含む、請求項12に記載の医薬組成物。

【請求項14】

悪性血液疾患の治療における使用のための請求項11に記載の医薬組成物。

【請求項15】

前記悪性血液疾患は、白血病、リンパ腫または多発性骨髄腫である、請求項14に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、米国特許法第119(e)の定めのもと、2019年4月18日に出願された米国仮特許出願第62/835,659号明細書、および2018年12月14日出

10

20

30

40

50

願された米国仮特許出願第 6 2 / 7 7 9 , 9 7 1 号明細書の利益を主張するものであり、当該出願は、その全体で参照により本明細書に援用される。

【 0 0 0 2 】

配列表に関する声明

本出願に関する配列表は紙媒体の代わりにテキストフォーマットで提出され、参照により本明細書に援用される。配列表を含有するテキストファイルの名称は、B L B D _ 1 1 3 _ 0 2 W O _ S T 2 5 . t x t である。テキストファイルは 1 5 7 K B であり、2 0 1 9 年 1 2 月 1 1 日に作成され、本明細書の出願と同時に E F S - W e b を介して電子的に提出される。

【 0 0 0 3 】

本開示は、養子細胞療法に関する。より具体的には、本開示は、養子免疫療法中の細胞シグナル伝達の開始と下流反応の空間的、および時間的な制御の調節を目的とした、化学的に制御されるシグナル伝達分子、細胞およびそれらの使用方法の改善に関するものである。

【背景技術】

【 0 0 0 4 】

関連分野に関する記載

世界中で癌は 1 9 7 5 年 ~ 2 0 0 0 年の間に倍増した。世界における罹患と死亡の 2 番目の主因は癌であり、2 0 1 2 年にはおよそ 1 4 1 0 万人が新たに発症し、8 2 0 万人が癌関連で死亡している。最も多い癌は乳癌、肺および気管支の癌、前立腺癌、結腸および直腸の癌、膀胱癌、皮膚のメラノーマ、非ホジキンリンパ腫、甲状腺癌、腎臓および腎盂の癌、子宮内膜癌、白血病、ならびに膵臓癌である。2 0 3 0 年までの新たな癌の発症数は、2 3 6 0 万に及ぶと予想されている。

【 0 0 0 5 】

養子細胞療法は、複雑な生物シグナルを伝達して癌を治療する強力なパラダイムとして浮上した。低分子医薬や生物医薬とは対照的に、養子細胞療法は多種多様な感受性および反応性のプログラム、そしてさらに明確化された遺伝子制御メカニズムによって、固有の治療タスクを発揮する可能性を有している。そうした治療的価値を実現するために、細胞は、局所的な生理学的環境と関連する化学的および / または生物学的な情報を理解し、統合する機構を備える必要がある。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 6 】

概して本開示は部分的に、二量体形成剤調節性免疫受容体複合体 (D A R I C : d i m e r i z i n g a g e n t r e g u l a t e d i m m u n o r e c e p t o r c o m p l e x) の組成物、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、ならびにそれらの作製方法および使用方法に関する。

【 0 0 0 7 】

様々な実施形態において、非天然細胞は、第一の多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、第一の共刺激性ドメイン、および / または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および第二の共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含み、この場合において架橋因子は、当該非天然細胞の表面上でポリペプチド複合体の形成を促進し、当該架橋因子は、当該第一と第二の多量体形成ドメインと会合され、およびその間に配置される。

【 0 0 0 8 】

ある実施形態では、当該第一および第二の多量体形成ドメインは、異なる。

【 0 0 0 9 】

ある実施形態では、当該第一および第二の共刺激性ドメインは、異なる。

【 0 0 1 0 】

さらなる実施形態では、第一の多量体形成ドメインおよび第二の多量体形成ドメインは、以下からなる群から選択される架橋因子と会合する：ラパマイシンまたはそのラパログ、クーマイシンまたはその誘導体、ジベレリンまたはその誘導体、アブシジン酸 (ABA) またはその誘導体、メトトレキサートまたはその誘導体、シクロスポリン A またはその誘導体、FK506 / シクロスポリン A (FKCsA) またはその誘導体、およびトリメトプリム (Tmp) - FK506 結合タンパク質 (FKBP) の合成リガンド (SLF) またはその誘導体。

【0011】

様々な実施形態では、第一の多量体形成ドメインおよび第二の多量体形成ドメインは、以下からなる群から選択されるペアである：FKBP と FKBP - rapamycin binding (FRB)、FKBP と カルシニューリン、FKBP と シクロフィリン、FKBP と 細菌ジヒドロ葉酸レダクターゼ (DHFR)、カルシニューリンと シクロフィリン、および PYR1-like 1 (PYL1) と abscisic acid insensitive 1 (ABI1)。

10

【0012】

一部の実施形態では、第一の多量体形成ドメインは、FKBP ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、第二の多量体形成ドメインは、FRB ポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。

【0013】

特定の実施形態では、第一の多量体形成ドメインは、FRB ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、第二の多量体形成ドメインは、FKBP ポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。

20

【0014】

追加の実施形態では、架橋因子は、以下からなる群から選択される：AP21967、シロリムス、エベロリムス、ノボリムス、ピメクロリムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス、およびゾタロリムス。

【0015】

様々な実施形態では、第一および第二の多量体形成ドメインは、FRB T2098L、および FKBP 12 から選択され、架橋因子は、シロリムスまたは AP21967 である。

30

【0016】

ある実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは独立して、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、CD3、CD3、CD3、CD3、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、CD278、アムニオンレス (AMN: amnionless)、および programmed cell death 1 (PDCD1) からなる群から選択されるポリペプチドから選択される。

【0017】

さらなる実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは独立して、CD4 膜貫通ドメイン、CD8 膜貫通ドメイン、および AMN 膜貫通ドメインからなる群から選択される。

40

【0018】

特定の実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは、異なっている。

【0019】

一部の実施形態では、共刺激性ドメインおよび / または一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ (ITAM: immunoreceptor tyrosine activation motif) を含有する。

【0020】

50

追加的な実施形態では、第一および第二の共刺激性ドメインは独立して、以下からなる群から選択される共刺激性分子から選択される：Toll様受容体1 (TLR1)、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、caspase recruitment domain family member 11 (CARD11)、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54 (ICAM)、CD83、CD94、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD278 (ICOS)、DNAX-Activation Protein 10 (DAP10)、Linker for activation of T-cells family member 1 (LAT)、SH2 Domain-Containing Leukocyte Protein Of 76 kD (SLP76)、T cell receptor associated transmembrane adaptor 1 (TRAT1)、TNFR2、TNFRS14、TNFRS18、TNFRS25、およびzeta chain of T cell receptor associated protein kinase 70 (ZAP70)。

10

【0021】

様々な実施形態では、第一の共刺激性ドメインは、CD28、CD134およびCD137からなる群から選択される共刺激性分子から単離され、第二の共刺激性ドメインは、CD28、CD278、TNFRS14、TNFRS18、TNFRS25、OX40またはTNFR2から単離される。

【0022】

20

特定の実施形態では、第一の共刺激性ドメインは、CD137から単離され、第二の共刺激性ドメインは、OX40またはTNFR2から単離される。

【0023】

さらなる実施形態では、第一の共刺激性ドメインは、CD137から単離され、第二の共刺激性ドメインは、OX40から単離される。

【0024】

特定の実施形態では、第一の共刺激性ドメインは、CD137から単離され、第二の共刺激性ドメインは、TNFR2から単離される。

【0025】

ある実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、以下からなる群から選択されるポリペプチドから単離される：FcR、FcR、CD3、CD3、CD3、CD3、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66d。

30

【0026】

一部の実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、CD3ポリペプチドから単離される。

【0027】

追加的な実施形態では、細胞外結合ドメインは、抗体もしくはその抗原結合断片、受容体細胞外ドメイン、またはリガンドを含む。

【0028】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、ラクダIg、リャマIg、アルパカIg、IgNAR、Fab'断片、F(ab')₂断片、二特異性Fab二量体(Fab₂)、三特異性Fab三量体(Fab₃)、Fv、一本鎖Fvタンパク質(scFv)、bis-scFv、(scFv)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化Fvタンパク質(dsFv)、およびシングルドメイン抗体(sdAb、ラクダ科VHH、ナノボディ)からなる群から選択される抗体またはその抗原結合断片を含む。

40

【0029】

さらなる実施形態では、細胞外結合ドメインは、ヒト化抗体またはその抗原結合断片を含有する。

【0030】

50

特定の実施形態では、細胞外結合ドメインは、ヒト抗体またはその抗原結合断片を含有する。

【0031】

追加的な実施形態では、細胞外結合ドメインは、s c F vを含む。

【0032】

特定の実施形態では、細胞外結合ドメインは、一つ以上のラクダ科V H H抗体を含む。

【0033】

ある実施形態では、細胞外結合ドメインは、腫瘍関連抗原(TAA)、腫瘍特異的抗原(TSA)、NKG2Dリガンド、T細胞受容体(TCR)リガンド、およびT CRリガンドからなる群から選択される抗原に結合する。

【0034】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、以下からなる群から選択される抗原に結合する：アルファ葉酸受容体(FR)、 $\alpha_v\beta_6$ インテグリン、B細胞成熟抗原(BCMA)、B7-H3(CD276)、B7-H6、炭酸脱水素酵素IX型(CAIX)、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、癌胎児性抗原(CEA)、クローディン6(CLDN6)、クローディン18アイソフォーム2(CLDN18.2)、C-type lectin-like molecule-1(CLL-1)、CD2 subset 1(CS-1)、chondroitin sulfate proteoglycan 4(CSPG4)、cutaneous T cell lymphoma-associated antigen 1(CTAGE1)、delta like canonical Notch ligand 3(DLL3)、上皮細胞増殖因子受容体(EGFR)、上皮細胞増殖因子受容体バリエーションIII(EGFRvIII)、epithelial glycoprotein 2(EGP2)、epithelial glycoprotein 40(EGP40)、上皮細胞接着分子(EPCAM)、ephrin type-A receptor 2(EPHA2)、erb-b2 receptor tyrosine kinase 4(ERBB4)、fibroblast activation protein(FAP)、Fc Receptor Like 5(FCRL5)、fetal acetylcholinesterase receptor(AchR)、ガングリオシドG2(GD2)、ガングリオシドG3(GD3)、グリピカン-3(GPC3)、ErbB2(HER2)を含むEGFRファミリー、HER2 p95、IL-10R、IL-13R α_2 、Kappa、cancer/testis antigen 2(LAGE-1A)、Lambda、Lewis-Y(LeY)、L1 cell adhesion molecule(L1-CAM)、melanoma antigen gene(MAGE)-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、melanoma antigen recognized by T cells 1(MelanAまたはMART1)、メソテリン(MSLN)、MUC1、MUC16、MHC class I chain related proteins A(MICA)、MHC class I chain related proteins B(MICB)、神経細胞接着分子(NCAM)、cancer/testis antigen 1(NY-ESO-1)、ポリシアル酸; placenta-specific 1(PLAC1)、preferentially expressed antigen in melanoma(PRAME)、prostate stem cell antigen(PSCA)、前立腺特異的膜抗原(PSMA)、receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 1(ROR1)、synovial sarcoma、X breakpoint 2(S SX2)、サバイピン、tumor associated glycoprotein 72(TAG72)、tumor endothelial marker 1(TEM1/CD248)、tumor endothelial marker 7-relate

10

20

30

40

50

d (T E M 7 R)、 t r o p h o b l a s t g l y c o p r o t e i n (T P B G)、
U L 1 6 - b i n d i n g p r o t e i n (U L B P) 1、U L B P 2、U L B P 3、
U L B P 4、U L B P 5、U L B P 6、血管内皮細胞増殖因子受容体 2 (V E G F R 2)
、および W i l m s t u m o r 1 (W T - 1)。

【 0 0 3 5 】

さらなる実施形態において、非天然細胞は、F K 5 0 6 結合タンパク質 (F K B P) 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体もしくはその抗原結合断片、F K B P - ラパマイシン結合 (F R B) 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および O X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含み、この場合において架橋因子は、当該非天然細胞の表面上でポリペプチド複合体の形成を促進し、当該架橋因子は、当該第一のポリペプチドと第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、およびその間に配置される。

10

【 0 0 3 6 】

様々な実施形態において、非天然細胞は、F K B P 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体もしくはその抗原結合断片、F R B 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および T N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含み、この場合において架橋因子は、当該非天然細胞の表面上でポリペプチド複合体の形成を促進し、当該架橋因子は、当該第一のポリペプチドと第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、およびその間に配置される。

20

【 0 0 3 7 】

ある実施形態において、非天然細胞は、F R B 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体もしくはその抗原結合断片、F K B P 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および O X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含み、この場合において架橋因子は、当該非天然細胞の表面上でポリペプチド複合体の形成を促進し、当該架橋因子は、当該第一のポリペプチドと第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、およびその間に配置される。

30

【 0 0 3 8 】

様々な実施形態において、非天然細胞は、F R B 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体もしくはその抗原結合断片、F K B P 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および T N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含み、この場合において架橋因子は、当該非天然細胞の表面上でポリペプチド複合体の形成を促進し、当該架橋因子は、当該第一のポリペプチドと第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、およびその間に配置される。

40

【 0 0 3 9 】

追加的实施形態では、架橋因子は、以下からなる群から選択される：A P 2 1 9 6 7、シロリムス、エベロリムス、ノボリムス、ピメクロリムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス、およびゾタロリムス。

【 0 0 4 0 】

さらなる実施形態において、F R B 多量体形成ドメインは、F R B T 2 0 9 8 L であり、F K B P 多量体形成ドメインは F K B P 1 2 であり、架橋因子は、シロリムスまたは A P 2 1 9 6 7 である。

【 0 0 4 1 】

50

特定の実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは独立して、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、CD3、CD3、CD3、CD3、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、AMN、およびPD1からなる群から選択されるポリペプチドから選択される。

【0042】

様々な実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは独立して、以下からなる群から選択されるポリペプチドから選択される：CD4膜貫通ドメインおよびCD8膜貫通ドメイン。

【0043】

一部の実施形態では、共刺激性ドメインおよび/または一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ(ITAM: immunoreceptor tyrosine activation motif)を含有する。

【0044】

ある実施形態では、共刺激性ドメインは、以下からなる群から選択される共刺激性分子から単離される：Toll様受容体1(TLR1)、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、caspase recruitment domain family member 11(CARD11)、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54(ICAM)、CD83、CD94、CD134(OX40)、CD137(4-1BB)、CD278(ICOS)、DNAX-Activation Protein 10(DAP10)、Linker for activation of T-cells family member 1(LAT)、SH2 Domain-Containing Leukocyte Protein Of 76 kD(SLP76)、T cell receptor associated transmembrane adaptor 1(TRAT1)、TNFR2、TNFRS14、TNFRS18、TNFRS25、およびzeta chain of T cell receptor associated protein kinase 70(ZAP70)。

【0045】

追加的な実施形態では、共刺激性ドメインは、以下からなる群から選択される共刺激性分子から単離される：CD28、CD134、およびCD137。

【0046】

様々な実施形態において、共刺激性ドメインは、CD137共刺激性分子から単離される。

【0047】

ある実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、以下からなる群から選択されるポリペプチドから単離される：FcR、FcR、CD3、CD3、CD3、CD3、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66d。

【0048】

特定の実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、CD3ポリペプチドから単離される。

【0049】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ラクダIg、リヤマIg、アルパカIg、IgNAR、Fab'断片、F(ab')₂断片、二特異性Fab二量体(Fab₂)、三特異性Fab三量体(Fab₃)、Fv、一本鎖Fvタンパク質(scFv)、bis-scFv、(scFv)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化Fvタンパク質(dsFv)、およびシングルドメイン抗体(sdAb、ラクダ科VHH、ナノボディ)からなる群から選択される。

【0050】

10

20

30

40

50

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒトまたはヒト化である。

【0051】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、s c F vまたは一つ以上のラクダ科V H H抗体を含む。

【0052】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍関連抗原(TAA)、腫瘍特異的抗原(TSA)、NK G2 Dリガンド、T細胞受容体(TCR)リガンド、および TCRリガンドからなる群から選択される抗原に結合する。

【0053】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、以下からなる群から選択される抗原に結合する：FR、 α インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、AChR、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2 p95、IL-10R、IL-13R α 2、Kappa、LAGE-1A、Lambda、LEY、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT-1。

【0054】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMA、B7-H3、CLDN6、CLDN18.2、DLL3、ERBB4、HER2、HER2 p95、MUC16、MICA、MICB、TAG72、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、およびULBP6に結合する。

【0055】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMA、B7-H3、CD19、CD20、CD22、CD33、CD79A、CD79B、および/またはEGFRvIIIに結合する。

【0056】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMAに結合する。

【0057】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD19に結合する。

【0058】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD20またはCD22に結合する。

【0059】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、B7-H3に結合する。

【0060】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD33に結合する。

【0061】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD79Aに結合する。

【0062】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD79Bに結合する。

【0063】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、EGFRvIIIに結合する。

【 0 0 6 4 】

一部の実施形態において、非天然細胞は、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および/またはC D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体もしくはその抗原結合断片、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、およびT N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含み、この場合において架橋因子は、当該非天然細胞の表面上でポリペプチド複合体の形成を促進し、当該架橋因子は、当該第一のポリペプチドと第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、およびその間に配置される。

【 0 0 6 5 】

10

様々な実施形態において、非天然細胞は、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および/またはC D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体もしくはその抗原結合断片、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、およびO X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含み、この場合において架橋因子は、当該非天然細胞の表面上でポリペプチド複合体の形成を促進し、当該架橋因子は、当該第一のポリペプチドと第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、およびその間に配置される。

【 0 0 6 6 】

20

ある実施形態において、非天然細胞は、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および/またはC D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体もしくはその抗原結合断片、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、およびT N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含み、この場合において架橋因子は、当該非天然細胞の表面上でポリペプチド複合体の形成を促進し、当該架橋因子は、当該第一のポリペプチドと第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、およびその間に配置される。

【 0 0 6 7 】

30

様々な実施形態において、非天然細胞は、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および/またはC D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体もしくはその抗原結合断片、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、およびO X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含み、この場合において架橋因子は、当該非天然細胞の表面上でポリペプチド複合体の形成を促進し、当該架橋因子は、当該第一のポリペプチドと第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、およびその間に配置される。

【 0 0 6 8 】

さらなる実施形態において、架橋因子は、A P 2 1 9 6 7 またはシロリムスである。

【 0 0 6 9 】

40

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ラクダI g、リャマI g、アルパカI g、I g N A R、F a b ' 断片、F (a b ') 2 断片、二特異性F a b 二量体 (F a b 2)、三特異性F a b 三量体 (F a b 3)、F v、一本鎖F v タンパク質 (s c F v)、b i s - s c F v、(s c F v) 2、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化F v タンパク質 (d s F v)、およびシングルドメイン抗体 (s d A b、ラクダ科V H H、ナノボディ) からなる群から選択される。

【 0 0 7 0 】

ある実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒトまたはヒト化である。

【 0 0 7 1 】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、s c F v または一つ以上のラクダ科V H H 抗体を含む。

50

【 0 0 7 2 】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍関連抗原（TAA）、腫瘍特異的抗原（TSA）、NK G2Dリガンド、T細胞受容体（TCR）リガンド、およびTCRリガンドからなる群から選択される抗原に結合する。

【 0 0 7 3 】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、以下からなる群から選択される抗原に結合する：FR、 α 6インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、Achr、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2 p95、IL-10R、IL-13R2、Kappa、LAGE-1A、Lambda、Ley、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN）、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT-1。

【 0 0 7 4 】

ある実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMA、B7-H3、CLDN6、CLDN18.2、DLL3、ERBB4、HER2、HER2 p95、MUC16、MICA、MICB、TAG72、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、およびULBP6に結合する。

【 0 0 7 5 】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMA、B7-H3、CD19、CD20、CD22、CD33、CD79A、CD79B、および/またはEGFRvIIIに結合する。

【 0 0 7 6 】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMAに結合する。

【 0 0 7 7 】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD19に結合する。

【 0 0 7 8 】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD20またはCD22に結合する。

【 0 0 7 9 】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、B7H3に結合する。

【 0 0 8 0 】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD33に結合する。

【 0 0 8 1 】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD79Aに結合する。

【 0 0 8 2 】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD79Bに結合する。

【 0 0 8 3 】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、EGFRvIIIに結合し、任意でこの場合において当該抗体は、EGFR806またはその抗原結合断片である。

【 0 0 8 4 】

特定の実施形態では、多量体形成ドメインは、第一のポリペプチドと第二のポリペプチドが発現されるとき、細胞外に局在する。

【 0 0 8 5 】

様々な実施形態では、細胞は、造血細胞である。

【 0 0 8 6 】

追加的な実施形態では、細胞は、T細胞である。

【 0 0 8 7 】

様々な実施形態では、細胞は、CD3+、CD4+、および/またはCD8+の細胞である。

【 0 0 8 8 】

特定の実施形態では、細胞は、免疫エフェクター細胞である。

【 0 0 8 9 】

さらなる実施形態では、細胞は、細胞傷害性Tリンパ球 (CTL: cytotoxic T lymphocyte)、腫瘍浸潤性リンパ球 (TIL: tumor infiltrating lymphocyte) またはヘルパーT細胞である。

【 0 0 9 0 】

ある実施形態では、細胞は、ナチュラルキラー (NK) 細胞またはナチュラルキラーT (NKT) 細胞である。

【 0 0 9 1 】

追加的な実施形態では、細胞の源は、末梢血単核細胞、骨髓、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位の組織、腹水、胸水、脾臓組織または腫瘍である。

【 0 0 9 2 】

様々な実施形態において、融合ポリペプチドは、第一の多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、第一の共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメイン、およびポリペプチド切断シグナルを含む第一のポリペプチド、ならびに細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および第二の共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含む。

【 0 0 9 3 】

一部の実施形態では、当該第一および第二の多量体形成ドメインは、異なる。

【 0 0 9 4 】

一部の実施形態では、当該第一および第二の共刺激性ドメインは、異なる。

【 0 0 9 5 】

特定の実施形態では、第一の多量体形成ドメインおよび第二の多量体形成ドメインは、以下からなる群から選択される架橋因子と会合する：ラパマイシンまたはそのラパログ、クーママイシンまたはその誘導体、ジベレリンまたはその誘導体、アブシジン酸 (ABA) またはその誘導体、メトトレキサートまたはその誘導体、シクロスポリンAまたはその誘導体、FK506/シクロスポリンA (FKCsA) またはその誘導体、およびトリメトプリム (Tmp) - FK506 結合タンパク質 (FKBP) の合成リガンド (SLF) またはその誘導体。

【 0 0 9 6 】

さらなる実施形態では、第一の多量体形成ドメインおよび第二の多量体形成ドメインは、以下からなる群から選択されるペアである：FKBPとFKBP-rapamycin binding (FRB)、FKBPとカルシニューリン、FKBPとシクロフィリン、FKBPと細菌ジヒドロ葉酸レダクターゼ (DHFR)、カルシニューリンとシクロフィリン、およびPYR1-like 1 (PYL1)とabscisic acid insensitive 1 (ABI1)。

【 0 0 9 7 】

様々な実施形態では、第一の多量体形成ドメインは、FKBPポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、第二の多量体形成ドメインは、FRBポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。

【 0 0 9 8 】

10

20

30

40

50

追加的な実施形態では、第一の多量体形成ドメインは、F R B ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、第二の多量体形成ドメインは、F K B P ポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。

【0099】

ある実施形態では、架橋因子は、以下からなる群から選択される：A P 2 1 9 6 7、シロリムス、エベロリムス、ノボリムス、ピメクロリムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス、およびゾタロリムス。

【0100】

様々な実施形態では、第一および第二の多量体形成ドメインは、F R B T 2 0 9 8 L、およびF K B P 1 2 から選択され、架橋因子は、シロリムスまたはA P 2 1 9 6 7 である。

10

【0101】

さらなる実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは独立して、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 4、C D 5、C D 8 、C D 9、C D 1 6、C D 2 2、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 3、C D 3 7、C D 4 5、C D 6 4、C D 8 0、C D 8 6、C D 1 3 4、C D 1 3 7、C D 1 5 2、C D 1 5 4、C D 2 7 8、アムニオンレス (A M N : a m n i o n l e s s)、およびp r o g r a m m e d c e l l d e a t h 1 (P D C D 1) からなる群から選択されるポリペプチドから選択される。

【0102】

20

特定の実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは独立して、C D 4 膜貫通ドメイン、C D 8 膜貫通ドメイン、およびA M N 膜貫通ドメインからなる群から選択される。

【0103】

追加的な実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは、異なっている。

【0104】

ある実施形態では、共刺激性ドメインおよび/または一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ (I T A M : i m m u n o r e c e p t o r t y r o s i n e a c t i v a t i o n m o t i f) を含有する。

30

【0105】

様々な実施形態では、第一および第二の共刺激性ドメインは独立して、以下からなる群から選択される共刺激性分子から選択される：T o l l 様受容体 1 (T L R 1)、T L R 2、T L R 3、T L R 4、T L R 5、T L R 6、T L R 7、T L R 8、T L R 9、T L R 1 0、c a s p a s e r e c r u i t m e n t d o m a i n f a m i l y m e m b e r 1 1 (C A R D 1 1)、C D 2、C D 7、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 0、C D 4 0、C D 5 4 (I C A M)、C D 8 3、C D 9 4、C D 1 3 4 (O X 4 0)、C D 1 3 7 (4 - 1 B B)、C D 2 7 8 (I C O S)、D N A X - A c t i v a t i o n P r o t e i n 1 0 (D A P 1 0)、L i n k e r f o r a c t i v a t i o n o f T - c e l l s f a m i l y m e m b e r 1 (L A T)、S H 2 D o m a i n - C o n t a i n i n g L e u k o c y t e P r o t e i n O f 7 6 k D (S L P 7 6)、T c e l l r e c e p t o r a s s o c i a t e d t r a n s m e m b r a n e a d a p t o r 1 (T R A T 1)、T N F R 2、T N F R S 1 4、T N F R S 1 8、T N F R S 2 5、およびz e t a c h a i n o f T c e l l r e c e p t o r a s s o c i a t e d p r o t e i n k i n a s e 7 0 (Z A P 7 0)。

40

【0106】

特定の実施形態では、第一の共刺激性ドメインは、C D 2 8、C D 1 3 4 およびC D 1 3 7 からなる群から選択される共刺激性分子から単離され、第二の共刺激性ドメインは、C D 2 8、C D 2 7 8、T N F R S 1 4、T N F R S 1 8、T N F R S 2 5、O X 4 0 またはT N F R 2 から単離される。

50

【0107】

一部の実施形態では、第一の共刺激性ドメインは、CD137から単離され、第二の共刺激性ドメインは、OX40またはTNFR2から単離される。

【0108】

さらなる実施形態では、第一の共刺激性ドメインは、CD137から単離され、第二の共刺激性ドメインは、OX40から単離される。

【0109】

特定の実施形態では、第一の共刺激性ドメインは、CD137から単離され、第二の共刺激性ドメインは、TNFR2から単離される。

【0110】

追加的な実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、以下からなる群から選択されるポリペプチドから単離される：FcR、FcR、CD3、CD3、CD3、CD3、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66d。

【0111】

特定の実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、CD3ポリペプチドから単離される。

【0112】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、抗体もしくはその抗原結合断片、受容体細胞外ドメイン、またはリガンドを含む。

【0113】

追加的な実施形態では、細胞外結合ドメインは、ラクダIg、リャマIg、アルパカIg、IgNAR、Fab'断片、F(ab')₂断片、二特異性Fab二量体(Fab₂)、三特異性Fab三量体(Fab₃)、Fv、一本鎖Fvタンパク質(scFv)、bis-scFv、(scFv)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化Fvタンパク質(dsFv)、およびシングルドメイン抗体(sdAb、ラクダ科VHH、ナノボディ)からなる群から選択される抗体またはその抗原結合断片を含む。

【0114】

さらなる実施形態では、細胞外結合ドメインは、ヒト化抗体またはその抗原結合断片を含有する。

【0115】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、ヒト抗体またはその抗原結合断片を含有する。

【0116】

一部の実施形態では、細胞外結合ドメインは、scFvを含む。

【0117】

ある実施形態では、細胞外結合ドメインは、一つ以上のラクダ科VHH抗体を含む。

【0118】

追加的な実施形態では、細胞外結合ドメインは、腫瘍関連抗原(TAA)、腫瘍特異的抗原(TSA)、NKG2Dリガンド、T細胞受容体(TCR)リガンド、およびTCRリガンドからなる群から選択される抗原に結合する。

【0119】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、以下からなる群から選択される抗原に結合する：FR、 α _v β ₆インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、AchR、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2 p95、IL-1

10

20

30

40

50

OR、IL-13R₂、Kappa、LAGE-1A、Lambda、LeY、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT-1。

【0120】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、以下からなる群から選択される抗原に結合する：BCMA、B7-H3、CLDN6、CLDN18.2、DLL3、ERBB4、HER2、HER2 p95、MUC16、MICA、MICB、TAG72、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、およびULBP6。

10

【0121】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、以下からなる群から選択される抗原に結合する：BCMA、B7-H3、CD19、CD20、CD22、CD33、CD79A、CD79B、および/またはEGFRvIII。

【0122】

追加的な実施形態において、融合ポリペプチドは、第一の多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメイン、ポリペプチド切断シグナルを含む第一のポリペプチド、ならびに細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびOX40共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含む。

20

【0123】

特定の実施形態において、融合ポリペプチドは、第一の多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメイン、ポリペプチド切断シグナルを含む第一のポリペプチド、ならびに細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびTNFR2共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含む。

30

【0124】

さらなる実施形態では、第一および第二の多量体形成ドメインは、同一である。

【0125】

ある実施形態では、当該第一および第二の多量体形成ドメインは、異なる。

【0126】

様々な実施形態では、第一の多量体形成ドメインおよび第二の多量体形成ドメインは、以下からなる群から選択される架橋因子と会合する：ラパマイシンまたはそのラパログ、クーママイシンまたはその誘導体、ジベレリンまたはその誘導体、ABAまたはその誘導体、メトトレキサートまたはその誘導体、シクロスポリンAまたはその誘導体、FKCSAまたはその誘導体、およびSLFまたはその誘導体。

40

【0127】

特定の実施形態では、第一の多量体形成ドメインおよび第二の多量体形成ドメインは、以下からなる群から選択されるペアである：FKBPとFRB、FKBPとカルシニューリン、FKBPとシクロフィリン、FKBPとDHFR、カルシニューリンとシクロフィリン、およびPYL1とABI1。

【0128】

追加的な実施形態では、第一の多量体形成ドメインは、FKBPポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、第二の多量体形成ドメインは、FRBポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。

【0129】

50

特定の実施形態では、第一の多量体形成ドメインは、F R Bポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、第二の多量体形成ドメインは、F K B Pポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。

【0130】

一部の実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは独立して、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 4、C D 5、C D 8 、C D 9、C D 1 6、C D 2 2、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 3、C D 3 7、C D 4 5、C D 6 4、C D 8 0、C D 8 6、C D 1 3 4、C D 1 3 7、C D 1 5 2、C D 1 5 4、A M N、およびP D C D 1 からなる群から選択されるポリペプチドから選択される。

10

【0131】

さらなる実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは、以下からなる群から独立して選択される：C D 4 膜貫通ドメインおよびC D 8 膜貫通ドメイン。

【0132】

特定の実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは、同一である。

【0133】

追加的な実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは、異なっている。

【0134】

様々な実施形態では、共刺激性ドメインおよび/または一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ(I T A M : i m m u n o r e c e p t o r t y r o s i n e a c t i v a t i o n m o t i f) を含有する。

20

【0135】

さらなる実施形態では、共刺激性ドメインは、以下からなる群から選択される共刺激性分子から単離される：T L R 1、T L R 2、T L R 3、T L R 4、T L R 5、T L R 6、T L R 7、T L R 8、T L R 9、T L R 1 0、C A R D 1 1、C D 2、C D 7、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 0、C D 4 0、C D 5 4 (I C A M)、C D 8 3、C D 9 4、C D 1 3 4 (O X 4 0)、C D 1 3 7 (4 - 1 B B)、C D 2 7 8 (I C O S)、D A P 1 0、L A T、S L P 7 6、T R A T 1、T N F R 2、T N F R S 1 4、T N F R S 1 8、T N F R S 2 5、およびZ A P 7 0。

30

【0136】

特定の実施形態では、共刺激性ドメインは、以下からなる群から選択される共刺激性分子から単離される：C D 2 8、C D 1 3 4、およびC D 1 3 7。

【0137】

一部の実施形態において、共刺激性ドメインは、C D 1 3 7 共刺激性分子から単離される。

【0138】

ある実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、以下からなる群から選択されるポリペプチドから単離される：F c R 、F c R 、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 2 2、C D 7 9 a、C D 7 9 b、およびC D 6 6 d。

40

【0139】

追加的な実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、C D 3 ポリペプチドから単離される。

【0140】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、抗体もしくはその抗原結合断片、受容体細胞外ドメイン、またはリガンドを含む。

【0141】

ある実施形態では、細胞外結合ドメインは、ラクダI g、リヤマI g、アルパカI g、I g N A R、F a b ' 断片、F (a b ') 2 断片、二特異性F a b 二量体(F a b 2)、三

50

特異性 F a b 三量体 (F a b 3)、F v、一本鎖 F v タンパク質 (s c F v)、b i s - s c F v、(s c F v) 2、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化 F v タンパク質 (d s F v)、およびシングルドメイン抗体 (s d A b、ラクダ科 V H H、ナノボディ) からなる群から選択される抗体または抗原結合断片を含む。

【 0 1 4 2 】

特定の実施形態では、細胞外結合ドメインは、ヒト化抗体またはその抗原結合断片を含む。

【 0 1 4 3 】

さらなる実施形態では、細胞外結合ドメインは、ヒト抗体またはその抗原結合断片を含む。

10

【 0 1 4 4 】

特定の実施形態では、細胞外結合ドメインは、s c F v を含む。

【 0 1 4 5 】

追加的な実施形態では、細胞外結合ドメインは、一つ以上のラクダ科 V H H 抗体を含む。

【 0 1 4 6 】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、腫瘍関連抗原 (T A A)、腫瘍特異的抗原 (T S A)、N K G 2 D リガンド、T 細胞受容体 (T C R) リガンド、および T C R リガンドからなる群から選択される抗原に結合する。

【 0 1 4 7 】

さらなる実施形態では、細胞外結合ドメインは、以下からなる群から選択される抗原に結合する：F R 、 ν 6 インテグリン、B C M A、B 7 - H 3、B 7 - H 6、C A I X、C D 1 6、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 0、C D 3 3、C D 3 7、C D 3 8、C D 4 4、C D 4 4 v 6、C D 4 4 v 7 / 8、C D 7 0、C D 7 9 a、C D 7 9 b、C D 1 2 3、C D 1 3 3、C D 1 3 8、C D 1 7 1、C E A、C L D N 6、C L D N 1 8 . 2、C L L - 1、C S - 1、C S P G 4、C T A G E 1、D L L 3、E G F R、E G F R v I I I、E G P 2、E G P 4 0、E P C A M、E P H A 2、E R B B 4、F A P、F C R L 5、A c h R、G D 2、G D 3、G P C 3、H E R 2、H E R 2 p 9 5、I L - 1 0 R 、I L - 1 3 R 2、K a p p a、L A G E - 1 A、L a m b d a、L e Y、L 1 - C A M、M A G E - A 1、M A G E - A 3、M A G E - A 4、M A G E - A 6、M A G E A 1 0、M e l a n A または M A R T 1、S L N)、M U C 1、M U C 1 6、M I C A、M I C B、N C A M、N Y - E S O - 1、P L A C 1、P R A M E、P S C A、P S M A、R O R 1、S S X 2、サバイピン、T A G 7 2、T E M 1 / C D 2 4 8、T E M 7 R、T P B G、U L B P 1、U L B P 2、U L B P 3、U L B P 4、U L B P 5、U L B P 6、V E G F R 2、および W T - 1。

20

【 0 1 4 8 】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、以下からなる群から選択される抗原に結合する：B C M A、B 7 - H 3、C L D N 6、C L D N 1 8 . 2、D L L 3、E R B B 4、H E R 2、H E R 2 p 9 5、M U C 1 6、M I C A、M I C B、T A G 7 2、U L B P 1、U L B P 2、U L B P 3、U L B P 4、U L B P 5、および U L B P 6。

30

40

【 0 1 4 9 】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、以下からなる群から選択される抗原に結合する：B C M A、B 7 - H 3、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 3、C D 7 9 A、C D 7 9 B、および / または E G F R v I I I。

【 0 1 5 0 】

特定の実施形態において、融合ポリペプチドは、F K B P 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および / または一次シグナル伝達ドメイン、ポリペプチド切断シグナルを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体またはその抗原結合断片、F R B 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および O X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリ

50

ペプチドを含む。

【 0 1 5 1 】

一部の実施形態において、融合ポリペプチドは、F K B P 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および／または一次シグナル伝達ドメイン、ポリペプチド切断シグナルを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体またはその抗原結合断片、F R B 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびT N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含む。

【 0 1 5 2 】

様々な実施形態において、融合ポリペプチドは、F R B 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および／または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、抗体またはその抗原結合断片、F K B P 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびO X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含む。

10

【 0 1 5 3 】

追加的な実施形態において、融合ポリペプチドは、F R B 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および／または一次シグナル伝達ドメイン、ポリペプチド切断シグナルを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体またはその抗原結合断片、F K B P 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびT N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含む。

20

【 0 1 5 4 】

特定の実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは独立して、T 細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 4、C D 5、C D 8 、C D 9、C D 1 6、C D 2 2、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 3、C D 3 7、C D 4 5、C D 6 4、C D 8 0、C D 8 6、C D 1 3 4、C D 1 3 7、C D 1 5 2、C D 1 5 4、A M N、およびP D C D 1 からなる群から選択されるポリペプチドから選択される。

【 0 1 5 5 】

様々な実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは独立して、以下からなる群から選択されるポリペプチドから選択される：C D 4 膜貫通ドメインおよびC D 8 膜貫通ドメイン。

30

【 0 1 5 6 】

さらなる実施形態では、共刺激性ドメインおよび／または一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ (I T A M : i m m u n o r e c e p t o r t y r o s i n e a c t i v a t i o n m o t i f) を含有する。

【 0 1 5 7 】

ある実施形態では、共刺激性ドメインは、以下からなる群から選択される共刺激性分子から単離される：T L R 1、T L R 2、T L R 3、T L R 4、T L R 5、T L R 6、T L R 7、T L R 8、T L R 9、T L R 1 0、C A R D 1 1、C D 2、C D 7、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 0、C D 4 0、C D 5 4 (I C A M)、C D 8 3、C D 9 4、C D 1 3 4 (O X 4 0)、C D 1 3 7 (4 - 1 B B)、C D 2 7 8 (I C O S)、D A P 1 0、L A T、S L P 7 6、T R A T 1、T N F R 2、T N F R S 1 4、T N F R S 1 8、T N F R S 2 5、およびZ A P 7 0。

40

【 0 1 5 8 】

様々な実施形態では、共刺激性ドメインは、以下からなる群から選択される共刺激性分子から単離される：C D 2 8、C D 1 3 4、およびC D 1 3 7。

【 0 1 5 9 】

追加的な実施形態において、共刺激性ドメインは、C D 1 3 7 共刺激性分子から単離される。

50

【0160】

一部の実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、以下からなる群から選択されるポリペプチドから単離される：FcR、FcR、CD3、CD3、CD3、CD3、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66d。

【0161】

さらなる実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、CD3ポリペプチドから単離される。

【0162】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ラクダIg、リヤマIg、アルパカIg、IgNAR、Fab'断片、F(ab')₂断片、二特異性Fab二量体(Fab₂)、三特異性Fab三量体(Fab₃)、Fv、一本鎖Fvタンパク質(scFv)、bis-scFv、(scFv)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化Fvタンパク質(dsFv)、およびシングルドメイン抗体(sdAb、ラクダ科VHH、ナノボディ)からなる群から選択される。

【0163】

ある実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒトまたはヒト化である。

【0164】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、scFvまたは一つ以上のラクダ科VHH抗体を含む。

【0165】

ある実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍関連抗原(TAA)、腫瘍特異的抗原(TSA)、NKG2Dリガンド、T細胞受容体(TCR)リガンド、およびTCRリガンドからなる群から選択される抗原に結合する。

【0166】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、以下からなる群から選択される抗原に結合する：FR、v₆インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、Achr、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2p95、IL-10R、IL-13R₂、Kappa、LAGE-1A、Lambda、Ley、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT-1。

【0167】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMA、B7-H3、CLDN6、CLDN18.2、DLL3、ERBB4、HER2、HER2p95、MUC16、MICA、MICB、TAG72、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、およびULBP6に結合する。

【0168】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMA、B7-H3、CD19、CD20、CD22、CD33、CD79A、CD79B、および/またはEGFRvIIIに結合する。

【0169】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMAに結合する。

【 0 1 7 0 】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、C D 1 9 に結合する。

【 0 1 7 1 】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、C D 2 0 またはC D 2 2 に結合する。

【 0 1 7 2 】

ある実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、B 7 - H 3 に結合する。

【 0 1 7 3 】

ある実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、C D 3 3 に結合する。

【 0 1 7 4 】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、C D 7 9 A に結合する。

【 0 1 7 5 】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、C D 7 9 B に結合する。

【 0 1 7 6 】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、E G F R v I I I に結合する。

【 0 1 7 7 】

様々な実施形態において、融合ポリペプチドは、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および/またはC D 3 一次シグナル伝達ドメイン、ポリペプチド切断シグナルを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体またはその抗原結合断片、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、およびT N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含む。

【 0 1 7 8 】

特定の実施形態において、融合ポリペプチドは、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および/またはC D 3 一次シグナル伝達ドメイン、ポリペプチド切断シグナルを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体またはその抗原結合断片、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、およびO X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含む。

【 0 1 7 9 】

さらなる実施形態において、融合ポリペプチドは、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および/またはC D 3 一次シグナル伝達ドメイン、ポリペプチド切断シグナルを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体またはその抗原結合断片、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、およびT N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含む。

【 0 1 8 0 】

様々な実施形態において、融合ポリペプチドは、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および/またはC D 3 一次シグナル伝達ドメイン、ポリペプチド切断シグナルを含む第一のポリペプチド、ならびに抗体またはその抗原結合断片、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、およびO X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチドを含む。

【 0 1 8 1 】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ラクダI g、リャマI g、アルパカI g、I g N A R、F a b ' 断片、F (a b ') 2 断片、二特異性F a b 二量体 (F a b 2)、三特異性F a b 三量体 (F a b 3)、F v、一本鎖F v タンパク質 (s c F v)、b i s - s c F v、(s c F v) 2、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化F v タンパク質 (d s F v)、およびシングルドメイン抗体 (s d A b、ラクダ科V H H、ナノボディ) からなる群から選択される。

10

20

30

40

50

【0182】

ある実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒトまたはヒト化である。

【0183】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、s c F vまたは一つ以上のラクダ科V H H抗体を含む。

【0184】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍関連抗原(TAA)、腫瘍特異的抗原(TSA)、NKG2Dリガンド、T細胞受容体(TCR)リガンド、およびTCRリガンドからなる群から選択される抗原に結合する。

【0185】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、以下からなる群から選択される抗原に結合する：FR、 α 6インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、Achr、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2 p95、IL-10R、IL-13R2、Kappa、LAGE-1A、Lambda、Ley、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT-1。

【0186】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMA、B7-H3、CLDN6、CLDN18.2、DLL3、ERBB4、HER2、HER2 p95、MUC16、MICA、MICB、TAG72、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、およびULBP6に結合する。

【0187】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMA、B7-H3、CD19、CD20、CD22、CD33、CD79A、CD79B、および/またはEGFRvIIIに結合する。

【0188】

ある実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMAに結合する。

【0189】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD19に結合する。

【0190】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD20またはCD22に結合する。

【0191】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、B7-H3に結合する。

【0192】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD33に結合する。

【0193】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD79Aに結合する。

【0194】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD79Bに結合する。

【0195】

10

20

30

40

50

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、E G F R v I I Iに結合し、任意でこの場合において当該抗体は、E G F R 8 0 6またはその抗原結合断片である。

【0196】

さらなる実施形態では、多量体形成ドメインは、第一のポリペプチドと第二のポリペプチドが発現されるとき、細胞外に局在する。

【0197】

ある実施形態では、ポリペプチド切断シグナルは、ウイルス自己切断ポリペプチドである。

【0198】

特定の実施形態では、ポリペプチド切断シグナルは、ウイルス自己切断2Aポリペプチドである。

10

【0199】

様々な実施形態では、ポリペプチド切断シグナルは、以下からなる群から選択されるウイルス自己切断ポリペプチドである：口蹄疫ウイルス(FMDV)(F2A)ペプチド、ウマ鼻炎Aウイルス(ERAV)(E2A)ペプチド、Thosea asignaウイルス(TaV)(T2A)ペプチド、ブタテッシュウイルス-1(PTV-1)(P2A)ペプチド、タイロウイルス2Aペプチド、および脳心筋炎ウイルス2Aペプチド。

【0200】

一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、本明細書において予期される第一もしくは第二のポリペプチドまたは融合ポリペプチドをコードする。

20

【0201】

特定の実施形態では、cDNAは、本明細書において予期される第一もしくは第二のポリペプチドまたは融合ポリペプチドをコードする。

【0202】

追加的な実施形態では、RNAは、本明細書において予期される第一もしくは第二のポリペプチドまたは融合ポリペプチドをコードする。

【0203】

様々な実施形態では、ベクターは、本明細書に予期されるポリヌクレオチドを含有する。

【0204】

特定の実施形態では、ベクターは、発現ベクターである。

30

【0205】

追加的な実施形態では、ベクターは、トランスポゾンである。

【0206】

ある実施形態では、ベクターは、piggyBACトランスポゾン、またはSleeping Beautyトランスポゾンである。

【0207】

さらなる実施形態では、ベクターは、ウイルスベクターである。

【0208】

様々な実施形態では、ベクターは、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター、ヘルペスウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、またはレトロウイルスベクターである。

40

【0209】

一部の実施形態では、レトロウイルスベクターは、レンチウイルスベクターである。

【0210】

一部の実施形態では、レンチウイルスベクターは、ヒト免疫不全ウイルス1(HIV-1)、ヒト免疫不全ウイルス2(HIV-2)、ピスナ-マエディウイルス(VMV)ウイルス；ヤギ関節炎-脳炎ウイルス(CAEV)、ウマ伝染性貧血ウイルス(EIAV)、ネコ免疫不全ウイルス(FIV)、ウシ免疫不全ウイルス(BIV)、およびサル免疫不全ウイルス(SIV)からなる群から選択される。

【0211】

50

特定の実施形態では、組成物は、本明細書に予期される非天然細胞、融合ポリペプチド、ポリヌクレオチド、またはベクターを含有する。

【0212】

様々な実施形態では、医薬組成物は、薬学的に許容可能な担体と、本明細書に予期される非天然細胞、融合ポリペプチド、ポリヌクレオチド、またはベクターを含有する。

【0213】

追加的な実施形態では、その必要のある対象を治療する方法は、本明細書に予期される組成物の有効量を当該対象に投与することを含む。

【0214】

さらなる実施形態では、癌、感染性疾患、自己免疫性疾患、炎症性疾患および免疫不全の少なくとも一つの症状、もしくはそれらに関連する状態を治療、予防または改善する方法は、本明細書に予期される組成物の有効量を対象に投与することを含む。

10

【0215】

特定の実施形態では、固形癌を治療する方法は、本明細書に予期される組成物の有効量を対象に投与することを含む。

【0216】

様々な実施形態では、固形癌は、肝癌、膵臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、精巣癌、膀胱癌、脳腫瘍、肉腫、頭頸部癌、骨癌、甲状腺癌、腎癌、または皮膚癌を含む。

【0217】

追加的な実施形態では、固形癌は、膵臓癌、肺癌または乳癌である。

20

【0218】

ある実施形態では、悪性血液疾患を治療する方法は、本明細書に予期される組成物の有効量を対象に投与することを含む。

【0219】

様々な実施形態では、悪性血液疾患は、白血病、リンパ腫または多発性骨髄腫である。

【0220】

一部の実施形態では、ポリペプチド複合体は、第一の多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、第一の共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および第二の共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに当該第一のポリペプチドと当該第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、その間に配置される架橋因子を含む。

30

【0221】

特定の実施形態では、当該第一および第二の多量体形成ドメインは、異なる。

【0222】

様々な実施形態では、当該第一および第二の共刺激性ドメインは、異なる。

【0223】

さらなる実施形態では、第一の多量体形成ドメインおよび第二の多量体形成ドメインは、以下からなる群から選択される架橋因子と会合する：ラパマイシンまたはそのラパログ、クーママイシンまたはその誘導体、ジベレリンまたはその誘導体、アブシジン酸 (ABA) またはその誘導体、メトトレキサートまたはその誘導体、シクロスポリン A またはその誘導体、FK506 / シクロスポリン A (FKCs) またはその誘導体、およびトリメトプリム (Tpm) - FK506 結合タンパク質 (FKBP) の合成リガンド (SLF) またはその誘導体。

40

【0224】

追加的な実施形態では、第一の多量体形成ドメインおよび第二の多量体形成ドメインは、以下からなる群から選択されるペアである：FKBP と FKBP - rapamycin binding (FRB)、FKBP と カルシニューリン、FKBP と シクロフィリン、FKBP と 細菌ジヒドロ葉酸レダクターゼ (DHFR)、カルシニューリンと シクロフィ

50

リン、および P Y R 1 - l i k e 1 (P Y L 1) と a b s c i s s i c a c i d i n s e n s i t i v e 1 (A B I 1)。

【 0 2 2 5 】

様々な実施形態では、第一の多量体形成ドメインは、F K B P ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、第二の多量体形成ドメインは、F R B ポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。

【 0 2 2 6 】

特定の実施形態では、第一の多量体形成ドメインは、F R B ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、第二の多量体形成ドメインは、F K B P ポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。

10

【 0 2 2 7 】

ある実施形態では、架橋因子は、以下からなる群から選択される：A P 2 1 9 6 7、シロリムス、エベロリムス、ノボリムス、ピメクロリムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス、およびゾタロリムス。

【 0 2 2 8 】

一部の実施形態では、第一および第二の多量体形成ドメインは、F R B T 2 0 9 8 L、および F K B P 1 2 から選択され、架橋因子は、シロリムスまたは A P 2 1 9 6 7 である。

【 0 2 2 9 】

さらなる実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは独立して、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 4、C D 5、C D 8 、C D 9、C D 1 6、C D 2 2、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 3、C D 3 7、C D 4 5、C D 6 4、C D 8 0、C D 8 6、C D 1 3 4、C D 1 3 7、C D 1 5 2、C D 1 5 4、C D 2 7 8、アムニオンレス (A M N : a m n i o n l e s s)、および p r o g r a m m e d c e l l d e a t h 1 (P D C D 1) からなる群から選択されるポリペプチドから選択される。

20

【 0 2 3 0 】

様々な実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは独立して、C D 4 膜貫通ドメイン、C D 8 膜貫通ドメイン、および A M N 膜貫通ドメインからなる群から選択される。

30

【 0 2 3 1 】

一部の実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは、異なる。

【 0 2 3 2 】

追加的な実施形態では、共刺激性ドメインおよび/または一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ (I T A M : i m m u n o r e c e p t o r t y r o s i n e a c t i v a t i o n m o t i f) を含有する。

【 0 2 3 3 】

さらなる実施形態では、第一および第二の共刺激性ドメインは独立して、以下からなる群から選択される共刺激性分子から選択される：T o l l 様受容体 1 (T L R 1)、T L R 2、T L R 3、T L R 4、T L R 5、T L R 6、T L R 7、T L R 8、T L R 9、T L R 1 0、c a s p a s e r e c r u i t m e n t d o m a i n f a m i l y m e m b e r 1 1 (C A R D 1 1)、C D 2、C D 7、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 0、C D 4 0、C D 5 4 (I C A M)、C D 8 3、C D 9 4、C D 1 3 4 (O X 4 0)、C D 1 3 7 (4 - 1 B B)、C D 2 7 8 (I C O S)、D N A X - A c t i v a t i o n P r o t e i n 1 0 (D A P 1 0)、L i n k e r f o r a c t i v a t i o n o f T - c e l l s f a m i l y m e m b e r 1 (L A T)、S H 2 D o m a i n - C o n t a i n i n g L e u k o c y t e P r o t e i n O f 7 6 k D (S L P 7 6)、T c e l l r e c e p t o r a s s o c i a t e d t r a n s m e m b r a n e a d a p t o r 1 (T R A T 1)、T N F R 2、T N F R S 1 4、T N F R S 1 8、T N F R S 2 5、および z e t a c h a i n o f T c e l l r e c e p t o r a

40

50

associated protein kinase 70 (ZAP70)。

【0234】

特定の実施形態では、第一の共刺激性ドメインは、CD28、CD134およびCD137からなる群から選択される共刺激性分子から単離され、第二の共刺激性ドメインは、CD28、CD278、TNFRS14、TNFRS18、TNFRS25、OX40またはTNFR2から単離される。

【0235】

追加的な実施形態では、第一の共刺激性ドメインは、CD137から単離され、第二の共刺激性ドメインは、OX40またはTNFR2から単離される。

【0236】

様々な実施形態では、第一の共刺激性ドメインは、CD137から単離され、第二の共刺激性ドメインは、OX40から単離される。

【0237】

ある実施形態では、第一の共刺激性ドメインは、CD137から単離され、第二の共刺激性ドメインは、TNFR2から単離される。

【0238】

さらなる実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、以下からなる群から選択されるポリペプチドから単離される：FcR、FcR、CD3、CD3、CD3、CD3、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66d。

【0239】

さらなる実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、CD3ポリペプチドから単離される。

【0240】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、抗体もしくはその抗原結合断片、受容体細胞外ドメイン、またはリガンドを含む。

【0241】

一部の実施形態では、細胞外結合ドメインは、ラクダIg、リヤマIg、アルパカIg、IgNAR、Fab'断片、F(ab')₂断片、二特異性Fab二量体(Fab₂)、三特異性Fab三量体(Fab₃)、Fv、一本鎖Fvタンパク質(scFv)、bis-scFv、(scFv)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化Fvタンパク質(dsFv)、およびシングルドメイン抗体(sdAb、ラクダ科VHH、ナノボディ)からなる群から選択される抗体またはその抗原結合断片を含む。

【0242】

追加的な実施形態では、細胞外結合ドメインは、ヒト化抗体またはその抗原結合断片を含有する。

【0243】

ある実施形態では、細胞外結合ドメインは、ヒト抗体またはその抗原結合断片を含有する。

【0244】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、scFvを含む。

【0245】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、一つ以上のラクダ科VHH抗体を含む。

【0246】

追加的な実施形態では、細胞外結合ドメインは、腫瘍関連抗原(TAA)、腫瘍特異的抗原(TSA)、NKG2Dリガンド、T細胞受容体(TCR)リガンド、およびTCRリガンドからなる群から選択される抗原に結合する。

【0247】

特定の実施形態では、細胞外結合ドメインは、以下からなる群から選択される抗原に結合する：FR、 α _v β ₆インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX

10

20

30

40

50

、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、Achr、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2 p95、IL-10R、IL-13R2、Kappa、LAGE-1A、Lambda、LeY、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT-1。

【0248】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、以下からなる群から選択される抗原に結合する：BCMA、B7-H3、CLDN6、CLDN18.2、DLL3、ERBB4、HER2、HER2 p95、MUC16、MICA、MICB、TAG72、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、およびULBP6。

【0249】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、以下からなる群から選択される抗原に結合する：BCMA、B7-H3、CD19、CD20、CD22、CD33、CD79A、CD79B、および/またはEGFRvIII。

【0250】

様々な実施形態では、ポリペプチド複合体は、第一の多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびOX40共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに当該第一のポリペプチドと当該第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、その間に配置される架橋因子を含む。

【0251】

一部の実施形態では、ポリペプチド複合体は、第一の多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびTNFR2共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに当該第一のポリペプチドと当該第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、その間に配置される架橋因子を含む。

【0252】

ある実施形態では、第一および第二の多量体形成ドメインは、同一である。

【0253】

さらなる実施形態では、第一および第二の多量体形成ドメインは、異なる。

【0254】

様々な実施形態では、第一の多量体形成ドメインおよび第二の多量体形成ドメインは、以下からなる群から選択される架橋因子と会合する：ラパマイシンまたはそのラパログ、クーママイシンまたはその誘導体、ジベレリンまたはその誘導体、ABAまたはその誘導体、メトトレキサートまたはその誘導体、シクロスポリンAまたはその誘導体、FKCSAまたはその誘導体、およびSLFまたはその誘導体。

【0255】

特定の実施形態では、第一の多量体形成ドメインおよび第二の多量体形成ドメインは、

以下からなる群から選択されるペアである：FKBPとFRB、FKBPとカルシニューリン、FKBPとシクロフィリン、FKBPとDHFR、カルシニューリンとシクロフィリン、およびPYL1とABI1。

【0256】

一部の実施形態では、第一の多量体形成ドメインは、FKBPポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、第二の多量体形成ドメインは、FRBポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。

【0257】

特定の実施形態では、第一の多量体形成ドメインは、FRBポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、第二の多量体形成ドメインは、FKBPポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。

10

【0258】

追加的实施形態では、架橋因子は、以下からなる群から選択される：AP21967、シロリムス、エベロリムス、ノボリムス、ピメクロリムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス、およびゾタロリムス。

【0259】

様々な実施形態では、第一および第二の多量体形成ドメインは、FRB T2098L、およびFKBP12から選択され、架橋因子は、シロリムスまたはAP21967である。

【0260】

さらなる実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは独立して、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、CD3、CD3、CD3、CD3、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、AMN、およびPD1からなる群から選択されるポリペプチドから選択される。

20

【0261】

一部の実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは、以下からなる群から独立して選択される：CD4膜貫通ドメインおよびCD8膜貫通ドメイン。

【0262】

追加的な実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは、同一である。

30

【0263】

特定の実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは、異なっている。

【0264】

様々な実施形態では、共刺激性ドメインおよび/または一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ(ITAM: immunoreceptor tyrosine activation motif)を含有する。

【0265】

さらなる実施形態では、共刺激性ドメインは、以下からなる群から選択される共刺激性分子から単離される：TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、CARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54(ICAM)、CD83、CD94、CD134(OX40)、CD137(4-1BB)、CD278(ICOS)、DAP10、LAT、SLP76、TRAT1、TNFR2およびZAP70。

40

【0266】

ある実施形態では、共刺激性ドメインは、以下からなる群から選択される共刺激性分子から単離される：CD28、CD134、およびCD137。

【0267】

50

追加的な実施形態において、共刺激性ドメインは、CD137共刺激性分子から単離される。

【0268】

様々な実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、以下からなる群から選択されるポリペプチドから単離される：FcR γ 、FcR δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD3 η 、CD3 θ 、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66d。

【0269】

さらなる実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、CD3ポリペプチドから単離される。

【0270】

特定の実施形態では、細胞外結合ドメインは、抗体もしくはその抗原結合断片、受容体細胞外ドメイン、またはリガンドを含む。

【0271】

一部の実施形態では、細胞外結合ドメインは、ラクダIg、リヤマIg、アルパカIg、IgNAR、Fab'断片、F(ab')₂断片、二特異性Fab二量体(Fab₂)、三特異性Fab三量体(Fab₃)、Fv、一本鎖Fvタンパク質(scFv)、bis-scFv、(scFv)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化Fvタンパク質(dsFv)、およびシングルドメイン抗体(sdAb、ラクダ科VHH、ナノボディ)からなる群から選択される抗体またはその抗原結合断片を含む。

【0272】

一部の実施形態では、細胞外結合ドメインは、ヒト化抗体またはその抗原結合断片を含有する。

【0273】

ある実施形態では、細胞外結合ドメインは、ヒト抗体またはその抗原結合断片を含有する。

【0274】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、scFvを含む。

【0275】

追加的な実施形態では、細胞外結合ドメインは、一つ以上のラクダ科VHH抗体を含む。

【0276】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、腫瘍関連抗原(TAA)、腫瘍特異的抗原(TSA)、NKGD2Dリガンド、T細胞受容体(TCR)リガンド、およびTCRリガンドからなる群から選択される抗原に結合する。

【0277】

一部の実施形態では、細胞外結合ドメインは、以下からなる群から選択される抗原に結合する：FR γ 、 α _vβ₆インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、Achr、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2p95、IL-10R、IL-13R α 2、Kappa、LAGE-1A、Lambda、LeY、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT-1。

10

20

30

40

50

【0278】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、以下からなる群から選択される抗原に結合する：BCMA、B7-H3、CLDN6、CLDN18.2、DLL3、ERBB4、HER2、HER2 p95、MUC16、MICA、MICB、TAG72、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、およびULBP6。

【0279】

様々な実施形態では、細胞外結合ドメインは、以下からなる群から選択される抗原に結合する：BCMA、B7-H3、CD19、CD20、CD22、CD33、CD79A、CD79B、および/またはEGFRvIII。

【0280】

特定の実施形態では、ポリペプチド複合体は、FKBP多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、抗体またはその抗原結合断片、FRB多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびOX40共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに当該第一のポリペプチドと当該第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、その間に配置される架橋因子を含む。

【0281】

様々な実施形態では、ポリペプチド複合体は、FKBP多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、抗体またはその抗原結合断片、FRB多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびTNFR2共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに当該第一のポリペプチドと当該第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、その間に配置される架橋因子を含む。

【0282】

特定の実施形態では、ポリペプチド複合体は、FRB多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、抗体またはその抗原結合断片、FKBP多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびOX40共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに当該第一のポリペプチドと当該第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、その間に配置される架橋因子を含む。

【0283】

さらなる実施形態では、ポリペプチド複合体は、FRB多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、抗体またはその抗原結合断片、FKBP多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびTNFR2共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに当該第一のポリペプチドと当該第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、その間に配置される架橋因子を含む。

【0284】

様々な実施形態では、架橋因子は、以下からなる群から選択される：AP21967、シロリムス、エベロリムス、ノボリムス、ピメクロリムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス、およびゾタロリムス。

【0285】

特定の実施形態において、FRB多量体形成ドメインは、FRB T2098Lであり、FKBP多量体形成ドメインはFKBP12であり、架橋因子は、シロリムスまたはAP21967である。

【0286】

10

20

30

40

50

ある実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは独立して、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、CD3、CD3、CD3、CD3、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、AMN、およびPD1からなる群から選択されるポリペプチドから選択される。

【0287】

追加的な実施形態では、第一の膜貫通ドメインおよび第二の膜貫通ドメインは独立して、以下からなる群から選択されるポリペプチドから選択される：CD4膜貫通ドメインおよびCD8膜貫通ドメイン。

10

【0288】

一部の実施形態では、共刺激性ドメインおよび/または一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ (ITAM: immunoreceptor tyrosine activation motif) を含有する。

【0289】

さらなる実施形態では、共刺激性シグナル伝達ドメイン共刺激性ドメインは、以下からなる群から選択される共刺激性分子から単離される：TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、CARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54 (ICAM)、CD83、CD94、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD278 (ICOS)、DAP10、LAT、SLP76、TRAT1、TNFR2およびZAP70。

20

【0290】

様々な実施形態では、共刺激性ドメインは、以下からなる群から選択される共刺激性分子から単離される：CD28、CD134、およびCD137。

【0291】

ある実施形態において、共刺激性ドメインは、CD137共刺激性分子から単離される。

【0292】

さらなる実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、以下からなる群から選択されるポリペプチドから単離される：FcR、FcR、CD3、CD3、CD3、CD3、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66d。

30

【0293】

特定の実施形態では、一次シグナル伝達ドメインは、CD3ポリペプチドから単離される。

【0294】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ラクダIg、リヤマIg、アルパカIg、IgNAR、Fab'断片、F(ab')₂断片、二特異性Fab二量体 (Fab₂)、三特異性Fab三量体 (Fab₃)、Fv、一本鎖Fvタンパク質 (scFv)、bis-scFv、(scFv)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化Fvタンパク質 (dsFv)、およびシングルドメイン抗体 (sdAb、ラクダ科VHH、ナノボディ) からなる群から選択される。

40

【0295】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒトまたはヒト化である。

【0296】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、scFvまたは一つ以上のラクダ科VHH抗体を含む。

【0297】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍関連抗原 (TAA)、腫瘍特異的抗原 (TSA)、NKG2Dリガンド、T細胞受容体 (TCR) リガンド、およびTCRリガンドからなる群から選択される抗原に結合する。

50

【0298】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、以下からなる群から選択される抗原に結合する：FR、 α_6 インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44 α 6、CD44 α 7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFR α III、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、AChR、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2 p95、IL-10R、IL-13R2、Kappa、LAGE-1A、Lambda、LEY、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT-1。

10

【0299】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMA、B7-H3、CLDN6、CLDN18.2、DLL3、ERBB4、HER2、HER2 p95、MUC16、MICA、MICB、TAG72、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、およびULBP6に結合する。

20

【0300】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMA、B7-H3、CD19、CD20、CD22、CD33、CD79A、CD79B、および/またはEGFR α IIIに結合する。

【0301】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMAに結合する。

【0302】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD19に結合する。

【0303】

ある実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD20またはCD22に結合する。

30

【0304】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、B7-H3に結合する。

【0305】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD33に結合する。

【0306】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD79Aに結合する。

【0307】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD79Bに結合する。

40

【0308】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、EGFR α IIIに結合する。

【0309】

一部の実施形態では、ポリペプチド複合体は、FKBP12多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、CD8膜貫通ドメイン、CD137共刺激性ドメイン、およびCD3一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、抗体またはその抗原結合断片、FRBT2098L多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、CD4膜貫通ドメイン、およびTNFR2共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに当該第一のポリペプチドと当該第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、その間に配置される架橋因子を含む。

50

【0310】

ある実施形態では、ポリペプチド複合体は、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、およびC D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、抗体またはその抗原結合断片、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、およびO X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに当該第一のポリペプチドと当該第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、その間に配置される架橋因子を含む。

【0311】

様々な実施形態では、ポリペプチド複合体は、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、およびC D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、抗体またはその抗原結合断片、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、およびT N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに当該第一のポリペプチドと当該第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、その間に配置される架橋因子を含む。

10

【0312】

特定の実施形態では、ポリペプチド複合体は、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、およびC D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、抗体またはその抗原結合断片、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、およびO X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに当該第一のポリペプチドと当該第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと会合され、その間に配置される架橋因子を含む。

20

【0313】

一部の実施形態において、架橋因子は、A P 2 1 9 6 7 またはシロリムスである。

【0314】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ラクダI g、リャマI g、アルパカI g、I g N A R、F a b ' 断片、F (a b ') 2 断片、二特異性F a b 二量体 (F a b 2)、三特異性F a b 三量体 (F a b 3)、F v、一本鎖F v タンパク質 (s c F v)、b i s - s c F v、(s c F v) 2、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化F v タンパク質 (d s F v)、およびシングルドメイン抗体 (s d A b、ラクダ科V H H、ナノボディ) からなる群から選択される。

30

【0315】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒトまたはヒト化である。

【0316】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、s c F v または一つ以上のラクダ科V H H 抗体を含む。

【0317】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍関連抗原 (T A A)、腫瘍特異的抗原 (T S A)、N K G 2 D リガンド、T 細胞受容体 (T C R) リガンド、およびT C R リガンドからなる群から選択される抗原に結合する。

40

【0318】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、以下からなる群から選択される抗原に結合する：F R、v₆ インテグリン、B C M A、B 7 - H 3、B 7 - H 6、C A I X、C D 1 6、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 0、C D 3 3、C D 3 7、C D 3 8、C D 4 4、C D 4 4 v 6、C D 4 4 v 7 / 8、C D 7 0、C D 7 9 a、C D 7 9 b、C D 1 2 3、C D 1 3 3、C D 1 3 8、C D 1 7 1、C E A、C L D N 6、C L D N 1 8 . 2、C L L - 1、C S - 1、C S P G 4、C T A G E 1、D L L 3、E G F R、E G F R v I I I、E G P 2、E G P 4 0、E P C A M、E P H A 2、E R B B 4、F A

50

P、FCRL5、Achr、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2 p95、IL-10R、IL-13R2、Kappa、LAGE-1A、Lambda、LeY、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT-1。

【0319】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMA、B7-H3、CLDN6、CLDN18.2、DLL3、ERBB4、HER2、HER2 p95、MUC16、MICA、MICB、TAG72、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、およびULBP6に結合する。

10

【0320】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMA、B7-H3、CD19、CD20、CD22、CD33、CD79A、CD79B、および/またはEGFRvIIIに結合する。

【0321】

追加的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、BCMAに結合する。

【0322】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD19に結合する。

20

【0323】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD20またはCD22に結合する。

【0324】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、B7-H3に結合する。

【0325】

ある実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD33に結合する。

【0326】

一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD79Aに結合する。

30

【0327】

様々な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、CD79Bに結合する。

【0328】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、EGFRvIIIに結合し、任意でこの場合において当該抗体は、EGFR806またはその抗原結合断片である。

【0329】

様々な実施形態では、多量体形成ドメインは、第一のポリペプチドと第二のポリペプチドが発現されるとき、細胞外に局在する。

【図面の簡単な説明】

【0330】

40

【図1】図1は、共刺激性ドメインとともにDARIC結合構成要素を含むDARIC構造の図を示す。

【図2-1】図2Aは、様々な共刺激性ドメインとともにDARIC結合構成要素を含むNKGD2DARIC構造の図を示す。図2Bは、非形質導入T細胞、NKGD2DARICT細胞、NKGD2.TNFR2DARICT細胞、NKGD2.OX40DARICT細胞、NKGD2.CD27DARICT細胞、NKGD2.HVEMDARICT細胞、NKGD2.DR3DARICT細胞、およびNKGD2.GITRDARICT細胞に対するCD4⁺ゲート中のNKGD2結合ドメインの発現を示す。

【図2-2】図2Cは、非形質導入T細胞、NKGD2DARICT細胞、NKGD2

50

. TNFR2 D A R I C T細胞、NK G 2 D . O X 4 0 D A R I C T細胞、NK G 2 D . C D 2 7 D A R I C T細胞、NK G 2 D . H V E M D A R I C T細胞、NK G 2 D . D R 3 D A R I C T細胞、およびNK G 2 D . G I T R D A R I C T細胞の増殖速度を示す。

【図2 - 3】図2 Dは、非形質導入対照T細胞、NK G 2 D D A R I C T細胞、NK G 2 D . TNFR2 D A R I C T細胞、NK G 2 D . O X 4 0 D A R I C T細胞、NK G 2 D . C D 2 7 D A R I C T細胞、NK G 2 D . H V E M D A R I C T細胞、NK G 2 D . D R 3 D A R I C T細胞、またはNK G 2 D . G I T R D A R I C T細胞とともに1 : 1のE : T比率で24時間、ラパマイシンの存在下で共培養されたEGFR⁺NKG2DL⁺ HCT116細胞の培養上清からのIFN γ 、TNF α 、およびGM-CSFの産生を示す。

10

【図3 - 1】図3 Aは、NK G 2 D D A R I C T細胞、NK G 2 D . O X 4 0 D A R I C T細胞、またはNK G 2 D . TNFR2 D A R I C T細胞とともに1 : 1のE : T比率で24時間、ピヒクル、ラパマイシンまたはAP21967の存在下で共培養されたEGFR⁺NKG2DL⁺ A549細胞の培養上清からのIFN γ 、TNF α 、およびGM-CSFの産生を示す。

【図3 - 2】図3 Bは、NK G 2 D D A R I C T細胞、NK G 2 D . O X 4 0 D A R I C T細胞、またはNK G 2 D . TNFR2 D A R I C T細胞とともに1 : 1のE : T比率で24時間、ピヒクル、ラパマイシンまたはAP21967の存在下で共培養されたEGFR⁺NKG2DL⁺ A549細胞の培養上清からのIFN γ 、TNF α 、およびGM-CSFの産生を示す。

20

【図3 - 3】図3 Cは、T細胞共培養を、AP2167処置とラパマイシン処置と比較したときのサイトカイン産生の比率を示す。抗EGFR CAR T細胞、NK G 2 D D A R I C T細胞、NK G 2 D . TNFR2 D A R I C T細胞およびNK G 2 D . O X 4 0 D A R I C T細胞は、ラパマイシンまたはAP21967の存在下で、A549標的細胞またはHCT116標的細胞のいずれかとともに1 : 1のE : T比率で共培養される。ラパマイシン培養からのサイトカイン産生を分母とした、AP2167培養からのサイトカイン産生の比率を示す。矢印は、ラパマイシン介在免疫抑制(>1)またはラパマイシン介在免疫強化(<1)を示す。

【図4 - 1】図4 Aは、二つの共刺激性ドメインを有するD A R I C結合構成要素を含むNK G 2 D D A R I C構造の図を示す。

30

【図4 - 2】図4 Bは、非形質導入対照T細胞、NK G 2 D D A R I C T細胞、NK G 2 D . D A P 1 0 D A R I C T細胞、NK G 2 D . C D 2 8 D A R I C T細胞、またはNK G 2 D . C D 2 8 . D A P 1 0 D A R I C T細胞とともに1 : 1のE : T比率で24時間、ピヒクルまたはラパマイシンの存在下で共培養されたEGFR⁺NKG2DL⁺ A549細胞の培養上清からのIFN γ 、およびGM-CSFの産生を示す。

【図4 - 3】図4 Cは、非形質導入対照T細胞、NK G 2 D D A R I C T細胞、NK G 2 D . D A P 1 0 D A R I C T細胞、NK G 2 D . D A P 1 0 . O X 4 0 D A R I C T細胞、またはNK G 2 D . O X 4 0 . D A P 1 0 D A R I C T細胞とともに1 : 1のE : T比率で24時間、ピヒクルまたはラパマイシンの存在下で共培養されたEGFR⁺NKG2DL⁺ A549細胞の培養上清からのIFN γ 、およびGM-CSFの産生を示す。

40

【図5 - 1】図5 Aは、ICOS系膜貫通および共刺激性ドメインを有するD A R I C結合構成要素を含むNK G 2 D D A R I C構造の図を示す。

【図5 - 2】図5 Bは、抗EGFR CAR T細胞、NK G 2 D D A R I C T細胞、またはICOSおよびDAP10に由来するシングルもしくはデュアルの共刺激性および膜貫通ドメインを含有するNK G 2 D D A R I C T細胞とともに1 : 1のE : T比率で24時間、AP21967の存在下で共培養されたEGFR⁺NKG2DL⁺ A549細胞の培養上清からのIFN γ の産生を示す。

【図5 - 3】図5 Cは、抗EGFR CAR T細胞、NK G 2 D D A R I C T細胞、

50

またはICOSおよびDAP10に由来するシングルもしくはデュアルの共刺激性および膜貫通ドメインを含有するNKG2D DARICT細胞とともに1:1のE:T比率で24時間、AP21967の存在下で共培養されたEGFR⁺NKG2DL⁺A549細胞の培養上清からのGM-CSFの産生を示す。

【図6-1】図6Aは、デュアル標的化DARIC戦略の図を示す。NKG2D DARICT細胞は、抗CD19 DARICT結合構成要素とともに共刺激性ドメインを含むDARICT結合構成要素を含有する。

【図6-2】図6Bは、非形質導入T細胞、NKG2D.TNFR2 DARICT細胞、およびNKG2D.TNFR2 DARICT:CD19 DARICT細胞のCD4⁺ゲート中のNKG2D結合ドメインの発現を示す。

10

【図6-3】図6Cは、非形質導入T細胞、CD19 DARICT細胞、およびNKG2D.TNFR2 DARICT:CD19 DARICT細胞のCD19-Fc結合効率を示す。

【図6-4】図6Dは、NKG2DL-CD19⁺A20細胞(A20)、NKG2DL-CD19⁺A20細胞(A20-hCD19)、およびNKG2DL⁺CD19⁺A549細胞(A549)の培養上清からのGM-CSFの産生を示す。標的細胞は、非形質導入対照T細胞、CD19 DARICT細胞、NKG2D.TNFR2 DARICT細胞、またはNKG2D.TNFR2 DARICT:CD19 DARICT細胞とともに1:1のE:T比率で24時間、AP21967の存在下で共培養された。

【図7-1】図7Aは、共刺激性ドメインを有する抗CD19 DARICT構造の図を示す。

20

【図7-2】図7Bは、非形質導入T細胞、抗CD19 CAR T細胞、CD19 DARICT細胞、CD19.OX40 DARICT細胞、およびCD19.TNFR2 DARICT細胞のCD19-Fc結合効率を示す。

【図7-3】図7Cは、抗CD19 CAR T細胞、CD19 DARICT細胞、CD19.OX40 DARICT細胞、およびCD19.TNFR2 DARICT細胞とともに1:1のE:T比率で24時間、ビヒクルまたはラバマイシンの存在下で共培養されたCD19⁺Na1m6細胞の培養上清からのIFN、GM-CSFおよびTNFの産生を示す。

【図7-4】図7Dは、抗CD19 CAR T細胞、CD19 DARICT細胞、CD19.OX40 DARICT細胞、およびCD19.TNFR2 DARICT細胞とともに1:1のE:T比率で24時間、ビヒクルまたはラバマイシンの存在下で共培養されたCD19⁺JeKo-1細胞の培養上清からのIFN、GM-CSFおよびTNFの産生を示す。

30

【図8-1】図8Aは、共刺激性ドメインを有する抗CD33 DARICT構造の図を示す。

【図8-2】図8Bは、非形質導入T細胞、抗CD33 CAR T細胞、抗CD33 DARICT細胞、CD33.OX40 DARICT細胞、およびCD33.TNFR2 DARICT細胞のCD33-Fc結合効率を示す。二つの異なる抗CD33 scFvが示されている。

40

【図8-3】図8Cは、抗CD33 CAR T細胞、CD33 DARICT細胞、CD33.OX40 DARICT細胞、およびCD33.TNFR2 DARICT細胞とともに1:1のE:T比率で24時間、ビヒクルまたはラバマイシンの存在下で共培養されたCD33⁺THP-1またはCD33⁺Mo1m-1細胞の培養上清からのIFN産生を示す。二つの異なる抗CD33 scFvが示されている。

【発明を実施するための形態】

【0331】

配列番号に関する簡単な説明

配列番号1は、FRB T2098L-CD8 TM-CD137-CD3 DARICTシグナル伝達構成要素のアミノ酸配列を記載する。

50

配列番号 2 は、F R B T 2 0 9 8 L - C D 8 T M - C D 1 3 4 - C D 3 D A R I C シグナル伝達構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 3 は、F R B T 2 0 9 8 L - C D 8 T M - C D 2 8 - C D D A R I C シグナル伝達構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 4 は、抗 B C M A - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . T N F R 2 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 5 は、抗 B C M A - F K B P 1 2 - A M N T M D A R I C . T N F R 2 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 6 は、抗 C D 1 9 - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . T N F R 2 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 7 は、抗 C D 1 9 - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . O X 4 0 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 8 は、抗 B 7 - H 3 - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . O X 4 0 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 9 は、抗 B 7 - H 3 - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . T N F R 2 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 10 は、抗 C D 2 0 - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . O X 4 0 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 11 は、抗 C D 2 0 - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . T N F R 2 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 12 は、抗 C D 2 2 - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . O X 4 0 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 13 は、抗 C D 2 2 - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . T N F R 2 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 14 は、抗 E G F R v I I I I - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . O X 4 0 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 15 は、抗 E G F R v I I I I - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . T N F R 2 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 16 は、抗 C D 3 3 - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . O X 4 0 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 17 は、抗 C D 3 3 - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . T N F R 2 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 18 は、抗 C D 3 3 - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . O X 4 0 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 19 は、抗 C D 3 3 - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . T N F R 2 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 20 は、N K G 2 D - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . O X 4 0 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 21 は、N K G 2 D - F K B P 1 2 - C D 4 T M D A R I C . T N F R 2 結合構成要素のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 22 は、N K G 2 D D A R I C ポリタンパク質のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 23 は、C D 1 9 D A R I C ポリタンパク質のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 24 は、B 7 - H 3 D A R I C ポリタンパク質のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 25 は、C D 2 0 D A R I C ポリタンパク質のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 26 は、C D 2 2 D A R I C ポリタンパク質のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 27 は、E G F R v I I I I D A R I C ポリタンパク質のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 28 は、C D 3 3 D A R I C - 1 ポリタンパク質のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 29 は、C D 3 3 D A R I C - 2 ポリタンパク質のアミノ酸配列を記載する。

配列番号 30 ~ 40 は、様々なリンカーのアミノ酸配列を記載する。

10

20

30

40

50

配列番号 4 1 ~ 6 5 は、プロテアーゼ切断部位および自己切断性ポリペプチドの切断部位のアミノ酸配列を記載する。

(発明を実施するための形態)

【 0 3 3 2 】

A . 概要

癌は、世界の主要な死因の一つである。近年、癌専門医は免疫認識と癌細胞の排除を強化する可能性のある手段として遺伝的アプローチを導入している。期待の持てる一つの戦略は、キメラ抗原受容体 (C A R) を発現するよう遺伝子操作された免疫エフェクター細胞を使用した養子細胞免疫療法であり、C A R はこれら C A R T 細胞の細胞障害性を、癌細胞へと再指向化させる。C A R T 細胞療法の大きな欠点は、C A R T 細胞の活性を空間的および時間的に制御できないことである。C A R T 細胞の活性を制御できないことで、広範な副作用を誘発する可能性がある。副作用の多くは静かに始まり、そして急速に悪化し得る。特に重大な合併症は、サイトカイン放出症候群 (C R S) または「サイトカインストーム」であり、C A R T 細胞は大量で、そして致死的ですらあるサイトカインの放出を誘導する。C R S は危険な高熱、極度の疲労、呼吸困難および血圧の急激な低下をもたらし得る。さらに C R S は副作用の第二波も生じさせる場合があり、この第二波には神経毒性、振戦、頭痛、錯乱、平衡感覚の消失、発話困難、発作および幻覚を含む神経系が含まれる。本明細書において予期される組成物および方法は、養子細胞療法を悩ませるこれらおよびその他の問題に対する解決策を提供する。

【 0 3 3 3 】

本開示は概して、共刺激性二量体形成剤により制御される免疫受容体複合体 (D A R I C : dimerizing agent regulated immunoreceptor complex) を使用して、養子細胞療法の空間的および時間的な制御を調節するための組成物および方法の改善に関する。D A R I C は、一つ以上の D A R I C 結合構成要素、および / または一つ以上の D A R I C シグナル伝達構成要素を含有する。特定の学説のいずれにも拘束されることは望まないが、本明細書に予期される D A R I C 組成物および方法は、当分野において既存の C A R T 細胞療法に、限定されないが免疫エフェクター細胞のシグナル伝導性結合およびシグナル伝達活性に対する空間的および時間的の両方の制御をはじめとする多くの利益をもたらす。D A R I C の時間的制御は、D A R I C 結合構成要素と D A R I C シグナル伝達構成要素の架橋因子介在性会合を通じて、シグナル伝達の D A R I C 機構を誘発する。D A R I C の空間的制御は、D A R I C 結合構成要素上の結合ドメインによる標的抗原認識を通じて、シグナル伝達機構を関与させる。このようにして、D A R I C 免疫エフェクター細胞は、標的抗原と架橋因子の両方が存在するときに活性化状態となる。さらに、異なる標的抗原に指向された二つ以上の結合構成要素を含む D A R I C は、標的細胞の二重標的化または多重標的化を可能にし、有効性、腫瘍クリアランスおよび安全性の強化、ならびに再発、抗原逃避、オンターゲットオフ腫瘍細胞溶解の減少において有益であり得る。

【 0 3 3 4 】

様々な実施形態において、本開示は、改善された D A R I C 構成要素を予期するものである。任意の特定の理論に拘束されることは望まないが、本発明者らは予想外なことに、細胞内シグナル伝達ドメインを含む D A R I C 結合構成要素が、例えば、炎症性サイトカインの分泌を増加させ、標的細胞に対する抗原依存性細胞傷害活性を増加させることによって、D A R I C 免疫エフェクター細胞の効力を増加させることを見出した。さらに特定の実施形態では、D A R I C 多量体形成は、例えばラパマイシンなどの免疫抑制性の架橋因子分子、例えば共刺激性ドメインなどの細胞内シグナル伝達ドメインを含む D A R I C 結合構成要素に依存し、驚くべきことに当該架橋因子と関連付けられた免疫抑制性の活性を低下させ、または消去する。

【 0 3 3 5 】

特定の実施形態では、D A R I C は、多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、膜貫通ドメイン、および一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含むポリペ

10

20

30

40

50

チド（D A R I Cシグナル伝達構成要素）、ならびに結合ドメイン、多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、膜貫通ドメイン、および一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含むポリペプチド（D A R I C結合構成要素）を含む。好ましい実施形態では、D A R I Cシグナル伝達構成要素中の一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインは、D A R I C結合構成要素中の一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインとは異なっている。架橋因子の存在下で、D A R I C結合構成要素およびD A R I Cシグナル伝達構成要素は当該架橋因子を通じて互いに会合し、機能的に活性なD A R I Cを形成する。

【0336】

特定の実施形態では、D A R I Cは、多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含むポリペプチド（D A R I Cシグナル伝達構成要素）、ならびに結合ドメイン、多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、膜貫通ドメイン、および共刺激性ドメインを含むポリペプチド（D A R I C結合構成要素）を含む。好ましい実施形態では、D A R I Cシグナル伝達構成要素中の共刺激性ドメインは、D A R I C結合構成要素中の共刺激性ドメインとは異なっている。任意の特定の理論に拘束されることは望まないが、二つの異なる共刺激性ドメインは、標的細胞に指向されたD A R I C T細胞のサイトカイン分泌プロファイルと細胞傷害活性を相乗的に強化すると考えられる。架橋因子の存在下で、D A R I C結合構成要素およびD A R I Cシグナル伝達構成要素は当該架橋因子を通じて互いに会合し、機能的に活性なD A R I Cを形成する。

【0337】

様々な実施形態では、本開示は、一つ以上の標的細胞上に発現される標的抗原を二つ以上発現する癌に対する抗癌応答を生じさせるD A R I C構成要素を予期するものである。

【0338】

特定の実施形態では、多量体形成ドメインポリペプチドもしくはそのバリエーション、膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含むD A R I Cシグナル伝達構成要素、第一の標的抗原に結合する結合ドメイン、多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、膜貫通ドメイン、および共刺激性ドメインを含む第一のD A R I C結合構成要素、ならびに第二の標的抗原に結合する結合ドメイン、多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、膜貫通ドメイン、および任意で共刺激性ドメインを含む第二のD A R I C結合構成要素。架橋因子の存在下で、D A R I C結合構成要素は各々、当該架橋因子を通じてD A R I Cシグナル伝達構成要素に会合し、機能的に活性なD A R I Cを形成する。

【0339】

好ましい実施形態では、D A R I C結合構成要素およびD A R I Cシグナル伝達構成要素の多量体形成ドメインは、細胞外に配置される。多量体形成ドメインの細胞外配置によって、限定されないが、結合ドメインのさらに効率的な配置、架橋因子制御に対する高い時間的感受性、および特定の架橋因子の非免疫抑制性用量を使用することによる毒性の低さをはじめとする、細胞内配置を超える多くの利点を提供される。

【0340】

D A R I C、D A R I C結合構成要素、およびD A R I Cシグナル伝達構成要素をコードするポリヌクレオチド；D A R I C結合構成要素、D A R I Cシグナル伝達構成要素、D A R I Cタンパク質複合体、D A R I C融合タンパク質；D A R I C、D A R I C結合構成要素およびD A R I Cシグナル伝達構成要素をコードするポリヌクレオチドを含み、および/またはそれらを発現する細胞；ならびにそれらを使用して免疫障害を治療する方法も本明細書において予期される。

【0341】

組み換え（すなわち操作された）DNA、ペプチドおよびオリゴヌクレオチドの合成、免疫アッセイ、組織培養、形質転換（例えばエレクトロポレーション法、リポフェクション法）、酵素反応、精製に関する技術、ならびに関連する技術および手順は概して、本明細書全体を通じて引用および検討されるように、微生物学、分子生物学、生化学、分子遺

10

20

30

40

50

伝学、細胞生物学、ウイルス学および免疫学の概論ならびに各論の様々な参考文献において記載されるように実施されてもよい。例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, updated July 2008); Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience; Glover, DNA Cloning: A Practical Approach, vol. I & II (IRL Press, Oxford Univ. Press USA, 1985); Current Protocols in Immunology (Edited by: John E. Coligan, Ada M. Kruisbeek, David H. Margulies, Ethan M. Shevach, Warren Strober 2001 John Wiley & Sons, NY, NY); Real-Time PCR: Current Technology and Applications, Edited by Julie Logan, Kirstin Edwards and Nick Saunders, 2009, Caister Academic Press, Norfolk, UK; Anand, Techniques for the Analysis of Complex Genomes, (Academic Press, New York, 1992); Guthrie and Fink, Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology (Academic Press, New York, 1991); Oligonucleotide Synthesis (N. Gait, Ed., 1984); Nucleic Acid The Hybridization (B. Hames & S. Higgins, Eds., 1985); Transcription and Translation (B. Hames & S. Higgins, Eds., 1984); Animal Cell Culture (R. Freshney, Ed., 1986); Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning (1984); Next-Generation Genome Sequencing (Janitz, 2008 Wiley-VCH); PCR Protocols (Methods in Molecular Biology) (Park, Ed., 3rd Edition, 2010 Humana Press); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, 1986); the treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (J. H. Miller and M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Harlow and Lane, Antibodies, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1998); Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer and Walker, eds., Academic Press, London, 1987); Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds., 1986); Roitt, Essential Immunology, 6th Edition, (Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1988); Current Protocols in Immunology (Q. E. Coligan, A. M. Kruisbeek, D. H. Margulies, E. M. Shevach and W. Strob

er, eds., 1991); Annual Review of Immunology ; ならびに例えば Advances in Immunology などの雑誌の研究論文を参照のこと。

【0342】

B. 定義

本開示を詳細に記載する前に、本明細書において使用される特定の用語の定義を提供することで、その理解の助けとなるであろう。

【0343】

別段の規定がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する分野の当業者によって普遍的に理解される意味と同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと類似した、または均等の方法および材料を、特定の実施形態の実施または検証に使用することができるが、本明細書においては好ましい組成物、方法および材料の実施形態を開示している。本開示の目的に対し、以下の用語を、以下に規定する。

【0344】

「a」、「an」および「the」といった冠詞は、本明細書において、当該冠詞の文法上の対象の一つまたは複数（すなわち少なくとも一つ、または一つもしくは複数）を指すために使用される。例示として、「an element」とは、一つの要素、または一つもしくは複数の要素を意味する。

【0345】

選択肢（例えば「または」）の使用は、いずれか一つ、両方、またはその選択肢の任意の組み合わせを意味すると理解されたい。

【0346】

「および/または」という用語は、いずれか一つ、またはその選択肢の両方を意味すると理解されたい。

【0347】

本明細書において使用される場合、「約」または「およそ」という用語は、基準の数量、レベル、値、数、頻度、百分率、寸法、大きさ、量、重さ、または長さに対し、15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%または1%までも変化する数量、レベル、値、数、頻度、百分率、寸法、大きさ、量、重さ、または長さを指す。一つの実施形態では、「約」または「およそ」という用語は、基準の数量、レベル、値、数、頻度、百分率、寸法、大きさ、量、重さ、または長さに関し、±15%、±10%、±9%、±8%、±7%、±6%、±5%、±4%、±3%、±2%または±1%の数量、レベル、値、数、頻度、百分率、寸法、大きさ、量、重さ、または長さの範囲を指す。

【0348】

一つの実施形態では、例えば1~5、約1~5、または約1~約5といった範囲は、当該範囲に包含される各数値を指す。例えば一つの実施形態において、「1~5」という範囲は、1、2、3、4、5；または1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、もしくは5.0；または1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、もしくは5.0という表現と同等である。

【0349】

本明細書において使用される場合、「実質的に」という用語は、基準の数量、レベル、値、数、頻度、百分率、寸法、大きさ、量、重さ、または長さと比較して、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上である数量、レベル、値、数、頻度、百分率、寸法、大きさ、量、重さ、または長さを指す。一つの実施形態において、「実質的に同一」とは、基準の数量、レベル、値、数、頻度、百分率、寸法、大きさ、量、重さ、または長さとおよそ同じである

、例えば生理学的効果などの効果を生じさせる数量、レベル、値、数、頻度、百分率、寸法、大きさ、量、重さ、または長さを指す。

【 0 3 5 0 】

本明細書全体を通じて、別段であることが要求されない限り、「含む」および「含むこと」という文言は、記載される工程、または要素、または工程もしくは要素の群の含有を示唆するが、任意の他の工程、または要素、または工程もしくは要素の群の除外は示唆しないことを理解されたい。「～からなる」とは、「～からなる」という文言に続くものを含むが、それらに限定されることを意味する。ゆえに、「～からなる」という文言は、列記される要素が必要または義務であり、他の要素は存在し得ないことを示す。「本質的に～からなる」とは、当該文言の後に列記される任意の要素、および列記される要素に関して本開示中に特定される活性もしくは作用に干渉しない、または寄与しない他の要素に限定される任意の要素を含むことを意味する。ゆえに、「本質的に～からなる」という文言は、列記される要素が必須または義務であり、しかし列記される要素の活性または作用に実質的に影響を与える他の要素は存在しないことを示す。

10

【 0 3 5 1 】

本明細書全体を通じて「一つの実施形態」、「実施形態」、「特定の実施形態」、「関連する実施形態」、「ある実施形態」、「追加的な実施形態」、もしくは「さらなる実施形態」、またはそれらの組み合わせに対する参照は、当該実施形態と関連付けて記載される特定の性質、構造または特徴が、少なくとも一つの実施形態に含まれることを意味する。ゆえに本明細書全体の様々な箇所での前述の文言の出現は、必ずしもすべてが同じ実施形態を指しているわけではない。さらに特定の性質、構造または特徴は、一つ以上の実施形態において任意の適切な様式で組み合わせられ得る。さらに、一つの実施形態である性質の肯定的な列挙は、特定の実施形態では当該性質の除外の根拠として機能することを理解されたい。

20

【 0 3 5 2 】

「抗原 (A g) 」とは、動物へ注射される、または動物に吸収される組成物 (例えば癌特異的タンパク質を含む組成物など) を含む、動物において抗体産生または T 細胞反応を刺激し得る化合物、組成物または物質を指す。抗原の例としては限定されないが、脂質、炭水化物、多糖、糖タンパク質、ペプチドまたは核酸が挙げられる。抗原は、例えば本開示抗原などの異種抗原により誘導される産物を含む、特異的な液性免疫または細胞性免疫の産物と反応する。

30

【 0 3 5 3 】

「標的抗原」または「対象となる標的抗原」は、本明細書に予期される結合ドメインが結合するよう設計された抗原である。特定の実施形態では、一つ以上の標的抗原は、アルファ葉酸受容体 (F R)、 ν_6 インテグリン、B 細胞成熟抗原 (B C M A)、B 7 - H 3 (C D 2 7 6)、B 7 - H 6、炭酸脱水素酵素 I X 型 (C A I X)、C D 1 6、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 0、C D 3 3、C D 3 7、C D 3 8、C D 4 4、C D 4 4 ν 6、C D 4 4 ν 7 / 8、C D 7 0、C D 7 9 a、C D 7 9 b、C D 1 2 3、C D 1 3 3、C D 1 3 8、C D 1 7 1、癌胎児性抗原 (C E A)、クローディン 6 (C L D N 6)、クローディン 1 8 アイソフォーム 2 (C L D N 1 8 . 2)、C - t y p e l e c t i n - l i k e m o l e c u l e - 1 (C L L - 1)、C D 2 s u b s e t 1 (C S - 1)、c h o n d r o i t i n s u l f a t e p r o t e o g l y c a n 4 (C S P G 4)、c u t a n e o u s T c e l l l y m p h o m a - a s s o c i a t e d a n t i g e n 1 (C T A G E 1)、d e l t a l i k e c a n o n i c a l N o t c h l i g a n d 3 (D L L 3)、上皮細胞増殖因子受容体 (E G F R)、上皮細胞増殖因子受容体バリエーション I I I (E G F R ν I I I)、e p i t h e l i a l g l y c o p r o t e i n 2 (E G P 2)、e p i t h e l i a l g l y c o p r o t e i n 4 0 (E G P 4 0)、上皮細胞接着分子 (E P C A M)、e p h r i n t y p e - A r e c e p t o r 2 (E P H A 2)、e r b - b 2 r e c e p t o r t y r o s i n e k i n a s e 4 (E R B B 4)、f i b r o b l a s t a c t i v a t i o n

40

50

protein (FAP)、Fc Receptor Like 5 (FCRL5)、fetal acetylcholinesterase receptor (AChR)、ガングリオシドG2 (GD2)、ガングリオシドG3 (GD3)、グリピカン-3 (GPC3)、ErbB2 (HER2)を含むEGFRファミリー、HER2 p95、IL-10R、IL-13R2、Kappa、cancer/testis antigen 2 (LAGE-1A)、Lambda、Lewis-Y (LeY)、L1 cell adhesion molecule (L1-CAM)、melanoma antigen gene (MAGE) - A1、MAGE - A3、MAGE - A4、MAGE - A6、MAGEA10、melanoma antigen recognized by T cells 1 (MelanAまたはMART1)、メソテリン (MSLN)、MUC1、MUC16、MHC class I chain related proteins A (MICA)、MHC class I chain related proteins B (MICB)、神経細胞接着分子 (NCAM)、cancer/testis antigen 1 (NY-ESO-1)、ポリシアル酸；placenta-specific 1 (PLAC1)、preferentially expressed antigen in melanoma (PRAME)、prostate stem cell antigen (PSCA)、前立腺特異的膜抗原 (PSMA)、receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 1 (ROR1)、synovial sarcoma、X breakpoint 2 (SSX2)、サバイピン、tumor associated glycoprotein 72 (TAG72)、tumor endothelial marker 1 (TEM1/CD248)、tumor endothelial marker 7-related (TEM7R)、trophoblast glycoprotein (TPBG)、UL16-binding protein (ULBP) 1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、血管内皮細胞増殖因子受容体2 (VEGFR2)、およびWilms tumor 1 (WT-1)からなる群から選択される。

【0354】

一つの実施形態では、抗原は、例えばクラスI MHC - ペプチド複合体またはクラスII MHC - ペプチド複合体などのMHC - ペプチド複合体である。

【0355】

「NKG2Dリガンド」とは、natural-killer group 2, member D (NKG2D) 受容体により認識され、および/または結合されるポリペプチドを指す。NKG2Dリガンドに関し、以下の二つのファミリーがヒトにおいて特定されている：MHC class I chain related proteins A (MICA) およびB (MICB)、ならびにHCMVのUL16-binding proteinsである、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5およびULBP6。MICAおよびMICBはそれぞれ 1、 2、 3、および膜貫通ドメインを有している。ULBP1、ULBP2、ULBP3およびULBP6はそれぞれ 1および 2ドメインを有し、細胞膜にグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) - 結合されている。ULBP4とULBP5はそれぞれ、 1および 2ドメイン、ならびに膜貫通ドメインを有している。NKG2Dリガンドは、多くのヒト癌細胞、および免疫抑制性細胞 (腫瘍微小環境中のT-regおよび骨髄由来抑制性細胞 (MDSC)) 上で様々な組み合わせで発現されている。一つ以上のNKG2Dリガンドを発現する癌としては限定されないが、癌腫 (卵巣癌、膀胱癌、乳癌、肺癌、肝癌、結腸癌、腎癌、前立腺癌、メラノーマ、ユーイング肉腫、神経膠腫、および神経芽細胞腫)、白血病 (AML、CML、CLL)、リンパ腫、および多発性骨髄腫が挙げられる。NKG2Dリガンドは、慢性炎症部位で、何らかの感染の後に一過性で、局所照射の後に、ならびに例えばHDAC阻害剤およびボルテゾミブなどの特定の薬剤を用いた処置の後に、誘導される場合もある。

【0356】

「NK G 2 D 受容体結合ドメイン、またはそのNK G 2 D リガンド結合部分」とは、一つ以上のNK G 2 D リガンドに結合するために必要な、もしくは十分なNK G 2 D 受容体またはその部分を指す。K l r k 1 としても知られているN a t u r a l - k i l l e r g r o u p 2 , m e m b e r D (NK G 2 D) は、C 型レクチン様受容体であり、活性化型免疫受容体としてナチュラルキラー (NK) 細胞において最初に特定された。ヒトにおいて、NK G 2 D は、NK 細胞、C D 8 + T 細胞、C D 4 + T 細胞サブセット、および T 細胞サブセット上に共刺激性受容体として発現されている。NK G 2 D 受容体結合ドメイン、またはそのNK G 2 D リガンド結合部分は、限定されないが、M I C A、M I C B、U L B P 1、U L B P 2、U L B P 3、U L B P 4、U L B P 5、およびU L B P 6 を含む一つ以上のNK G 2 D リガンドに結合する。

10

【0357】

本明細書において使用される場合、「結合ドメイン」、「細胞外ドメイン」、「抗原結合ドメイン」、「細胞外結合ドメイン」、「細胞外抗原結合ドメイン」、「抗原特異的結合ドメイン」、および「細胞外抗原特異的結合ドメイン」という用語は相互交換可能に使用され、対象となる標的抗原に特異的に、および/または選択的に結合する能力を有するポリペプチドを指す。結合ドメインは、天然、合成、半合成、または組み換えの供給源のいずれかから誘導されてもよい。

【0358】

本明細書において使用される場合、「特異的結合アフィニティ」または「特異的に結合する」または「特異的に結合された」または「特異的結合」または「特異的に標的化」という用語は、バックグラウンド結合よりも高い結合アフィニティでの、結合ドメインの標的抗原への結合を記載する。結合ドメインは、例えば、約 10^5 M^{-1} 以上のアフィニティまたは K_a (すなわち、 $1/\text{M}$ の単位を有する、特定の結合相互作用の平衡結合定数) で抗原に結合する、または抗原と会合する場合、標的抗原に「特異的に結合する」。ある実施形態では、結合ドメイン (または当該結合ドメインを含む融合タンパク質) は、標的に、約 10^6 M^{-1} 、 10^7 M^{-1} 、 10^8 M^{-1} 、 10^9 M^{-1} 、 10^{10} M^{-1} 、 10^{11} M^{-1} 、 10^{12} M^{-1} 、または 10^{13} M^{-1} 以上の K_a で結合する。「高アフィニティ」結合ドメイン (またはその一本鎖融合タンパク質) とは、少なくとも 10^7 M^{-1} 、少なくとも 10^8 M^{-1} 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、またはそれ以上の K_a を有する結合ドメインを指す。

20

30

【0359】

「選択的に結合する」または「選択的に結合された」または「選択的結合」または「選択的に標的化する」という用語は、複数のオフターゲット分子の存在下で、標的分子に一つの分子が優先的に結合すること (オンターゲット結合) を記載する。

【0360】

「抗体」とは、抗原のエピトープを特異的に認識し、結合する少なくとも軽鎖または重鎖の免疫グロブリン可変領域を含有するポリペプチドである結合物質を指し、そうした抗原としては例えば免疫細胞により認識される抗原決定基を含有する、脂質、炭水化物、多糖、糖タンパク質、ペプチドまたは核酸が挙げられる。

40

【0361】

「エピトープ」または「抗原性決定基」とは、結合物質が結合する抗原の領域を指す。特定の実施形態では、ポリペプチドは、細胞内にあり、エピトープは、MHC との複合体において提示される短いオリゴペプチド (約 2 ~ 約 20 アミノ酸) である。

【0362】

抗体は、例えばラクダ Ig、リヤマ Ig、アルパカ Ig、Ig NAR、F a b ' 断片、F (a b ')₂ 断片、二特異性 F a b 二量体 (F a b 2)、三特異性 F a b 三量体 (F a b 3)、F v、一本鎖 F v タンパク質 (s c F v)、b i s - s c F v、(s c F v)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化 F v タンパク質 (d s F v)、およびシングルドメイン抗体 (s d A b、ラクダ科 V H H、ナノボ

50

ディ)、ならびに全長抗体の抗原結合に寄与する部分などのその抗原結合断片を含む。抗体はまた、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体ならびにそれらの抗原結合断片、マウス抗体、ラクダ科抗体およびヒト抗体ならびにそれらの抗原結合断片、ならびにキメラ抗体、ヘテロコンジュゲート抗体およびヒト化抗体ならびにそれらの抗原結合断片を含む。Pierce Catalog and Handbook, 1994 - 1995 (Pierce Chemical Co., Rockford, IL); Kuby, J., Immunology, 3rd Ed., W. H. Freeman & Co., New York, 1997も参照のこと。

【0363】

「リンカー」とは、様々なポリペプチドドメイン間の複数のアミノ酸残基を指し、分子の適切な間隔および立体構造のために付加される。特定の実施形態では、リンカーは、可変領域を結合させる配列である。「可変領域を結合させる配列」は、 V_H と V_L を繋げるアミノ酸配列であり、二つの下位結合ドメインの相互作用と適合可能なスパーサー機能を提供し、得られたポリペプチドは、同じ軽鎖可変領域と重鎖可変領域を含む抗体と同じ標的分子に対する特異的結合アフィニティを保持する。特定の実施形態では、リンカーは、一つ以上の重鎖可変ドメインもしくは軽鎖可変ドメイン、ヒンジドメイン、多量体形成ドメイン、膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを分離させる。

【0364】

本明細書において予期される特定の実施形態での使用に適したリンカーの例示としては、限定されないが、以下のアミノ酸配列が挙げられる：GGG; DGGGS (配列番号30); TGEKP (配列番号31) (例えば、Liu et al., PNAS 5525 - 5530 (1997)); GGRR (配列番号32) (Pomerantz et al., 1995, supra); (GGGS)_n、式中、n = 1、2、3、4または5 (配列番号33) (Kim et al., PNAS 93, 1156 - 1160 (1996.)); EGKSSGSGSESKVD (配列番号34) (Chaudhary et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87: 1066 - 1070); KESGSVSSSEQLAQFRSLD (配列番号35) (Bird et al., 1988, Science 242: 423 - 426)、GGRRGGS (配列番号36); LRQRDGERP (配列番号37); LRQKDGGGSERP (配列番号38); LRQKD (GGGS)₂ ERP (配列番号39)。あるいは、可塑性リンカーを、DNA結合部位とペプチド自体の両方をモデル化することができるコンピュータプログラム (Desjarlais & Berg, PNAS 90: 2256 - 2260 (1993), PNAS 91: 11099 - 11103 (1994)) を使用して、またはファージディスプレイ法により合理的に設計することができる。一つの実施形態では、リンカーは、以下のアミノ酸配列を含む：GSTSGSGKPGSGEGSTKG (配列番号40) (Cooper et al., Blood, 101(4): 1637 - 1644 (2003))。

【0365】

「スパーサードメイン」とは、二つのドメインを分離させるポリペプチドを指す。一つの実施形態では、スパーサードメインは、エフェクター細胞の表面から抗原結合ドメインを離れさせ、適切な細胞/細胞の接触、抗原結合、および活性化を可能にする (Patel et al., Gene Therapy, 1999; 6: 412 - 419)。特定の実施形態では、スパーサードメインは、一つ以上の結合ドメイン、多量体形成ドメイン、膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを分離させる。スパーサードメインは、天然源、合成源、半合成源、または組み換え源のいずれかから誘導されてもよい。ある実施形態では、スパーサードメインは、一つ以上の重鎖定常領域、例えばCH2およびCH3などを含む免疫グロブリン部分である。スパーサードメインは、天然免疫グロブリンヒンジ領域、または改変免疫グロブリンヒンジ領域のアミノ酸配列を含んでもよい。

【 0 3 6 6 】

「ヒンジドメイン」とは、エフェクター細胞の表面から抗原結合ドメインを離れて配置させ、適切に細胞／細胞を接触させる、抗原結合させる、および活性化させることに重要な役割を果たすポリペプチドを指す。特定の実施形態では、ポリペプチドは、結合ドメインと多量体形成ドメインの間、結合ドメインと膜貫通ドメイン（TM）の間、または多量体形成ドメインと膜貫通ドメインの間に一つ以上のヒンジドメインを含んでもよい。ヒンジドメインは、天然源、合成源、半合成源、または組み換え源のいずれかから誘導されてもよい。ヒンジドメインは、天然免疫グロブリンヒンジ領域、または改変免疫グロブリンヒンジ領域のアミノ酸配列を含んでもよい。

【 0 3 6 7 】

10

本明細書において使用される場合、「多量体形成ドメイン」とは、別の異なるポリペプチドと直接、または例えば化学誘導性二量体形成剤などの架橋分子を介して優先的に相互作用する、または会合するポリペプチドを指し、この場合において異なる多量体形成ドメインの相互作用は、多量体形成に大きく貢献し、または多量体形成を効率的に促進する（すなわち、二量体、三量体または多分節複合体の形成であり、それらはホモ二量体、ヘテロ二量体、ホモ三量体、ヘテロ三量体、ホモ多量体、ヘテロ多量体であり得る）。多量体形成ドメインは、天然源、合成源、半合成源、または組み換え源のいずれかから誘導されてもよい。

【 0 3 6 8 】

20

本明細書において予期される特定の実施形態での使用に適した多量体形成ドメインの例示としては、FK506結合タンパク質（FKBP）ポリペプチドもしくはそのバリエーション、FKBP-ラパマイシン結合（FRB）ポリペプチドもしくはそのバリエーション、カルシニューリンポリペプチドもしくはそのバリエーション、シクロフィリンポリペプチドもしくはそのバリエーション、細菌ジヒドロ葉酸レダクターゼ（DHFR）ポリペプチドもしくはそのバリエーション、PYR1-like 1（PYL1）ポリペプチドもしくはそのバリエーション、abscisic acid insensitive 1（ABI1）ポリペプチドもしくはそのバリエーション、GIB1ポリペプチドもしくはそのバリエーション、またはGAIポリペプチドもしくはそのバリエーションが挙げられる。

【 0 3 6 9 】

30

本明細書において使用される場合、「FKBP-ラパマイシン結合ポリペプチド」という用語は、FRBポリペプチドを指す。特定の実施形態では、FRBポリペプチドは、FKBP12-ラパマイシン結合ポリペプチドである。本明細書において予期される特定の実施形態での使用に適したFRBポリペプチドは概して少なくとも約85～約100アミノ酸残基を含有する。ある実施形態では、FRBポリペプチドは、GenBankアクセッション番号L34075.1に関して、Ile-2021～Lys-2113の93アミノ酸配列を含み、およびT2098Lの変異を含む。本明細書において予期されるFRBポリペプチドは、架橋因子を介してFKBPポリペプチドに結合し、それにより三重複合体を形成する。

【 0 3 7 0 】

40

本明細書において使用される場合、「FK506結合タンパク質」という用語は、FKBPポリペプチドを指す。特定の実施形態では、FKBPポリペプチドは、FKBP12ポリペプチド、またはF36V変異を含むFKBP12ポリペプチドである。ある実施形態では、FKBPドメインは、「ラパマイシン結合ドメイン」とも呼称される場合がある。様々なFKBP種のヌクレオチド配列、クローニング、および他の態様に関する情報は、当分野に公知である（例えば、Staendart et al., Nature 346:671, 1990 (human FKBP12); Kay, Biochem. J. 314:361, 1996を参照のこと）。本明細書において予期されるFKBPポリペプチドは、架橋因子を介してFRBポリペプチドに結合し、それにより三重複合体を形成する。

【 0 3 7 1 】

50

「架橋因子」とは、二つ以上の多量体形成ドメインと会合し、それらの間に配置される分子を指す。特定の実施形態では、多量体形成ドメインは架橋因子の存在下でのみ、ポリペプチド複合体の形成に大きく貢献し、または効率的に促進する。特定の実施形態では、多量体形成ドメインは、架橋因子の非存在下では、ポリペプチド複合体の形成に貢献せず、または効率的に促進しない。本明細書において予期される特定の実施形態での使用に適した架橋因子の例としては限定されないが、AP21967、ラパマイシン（シロリムス）もしくはそのラパログ（rapalog）、クーママイシン（coumermycin）もしくはその誘導体、ジベレリンもしくはその誘導体、アブシジン酸（ABA: abscisic acid）もしくはその誘導体、メトトレキサートもしくはその誘導体、シクロスポリンAもしくはその誘導体、FKCsAもしくはその誘導体、トリメトプリム（Tmp）-FKBPの合成リガンド（SLF: synthetic ligand for FKBP）もしくはその誘導体、またはそれらの任意の組み合わせが挙げられる。

10

【0372】

ラパマイシンアナログ（ラパログ）としては限定されないが、米国特許第6,649,595号に記載されるものが挙げられる。ラパログ構造は、その全体で参照により本明細書に組み込まれる。ある実施形態では、架橋因子は、ラパマイシンと比較して免疫抑制性効果が大きく減少したラパログである。好ましい実施形態では、ラパログは、AP21967（C-6-（S）-7-メチルインドールラパマイシンとしても知られている、IC₅₀ = 10 nM、化学的に改変された非免疫抑制性ラパマイシンアナログ）である。本明細書において予期される特定の実施形態での使用に適したラパログの他の例としては限定されないが、エベロリムス（everolimus）、ノボリムス（novolimus）、ピメクロリムス（pimecrolimus）、リダフォロリムス（ridaforolimus）、タクロリムス（tacrolimus）、テムシロリムス（temsirolimus）、ウミロリムス（umiroliimus）およびゾタロリムス（zotarolimus）が挙げられる。

20

【0373】

「免疫抑制性効果が大きく減少した」とは、臨床的に測定される、もしくはインビトロで適切に測定される（例えばT細胞増殖の阻害など）、またはヒト免疫抑制活性のインビボサロゲートで測定される、同じ投与量に対して観察される、または予測される免疫抑制性効果の少なくとも0.1~0.005倍未満を指す。

30

【0374】

「膜貫通ドメイン」または「TMドメイン」は、ポリペプチドを細胞膜に固定させるドメインである。TMドメインは、天然源、合成源、半合成源、または組み換え源のいずれかから誘導されてもよい。

【0375】

「エフェクター機能」または「エフェクター細胞機能」という用語は、免疫エフェクター細胞の専門的な機能を指す。エフェクター機能としては限定されないが、活性化、サイトカイン産生、増殖、および細胞障害性因子の放出を含む細胞障害活性、または免疫エフェクター細胞上に発現される受容体への抗原結合で惹起される他の細胞反応が挙げられる。

【0376】

40

「細胞内シグナル伝達ドメイン」または「エンドドメイン（endodomain）」とは、エフェクター機能性シグナルを伝達するタンパク質部分を指し、細胞に専門的機能を実行するよう指示を出す。通常は細胞内シグナル伝達ドメインの全体が採用され得るが、多くの場合、ドメイン全体を使用する必要はない。細胞内シグナル伝達ドメインの切断部分が使用される範囲について、エフェクター機能シグナルが伝達される限りにおいて、ドメイン全体に代わり、そうした切断部分が使用されてもよい。細胞内シグナル伝達ドメインという用語は、エフェクター機能性シグナルの伝達に必要な、または十分な細胞内シグナル伝達ドメインの任意の切断部分を含むことが意図される。

【0377】

TCRのみを通じて生じたシグナルは、T細胞の完全な活性化には不十分であること、

50

および二次シグナルまたは共刺激性シグナルも必要であることが知られている。ゆえにT細胞の活性化は、二つの別種の細胞内シグナル伝達ドメインにより介在されると言うこともできる。一次シグナル伝達ドメインは、TCR（例えば、TCR/CD3複合体）を通じて抗原依存性の一次活性化を開始させる。そして共刺激性ドメインは、抗原依存性の様式で作用して、二次シグナルまたは共刺激性シグナルを生じさせる。

【0378】

「一次シグナル伝達ドメイン」とは、刺激性または阻害性のいずれかで、TCR複合体の一次活性化を制御する細胞内シグナル伝達ドメインを指す。刺激性に作用する一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン系活性化モチーフ (immunoreceptor tyrosine-based activation motifs) またはITAMとして知られているシグナル伝達モチーフを含有してもよい。特定の実施形態での使用に適したITAM含有一次シグナル伝達ドメインの例としては限定されないが、FcR、FcR、CD3、CD3、CD3、CD3、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66dに由来するものが挙げられる。

【0379】

本明細書において使用される場合、「共刺激性ドメイン」または「共刺激性ドメイン」という用語は、共刺激性分子の細胞内シグナル伝達ドメインを指す。共刺激性分子は、抗原受容体またはFc受容体以外の細胞表面分子であり、抗原に結合した際にTリンパ球の効率的な活性化および機能に必要とされる二次シグナルを生じさせる。共刺激性ドメインが単離され得る共刺激性分子の例としては限定されないが、以下が挙げられる：Toll様受容体1 (TLR1)、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、caspase recruitment domain family member 11 (CARD11)、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54 (ICAM)、CD83、CD94、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD278 (ICOS)、DNAX-Activation Protein 10 (DAP10)、Linker for activation of T-cells family member 1 (LAT)、SH2 Domain-Containing Leukocyte Protein Of 76 kD (SLP76)、T cell receptor associated transmembrane adaptor 1 (TRAT1)、TNFR2、TNF receptor superfamily member 14 (TNFRS14; HVEM)、TNF receptor superfamily member 18 (TNFRS18; GITR)、TNF receptor superfamily member 25 (TNFRS25; DR3)、およびzeta chain of T cell receptor associated protein kinase 70 (ZAP70)。

【0380】

「免疫障害」とは、免疫系からの反応を引き起こす疾患を指す。特定の実施形態では、「免疫障害」という用語は、癌、自己免疫性疾患、または免疫不全を指す。一つの実施形態では、免疫障害は、感染性疾患を包含する。

【0381】

本明細書において使用される場合、「癌」という用語は概して、異常な細胞が制御されずに分裂し、近傍組織へと浸潤し得る、ある種の疾患または状態に関連する。

【0382】

本明細書において使用される場合、「悪性」という用語は、腫瘍細胞群が制御不能な増殖（すなわち正常限界を超える分裂）、浸潤（すなわち隣接組織への侵入と破壊）、および転移（すなわちリンパまたは血液を介して身体の他の場所へ拡散）のうちの一つ以上を呈する癌を指す。本明細書において使用される場合、「転移する」という用語は、身体の一部から、別の部分へと癌が拡散することを指す。拡散された細胞により形成された腫瘍は、「転移腫瘍」または「転移癌」と呼ばれる。転移腫瘍は、元の腫瘍（原発腫瘍）の

細胞と似た細胞を含有する。

【0383】

本明細書において使用される場合、「良性」または「非悪性」という用語は、大きく成長し得るが、身体の他の部分に拡散しない腫瘍を指す。良性腫瘍は自己限定的であり、多くの場合、浸潤せず、または転移しない。

【0384】

「癌細胞」とは、癌性増殖または癌性組織の個々の細胞を指す。癌細胞には、固形癌と液性癌の両方が含まれる。「腫瘍」または「腫瘍細胞」とは概して、細胞の異常な増殖による膨張、または細胞の異常な増殖により形成された病変を指し、良性、前癌性、または悪性であり得る。殆どの癌は腫瘍を形成するが、例えば白血病などの液性癌は必ずしも腫瘍を形成するわけではない。腫瘍を形成する癌について、癌（細胞）という用語、および腫瘍（細胞）という用語は相互交換可能に使用される。個体中の腫瘍の量は、「全身腫瘍組織量（tumor burden）」であり、腫瘍の数、体積または重量として測定することができる。

10

【0385】

「再発」という用語は、ある期間の改善または寛解の後に、癌の復活の診断、または癌の復活の徴候および症状の診断がされたことを指す。

【0386】

「寛解」とは、「臨床的寛解」とも呼称され、部分寛解と完全寛解の両方を含む。部分寛解では、すべてではなく一部の癌の徴候および症状が消失する。完全寛解では、すべての癌の徴候および症状が消失するが、癌はまだ体内に存在する場合がある。

20

【0387】

「難治性」とは、特定の治療剤を用いた療法に抵抗性である、または非反応性である癌を指す。癌は、治療の開始時から難治性である場合（すなわち治療剤の初回暴露に非反応性）、または最初の治療期間、もしくはその後の治療期間のいずれかのうちに治療剤に対して抵抗性を発現した結果として難治性となる場合がある。

【0388】

「抗原陰性」とは、抗原を発現しない細胞、または検出できないごく少量の抗原を発現する細胞を指す。一つの実施形態では、抗原陰性細胞は、抗原の目的となる受容体に結合しない。一つの実施形態では、抗原陰性細胞は、抗原の目的となる受容体に実質的に結合しない。

30

【0389】

「自己免疫性疾患」とは、身体が、自身の組織の構成物質の一部に対し、免疫原性（すなわち免疫系）反応を生じさせる疾患を指す。言い換えると、免疫系が、身体内の組織またはシステムの一部を「自己」として認識する能力を失い、外来性であるとして攻撃してしまう。自己免疫性疾患は、主に一つの器官が影響を受けるもの（例えば溶血性貧血および自己免疫性甲状腺炎など）と、自己免疫性疾患プロセスが多くの組織に拡散されるもの（例えば全身性エリテマトーデスなど）に分類され得る。例えば多発性硬化症は、脳および脊髄の神経線維を取り囲む鞘をT細胞が攻撃することで発生すると考えられている。これによって、協調運動障害、脱力、および視力障害が生じる。自己免疫性疾患は当分野に公知であり、例えば橋本甲状腺炎、グレーブス病、紅斑性狼瘡、多発性硬化症、リウマチ性関節炎、溶血性貧血、抗免疫性甲状腺炎、全身性エリテマトーデス、セリアック病、クローン病、大腸炎、糖尿病、強皮症、乾癬などが挙げられる。

40

【0390】

「免疫不全」とは、疾患または化学物質投与によって免疫系が機能障害となった患者の状態を意味する。この状態により、外来性物質に対する防御に必要とされる血液細胞の数とタイプにおいて免疫系が不完全な状態となる。免疫不全状態または免疫不全疾患は当分野に公知であり、例えばAIDS（後天性免疫不全症候群）、SCID（重症複合型免疫不全症）、選択的IgA欠損症、分類不能型免疫不全症、X連鎖無ガンマグロブリン血症、慢性肉芽腫症、高IgM症候群、および糖尿病が挙げられる。

50

【0391】

「感染性疾患」とは、ヒトからヒトへと伝達され得る、または生物から生物へと伝達され得る疾患を指し、微生物またはウイルスにより発生する（例えば、風邪）。感染性疾患は当分野に公知であり、例えば肝炎、性感染症（例えば、クラミジア、淋病）、結核、HIV/AIDS、ジフテリア、B型肝炎、C型肝炎、コレラ、およびインフルエンザが挙げられる。

【0392】

本明細書において使用される場合、「個体」および「対象」という用語はしばしば相互交換可能に使用され、本明細書において別段に予期される組成物および方法で治療され得る癌の症状または他の免疫性障害の症状を呈する任意の動物を指す。適切な対象（例えば、患者）としては、実験動物（例えば、マウス、ラット、ウサギまたはモルモット）、家畜（farm animal、domestic animal）、またはペット（例えば、ネコまたはイヌ）が挙げられる。非ヒト霊長類、好ましくはヒト患者も含まれる。典型的な対象としては、癌もしくは別の免疫性障害を有する、またはそのリスクのある、または診断されたヒト患者が挙げられる。

10

【0393】

本明細書において使用される場合、「患者」という用語は、本明細書の別段に開示される組成物および方法で治療され得る癌または別の免疫障害と診断された対象を指す。

【0394】

本明細書において使用される場合、「治療」または「治療すること」には、疾患の症状もしくは病理、または病的状態に対する何らかの有益な効果または望ましい効果が含まれ、治療される疾患もしくは状態の一つ以上の測定可能なマーカーの最小の減少であっても含まれ得る。治療には、任意で、疾患もしくは状態の減少、または疾患もしくは状態の進行の遅延、例えば腫瘍増生の遅延が含まれてもよい。「治療」は必ずしも、疾患もしくは状態、またはその関連症状の完全な排除または治癒を示すものではない。

20

【0395】

本明細書において使用される場合、「予防する」、および例えば「予防される」、「予防すること」といった類似の文言は、疾患もしくは状態の予防、阻害、または発生もしくは再発の可能性の低下を目的としたアプローチを示す。さらに、疾患もしくは状態の発生または再発の遅延、または疾患もしくは状態の症状の発生または再発の遅延も指す。本明細書において使用される場合、「予防」およびその類似文言も、疾患もしくは症状の発生または再発の前の、疾患もしくは状態の強度、作用、症状、および/または負荷量の低下を含む。

30

【0396】

本明細書において使用される場合、「～の少なくとも一つの症状の改善」とは、対象が治療される疾患もしくは状態の一つ以上の症状の減少を指す。特定の実施形態では、治療される疾患または状態は、癌であり、この場合において改善される一つ以上の症状としては限定されないが、脱力、疲労、息切れ、あざができやすい、および出血しやすい、頻発する感染、リンパ節の拡張、腹部膨張または腹部疼痛（膨張した腹部臓器が原因）、骨または関節の疼痛、骨折、予期せぬ体重減少、食欲低下、寝汗、持続性の微熱、および排尿減少（腎機能の障害が原因）が挙げられる。

40

【0397】

「強化する」、または「促進する」、または「増加する」、または「拡張する」とは概して、本明細書において予期される組成物が、ビヒクルまたは対照の分子/組成物による反応と比較して、大きな生理学的反応（すなわち下流効果）をもたらす、惹起させる、または発生させる能力を指す。測定可能な生理学的反応としては特にT細胞の拡張、活性化、持続性、サイトカイン分泌、および/または癌細胞殺傷能力の増加が挙げられ、当分野および本明細書の記載の理解から明白である。「増加した」または「強化された」量は、典型的には「統計的に有意な」量であり、ビヒクルまたは対照組成物によりもたらされる反応の1.1、1.2、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、

50

30 またはそれ以上（例えば500倍、1000倍）（その間および1を超えるすべての整数および小数点を含む、例えば1.5、1.6、1.7、1.8など）である増加を含む場合がある。

【0398】

「減少する」、または「下げる」、または「低める」、または「低下する」、または「弱める」とは概して、本明細書において予期される組成物が、ビヒクルまたは対照の分子/組成物による反応と比較して、小さな生理学的反応（すなわち下流効果）をもたらす、惹起させる、または発生させる能力を指す。「減少」または「低下した」量は、典型的には「統計的に有意な」量であり、ビヒクル、対照組成物によりもたらされる反応、または特定の細胞株での反応の1.1、1.2、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30またはそれ以上（例えば500倍、1000倍）（その間および1を超えるすべての整数および小数点を含む、例えば1.5、1.6、1.7、1.8など）である減少を含む場合がある。

10

【0399】

「維持する」、または「保存する」、または「維持」、または「変化がない」、または「実質的な変化がない」、または「実質的な減少が無い」とは概して、本明細書において予期される組成物が、ビヒクル、対照の分子/組成物により生じた反応、または特定の細胞株での反応と比較して、細胞において実質的に類似した、または同等の生理学的反応（すなわち、下流効果）をもたらす、惹起させる、または生じさせる能力を指す。同等の反応は、基準反応と実質的に変わらない、または測定可能な程度に変わらない反応である。

20

【0400】

追加の定義は、本開示全体を通じて記載されている。

【0401】

C. D A R I C

特定の実施形態では、一つ以上の共刺激性D A R I Cは、免疫エフェクター細胞の細胞障害活性を、少なくとも一つまたは複数の標的抗原を発現する癌細胞へと再指向化させる。本明細書で使用される場合、「D A R I C」という用語は、二量体形成剤が制御する免疫受容体複合体を指す。D A R I Cは、多量体形成剤または架橋因子に暴露された際に免疫エフェクター細胞において、例えば免疫エフェクター細胞の活性および機能を刺激する、炎症促進性サイトカインの産生および/または分泌を増加させるなどの免疫刺激性シグナルを伝達する一つ以上の非天然ポリペプチドを含む。

30

【0402】

特定の実施形態では、本明細書において予期されるD A R I Cは、特定の架橋因子の免疫抑制効果を低下させ、免疫エフェクターにおける免疫刺激性シグナルの空間的および時間的な制御を改善する。好ましい実施形態では、D A R I Cは、多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、膜貫通ドメイン、および一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを各々含む一つ以上のD A R I Cシグナル伝達構成要素、ならびに結合ドメイン、多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、膜貫通ドメイン、および一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを各々含む一つ以上のD A R I C結合構成要素を含む多鎖キメラ受容体である。好ましい実施形態では、D A R I Cシグナル伝達構成要素中の一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインは、D A R I C結合構成要素中の一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインとは異なっている。

40

【0403】

一つの実施形態では、D A R I Cシグナル伝達構成要素とD A R I C結合構成要素は、同じ細胞において一つ以上のポリヌクレオチドから発現される。別の実施形態では、D A R I Cシグナル伝達構成要素とD A R I C結合構成要素は、同じ細胞においてポリシストロニックなポリヌクレオチドから発現される。

【0404】

1. D A R I Cシグナル伝達構成要素

「D A R I Cシグナル伝達構成要素」または「D A R I Cシグナル伝達ポリペプチド」

50

とは、一つ以上の多量体形成ドメイン、膜貫通ドメイン、および一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含有するポリペプチドを指す。特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、多量体形成ドメイン、膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含有する。特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、第一の多量体形成ドメイン、第一の膜貫通ドメイン、第一の共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含有する。

【0405】

特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、一つ以上の多量体形成ドメインを含む。

【0406】

本明細書において予期される特定のDARICシグナル伝達構成要素での使用に適した多量体形成ドメインの例としては限定されないが、FK506結合タンパク質(FKBP)ポリペプチドまたはそのバリエーション、FKBP-ラパマイシン結合(FRB)ポリペプチドまたはそのバリエーション、カルシニューリンポリペプチドまたはそのバリエーション、シクロフィリンポリペプチドまたはそのバリエーション、細菌ジヒドロ葉酸レダクターゼ(DHFR)ポリペプチドまたはそのバリエーション、PYR1-like 1(PYL1)ポリペプチドまたはそのバリエーション、およびabscisic acid insensitive 1(ABI1)ポリペプチドまたはそのバリエーションが挙げられる。

【0407】

特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、FRBポリペプチドを含む。好ましい実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、T2098L変異を含むFRBポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。

【0408】

特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、FKBPポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。好ましい実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、FK506-結合タンパク質12(FKBP12:FK506-binding protein 12)ポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。

【0409】

特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、膜貫通ドメインを含む。

【0410】

本明細書において予期される特定のDARICシグナル伝達構成要素における使用に適した膜貫通ドメインの例示としては限定されないが、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖、またはデルタ鎖、CD3、CD3、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD71、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、アムニオンレス(AMN)、programmed cell death 1(PDCD1)、NKG2A、NKG2B、NKG2CおよびNKG2Dの膜貫通領域が挙げられる。好ましい実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、CD4膜貫通ドメインを含む。好ましい実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、CD8膜貫通ドメインを含む。

【0411】

特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、膜貫通ドメインのC末端と、細胞内シグナル伝達ドメインのN末端を連結するリンカーを含む。様々な好ましい実施形態では、短オリゴペプチドリンカー、またはポリペプチドリンカー、好ましくは1、2、3、4、5、6、7、8、9または10アミノ酸の長さのリンカーが、膜貫通ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインを連結する。グリシン-セリンを基にしたリンカーが、特に適切なリンカーを提供する。

【0412】

本明細書の特定の実施形態において予期されるDARICシグナル伝達構成要素は、一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含有する。一つの実施形態では、DARICシグ

10

20

30

40

50

ナル伝達構成要素は、一つ以上の共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含有する。一つの実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ (ITAM: immunoreceptor tyrosine activation motif) を含有する。

【0413】

本明細書において予期される特定のDARICシグナル伝達構成要素での使用に適したITAM含有一次シグナル伝達ドメインの例示としては限定されないが、FcR、FcR、CD3、CD3、CD3、CD3、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66dに由来するものが挙げられる。好ましい実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、CD3 一次シグナル伝達ドメイン、および一つ以上の共刺激性ドメインを含有する。一次シグナル伝達ドメインおよび共刺激性ドメインは、任意の順序でタンデムに、膜貫通ドメインのカルボキシル末端に連結されてもよい。

10

【0414】

本明細書に予期される特定のDARICシグナル伝達構成要素での使用に適した共刺激性ドメインの例としては限定されないが、以下の共刺激性分子から単離されたドメインが挙げられる: Toll様受容体1 (TLR1)、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、caspase recruitment domain family member 11 (CARD11)、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54 (ICAM)、CD83、CD94、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD278 (ICOS)、DNAX-Activation Protein 10 (DAP10)、Linker for activation of T-cells family member 1 (LAT)、SH2 Domain-Containing Leukocyte Protein Of 76 kD (SLP76)、T cell receptor associated transmembrane adaptor 1 (TRAT1)、TNFR2、TNFRS14、TNFRS18、TNFRS25、およびzeta chain of T cell receptor associated protein kinase 70 (ZAP70)。

20

【0415】

特定の実施形態では、本明細書に予期されるDARICシグナル伝達構成要素は、例えば分泌シグナルペプチドなどのシグナルペプチドを含有し、膜貫通ドメインを含有しない。特定のDARICシグナル伝達構成要素での使用に適したシグナルペプチドの例示としては限定されないが、IgG1重鎖シグナルポリペプチド、Ig 軽鎖シグナルポリペプチド、CD8 シグナルポリペプチド、またはヒトGM-CSF受容体アルファシグナルポリペプチドが挙げられる。様々な好ましい実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、CD8 シグナルポリペプチドを含有する。

30

【0416】

特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、CD28、CD137およびCD134からなる群から選択される一つ以上の共刺激性ドメインを含有する。特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、CD28、CD137およびCD134からなる群から選択される一つ以上の共刺激性ドメイン、およびCD3 一次シグナル伝達ドメインを含有する。特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、CD137共刺激性ドメインと、CD3 一次シグナル伝達ドメインを含む。

40

【0417】

好ましい実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、FRB T2098L多量体形成ドメイン、CD8 膜貫通ドメイン、CD137共刺激性ドメイン、およびCD3 一次シグナル伝達ドメインを含有する。

【0418】

2. DARIC結合構成要素

「DARIC結合構成要素」または「DARIC結合ポリペプチド」とは、標的抗原に

50

結合する結合ドメイン、一つ以上の多量体形成ドメイン、膜貫通ドメイン、および一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含有するポリペプチドを指す。特定の実施形態では、D A R I C 結合構成要素は、標的抗原に結合する結合ドメイン、多量体形成ドメイン、膜貫通ドメイン、および共刺激性ドメインを含有する。特定の実施形態では、D A R I C 結合構成要素は、標的抗原に結合する結合ドメイン、第二の多量体形成ドメイン、第二の膜貫通ドメイン、および第二の共刺激性ドメインを含有する。

【0419】

特定の実施形態では、D A R I C は、二つ以上のD A R I C 結合構成要素を含み、その各々は、異なる抗原に結合する結合ドメイン、多量体形成ドメイン、膜貫通ドメイン、および共刺激性ドメインを含む。特定の実施形態では、D A R I C は、二つ以上のD A R I C 結合構成要素を含み、その各々は、異なる抗原に結合する結合ドメイン、第二または第三の多量体形成ドメイン、第二または第三の膜貫通ドメイン、および第二または第三の共刺激性ドメインを含む。一部の実施形態では、二つ以上のD A R I C 結合構成要素は、異なる結合ドメインを含むが、同じ多量体形成ドメイン、膜貫通ドメイン、および/または細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

10

【0420】

特定のD A R I C 結合構成要素での使用に適した結合ドメインの例としては限定されないが、抗体またはその抗原結合断片が挙げられる。

【0421】

特定の実施形態では、特定のD A R I C 結合構成要素での使用に適した抗体およびその抗原結合断片としては限定されないが、マウス抗体、ラクダ科抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、またはヒト抗体が挙げられる。好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、モノクローナル抗体から誘導される。

20

【0422】

特定のD A R I C 結合構成要素での使用に適した抗体またはその抗原結合断片の例としては限定されないが、ラクダIg、リヤマIg、アルパカIg、Ig N A R、F a b ' 断片、F (a b ')₂断片、二特異性F a b 二量体 (F a b 2)、三特異性F a b 三量体 (F a b 3)、F v、一本鎖F v タンパク質 (s c F v)、b i s - s c F v、(s c F v)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化F v タンパク質 (d s F v)、およびシングルドメイン抗体 (s d A b、ラクダ科V H H、ナノボディ)が挙げられる。

30

【0423】

好ましい実施形態では、結合ドメインは、s c F vを含む。

【0424】

好ましい実施形態では、結合ドメインは、一つ以上のラクダ科V H H抗体を含む。

【0425】

特定の実施形態では、D A R I C 結合構成要素は、腫瘍関連抗原 (T A A)、腫瘍特異的抗原 (T S A)、N K G 2 D リガンド、T 細胞受容体 (T C R) リガンド、または T C R リガンドに結合する結合ドメインを含む。

【0426】

40

特定の実施形態では、D A R I C 結合構成要素は、以下からなる群から選択される標的抗原に結合する結合ドメインを含む：F R、 α ₆ インテグリン、B C M A、B 7 - H 3、B 7 - H 6、C A I X、C D 1 6、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 0、C D 3 3、C D 3 7、C D 3 8、C D 4 4、C D 4 4 v 6、C D 4 4 v 7 / 8、C D 7 0、C D 7 9 a、C D 7 9 b、C D 1 2 3、C D 1 3 3、C D 1 3 8、C D 1 7 1、C E A、C L D N 6、C L D N 1 8 . 2、C L L - 1、C S - 1、C S P G 4、C T A G E 1、D L L 3、E G F R、E G F R v I I I、E G P 2、E G P 4 0、E P C A M、E P H A 2、E R B B 4、F A P、F C R L 5、A c h R、G D 2、G D 3、G P C 3、H E R 2、H E R 2 p 9 5、I L - 1 0 R、I L - 1 3 R 2、K a p p a、L A G E - 1 A、L a m b d a、L e Y、L 1 - C A M、M A G E - A 1、M A G E - A 3、M A G E - A

50

4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT-1。

【0427】

特定の実施形態では、DARIC結合構成要素は、BCMA、B7-H3、CD19、CD20、CD22、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1またはEGFRvIII、多量体形成ドメイン、膜貫通ドメイン、および一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインに結合する結合ドメインを含む。

10

【0428】

特定の実施形態では、DARIC結合構成要素は、一つ以上の多量体形成ドメインを含む。

【0429】

本明細書において予期される特定のDARIC結合構成要素での使用に適した多量体形成ドメインの例としては限定されないが、FKBPポリペプチドまたはそのバリエーション、FRBポリペプチドまたはそのバリエーション、カルシニューリンポリペプチドまたはそのバリエーション、シクロフィリンポリペプチドまたはそのバリエーション、DHFRポリペプチドまたはそのバリエーション、PYL1ポリペプチドまたはそのバリエーション、およびABI1ポリペプチドまたはそのバリエーションが挙げられる。

20

【0430】

特定の実施形態では、DARIC結合構成要素は、FRBポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、DARICシグナル伝達構成要素は、FKBPポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。好ましい実施形態では、DARIC結合構成要素は、T2098L変異を含むFRBポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、DARICシグナル伝達構成要素は、FKBP12ポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。

【0431】

特定の実施形態では、DARIC結合構成要素は、FKBPポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、DARICシグナル伝達構成要素は、FRBポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。好ましい実施形態では、DARIC結合構成要素は、FKBP12ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、DARICシグナル伝達構成要素は、T2098L変異を含むFRBポリペプチドまたはそのバリエーションを含む。

30

【0432】

特定の実施形態では、DARIC結合構成要素は、結合ドメイン、FKBPポリペプチドまたはそのバリエーション、膜貫通ドメイン、および一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含み、DARICシグナル伝達構成要素は、FRBポリペプチドまたはそのバリエーション、膜貫通ドメイン、および一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。好ましい実施形態では、DARIC結合構成要素は、結合ドメイン、FKBP12ポリペプチドまたはそのバリエーション、膜貫通ドメイン、および共刺激性ドメインを含み、DARICシグナル伝達構成要素は、T2098L変異を含むFRBポリペプチドまたはそのバリエーション、膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および一次シグナル伝達ドメインを含む。

40

【0433】

特定の実施形態では、DARIC結合構成要素は、膜貫通ドメインを含む。一つの実施形態では、膜貫通ドメインは、DARICシグナル伝達構成要素で使用する膜貫通ドメインと同じであってもよい。一つの実施形態では、膜貫通ドメインは、DARICシグナル伝達構成要素で使用する膜貫通ドメインとは異なってもよい。

【0434】

本明細書において予期される特定のDARICシグナル伝達構成要素における使用に適した膜貫通ドメインの例示としては限定されないが、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖、またはデルタ鎖、CD3、CD3、CD4、CD5、CD8、CD

50

9、CD 16、CD 22、CD 27、CD 28、CD 33、CD 37、CD 45、CD 64、CD 71、CD 80、CD 86、CD 134、CD 137、CD 152、CD 154、アムニオンレス (AMN)、programmed cell death 1 (PDCD1)、NKG2A、NKG2B、NKG2CおよびNKG2Dの膜貫通領域が挙げられる。特定の実施形態では、DARIC結合構成要素は、CD 8 膜貫通ドメインを含む。好ましい実施形態では、DARIC結合構成要素は、CD 4 膜貫通ドメインを含む。

【0435】

様々な好ましい実施形態では、短オリゴペプチドリinker、またはポリペプチドリinker、好ましくは1、2、3、4、5、6、7、8、9または10アミノ酸の長さのリンカーが、膜貫通ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインを結合する。グリシン-セリンを基にしたリンカーが、特に適切なリンカーを提供する。

【0436】

本明細書の特定の実施形態において予期されるDARIC結合構成要素は、一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含有する。一つの実施形態では、DARIC結合構成要素は、共刺激性ドメインを含む。

【0437】

本明細書に予期される特定のDARICシグナル伝達構成要素での使用に適した共刺激性ドメインの例としては限定されないが、以下の共刺激性分子から単離されたドメインが挙げられる：Toll様受容体1 (TLR1)、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、caspase recruitment domain family member 11 (CARD11)、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54 (ICAM)、CD83、CD94、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD278 (ICOS)、DNAX-Activation Protein 10 (DAP10)、Linker for activation of T-cells family member 1 (LAT)、SH2 Domain-Containing Leukocyte Protein Of 76 kD (SLP76)、T cell receptor associated transmembrane adaptor 1 (TRAT1)、TNFR2、TNFRS14、TNFRS18、TNFRS25、およびzeta chain of T cell receptor associated protein kinase 70 (ZAP70)。

【0438】

特定の実施形態では、DARIC結合構成要素は、CD 27またはCD 28共刺激性ドメインを含む。

【0439】

特定の実施形態では、DARIC結合構成要素は、TNFRS14、TNFRS18、またはTNFRS25共刺激性ドメインを含む。

【0440】

特定の実施形態では、DARIC結合構成要素は、OX40共刺激性ドメインを含む。

【0441】

一部の好ましい実施形態では、DARIC結合構成要素は、TNFR2共刺激性ドメインを含む。

【0442】

特定の実施形態では、本明細書に予期されるDARIC結合構成要素は、例えば分泌シグナルペプチドなどのシグナルペプチドを含有し、膜貫通ドメインを含有しない。特定のDARIC結合構成要素での使用に適したシグナルペプチドの例示としては限定されないが、IgG1重鎖シグナルポリペプチド、Ig 軽鎖シグナルポリペプチド、CD 8 シグナルポリペプチド、またはヒトGM-CSF受容体アルファシグナルポリペプチドが挙げられる。様々な好ましい実施形態では、DARIC結合構成要素は、CD 8 シグナルポリペプチドを含有する。

10

20

30

40

50

【0443】

特定の実施形態では、DARIC結合構成要素は、BCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12多量体形成ドメインポリペプチド、CD4膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびCD27、CD28、TNFRS14、TNFRS18、TNFRS25、OX40またはTNFR2共刺激性ドメインを含む。

【0444】

特定の実施形態では、DARIC結合構成要素は、BCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1、またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12多量体形成ドメインポリペプチド、CD4膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびCD27またはCD28共刺激性ドメインを含む。

10

【0445】

特定の実施形態では、DARIC結合構成要素は、BCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1、またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12多量体形成ドメインポリペプチド、CD4膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびTNFRS14、TNFRS18またはTNFRS25共刺激性ドメインを含む。

【0446】

ある実施形態では、DARIC結合構成要素は、BCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1、またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12多量体形成ドメインポリペプチド、CD4膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびOX40共刺激性ドメインを含む。

20

【0447】

別の実施形態では、DARIC結合構成要素は、BCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1、またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12多量体形成ドメインポリペプチド、CD4膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびTNFR2共刺激性ドメインを含む。

30

【0448】

特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、FRB T2098L多量体形成ドメイン、CD8膜貫通ドメイン、CD137共刺激性ドメインおよびCD3一次シグナル伝達ドメインを含み、DARIC結合構成要素は、BCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12多量体形成ドメインポリペプチド、CD4膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびCD27、CD28、TNFRS14、TNFRS18、TNFRS25、OX40またはTNFR2共刺激性ドメインを含む。

40

【0449】

特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、FRB T2098L多量体形成ドメイン、CD8膜貫通ドメイン、CD137共刺激性ドメインおよびCD3一次シグナル伝達ドメインを含み、DARIC結合構成要素は、BCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12多量体形成ドメインポリペプチド、CD4膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびCD27またはCD28共刺激性ドメインを含む。

【0450】

特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、FRB T2098L多量

50

体形成ドメイン、CD8 膜貫通ドメイン、CD137 共刺激性ドメインおよびCD3 一次シグナル伝達ドメインを含み、DARIC 結合構成要素は、BCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12 多量体形成ドメインポリペプチド、CD4 膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびTNFRS14、TNFRS18またはTNFRS25 共刺激性ドメインを含む。

【0451】

特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、FRB T2098L 多量体形成ドメイン、CD8 膜貫通ドメイン、CD137 共刺激性ドメインおよびCD3 一次シグナル伝達ドメインを含み、DARIC 結合構成要素は、BCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12 多量体形成ドメインポリペプチド、CD4 膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびOX40 共刺激性ドメインを含む。

10

【0452】

特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素は、FRB T2098L 多量体形成ドメイン、CD8 膜貫通ドメイン、CD137 共刺激性ドメインおよびCD3 一次シグナル伝達ドメインを含み、DARIC 結合構成要素は、BCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12 多量体形成ドメインポリペプチド、CD4 膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびTNFR2 共刺激性ドメインを含む。

20

【0453】

3. 架橋因子

本明細書の特定の実施形態において予期される架橋因子は、各構成要素中の多量体形成ドメインを通じて、一つ以上のDARICシグナル伝達構成要素と、一つ以上のDARIC 結合構成要素の会合を介在または促進する。架橋因子は、多量体形成ドメインと関連付けられ、およびその間に配置されて、DARICシグナル伝達構成要素とDARIC 結合構成要素の会合を促進する。架橋因子の存在下で、DARIC 結合構成要素とDARICシグナル伝達構成要素は会合し、DARIC 結合ポリペプチドが標的細胞上の標的抗原に結合したときに、標的細胞に対する免疫エフェクター細胞活性を開始させる。架橋因子の非存在下では、DARIC 結合構成要素は、DARICシグナル伝達構成要素と会合せず、DARICは不活性である。

30

【0454】

特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素とDARIC 結合構成要素は、以下からなる群から選択される同系ペアの多量体形成ドメインを含む：FKBPとFKBP-rapamycin binding (FRB)、FKBPとカルシニューリン、FKBPとシクロフィリン、FKBPと細菌ジヒドロ葉酸レダクターゼ(DHFR)、カルシニューリンとシクロフィリン、およびPYR1-like 1 (PYL1)とabscisic acid insensitive 1 (ABI1)。

40

【0455】

ある実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素とDARIC 結合構成要素の多量体形成ドメインは、以下からなる群から選択される架橋因子と会合する：ラパマイシンまたはそのラパログ、クーママイシンまたはその誘導体、ジベレリンまたはその誘導体、アブジジン酸(ABA)またはその誘導体、メトトレキサートまたはその誘導体、シクロスポリンAまたはその誘導体、FK506/シクロスポリンA(FKCSA)またはその誘導体、およびトリメトプリム(Tmp)-FK506 結合タンパク質(FKBP)の合成リガンド(SLF)またはその誘導体。

【0456】

特定の実施形態では、DARICシグナル伝達構成要素とDARIC 結合構成要素は、

50

一つ以上の F R B および / または F K B P 多量体形成ドメイン、またはそのバリエーションを含む。ある実施形態では、D A R I C シグナル伝達構成要素は、F R B 多量体形成ドメインまたはそのバリエーションを含むし、D A R I C 結合構成要素は、F K B P 多量体形成ドメインまたはそのバリエーションを含む。特定の好ましい実施形態では、D A R I C シグナル伝達構成要素は、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインまたはそのバリエーションを含むし、D A R I C 結合構成要素は、F K B P 1 2 もしくは F K B P 1 2 F 3 6 V 多量体形成ドメインまたはそのバリエーションを含む。

【 0 4 5 7 】

本明細書において予期される特定の実施形態での使用に適した架橋因子の例示としては限定されないが、A P 1 9 0 3、A P 2 0 1 8 7、A P 2 1 9 6 7 (C - 1 6 - (S) - 7 - メチルインドールラパマイシンとしても知られている)、エベロリムス、ノボリムス、ピメクロリムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス、およびゾタロリムスが挙げられる。特定の好ましい実施形態では、架橋因子は、A P 2 1 9 6 7 である。ある好ましい実施形態では、架橋因子は、非免疫抑制用量のシロリムス (ラパマイシン) である。

【 0 4 5 8 】

D . 操作された抗原受容体

特定の実施形態では、細胞は、一つ以上の D A R I C 結合構成要素および / または D A R I C シグナル伝達構成要素、ならびに操作された抗原受容体を発現するように操作され、または改変される。特定の実施形態では、核酸またはベクターは、融合ポリペプチドをコードし、当該融合ポリペプチドは、操作された操作された受容体、ならびに D A R I C 結合構成要素および / または D A R I C シグナル伝達構成要素、ならびに当該受容体と当該構成要素の間に散在する一つ以上のポリペプチド切断シグナルを含む。他の特定の実施形態では、D A R I C をコードするポリヌクレオチドまたはベクターは、操作された抗原受容体を含む免疫エフェクター細胞内に導入される。何らかの特定の学説に拘束されることは望まないが、特定の実施形態では、当分野に公知の任意の好適なメカニズムを使用して、操作された抗原受容体および D A R I C を、同じ免疫エフェクター細胞または細胞群に導入、および共発現させて、免疫エフェクター細胞反応の効率、有効性および耐久性を高め得ることが予期される。好ましい実施形態では、操作された抗原受容体の例えば共刺激性ドメインなどの細胞内シグナル伝達ドメイン、ならびに D A R I C 結合ドメインおよび / または D A R I C シグナル伝達ドメインは、互いに異なる。

【 0 4 5 9 】

特定の実施形態では、本明細書において予期される免疫エフェクター細胞は、操作された抗原受容体、および D A R I C の一つ以上の構成要素を含む。特定の実施形態では、当該操作された抗原受容体は、操作された T 細胞受容体 (T C R)、キメラ抗原受容体 (C A R)、またはゼータカインである。

【 0 4 6 0 】

1 . 操作された T C R

特定の実施形態では、本明細書において予期される免疫エフェクター細胞は、操作された T C R、および D A R I C の一つ以上の構成要素を含む。一つの実施形態では、T 細胞は、一つ以上のポリペプチド切断シグナルにより分離された、操作された T C R、および D A R I C の一つ以上の構成要素をコードするポリヌクレオチドまたはベクターを導入することにより操作される。一つの実施形態では、T 細胞は、操作された T C R をコードするポリヌクレオチドまたはベクター、および D A R I C の一つ以上の構成要素をコードするポリヌクレオチドまたはベクターを導入することにより操作される。一つの実施形態では、T 細胞は、操作された T C R を発現するように操作され、さらに、D A R I C の一つ以上の構成要素をコードするポリヌクレオチドまたはベクターを導入することにより操作される。

【 0 4 6 1 】

天然の T 細胞受容体は、二つのサブユニット、つまりアルファ鎖とベータ鎖のサブユニ

10

20

30

40

50

ット（ γ TCR）、またはガンマ鎖とデルタ鎖のサブユニット（ δ TCR）を含有し、それら各々が、各T細胞ゲノムの組み換え事象により生成される固有タンパク質である。TCRのライブラリは、特定の標的抗原に対する選択性に関してスクリーニングされてもよい。このようにして、標的抗原に対する高いアビディティと反応性を有する天然TCRが選択され、クローニングされ、そしてその後、養子免疫療法に使用されるT細胞群内に導入される。一つの実施形態では、TCRは、 γ TCRである。一つの実施形態では、TCRは、 δ TCRである。

【0462】

一つの実施形態では、T細胞は、標的抗原を発現する腫瘍細胞に対する特異性をT細胞に付与するTCRを形成する能力を有するTCRサブユニットを導入することにより改変される。特定の実施形態では、サブユニットは、天然サブユニットと比較して、一つ以上のアミノ酸の置換、欠失、挿入または改変を有するが、ただし当該サブユニットは、TCRを形成し、トランスフェクトされたT細胞に対して標的細胞へと戻る能力を付与し、そして免疫学的に関連性のあるサイトカインシグナル伝達に関与する能力を保持するものとする。操作されたTCRはさらに、関連性のある腫瘍関連ペプチドを呈する標的細胞に高いアビディティで結合し、任意で、関連ペプチドを提示する標的細胞の効率的な殺傷をインビボで介在することが好ましい。

【0463】

操作されたTCRをコードする核酸は、T細胞の（天然）染色体における本来の状況から単離されることが好ましく、本明細書において別段に記載されるように適切なベクター内に導入されてもよい。核酸、および当該核酸を含むベクターの両方が、細胞、好ましくは特定の実施形態ではT細胞内に移送されてもよい。その後、改変T細胞は、形質導入された核酸によりコードされるTCRの一つ以上の鎖を発現することができる。好ましい実施形態では、操作されたTCRは、当該特定のTCRを通常は発現しないT細胞内に導入されるという点で、外来性のTCRである。操作されたTCRの本質的側面は、主要組織適合性遺伝子複合体（MHC）または類似の免疫構成要素により提示される腫瘍抗原に対し高いアビディティを有するという点である。操作されたTCRとは対照的に、CARは、MHC非依存性の様式で、標的抗原に結合するよう操作される。

【0464】

TCRは、TCRのアルファ鎖もしくはベータ鎖、またはガンマ鎖もしくはデルタ鎖のアミノ末端部分またはカルボキシル末端部分に付加された追加ポリペプチドとともに発現されてもよいが、ただし当該付加された追加ポリペプチドは、アルファ鎖またはベータ鎖が、機能性T細胞受容体を形成する能力、およびMHC依存性の抗原認識能力に干渉しないものとする。

【0465】

特定の実施形態において予期される操作されたTCRにより認識される抗原としては限定されないが、血液癌または固形腫瘍の両方での抗原を含む、癌抗原が挙げられる。抗原の例としては限定されないが、FR γ 、 α _v6インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、Achr、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2p95、IL-10R α 、IL-13R α 2、Kappa、LAGE-1A、Lambda、LeY、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN）、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、

10

20

30

40

50

ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT-1が挙げられる。

【0466】

好ましい実施形態では、標的抗原は、癌の一つ以上の細胞上で発現され、以下からなる群から選択される：BCMA、B7-H3、CD19、CD20、CD22、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1、またはEGFRvIII。

【0467】

2. キメラ抗原受容体

特定の実施形態では、本明細書において予期される免疫エフェクター細胞は、CAR、およびDARICの一つ以上の構成要素を含む。キメラ抗原受容体(CAR)は、標的抗原(例えば腫瘍抗原)に対する抗体系の特異性と、T細胞受容体活性化細胞内ドメインを組み合わせ、特異的な抗腫瘍細胞性免疫活性を呈するキメラタンパク質を生成する分子である。本明細書において使用される場合、「キメラ」という用語は、異なる起源に由来する異なるタンパク質部分またはDNA部分から構成されるものを表す。

【0468】

一つの実施形態では、T細胞は、一つ以上のポリペプチド切断シグナルにより分離された、CAR、および一つ以上のDARIC構成要素をコードするポリヌクレオチドまたはベクターを導入することにより操作される。一つの実施形態では、T細胞は、CARをコードするポリヌクレオチドまたはベクター、および一つ以上のDARIC構成要素をコードするポリヌクレオチドまたはベクターを導入することにより操作される。一つの実施形態では、CARを発現するよう操作されたT細胞はさらに、一つ以上のDARIC構成要素をコードするポリヌクレオチドまたはベクターを導入することにより操作される。

【0469】

様々な実施形態では、CARは、特異的標的抗原に結合する細胞外ドメイン(結合ドメイン、または抗原特異的結合ドメインとも呼称される)、膜貫通ドメイン、および一つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含有する。CARの主な特徴は、免疫エフェクター細胞の特異性を再指向化させる能力であり、この能力によって、増殖、サイトカイン産生、ファゴサイトーシス、または標的抗原発現細胞の細胞死を、主要組織適合性遺伝子複合体(MHC)非依存性の様式で介在し得る分子の産生が誘発され、モノクローナル抗体、可溶性リガンドまたは細胞特異的コレセプターの細胞特異的標的化能力が引き出される。

【0470】

特定の実施形態では、CARは、標的ポリペプチドに特異的に結合する細胞外結合ドメインを含有する。好ましい実施形態では、CARは、DARIC結合構成要素により結合される標的ポリペプチドとは異なる標的ポリペプチドに結合する。結合ドメインは、対象となる生物分子に対する任意の天然結合パートナー、合成パートナー、半合成パートナー、または組み換え産生された結合パートナーを含有する。

【0471】

特定の実施形態では、細胞外結合ドメインは、抗体またはその抗原結合断片を含有する。

【0472】

一つの好ましい実施形態では、結合ドメインは、scFvを含む。

【0473】

別の好ましい実施形態では、結合ドメインは、一つ以上のラクダ科抗体を含む。

【0474】

特定の実施形態では、CARは、以下からなる群から選択される抗原に結合する細胞外ドメインを含む：FR、 α インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、Achr、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2 p95、

10

20

30

40

50

IL - 10R、IL - 13R₂、Kappa、LAGE - 1A、Lambda、LeY、L1 - CAM、MAGE - A1、MAGE - A3、MAGE - A4、MAGE - A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY - ESO - 1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイビン、TAG72、TEM1 / CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT - 1。

【0475】

好ましい実施形態では、CARは、以下からなる群から選択される抗原に結合する細胞外ドメインを含む：BCMA、B7 - H3、CD19、CD20、CD22、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL - 1、またはEGFRvIII。

10

【0476】

特定の実施形態では、CARは、例えば抗体、または抗原に結合するその抗原結合断片などの細胞外結合ドメインを含有し、この場合において当該抗原は、例えばクラスII MHC - ペプチド複合体、またはクラスII MHC - ペプチド複合体などのMHC - ペプチド複合体である。

【0477】

一つの実施形態では、スペーサドメインは、IgG1、IgG4またはIgDのCH2およびCH3を含有する。

【0478】

20

本明細書に記載されるCARにおける使用に適したヒンジドメインの例示としては、例えばCD8 およびCD4といった1型膜タンパク質の細胞外領域に由来するヒンジ領域が挙げられ、これら分子の野生型ヒンジ領域であってもよく、または改変されてもよい。別の実施形態では、ヒンジドメインは、CD8 ヒンジ領域を含有する。

【0479】

一つの実施形態では、ヒンジは、PD - 1ヒンジまたはCD152ヒンジである。

【0480】

CARの膜貫通(TM)ドメインは、細胞外結合部分と細胞内シグナル伝達ドメインを結合させ、CARを、免疫エフェクター細胞の細胞膜に固定する。TMドメインは、天然源、合成源、半合成源、または組み換え源のいずれかから誘導されてもよい。

30

【0481】

TMドメインの例示としては、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、CD3_α、CD3_β、CD4、CD5、CD8_α、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD71、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、AMN、PDCD1、NKG2A、NKG2B、NKG2C、およびNKG2Dの少なくとも膜貫通領域に由来してもよい(すなわち含有してもよい)。

【0482】

一つの実施形態では、CARは、CD8 由来のTMドメインを含有する。別の実施形態では、本明細書において予期されるCARは、CD8 由来のTMドメインと、好ましくは1、2、3、4、5、6、7、8、9または10アミノ酸の長さの短オリゴリンカーまたはポリペプチドリinkerを含有し、当該リンカーは、CARのTMドメインと細胞内シグナル伝達ドメインを連結させる。グリシン - セリンリンカーが、特に適切なリンカーを提供する。

40

【0483】

好ましい実施形態では、CARは、一つ以上の共刺激性ドメインと、一次シグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインを含有する。

【0484】

刺激性に作用する一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン系活性化モチーフ(immunoreceptor tyrosine - based activation

50

m o t i f s) または I T A M として知られているシグナル伝達モチーフを含有してもよい。

【 0 4 8 5 】

特定の実施形態で予期される C A R における使用に適した I T A M 含有一次シグナル伝達ドメインの例示としては、F c R 、 F c R 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 2 2 、 C D 7 9 a 、 C D 7 9 b 、 および C D 6 6 d に由来するものが挙げられる。特定の好ましい実施形態では、C A R は、C D 3 一次シグナル伝達ドメイン、および一つ以上の共刺激性ドメインを含有する。細胞内の一次シグナル伝達ドメインおよび共刺激性ドメインは、任意の順序でタンデムに、膜貫通ドメインのカルボキシル末端に連結されてもよい。

10

【 0 4 8 6 】

特定の実施形態では、C A R は、一つ以上の共刺激性ドメインを含有し、C A R 受容体を発現する T 細胞の有効性および拡張を強化する。

【 0 4 8 7 】

特定の実施形態で予期される C A R での使用に適した共刺激性分子の例示としては限定されないが、T L R 1 、 T L R 2 、 T L R 3 、 T L R 4 、 T L R 5 、 T L R 6 、 T L R 7 、 T L R 8 、 T L R 9 、 T L R 1 0 、 C A R D 1 1 、 C D 2 、 C D 7 、 C D 2 7 、 C D 2 8 、 C D 3 0 、 C D 4 0 、 C D 5 4 (I C A M) 、 C D 8 3 、 C D 9 4 、 C D 1 3 4 (O X 4 0) 、 C D 1 3 7 (4 - 1 B B) 、 C D 2 7 8 (I C O S) 、 D A P 1 0 、 L A T 、 S L P 7 6 、 T R A T 1 、 T N F R 2 、 T N F R S 1 4 、 T N F R S 1 8 、 T N F R S 2 5 および Z A P 7 0 が挙げられる。一つの実施形態では、C A R は、C D 2 8 、 C D 1 3 7 および C D 1 3 4 からなる群から選択される一つ以上の共刺激性ドメイン、および C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含有する。

20

【 0 4 8 8 】

様々な実施形態では、C A R は、以下からなる群から選択される抗原に結合する細胞外ドメイン：B C M A 、 B 7 - H 3 、 C D 1 9 、 C D 2 0 、 C D 2 2 、 C D 3 3 、 C D 7 9 A 、 C D 7 9 B 、 C D 1 2 3 、 C L L - 1 または E G F R v I I I ; C D 4 、 C D 8 または C D 2 8 膜貫通ドメイン；以下からなる群から選択されるポリペプチドから単離される一つ以上の細胞内共刺激性ドメイン：C D 2 8 、 C D 1 3 4 、 および C D 1 3 7 ; ならびに C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む。

30

【 0 4 8 9 】

3 . ゼータカイン

様々な実施形態では、本明細書において予期される免疫エフェクター細胞は、ゼータカイン受容体の一つ以上の鎖、および一つ以上の D A R I C 構成要素を含有する。ゼータカインは、キメラ膜貫通型免疫受容体であり、支持領域に連結された可溶性受容体リガンドを含む細胞外ドメインを含有し、当該支持領域は、細胞外ドメインを、細胞表面、膜貫通領域および細胞内シグナル伝達ドメインに繋ぐことができる。T リンパ球表面上でゼータカインが発現される場合、ゼータカインは、T 細胞活性を、可溶性受容体リガンドに対して特異的な受容体を発現する細胞へと指向させる。ゼータカインキメラ免疫受容体は、特にヒト悪性腫瘍に利用されるオートクライン / パラクラインのサイトカインシステムを介して T 細胞の抗原特異性を再指向化させ、様々な癌の治療に適用される。

40

【 0 4 9 0 】

一つの実施形態では、T 細胞は、一つ以上のポリペプチド切断シグナルにより分離された、ゼータカイン受容体の一つ以上の鎖、および一つ以上の D A R I C 構成要素をコードするポリヌクレオチドまたはベクターを導入することにより操作される。一つの実施形態では、T 細胞は、ゼータカイン受容体の一つ以上の鎖をコードするポリヌクレオチドまたはベクター、および一つ以上の D A R I C 構成要素をコードするポリヌクレオチドまたはベクターを導入することにより操作される。一つの実施形態では、T 細胞は、ゼータカイン受容体の一つ以上の鎖を発現するように操作され、さらに、一つ以上の D A R I C 構成要素をコードするポリヌクレオチドまたはベクターを導入することにより操作される。

50

【0491】

特定の実施形態では、ゼータカインは、免疫抑制性サイトカインまたはそのサイトカイン受容体結合バリエーション、リンカー、膜貫通ドメイン、および細胞内シグナル伝達ドメインを含有する。

【0492】

特定の実施形態では、サイトカインまたはそのサイトカイン受容体結合バリエーションは、インターロイキン - 4 (IL - 4)、インターロイキン - 6 (IL - 6)、インターロイキン - 8 (IL - 8)、インターロイキン - 10 (IL - 10)、およびインターロイキン - 13 (IL - 13) からなる群から選択される。

【0493】

ある実施形態では、リンカーは、CH₂CH₃ドメイン、ヒンジドメインなどを含有する。一つの実施形態では、リンカーは、IgG1、IgG4またはIgDのCH₂ドメインおよびCH₃ドメインを含有する。一つの実施形態では、リンカーは、CD8 またはCD4のヒンジドメインを含有する。

【0494】

特定の実施形態では、膜貫通ドメインは、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、CD3_α、CD3_β、CD3_γ、CD3_δ、CD4、CD5、CD8_α、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、AMN、およびPD-1 からなる群から選択される。

【0495】

特定の実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、ITAM含有一次シグナル伝達ドメイン、および/または共刺激性ドメインからなる群から選択される。

【0496】

特定の実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、以下からなる群から選択される：FcR_γ、FcR_β、CD3_ζ、CD3_η、CD3_ξ、CD3_θ、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66d。

【0497】

特定の実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは、以下からなる群から選択される：TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、CARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54 (ICAM)、CD83、CD94、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD278 (ICOS)、DAP10、LAT、SLP76、TRAT1、TNFR2およびZAP70。

【0498】

一つの実施形態では、キメラサイトカイン受容体は、CD28、CD137およびCD134 からなる群から選択される一つ以上の共刺激性ドメイン、およびCD3 一次シグナル伝達ドメインを含有する。

【0499】

E. ポリペプチド

様々なポリペプチドが本明細書において予期され、限定されないが、DARIC結合構成要素、DARICシグナル伝達構成要素、操作されたTCR、CAR、ゼータカイン、前述のポリペプチドおよびその断片を含有する融合タンパク質が挙げられる。好ましい実施形態では、ポリペプチドは、配列番号1~29のいずれか一つに記載されるアミノ酸配列を含有する。「ポリペプチド」「ペプチド」、および「タンパク質」は、相互交換可能に使用され、反対であることが明記されない限り、従来の意味に従う。すなわちアミノ酸配列として使用される。一つの実施形態では、「ポリペプチド」は、融合ポリペプチドおよび他のバリエーションを含む。ポリペプチドは、様々な公知の組み換え技術および/または合成技術のいずれかを使用して調製され得る。ポリペプチドは特定の長さには限定されない。例えばポリペプチドは、全長タンパク質配列、全長タンパク質の断片、または融合タ

10

20

30

40

50

ンパク質を含有してもよい。ポリペプチドは、例えばグリコシル化、アセチル化、リン酸化などのポリペプチドの翻訳後修飾を含んでもよく、ならびに当分野に公知の天然および非天然の他の修飾を含んでもよい。特定の好ましい実施形態では、融合ポリペプチド、ポリペプチド、断片、およびそれらの他のバリエーションは、一つ以上のヒトポリペプチドから調製され、取得され、または単離される。

【0500】

本明細書において使用される場合、「単離ペプチド」または「単離ポリペプチド」などは、細胞環境からの、および細胞の他の構成要素との会合からの、ペプチド分子またはポリペプチド分子のインビトロでの単離および/または精製を指す。すなわち、インビボでの物質と実質的に関連づけられていない。特定の実施形態では、単離ポリペプチドは、合成ポリペプチド、半合成ポリペプチド、もしくは組み換え源から取得された、または誘導されたポリペプチドである。

【0501】

ポリペプチドは、「ポリペプチドバリエーション」を含む。ポリペプチドバリエーションは、一つ以上の置換、欠失、付加および/または挿入により、天然ポリペプチドとは異なっている場合がある。そうしたバリエーションは、天然であってもよく、または例えば上述のポリペプチド配列の一つ以上を改変することにより合成的に生成されてもよい。例えば特定の実施形態では、一つ以上の置換、欠失、付加および/または挿入をポリペプチドに導入することにより、ポリペプチドの結合アフィニティおよび/または他の生物学的性質を改善することが望ましい場合がある。特定の実施形態では、ポリペプチドは、本明細書において予期される参照配列のいずれかに対し、少なくとも約65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、86%、97%、98%、または99%のアミノ酸同一性を有するポリペプチドを含み、典型的には、当該バリエーションは、参照配列の少なくとも一つの生物学的活性を維持している。特定の実施形態では、生物学的活性は、結合アフィニティである。特定の実施形態では、生物学的活性は、酵素活性である。

【0502】

ある実施形態では、DARICは、(i)第一のポリペプチド、例えば第一の多量体形成ドメインを有する第一の融合ポリペプチド、および(ii)第二のポリペプチド、例えば第二の多量体形成ドメインを有する第二の融合ポリペプチド、を含有するポリペプチド複合体を含有する。特定の実施形態では、多量体形成ドメインは同一である。ある実施形態では、第一の多量体形成ドメインは、第二の多量体形成ドメインとは異なっている。第一および第二の多量体形成ドメインは、架橋因子の存在下で、ポリペプチド複合体の形成に大きく貢献し、または効率的に促進する。第一の多量体形成ドメイン、第二の多量体形成ドメインまたは架橋因子の非存在下で、第一の融合ポリペプチドと第二の融合ポリペプチドの間の会合が統計的に有意に低下する場合、第一の多量体形成ドメインと第二の多量体形成ドメインの間の相互作用は、第一の融合ポリペプチドと第二の融合ポリペプチドの多量体形成に大きく貢献し、または効率的に促進する。ある実施形態では、第一の融合ポリペプチドと第二の融合ポリペプチドが共発現される場合、第一の一本鎖ポリペプチドと第二の一本鎖ポリペプチドの少なくとも約60%、例えば少なくとも約60%~約70%、少なくとも約70%~約80%、少なくとも約80%~約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%、および少なくとも約90%~約92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%が、架橋因子の存在下で互いに多量体を形成する。

【0503】

ポリペプチドバリエーションは、生物学的に活性な「ポリペプチド断片」を含む。生物学的に活性なポリペプチド断片の例示としては、結合ドメイン、細胞内シグナル伝達ドメインなどが挙げられる。本明細書において使用される場合、「生物学的に活性な断片」または

10

20

30

40

50

「最小の生物学的に活性な断片」という用語は、天然ポリペプチドの少なくとも100%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、少なくとも50%、少なくとも40%、少なくとも30%、少なくとも20%、少なくとも10%、または少なくとも5%の活性を保持するポリペプチド断片を指す。ある実施形態では、ポリペプチド断片は、少なくとも5～約1700アミノ酸の長さのアミノ酸鎖を含有し得る。ある実施形態では、断片は、少なくとも5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1100、1200、1300、1400、1500、1600、1700、またはそれ以上のアミノ酸の長さである。

10

【0504】

特定の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチドは、「X」と示される一つ以上のアミノ酸を含有してもよい。アミノ酸配列番号中にある場合、「X」とは、いずれか一つ以上のアミノ酸を指す。特定の実施形態では、融合タンパク質を示す配列番号は、任意のアミノ酸配列を累積的に表す、連続するX残基の配列を含有する。

【0505】

上述のように、ポリペプチドは、アミノ酸の置換、欠失、切断および挿入を含む、様々な方法で改変されてもよい。そうした操作のための方法は、当分野において一般的に公知である。例えば、参照ポリペプチドのアミノ酸配列バリエーションは、DNA中の変異により作製され得る。変異誘導およびヌクレオチド配列改変のための方法は、当分野に公知である。例えば、Kunkel (1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:488-492), Kunkel et al., (1987, Methods in Enzymol, 154:367-382)、米国特許第4,873,192号、Watson, J. D. et al., (Molecular Biology of the Gene, Fourth Edition, Benjamin/Cummings, Menlo Park, Calif., 1987)、およびそれらにおいて引用される参照文献を参照のこと。対象となるタンパク質の生物活性に影響を与えない適切なアミノ酸置換に関するガイダンスは、Dayhoff et al., (1978) Atlas of Protein Sequence and Structure (Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.) のモデルに見出され得る。

20

30

【0506】

ある実施形態では、ポリペプチドバリエーションは、一つ以上の保存的置換を含有する。「保存的置換」は、アミノ酸が、類似した性能を有する別のアミノ酸に置換される置換であり、ペプチド化学分野の当業者であれば、そうした置換によって、当該ポリペプチドの二次構造および疎水親水の性質が実質的に変化しないと予測するであろう。特定の実施形態において予期されるポリヌクレオチドおよびポリペプチドの構造に改変を行ってもよく、それでも所望の特徴を有するバリエーションポリペプチドまたは誘導体ポリペプチドをコードする機能性分子が取得される。ポリペプチドのアミノ酸配列を変更し、同等な、または改善されたバリエーションポリペプチドを生成することが望ましい場合、当業者は、例えば表1に従い、コードDNA配列のコドンのうちの一つ以上を変えることができる。

40

【表 1 - 1】

表1ーアミノ酸コドン

アミノ酸	1文字コード	3文字コード	コドン				
アラニン	A	Ala	GCA	GCC	GCG	GCU	
システイン	C	Cys	UGC	UGU			
アスパラギン酸	D	Asp	GAC	GAU			
グルタミン酸	E	Glu	GAA	GAG			
フェニルアラニン	F	Phe	UUC	UUU			
グリシン	G	Gly	GGA	GGC	GGG	GGU	
ヒスチジン	H	His	CAC	CAU			
イソロイシン	I	Iso	AUA	AUC	AUU		
リシン	K	Lys	AAA	AAG			
ロイシン	L	Leu	UUA	UUG	CUA	CUC	CUG
メチオニン	M	Met	AUG				
アスパラギン	N	Asn	AAC	AAU			

10

20

【表 1 - 2】

プロリン	P	Pro	CCA	CCC	CCG	CCU		
グルタミン	Q	Gln	CAA	CAG				
アルギニン	R	Arg	AGA	AGG	CGA	CGC	CGG	CGU
セリン	S	Ser	AGC	AGU	UCA	UCC	UCG	UCU
スレオニン	T	Thr	ACA	ACC	ACG	ACU		
バリン	V	Val	GUA	GUC	GUG	GUU		
トリプトファン	W	Trp	UGG					
チロシン	Y	Tyr	UAC	UAU				

30

【0507】

どのアミノ酸残基が、生物活性を無効化することなく置換、挿入または欠失させ得るかを決定するガイダンスは、当分野に公知のコンピュータープログラム、例えばDNA STAR、DNA Strider、Geneious、Mac Vector、またはVector NTIソフトウェアなどを使用して見出すことができる。本明細書に開示されるタンパク質バリエーション中のアミノ酸の変化は、保存的アミノ酸変化、すなわち類似した荷電アミノ酸、または非荷電アミノ酸の置換であることが好ましい。保存的アミノ酸変化には、その側鎖に関連付けられているアミノ酸ファミリーの一つの置換を含む。天然アミノ酸は一般的に以下の四つのファミリーに分けられる：酸性アミノ酸（アスパラギン酸、グルタミン酸）、塩基性アミノ酸（リシン、アルギニン、ヒスチジン）、非極性アミノ酸（アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、および非荷電極性アミノ酸（グリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、スレオニン、チロシン）。フェニルアラニン、トリプトファンおよびチロシンは、合わせて芳香族アミノ酸として分類される場合もある。ペプチドまたはタンパク質において、アミノ酸の適切な保存的置換は当業者に公知であり、一般的に得られる分子の生物活性を変化させることなく行うことができる。当業者であれば、ポリペプチドの非必須領域中の一アミノ酸置換は概して、生物活性を大きくは変化させないと認識している（例えば、Watson et al. Molecular Biology o

40

50

f the Gene, 4th Edition, 1987, The Benjamin / Cummings Pub. Co., p. 224を参照のこと)。

【0508】

一つの実施形態では、二つ以上のポリペプチドの発現が望ましい場合、それらをコードするポリヌクレオチド配列は、本明細書において別段に開示されるようにIRES配列により分離されてもよい。

【0509】

特定の実施形態において予期されるポリペプチドは、融合ポリペプチドを含む。特定の実施形態では、融合ポリペプチド、および融合ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが提供される。融合ポリペプチドおよび融合タンパク質とは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9または10個以上のポリペプチドセグメントを有するポリペプチドを指す。好ましい実施形態では、融合ポリペプチドは、一つ以上のDARIC構成要素を含有する。他の好ましい実施形態では、融合ポリペプチドは、一つ以上のDARICを含有する。

10

【0510】

別の実施形態では、二つ以上のポリペプチドが、本明細書において別段に開示されるようにポリペプチド間で一つ以上の自己切断ポリペプチド配列を含有する融合タンパク質として発現されてもよい。

【0511】

融合ポリペプチドは、限定されないが、シグナルペプチド、細胞透過性ペプチドドメイン(CPP: cell permeable peptide)、結合ドメイン、シグナル伝達ドメインなど、エピトープタグ(例えば、マルトース結合タンパク質(MBP)、グルタチオンSトランスフェラーゼ(GST)、HIS6、MYC、FLAG、V5、VSV-G、およびHA)、ポリペプチドリンカー、およびポリペプチド切断シグナルをはじめとする一つ以上のポリペプチドドメインまたはポリペプチドセグメントを含有してもよい。融合ポリペプチドは、典型的にはC末端~N末端で連結されるが、C末端~C末端、N末端~N末端、またはM末端~C末端で連結されることもできる。特定の実施形態では、融合タンパク質のポリペプチドは、任意の順序であってもよい。融合ポリペプチドまたは融合タンパク質は、保存的に改変されたバリエーション、多型バリエーション、アレル、変異体、下位配列、および種間ホモログを含み得るが、ただし融合ポリペプチドの望ましい活性は保存されるものとする。融合ポリペプチドは、化学合成法により、または二つの部分の間の化学的結合により作製されてもよく、または他の標準的な方法を使用して一般的に調製されてもよい。融合ポリペプチドを含むライゲーションされたDNA配列は、本明細書において別段に開示されるように適切な転写制御因子または翻訳制御因子に操作可能に連結される。

20

30

【0512】

融合ポリペプチドは任意で、一つ以上のリンカーを含んでもよく、それらリンカーを使用して、一つ以上のポリペプチド、またはポリペプチド内のドメインを連結することができる。ペプチドリンカー配列を採用して任意の二つ以上のポリペプチド構成要素を、各ポリペプチドが適切な二次構造および三次構造へとフォールディングされるために十分な距離をとって分離させてもよく、それによりポリペプチドドメインが、その望ましい機能を発揮することが可能となる。そうしたペプチドリンカー配列は、当分野において標準的な技術を使用して融合ポリペプチドへと組み込まれる。適切なペプチドリンカー配列は、以下の因子に基づき選択されてもよい：(1)柔軟な拡張立体構造をとる能力、(2)第一のポリペプチドおよび第二のポリペプチド上の機能性エピトープと相互作用し得る二次構造をとらない能力、および(3)ポリペプチドの機能性エピトープと反応する可能性がある疎水性または荷電性の残基の欠落。特定の実施形態では、好ましいペプチドリンカー配列は、Gly残基、Asn残基およびSer残基を含有する。他の近しい中性アミノ酸、例えばThrやAlaなどもリンカー配列に使用され得る。リンカーとして有用に採用され得るアミノ酸配列は、Maratea et al., Gene 40:39-46, 1

40

50

985; Murphy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 8258-8262, 1986、米国特許第4,935,233号および米国特許第4,751,180号に記載されるものが挙げられる。特定の融合ポリペプチドセグメントが非必須N末端アミノ酸領域を含有し、当該領域を使用して機能性ドメインを分離させ、立体干渉を防ぐことができる場合には、リンカー配列は必要ない。特定の実施形態では、好ましいリンカーは、典型的には、柔軟性のあるアミノ酸下位配列であり、当該配列は組み換え融合タンパク質の一部として合成される。リンカーポリペプチドは、1~200アミノ酸の長さ、1~100アミノ酸の長さ、または1~50アミノ酸の長さであってもよく、当該数値の間のすべての整数値が含まれる。

【0513】

ポリペプチド切断シグナルの例としては、例えばプロテアーゼ切断部位、ヌクレアーゼ切断部位（例えば、稀な制限酵素認識部位、自己切断リボザイム認識部位）、および自己切断ウイルスオリゴペプチド（deFelipe and Ryan, 2004. Traffic, 5(8); 616-26を参照のこと）といったポリペプチド切断認識部位が挙げられる。

【0514】

適切なプロテアーゼ切断部位および自己切断ペプチドは、当業者に公知である（例えば、Ryan et al., 1997. J. Gener. Virol. 78, 699-722; Scymczak et al. (2004) Nature Biotech. 5, 589-594を参照のこと）。プロテアーゼ切断部位の例としては限定されないが、ポチウイルスNIaプロテアーゼ（例えばタバコエッチ病ウイルスプロテアーゼ）、ポチウイルスHCプロテアーゼ、ポチウイルスP1(P35)プロテアーゼ、ピオウイルス(byoovirus)NIaプロテアーゼ、ピオウイルスRNA-2-コードプロテアーゼ、アフトウイルスLプロテアーゼ、エンテロウイルス2Aプロテアーゼ、ライノウイルス2Aプロテアーゼ、ピコルナ3Cプロテアーゼ、コモウイルス24Kプロテアーゼ、ネボウイルス24Kプロテアーゼ、RTSV(ワイカウイルス)3C様プロテアーゼ、PYVF(パースニップ黄斑ウイルス)3C様プロテアーゼ、ヘパリン、トロンビン、第Xa因子、およびエンテロキナーゼの切断部位が挙げられる。切断ストリンジェンシーが高いために、一つの実施形態ではTEV(タバコエッチ病ウイルス)プロテアーゼ切断部位、例えばEXXYXQ(G/S)(配列番号41)、例えばENLYFQG(配列番号42)およびENLYFQS(配列番号43)が好ましく、式中、Xは、任意のアミノ酸を表している(TEVによる切断は、QとGの間、またはQとSの間で発生する)。

【0515】

特定の実施形態では、ポリペプチド切断シグナルは、ウイルス自己切断ペプチドまたはリボソームスキッピング配列である。

【0516】

リボソームスキッピング配列の例示としては限定されないが、2Aもしくは2A様の部位、配列またはドメインが挙げられる(Donnelly et al., 2001. J. Gen. Virol. 82: 1027-1041)。特定の実施形態では、ウイルス2Aペプチドは、アフトウイルス2Aペプチド、ポチウイルス2Aペプチド、またはカルジオウイルス2Aペプチドである。

【0517】

一つの実施形態では、ウイルス2Aペプチドは、以下からなる群から選択される：口蹄疫ウイルス(FMDV)2Aペプチド、ウマ鼻炎Aウイルス(ERAV)2Aペプチド、Thosea asignaウイルス(TaV)2Aペプチド、ブタテッシュウウイルス-1(PTV-1)2Aペプチド、タイロウイルス2Aペプチド、および脳心筋炎ウイルス2Aペプチド。

【0518】

2A部位の例示を表2に提示する。

10

20

30

40

50

【表 2 - 1】

表 2 :

配列番号 44	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
配列番号 45	ATNFSLLKQAGDVEENPGP
配列番号 46	LLKQAGDVEENPGP
配列番号 47	GSGEGRSLLTCGDVEENPGP
配列番号 48	EGRSLLTCGDVEENPGP
配列番号 49	LLTCGDVEENPGP
配列番号 50	GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP
配列番号 51	QCTNYALLKLAGDVESNPGP
配列番号 52	LLKLAGDVESNPGP
配列番号 53	GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号 54	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号 55	LLKLAGDVESNPGP
配列番号 56	LLNFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号 57	TLNFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号 58	LLKLAGDVESNPGP
配列番号 59	NFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号 50	QLNFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号 61	APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号 62	VTELLYRMKRAETCPRPLLAHPTEARHKQKIVAPVKQT

10

20

【表 2 - 2】

配列番号 63	LNFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号 64	LLAHPTEARHKQKIVAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
配列番号 65	EARHKQKIVAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

【0519】

好ましい実施形態では、ポリペプチドまたは融合ポリペプチドは、一つ以上のDARIC構成要素またはDARICを含有する。

30

【0520】

特定の実施形態では、融合ポリペプチドは、FRB T2098L多量体形成ドメイン、CD8 膜貫通ドメイン、CD137共刺激性ドメインおよびCD3 一次シグナル伝達ドメインを含むDARICシグナル伝達構成要素、ウイルス自己切断2Aポリペプチド、ならびにBCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12多量体形成ドメインポリペプチド、CD4膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびCD27、CD28、TNFRS14、TNFRS18、TNFRS25、OX40またはTNFR2共刺激性ドメインを含むDARIC結合構成要素を含有する。

40

【0521】

特定の実施形態では、融合ポリペプチドは、FRB T2098L多量体形成ドメイン、CD8 膜貫通ドメイン、CD137共刺激性ドメインおよびCD3 一次シグナル伝達ドメインを含むDARICシグナル伝達構成要素、ウイルス自己切断2Aポリペプチド、ならびにBCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12多量体形成ドメインポリペプチド、CD4膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびCD27またはCD28共刺激性ドメインを含むDARIC結合構成要素を含有する。

50

【0522】

特定の実施形態では、融合ポリペプチドは、FRB T2098L多量体形成ドメイン、CD8 膜貫通ドメイン、CD137共刺激性ドメインおよびCD3 一次シグナル伝達ドメインを含むDARICシグナル伝達構成要素、ウイルス自己切断2Aポリペプチド、ならびにBCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12多量体形成ドメインポリペプチド、CD4膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびTNFRS14、TNFRS18またはTNFRS25共刺激性ドメインを含むDARIC結合構成要素を含有する。

【0523】

特定の実施形態では、融合ポリペプチドは、FRB T2098L多量体形成ドメイン、CD8 膜貫通ドメイン、CD137共刺激性ドメインおよびCD3 一次シグナル伝達ドメインを含むDARICシグナル伝達構成要素、ウイルス自己切断2Aポリペプチド、ならびにBCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12多量体形成ドメインポリペプチド、CD4膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびOX40共刺激性ドメインを含むDARIC結合構成要素を含有する。

【0524】

特定の実施形態では、融合ポリペプチドは、FRB T2098L多量体形成ドメイン、CD8 膜貫通ドメイン、CD137共刺激性ドメインおよびCD3 一次シグナル伝達ドメインを含むDARICシグナル伝達構成要素、ウイルス自己切断2Aポリペプチド、ならびにBCMA、CD19、CD20、CD22、CD33、B7H3、CD33、CD79A、CD79B、CD123、CLL-1またはEGFRvIIIに結合する結合ドメイン、FKBP12多量体形成ドメインポリペプチド、CD4膜貫通ドメインまたはAMN膜貫通ドメイン、およびTNFR2共刺激性ドメインを含むDARIC結合構成要素を含有する。

【0525】

F. ポリヌクレオチド

特定の実施形態では、一つ以上のDARIC構成要素、操作されたTCR、CAR、ゼータカイン、前述のポリペプチドおよびその断片を含む融合タンパク質をコードするポリヌクレオチドが提供される。本明細書において使用される場合、「ポリヌクレオチド」または「核酸」という用語は、デオキシリボ核酸(DNA)、リボ核酸(RNA)、およびDNA/RNAハイブリッドを指す。ポリヌクレオチドは、一本鎖または二本鎖であってもよく、および組み換え、合成または単離されていてもよい。ポリヌクレオチドとしては限定されないが、以下が挙げられる：プレメッセンジャーRNA(pre-mRNA)、メッセンジャーRNA(mRNA)、RNA、低分子干渉RNA(siRNA)、短ヘアピン型RNA(shRNA)、マイクロRNA(miRNA)、リボザイム、ゲノムRNA(gRNA)、プラス鎖RNA(RNA(+))、マイナス鎖RNA(RNA(-))、tracrRNA、crRNA、シングルガイドRNA(sgRNA)、合成RNA、合成mRNA、ゲノムDNA(gDNA)、PCR増幅DNA、相補的DNA(cDNA)、合成DNA、または組み換えDNA。ポリヌクレオチドとは、少なくとも5、少なくとも10、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも50、少なくとも100、少なくとも200、少なくとも300、少なくとも400、少なくとも500、少なくとも1000、少なくとも5000、少なくとも10000、または少なくとも15000以上のヌクレオチドの長さのヌクレオチドの多量体型を指し、リボヌクレオチドもしくはデオキシリボヌクレオチド、またはいずれかタイプのヌクレオチドの改変型、ならびにすべての中間の長さのものを指す。本文脈において、「中間の長さ」とは、例えば6、7、8、9など、101、102、103など、151、152、153など、201、202、203などの引用されている値の間

10

20

30

40

50

の任意の長さを意味すると容易に理解されるであろう。特定の実施形態では、ポリヌクレオチドまたはバリエーションは、参照配列に対し、少なくとも、もしくは約 50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、71 %、72 %、73 %、74 %、75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 % または 100 % の配列同一性を有する。

【0526】

本明細書において使用される場合、「単離ポリヌクレオチド」とは、自然状態で隣接する配列から精製されたポリヌクレオチドを指し、例えば、通常では当該断片と隣接する配列から取り出された DNA 断片を指す。「単離ポリヌクレオチド」はさらに、自然界では存在せず、ヒトの手により作製された相補的 DNA (cDNA)、組み換え DNA、または他のポリヌクレオチドも指す。特定の実施形態では、単離ポリヌクレオチドは、合成ポリヌクレオチド、半合成ポリヌクレオチド、または組み換え源から取得された、もしくは誘導されたポリヌクレオチドである。

【0527】

様々な実施形態では、ポリヌクレオチドは、本明細書において予期されるポリペプチドをコードする mRNA を含有する。ある実施形態では、mRNA は、キャップ、一つ以上のヌクレオチド、そしてポリ(A)尾部を含有する。

【0528】

特定の実施形態では、一つ以上の D A R I C をコードするポリヌクレオチドは、コドン最適化されてもよい。本明細書において使用される場合、「コドン最適化された」という用語は、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド中のコドンを置換して、当該ポリペプチドの発現、安定性および/または活性を向上させることを指す。コドン最適化に影響を及ぼす因子としては限定されないが、以下のうちの一つ以上が挙げられる：(i) 二つ以上の生物体または遺伝子または合成構築されたバイアステーブルの間のコドンバイアスの変動、(ii) 生物体、遺伝子または遺伝子セット内のコドンバイアスの程度の変動、(iii) コンテキストを含むコドンの体系的変動、(iv) その解読 tRNA に伴うコドンの変動、(v) 三つ組全体または三つ組の一つの位置のいずれかの GC % に伴うコドンの変動、(vi) 例えば天然配列などの参照配列に対する類似性における変動、(vii) コドン頻度のカットオフにおける変動、(viii) DNA 配列から転写された mRNA の構造的性質、(ix) コドン置換セットの設計の基礎となる DNA 配列の機能に関する予備知識、(x) 各アミノ酸に対するコドンセットの合成的変動、および/または (xi) 誤った翻訳開始位置の分離された除去。さらに当業者であれば、遺伝子コードの縮重の結果として、本明細書に記載されるポリペプチドまたはそのバリエーション断片をコードするヌクレオチド配列は多数存在することを認識するであろう。これらポリヌクレオチドの一部は、任意の天然遺伝子のヌクレオチド配列に対し、最小の相同性を担持する。とはいえコドン使用頻度の差異によって変化するポリヌクレオチドが予期され、特定の実施形態では例えばヒトおよび/または霊長類のコドン選択に最適化されたポリヌクレオチドが予期される。特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、発現および/または安定性を目的としてコドン最適化される。

【0529】

本明細書において使用される場合、「ヌクレオチド」という用語は、リン酸化糖と N - グリコシド結合した複素環の窒素含有塩基を指す。ヌクレオチドは、天然塩基、および当分野に認識される広範な改変塩基を含むと理解される。そうした塩基は一般的に、ヌクレオチド糖部分の 1' 位に配置される。ヌクレオチドは一般的に、塩基、糖およびリン酸基を含有する。リボ核酸 (RNA) では、糖はリボースであり、デオキシリボ核酸 (DNA) では、糖はデオキシリボースである。すなわち、デオキシリボースは、リボース中に存在するヒドロキシル基を欠いた糖である。天然の窒素含有塩基の例としては、プリン類のアデノシン (A) およびグアニジン (G)、そしてピリミジン類のシチジン (C) とチミジン (T) (または RNA の場合には、ウラシル (U)) が挙げられる。デオキシリボース

10

20

30

40

50

のC - 1原子は、ピリミジンのN - 1、またはプリンのN - 9に結合される。ヌクオチドは通常、一、二または三リン酸塩である。ヌクレオチドは、非改変であっても、または糖部分、リン酸部分、および／もしくは塩基部分で改変されてもよい（ヌクレオチドアナログ、ヌクレオチド誘導体、改変ヌクレオチド、非天然ヌクレオチド、および非標準ヌクレオチドと相互交換可能に言及される。例えばWO 92 / 07065およびWO 93 / 15187を参照のこと）。改変核酸塩基の例は、Limbachら（1994, Nucleic Acids Res. 22, 2183 - 2196）に要約されている。

【0530】

ヌクレオチドは、ヌクレオシドのリン酸エステルとみなすこともでき、エステル化は、糖のC - 5に結合したヒドロキシル基上で発生する。本明細書において使用される場合、「ヌクレオシド」という用語は、糖とN - グリコシド結合した複素環の窒素含有塩基を指す。ヌクレオシドは当分野において、天然塩基を含むと認識されており、そして公知の改変塩基も含むと認識されている。そうした塩基は一般的に、ヌクレオシド糖部分の1'位に配置される。ヌクレオシドは一般的に塩基と糖類を含有する。ヌクレオシドは、非改変であっても、または糖部分および／もしくは塩基部分で改変されてもよい（ヌクレオシドアナログ、ヌクレオシド誘導体、改変ヌクレオシド、非天然ヌクレオシド、または非標準ヌクレオシドと相互交換可能に言及される）。上述のように、改変核酸塩基の例は、Limbachら（1994, Nucleic Acids Res. 22, 2183 - 2196）に要約されている。

【0531】

ポリヌクレオチドの例示としては限定されないが、配列番号1～29に記載されるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが挙げられる。

【0532】

様々な実施形態において、本明細書において予期されるポリヌクレオチドとしては限定されないが、一つ以上のDARIC構成要素、DARIC、操作された抗原受容体、融合ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、ならびに本明細書において予期されるポリヌクレオチドを含む発現ベクター、ウイルスベクターおよびトランスファープラスミドが挙げられる。

【0533】

本明細書において使用される場合、「ポリヌクレオチドバリエーション」および「バリエーション」などの用語は、参照ポリヌクレオチド配列と相当の配列同一性を呈するポリヌクレオチド、または本明細書において規定されるストリンジェントな条件下で参照配列とハイブリダイズするポリヌクレオチドを指す。これらの用語には、少なくとも一つのヌクレオチドの付加、欠失、置換または改変によって参照ポリヌクレオチドと識別されるポリヌクレオチドも包含される。従って、「ポリヌクレオチドバリエーション」および「バリエーション」という用語には、一つ以上のヌクレオチドが付加もしくは欠失もしくは改変され、または別のヌクレオチドと置換されたポリヌクレオチドが含まれる。この点に関し、当分野において、参照ポリヌクレオチドに対し、変異、付加、欠失および置換を含むある変更が為され、変更されたポリヌクレオチドは、参照ポリヌクレオチドの生物学的機能または生物活性を保持し得ると理解されている。

【0534】

「配列同一性」、または例えば「～に対して50%同一の配列」を含む、という文章は、本明細書において使用される場合、比較ウィンドウ上で配列が、ヌクレオチド毎で同一である、またはアミノ酸ごとで同一である程度を指す。ゆえに「配列同一性の百分率」は、比較ウィンドウ上の二つの最適アライメント配列を比較する工程、同一核酸塩基（例えばA、T、C、G、I）または同一アミノ酸残基（例えば、Ala、Pro、Ser、Thr、Gly、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Lys、Arg、His、Asp、Glu、Asn、Gln、CysおよびMet）が、両方の配列中に存在する位置の数を決定して、合致位置数を算出する工程、合致位置数を、比較ウィンドウ中の総位置数（すなわちウィンドウサイズ）で割る工程、および結果に100を掛けて、配

10

20

30

40

50

列同一性の百分率を算出する工程、により計算されてもよい。本明細書において予期される参照配列のいずれかに対し、少なくとも約50%、55%、60%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、86%、97%、98%、または99%の配列同一性を有するポリヌクレオチドまたはポリペプチドが含有される。

【0535】

本明細書において使用される場合、「核酸カセット」または「発現カセット」という用語は、RNAを発現し、その後にポリペプチドを発現することができるベクター中の遺伝子配列を指す。一つの実施形態では、核酸カセットは、対象となる遺伝子、例えば対象となるポリヌクレオチドを含有する。別の実施形態では、核酸カセットは、一つ以上の発現制御配列、例えばプロモーター、エンハンサー、ポリ(A)配列、および例えば対象となるポリヌクレオチドなどの対象となる遺伝子を含有する。ベクターは、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個以上の核酸カセットを含有してもよい。核酸カセットは、ベクター内で位置的に、そして連続的に方向付けられる。それにより、カセット中の核酸はRNAに転写されることができ、必要な場合にはタンパク質またはポリペプチドへと翻訳され、形質転換細胞での活動に必要とされる適切な翻訳後修飾を受け、適切な細胞内コンパートメントに標的化されることで生物活性に適したコンパートメントへと移行され、または細胞外コンパートメントへと分泌されることができ。カセットは、ベクター内への即時の挿入に適合された3'末端および5'末端を有することが好ましく、例えば各末端に制限エンドヌクレアーゼ部位を有している。カセットは取り出され、そして単一ユニットとしてプラスミドまたはウイルスベクター内に挿入されることができ。

【0536】

ポリヌクレオチドは、対象となるポリヌクレオチドを含む。本明細書において使用される場合、「対象となるポリヌクレオチド」という用語は、本明細書において予期される、ポリペプチドもしくは融合ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、または阻害性ポリヌクレオチドの転写用の鋳型としての役割を果たすポリヌクレオチドを指す。

【0537】

本明細書において予期されるポリヌクレオチドは、本明細書において別段に記載されるように、または当分野に公知のように、コード配列それ自体の長さに関わらず、例えばプロモーターおよび/またはエンハンサー、非翻訳領域(UTR)、シグナル配列、Kozak配列、ポリアデニル化シグナル、追加の制限酵素部位、多重クローニングサイト、内部リボソーム侵入部位(IRES)、リコンビナーゼ認識部位(例えばLoxP、FRTおよびAtt部位)、終止コドン、転写終止シグナルなどの発現制御配列、および自己切断ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、エピトープタグなどの他のDNA配列と組み合わされて、その全体の長さを大幅に変化させてもよい。ゆえに、ほとんどすべての長さのポリヌクレオチド断片が採用され得ること、好ましくは全体の長さは調製の容易さ、および意図される組み換えDNAプロトコルでの用途により制限されることが予期される。

【0538】

ポリヌクレオチドは、当分野で公知および利用可能な様々な確立された技術のいずれかを使用して調製され、操作され、発現され、および/または送達されてもよい。所望のポリペプチドを発現するために、当該ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、適切なベクターに挿入されてもよい。

【0539】

ベクターの例示としては限定されないが、プラスミド、自己複製配列、および転移性因子、例えばSleeping Beauty、PiggyBacなどが挙げられる。

【0540】

ベクターの追加的な例示としては限定されないが、プラスミド、ファージミド、コスミ

10

20

30

40

50

ド、例えば酵母人工染色体（YAC）、細菌人工染色体（BAC）、またはP1由来人工染色体（PAC）などの人工染色体、例えばラムダファージまたはM13ファージなどのバクテリオファージ、および動物ウイルスが挙げられる。

【0541】

ベクターとして有用なウイルスの例示としては限定されないが、レトロウイルス（レンチウイルスを含む）、アデノウイルス、アデノ随伴型ウイルス、ヘルペスウイルス（例えば単純ヘルペスウイルス）、ポックスウイルス、バキュロウイルス、パピローマウイルス、およびパポバウイルス（例えばSV40）が挙げられる。

【0542】

発現ベクターの例示としては限定されないが、哺乳動物細胞での発現用のpC1neoベクター（Promega社）、哺乳動物細胞でのレンチウイルス介在型遺伝子移送および発現用のpLenti4/V5-DEST（商標）、pLenti6/V5-DEST（商標）、およびpLenti6.2/V5-GW/lacZ（Invitrogen社）が挙げられる。特定の実施形態では、本明細書に開示されるポリペプチドのコード配列は、哺乳動物細胞でのポリペプチドの発現のために、そうした発現ベクター内にライゲートされてもよい。

10

【0543】

特定の実施形態では、ベクターは、エピソーム性ベクター、または染色体外で維持されるベクターである。本明細書において使用される場合、「エピソーム性」という用語は、宿主の染色体DNAに統合されることなく複製することができるベクターであり、宿主細胞の分裂により徐々に減少することがないということは、当該ベクターが染色体外で、またはエピソーム性に複製することも意味している。

20

【0544】

発現ベクター中に存在する「発現制御配列」、「制御因子」、または「制御性配列」は、ベクターの非翻訳領域であり、複製起源、選択カセット、プロモーター、エンハンサー、翻訳開始シグナル（Shine Dalgarno配列またはKozak配列）、イントロン、ポリアダニル化配列、5'および3'の非翻訳領域が挙げられ、それらはすべて宿主の細胞タンパク質と相互作用して、転写と翻訳を実行する。そうした因子は、その強度および特異性を変化させてもよい。利用するベクターシステムおよび宿主に応じて、ユビキタスプロモーターおよび誘導性プロモーターをはじめとする任意の数の適切な転写因子および翻訳因子を使用してもよい。

30

【0545】

特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、限定されないが、発現ベクターおよびウイルスベクターをはじめとするベクターを含有する。ベクターは、一つ以上の外因性、内因性、または異種の制御配列、例えばプロモーターおよび/またはエンハンサーを含有してもよい。「内因性制御配列」は、ゲノム中で所与の遺伝子と本来連結される配列である。「外因性制御配列」は、遺伝子操作手段（すなわち分子生物学的技術）により、遺伝子に並置して置かれる配列であり、当該遺伝子の転写は、その連結したエンハンサー/プロモーターにより誘導される。「異種制御配列」は、遺伝子操作される細胞とは異なる種に由来する外因性配列である。「合成」制御配列は、特定の療法に対し最適なプロモーター活性および/またはエンハンサー活性を提供する、一つ以上の内因性および/または外因性の配列の因子、ならびに/またはインビトロもしくはインシリコで決定された配列の因子を含有してもよい。

40

【0546】

本明細書において使用される場合、「プロモーター」という用語は、RNAポリメラーゼが結合するポリヌクレオチド（DNAまたはRNA）の認識部位を指す。RNAポリメラーゼは、プロモーターに操作可能に連結されたポリヌクレオチドの転写を開始させる。特定の実施形態では、哺乳動物細胞で動作するプロモーターは、転写が開始される部位からおよそ25～30塩基上流に位置するAT-リッチ領域、および/または転写開始部位から70～80塩基上流に存在する別の配列であるCNCAAT領域を含有し、式中、N

50

は任意のヌクレオチドであり得る。

【0547】

「エンハンサー」という用語は、転写の強化を提供することができる配列を含むDNAセグメントを指し、一部の 경우에는、別の制御配列に対する方向性に関係なく機能することができる。エンハンサーは、プロモーター因子および/または他のエンハンサー因子と協働して、または相加的に機能することができる。「プロモーター/エンハンサー」という用語は、プロモーター機能とエンハンサー機能の両方を提供することができる配列を含むDNAセグメントを指す。

【0548】

「操作可能に連結した」という用語は、記載される構成要素が、それらが意図された様式で機能することができるような関係にある並置を意味する。一つの実施形態では、当該用語は、核酸発現制御配列（例えばプロモーター、および/またはエンハンサー）と、第二のポリヌクレオチド配列、例えば対象となるポリヌクレオチドとの間の機能的連結を指し、この場合において当該発現制御配列は、第二の配列に対応する核酸の転写を誘導する。

【0549】

本明細書において使用される場合、「構造的発現制御配列」という用語は、操作可能に連結された配列の継続的な、または連続的な転写を可能にするプロモーター、エンハンサー、またはプロモーター/エンハンサーを指す。構造的発現制御配列は、様々な細胞型と組織型での発現を可能にする「ユビキタス」なプロモーター、エンハンサー、プロモーター/エンハンサーであってもよく、または限定的な細胞型および組織型での発現を可能にする、それぞれ「細胞特異的」、「細胞型特異的」、「細胞株特異的」、または「組織特異的」なプロモーター、エンハンサー、またはプロモーター/エンハンサーであってもよい。

【0550】

特定の実施形態における使用に適したユビキタス発現制御配列の例示としては限定されないが、サイトメガロウイルス(CMV)前初期プロモーター、ウイルス性シミアンウイルス40(SV40)(例えば初期または後期)、モロニ-マウス白血病ウイルス(MoMLV)LTRプロモーター、ラウス肉腫ウイルス(RSV)LTR、単純ヘルペスウイルス(HSV)(チミジンキナーゼ)プロモーター、ワクシニアウイルス由来のH5、P7.5およびP11プロモーター、伸長因子1(EF1a)プロモーター、初期増殖応答タンパク質1(EGF1: early growth response 1)、フェリチンH(FerH)、フェリチンL(FerL)、グリセルアルデヒド三リン酸脱水素酵素(GAPDH)、真核細胞翻訳開始因子4A1(EIF4A1)、ヒートショック70kDaタンパク質5(HSPA5)、ヒートショックタンパク質90kDaベータ、メンバー1(HSP90B1)、ヒートショックタンパク質70kDa(HSP70)、-キネシン(-KIN)、ヒトROSA 26座位(Irions et al., Nature Biotechnology 25, 1477-1482 (2007))、ユビキチンCプロモーター(UBC)、ホスホグリセリン酸キナーゼ-1(PGK)プロモーター、サイトメガロウイルスエンハンサー/ニワトリ-アクチン(CAG)プロモーター、-アクチンプロモーターおよび骨髓増殖性肉腫ウイルスエンハンサー、ネガティブ制御領域欠失型、dl587revプライマー結合部位置換(MND)U3プロモーター(Haas et al., Journal of Virology, 2003; 77(17): 9439-9450)が挙げられる。

【0551】

一つの実施形態では、ベクターは、MNDU3プロモーターを含有する。

【0552】

一つの実施形態では、ベクターは、ヒトEF1a遺伝子の第一イントロンを含むEF1aプロモーターを含有する。

【0553】

一つの実施形態では、ベクターは、ヒトEF1a遺伝子の第一イントロンを欠くEF1

10

20

30

40

50

a プロモーターを含有する。

【0554】

特定の実施形態では、細胞、細胞型、細胞株、または組織に特異的な発現制御配列を使用して、所望のポリヌクレオチド配列の細胞型特異的、細胞株特異的、または組織特異的な発現を実現することが望ましい場合もある（例えば特定のポリペプチドをコードする核酸を、細胞型、細胞株、または組織のサブセットにおいてのみ、または発生の特定のステージでのみ発現させる）。

【0555】

特定の実施形態では、T細胞特異的プロモーターであるポリヌクレオチドを発現させることが望ましい場合がある。

【0556】

本明細書において使用される場合、「条件付き発現」とは、限定されないが、誘導性発現、抑制性発現、特定の生理学的状態、生物学的状態もしくは疾患状態にある細胞または組織での発現をはじめとする条件付き発現の任意の型を指す場合がある。この定義は、細胞型または組織に特異的な発現を除外することは意図されない。ある実施形態は、対象となるポリヌクレオチドの条件付き発現を提供するものであり、例えば発現は、細胞、組織、生物体を、ポリヌクレオチドが発現される処理または条件、または対象となるポリヌクレオチドにコードされるポリヌクレオチドの発現が増加もしくは減少する処理または条件に曝すことにより制御される。

【0557】

誘導性プロモーター/システムの例示としては限定されないが、ステロイド誘導性プロモーター、例えばグルココルチコイド受容体またはエストロゲン受容体をコードする遺伝子のプロモーター（対応するホルモンの処理で誘導可能）、メタロチオネインプロモーター（様々な重金属の処理で誘導可能）、MX-1プロモーター（インターフェロンで誘導可能）、「Gene Switch」ミフェプリストン制御性システム（Sirin et al., 2003, Gene, 323: 67）、クミン酸塩（cumate）誘導性遺伝子スイッチ（WO 2002/088346）、テトラサイクリン依存性制御システムなどが挙げられる。誘導物質としては限定されないが、グルココルチコイド、エストロゲン、ミフェプリストン（RU486）、金属、インターフェロン、低分子、クミン酸塩、テトラサイクリン、ドキシサイクリンおよびそれらのバリエーションが挙げられる。

【0558】

本明細書において使用される場合、「内部リボソーム侵入部位」または「IRES」とは、シストロン（タンパク質コード領域）の例えばATGなどの開始コドンに内部リボソームが直接侵入することを促進し、キャップ非依存性の遺伝子翻訳を生じさせる因子を指す。例えば、Jackson et al., 1990, Trends Biochem Sci 15(12): 477-83)およびJackson and Kaminski, 1995, RNA 1(10): 985-1000を参照のこと。当業者により一般的に採用されるIRESの例としては、米国特許第 6,692,736号に記載されるものが挙げられる。当分野に公知の「IRES」のさらなる例としては限定されないが、ピコルナウイルスから取得可能なIRES（Jackson et al., 1990）、および例えば免疫グロブリン重鎖結合タンパク質（BiP）、血管内皮増殖因子（VEGF）などのウイルスmRNAまたは細胞mRNAを源として取得可能なIRES（Huez et al., 1998, Mol. Cell. Biol. 18(11): 6178-6190）、線維芽細胞増殖因子2（FGF-2）、およびインスリン様増殖因子（IGF I）、翻訳開始因子のeIF4G、ならびに酵母転写因子のTFIIDおよびHAP4、Novagen社から販売されている脳心筋炎ウイルス（EMCV）（Duke et al., 1992, J. Virol 66(3): 1602-9）およびVEGF IRES（Huez et al., 1998, Mol. Cell. Biol. 18(11): 6178-90）が挙げられる。IRESは、ピコルナウイルス科、ジシストロウイルス科、およびフラビウイルス科の種のウイルスゲノム、ならびにHCV、フレンドマウス白血病

10

20

30

40

50

ウイルス (F r M L V)、およびモロニー Maus 白血病ウイルス (M o M L V) においても報告されている。

【 0 5 5 9 】

一つの実施形態では、本明細書において予期されるポリヌクレオチドに使用される I R E S は、E M C V I R E S である。

【 0 5 6 0 】

特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、コンセンサス K o z a k 配列を含む。本明細書において使用される場合、「K o z a k 配列」という用語は、リボソーム小サブユニットへの m R N A の初期結合を大きく促進し、翻訳を増加させる短いヌクレオチド配列を指す。コンセンサス K o z a k 配列は、(G C C) R C C A T G G (配列番号 6 6) であり、式中、R はプリン (A または G) である (K o z a k , 1 9 8 6 . C e l l . 4 4 (2) : 2 8 3 - 9 2、および K o z a k , 1 9 8 7 . N u c l e i c A c i d s R e s . 1 5 (2 0) : 8 1 2 5 - 4 8)。

10

【 0 5 6 1 】

異種核酸転写物の効率的な終止とポリアデニル化を誘導する因子は、異種遺伝子の発現を増加させる。転写終止シグナルは、一般的にポリアデニル化シグナルの下流に存在する。特定の実施形態では、ベクターは、発現されるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの 3 ' 側にポリアデニル化配列を含有する。本明細書において使用される場合、「ポリ A 部位」または「ポリ A 配列」という用語は、R N A ポリメラーゼ I I による初期 R N A 転写物の終止とポリアデニル化の両方を誘導する D N A 配列を示す。ポリアデニル化配列は、ポリ A 尾部をコード配列の 3 ' 末端に付加することで m R N A の安定性を促進し、それにより翻訳効率の増強に寄与することができる。切断およびポリアデニル化は、R N A 中のポリ (A) 配列により誘導される。哺乳動物のプレ m R N A のコアポリ (A) 配列は、切断 - ポリアデニル化部位に隣接する二つの認識因子を有する。典型的には、ほぼ不変の A A U A A A 六量体が、U 残基または G U 残基が豊富な、より可変性の高い因子の上流 2 0 ~ 5 0 ヌクレオチドに存在する。初期転写物の切断はこれら二つの因子の間で発生し、5 ' 切断産物に最大で 2 5 0 個のアデノシンが付加される。特定の実施形態では、コアポリ (A) 配列は、最良のポリ A 配列 (例えば、A A T A A A、A T T A A A、A G T A A A) である。特定の実施形態では、ポリ (A) 配列は、S V 4 0 のポリ A 配列、ウシ成長ホルモンポリ A 配列 (B G H p A)、ウサギ - グロビンポリ A 配列 (r g p A)、それらのバリエーション、または当分野に公知の別の適切な異種または内因性ポリ A 配列である。特定の実施形態では、ポリ (A) 配列は、合成である。

20

30

【 0 5 6 2 】

一部の実施形態では、ポリヌクレオチド、またはポリヌクレオチドを保有する細胞は、直接的な毒性および / または非制御増幅のリスクを減少させるための誘導性自殺遺伝子をはじめとする自殺遺伝子を利用する。特定の実施形態では、自殺遺伝子は、ポリヌクレオチドを保有する宿主、または細胞に対して免疫原性ではない。使用され得る自殺遺伝子の例は、カスパーゼ - 9 またはカスパーゼ - 8 またはシトシンデアミナーゼである。カスパーゼ - 9 は、二量体形成の特定の化学誘導物質 (C I D : c h e m i c a l i n d u c e r o f d i m e r i z a t i o n) を使用して活性化され得る。

40

【 0 5 6 3 】

特定の実施形態では、一つ以上のポリペプチドまたは融合ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、例えば T 細胞などの免疫エフェクター細胞に、非ウイルス法およびウイルス法の両方により導入されてもよい。特定の実施形態では、一つ以上のポリヌクレオチドの送達は、同じ方法もしくは異なる方法で提供されてもよく、および / または同じベクターもしくは異なるベクターで提供されてもよい。

【 0 5 6 4 】

「ベクター」という用語は、本明細書において、もう一つの核酸分子を移送または輸送することができる核酸分子を指すために使用される。移送される核酸は一般的にベクター核酸分子に連結され、例えば挿入される。ベクターは、細胞中での自律的複製を誘導する

50

配列を含んでもよく、または宿主細胞DNAへの統合が十分に可能となる配列を含んでもよい。特定の実施形態では、非ウイルス性ベクターを使用して、本明細書に予期される一つ以上のポリヌクレオチドがT細胞に送達される。

【0565】

非ウイルス性ベクターの例示としては限定されないが、プラスミド（例えばDNAプラスミドまたはRNAプラスミド）、トランスポゾン、コスミド、および細菌人工染色体が挙げられる。

【0566】

特定の実施形態で予期されるポリヌクレオチドの非ウイルス性の送達法の例示としては限定されないが、エレクトロポレーション法、ソノポレーション法、リポフェクション法、マイクロインジェクション法、バイオリステック法、ウイロゾーム法、リポソーム法、免疫リポソーム法、ナノ粒子法、ポリカチオンまたは脂質：核酸複合体、ネイキッドDNA法、人工ビリオン、DEAE-デキストラン介在移送、遺伝子銃、およびヒートショックが挙げられる。

10

【0567】

特定の実施形態において予期される特定の実施形態での使用に適したポリヌクレオチド送達システムの例示としては限定されないが、Amaxa Biosystems, Maxcyte, Inc., BTX Molecular Delivery Systems、およびCopernicus Therapeutics Inc.により提供されるシステムが挙げられる。リポフェクション試薬は市販されている（例えば、Transfectam（商標）およびLipofectin（商標））。ポリヌクレオチドの効率的な受容体-認識リポフェクションに適したカチオン性脂質および中性脂質は、文献に記載されている。例えば、Liu et al. (2003) Gene Therapy, 10: 180-187; およびBalazs et al. (2011) Journal of Drug Delivery, 2011: 1-12を参照のこと。抗体標的化送達、細菌誘導送達、非生物ナノセル系送達も特定の実施形態において予期される。

20

【0568】

特定の実施形態において予期されるポリヌクレオチドを含有するウイルスベクターは、個々の患者に投与することにより、典型的には以下に記載されるように全身投与（例えば静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または頭蓋内点滴）または局所適用することによりインビボで送達され得る。あるいはベクターは、例えば個々の患者から外植された細胞（例えば動員（mobilized）された末梢血、リンパ球、骨髓吸引液、組織生検等）またはユニバーサルドナーの造血幹細胞などの細胞に生体外で送達されてもよく、その後、患者に当該細胞を再移植してもよい。

30

【0569】

一つの実施形態では、本明細書において予期されるポリヌクレオチドを含むウイルスベクターは生物体に直接投与され、インビボで細胞に形質導入される。あるいはネイキッドDNAが投与されてもよい。投与は、分子を導入して血液または組織細胞と最終的に接触させるために通常に使用される経路のいずれかによるものであり、限定されないが、注射、点滴、局所適用およびエレクトロポレーションが挙げられる。そうした核酸の適切な投与方法は当業者に利用可能および公知であるが、複数の経路を使用して特定の組成物を投与してもよく、特定の経路はしばしば、別の経路よりも即時性で高い効果的反応を提供することができる。

40

【0570】

特定の実施形態において予期される特定の実施形態での使用に適したウイルスベクター系の例示としては限定されないが、アデノ随伴ウイルス（AAV）、レトロウイルス、単純ヘルペスウイルス、アデノウイルス、およびワクシニアウイルスのベクターが挙げられる。

【0571】

様々な実施形態では、一つ以上のDARIC構成要素および/または本明細書において

50

予期される他のポリペプチドをコードする一つ以上のポリヌクレオチドが、当該一つ以上のポリヌクレオチドを含有する組み換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）とともに細胞に形質導入されることで、例えばT細胞などの免疫エフェクター細胞に導入される。

【0572】

AAVは、小さな（約26nm）の複製能力を欠いた、主にエピソーム性の非エンベロープウイルスである。AAVは、分裂細胞と非分裂細胞の両方に感染することができ、そのゲノムを宿主細胞のゲノムに組み込む場合がある。組み換えAAV（rAAV）は典型的には、最小で導入遺伝子とその制御配列、ならびに5'および3'のAAV逆位末端反復（ITR）から構成される。ITR配列は約145bpの長さである。特定の実施形態では、rAAVは、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9またはAAV10から単離されたITRとカプシド配列を含有する。

10

【0573】

一部の実施形態では、キメラrAAVが使用される。ITR配列は、一つのAAV血清型から単離され、カプシド配列は別のAAV血清型から単離される。例えばAAV2由来のITR配列と、AAV6由来のカプシド配列を含むrAAVは、AAV2/AAV6と呼ばれる。特定の実施形態では、rAAVベクターは、AAV2由来のITRと、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9またはAAV10のいずれか一つに由来するカプシドタンパク質を含有してもよい。好ましい実施形態では、rAAVは、AAV2由来のITR配列と、AAV6由来のカプシド配列を含有する。好ましい実施形態では、rAAVは、AAV2由来のITR配列と、AAV2由来のカプシド配列を含有する。

20

【0574】

一部の実施形態では、操作と選択の方法をAAVカプシドに行って、それらが対象となる細胞に形質導入される確率を高くしてもよい。

【0575】

rAAVベクターの構築、産生、および精製は、例えば米国特許第9,169,494号、第9,169,492号、第9,012,224号、第8,889,641号、第8,809,058号、および第8,784,799号に開示されている。それら文献はその全体で参照により本明細書に援用される。

30

【0576】

様々な実施形態では、一つ以上のDARIC構成要素および/または本明細書において予期される他のポリペプチドをコードする一つ以上のポリヌクレオチドは、当該一つ以上のポリヌクレオチドを含有する例えばレンチウイルスなどのレトロウイルスとともに細胞に形質導入されることで、例えばT細胞などの免疫エフェクター細胞に導入される。

【0577】

本明細書において使用される場合、「レトロウイルス」という用語は、自身のゲノムRNAを直線的二本鎖DNAコピーへと逆転写し、次いで自身のゲノムDNAを宿主ゲノムへと共有結合的に統合させるRNAウイルスを指す。特定の実施形態における使用に適したレトロウイルスの例示としては限定されないが、以下が挙げられる：モロニー Maus 白血病ウイルス（M-MuLV）、モロニー Maus 肉腫ウイルス（MoMSV）、ハーベイ Maus 肉腫ウイルス（HaMuSV）、マウス乳腺腫瘍ウイルス（MuMTV）、テナガザル白血病ウイルス（GaLV）、ネコ白血病ウイルス（FeLV）、スプマウイルス、フレンド Maus 白血病ウイルス、マウス幹細胞ウイルス（MSCV）、およびラウス肉腫ウイルス（RSV）、およびレンチウイルス。

40

【0578】

本明細書において使用される場合、「レンチウイルス」という用語は、複合的なレトロウイルスの群（または属）を指す。レンチウイルスの例としては限定されないが、HIV（ヒト免疫不全ウイルス、HIV1型およびHIV2型を含む）、ビスナ-マエディウイルス（VSV）、ヤギ関節炎-脳炎ウイルス（CAEV）、ウマ感染性貧血ウイルス（E

50

I A V)、ネコ免疫不全ウイルス (F I V)、ウシ免疫不全ウイルス (B I V)、およびサル免疫不全ウイルス (S I V) が挙げられる。一つの実施形態では、H I Vをベースとしたベクター骨格 (すなわちH I Vシス作用性配列因子) が好ましい。

【 0 5 7 9 】

様々な実施形態では、本明細書に予期されるレンチウイルスベクターは、一つ以上のL T R、および以下のアクセサリー因子のうちの一つ以上またはすべてを含有する：c P P T / F L A P、P s i () パッケージシグナル、輸出因子 (e x p o r t e l e m e n t)、ポリ (A) 配列。および任意で、本明細書において別段に検討されるように、W P R EまたはH P R E、インシュレーター因子、選択マーカー、および細胞自殺遺伝子を含有してもよい。

10

【 0 5 8 0 】

特定の実施形態では、本明細書において予期されるレンチウイルスベクターは、統合的、または非統合的、または統合能力を欠くレンチウイルスであってもよい。本明細書において使用される場合、「統合能力を欠くレンチウイルス」または「I D L V」という用語は、ウイルスゲノムを宿主細胞ゲノムに統合させる能力を欠くインテグラーゼを有するレンチウイルスを指す。統合能力のないウイルスベクターは、特許出願W O 2 0 0 6 / 0 1 0 8 3 4に記載されており、当該出願はその全体で参照により本明細書に援用される。

【 0 5 8 1 】

インテグラーゼ活性の低下に適したH I V - 1 p o l 遺伝子中の変異の例としては限定されないが、以下が挙げられる：H 1 2 N、H 1 2 C、H 1 6 C、H 1 6 V、S 8 1 R、D 4 1 A、K 4 2 A、H 5 1 A、Q 5 3 C、D 5 5 V、D 6 4 E、D 6 4 V、E 6 9 A、K 7 1 A、E 8 5 A、E 8 7 A、D 1 1 6 N、D 1 1 6 1、D 1 1 6 A、N 1 2 0 G、N 1 2 0 1、N 1 2 0 E、E 1 5 2 G、E 1 5 2 A、D 3 5 E、K 1 5 6 E、K 1 5 6 A、E 1 5 7 A、K 1 5 9 E、K 1 5 9 A、K 1 6 0 A、R 1 6 6 A、D 1 6 7 A、E 1 7 0 A、H 1 7 1 A、K 1 7 3 A、K 1 8 6 Q、K 1 8 6 T、K 1 8 8 T、E 1 9 8 A、R 1 9 9 c、R 1 9 9 T、R 1 9 9 A、D 2 0 2 A、K 2 1 1 A、Q 2 1 4 L、Q 2 1 6 L、Q 2 2 1 L、W 2 3 5 F、W 2 3 5 E、K 2 3 6 S、K 2 3 6 A、K 2 4 6 A、G 2 4 7 W、D 2 5 3 A、R 2 6 2 A、R 2 6 3 AおよびK 2 6 4 H。

20

【 0 5 8 2 】

「長末端反復 (L T R : l o n g t e r m i n a l r e p e a t) 」という用語は、レトロウイルスDNAの末端に位置する塩基対のドメインを指し、本来の配列ではL T Rはダイレクトリピートであり、U 3、RおよびU 5領域を含有する。

30

【 0 5 8 3 】

本明細書において使用される場合、「F L A P 因子」、または「c P P T / F L A P」という用語は、その配列が、例えばH I V - 1およびH I V - 2などのレトロウイルスの中心ポリプリン帯 (c e n t r a l p o l y p u r i n e t r a c t) と中心末端配列 (c e n t r a l t e r m i n a t i o n s e q u e n c e s) (c P P TおよびC T S) を含む核酸を指す。適切なF L A P 因子は、米国特許第 6 , 6 8 2 , 9 0 7 号およびZ e n n o u , e t a l . , 2 0 0 0 , C e l l , 1 0 1 : 1 7 3に記載されている。

【 0 5 8 4 】

40

本明細書において使用される場合、「パッケージシグナル」または「パッケージ配列」という用語は、レトロウイルスゲノム内に位置するp s i [] 配列を指し、ウイルスカプシドまたはウイルス粒子内にウイルスRNAを挿入するために必要とされる。例えば、C l e v e r e t a l . , 1 9 9 5 . J . o f V i r o l o g y , V o l . 6 9 , N o . 4 ; p p . 2 1 0 1 - 2 1 0 9を参照のこと。

【 0 5 8 5 】

「輸出因子」という用語は、シス作用性の転写後制御因子を指し、細胞の核から細胞質へのRNA転写物の輸送を制御する。RNA輸出因子の例としては限定されないが、ヒト免疫不全ウイルス (H I V) のr e v 反応性因子 (R R E) (例えば、C u l l e n e t a l . , 1 9 9 1 . J . V i r o l . 6 5 : 1 0 5 3 ; およびC u l l e n e t a l .

50

, 1991, Cell 58: 423を参照のこと)およびB型肝炎ウイルスの転写後制御因子(HPRE)が挙げられる。

【0586】

特定の実施形態では、ウイルスベクター中の異種配列の発現は、転写後制御因子、効率的ポリアデニル化部位、および任意で転写終止シグナルをベクターに組み込むことで増加する。様々な転写後制御因子が、タンパク質での異種核酸の発現を増加させることができる。例えばウッドチャック肝炎ウイルスの転写後制御因子(WPRE; Zufferey et al., 1999, J. Virol., 73: 2886); B型肝炎ウイルス中に存在する転写後制御因子(HPRE) (Huang et al., Mol. Cell. Biol., 5: 3864); など(Liu et al., 1995, Genes Dev., 9: 1766)が挙げられる。

10

【0587】

レンチウイルスベクターは、LTR改変の結果として、いくつかの安全性強化因子を含むことが好ましい。「自己不活化」(SIN: self-inactivating)ベクターとは、複製能力を欠いたベクターを指し、例えば右(3')LTRエンハンサー-プロモーター領域はU3領域として知られているが、この領域が(例えば欠失または置換により)改変されて、ウイルス複製の最初のラウンドを超えたウイルス転写が阻害される、レトロウイルスまたはレンチウイルスのベクターなどがある。自己不活化は、ベクターDNA、すなわちベクターRNAを生成するために使用されるDNAの3'LTRのU3領域に欠失を導入することで実現されることが好ましい。そうすることで、逆転写の間にこの欠失がプロウイルスDNAの5'LTRに移送される。特定の実施形態では、U3配列を十分に除去して、LTRの転写活性を大きく減少させる、または完全に無効化させることが望ましく、それにより形質導入された細胞において全長ベクターRNAの産生が大きく減少または無効化される。HIVをベースにしたレンチベクターの場合、そうしたベクターは、LTR TATA boxの除去(例えば-418~-18の欠失)を含む大幅なU3欠失に耐用性があり、ベクター力価の大きな低下は伴わないことが判明している。

20

【0588】

追加的な安全性の強化は、5'LTRのU3領域を、ウイルス粒子の産生中にウイルスゲノムの転写を誘導する異種プロモーターと置き換えることで提供される。使用され得る異種プロモーターの例としては例えば、シミアンウイルス40(SV40)(例えば初期または後期)、サイトメガロウイルス(CMV)(例えば前初期)、モロニー Maus 白血病ウイルス(MoMLV)、ラウス肉腫ウイルス(RSV)、および単純ヘルペスウイルス(HSV)(チミジンキナーゼ)のプロモーターが挙げられる。

30

【0589】

本明細書において使用される場合、「偽型」または「偽型の」という用語は、そのウイルスエンベロープタンパク質が、好ましい特性を有する別のウイルスのエンベロープと置き換えられたウイルスを指す。例えば、HIVエンベロープタンパク質(env遺伝子にコードされる)は通常、CD4⁺提示細胞に対してウイルスを標的化するが、水泡性口炎ウイルスのG-タンパク質(VSV-G)エンベロープタンパク質でHIVを偽型化することで、広範な細胞にHIVが感染できるようになる。

40

【0590】

ある実施形態では、レンチウイルスベクターは、公知の方法により産生される。例えば、Kutner et al., BMC Biotechnol. 2009; 9: 10. doi: 10.1186/1472-6750-9-10; Kutner et al. Nat. Protoc. 2009; 4(4): 495-505. doi: 10.1038/nprot.2009.22を参照のこと。

【0591】

本明細書に予期されるある特定の実施形態によると、ほとんど、またはすべてのウイルスベクターの骨格配列は、例えばHIV-1などのレンチウイルスに由来する。しかしながら、多くの異なる源のレトロウイルス配列および/またはレンチウイルス配列が使用ま

50

たは組み合わせられてもよく、特定のレンチウイルス配列における多数の置換および改変が、本明細書に記載される機能を実施する伝達ベクターの能力を損なうことなく、収容され得ることが理解されるべきである。さらに、様々なレンチウイルスベクターが当分野に公知である。Naldini et al., (1996a, 1996b, and 1998); Zufferey et al., (1997); Dull et al., 1998、米国特許第 6,013,516 号および第 5,994,136 号を参照のこと。それらの多くが、本明細書に予期されるウイルスベクターまたはトランスファープラスミドの産生に適合され得る。

【0592】

様々な実施形態では、一つ以上の D A R I C 構成要素および/または本明細書において予期される他のポリペプチドをコードする一つ以上のポリヌクレオチドが、当該一つ以上のポリヌクレオチドを含有するアデノウイルスとともに細胞に形質導入されることで、免疫エフェクター細胞に導入される。

10

【0593】

アデノウイルス系のベクターは、多くの細胞型で非常に高い効率で形質導入を行うことができ、そして細胞分裂を必要としない。そうしたベクターを用いることで、高い力価と、高レベルの発現が得られる。このベクターは、比較的シンプルなシステムで大量に作製することができる。ほとんどのアデノウイルスベクターが、導入遺伝子が A d E 1 a、E 1 b、および/または E 3 遺伝子を置換するよう操作されている。その結果、複製能力を欠くベクターはヒト 293 細胞中で増幅され、当該細胞が失われた遺伝子機能をトランスで供給する。A d ベクターは、例えば肝臓、腎臓および筋肉中に存在する細胞などの非分裂細胞、分化細胞を含む、複数のタイプの組織にインビボで形質導入することができる。従来の A d ベクターは、大きな運搬能力を有している。

20

【0594】

複製能力を欠く現在のアデノウイルスベクターの作製と増幅は、293 と呼ばれるユニークなヘルパー細胞株を利用する場合がある。この細胞株は、ヒト胚腎臓細胞から A d 5 DNA 断片により形質転換されたものであり、E 1 タンパク質を構造的に発現している (Graham et al., 1977)。アデノウイルスゲノムの E 3 領域は必須ではないため (Jones & Shenk, 1978)、現在のアデノウイルスベクターは、293 細胞の補助を得て、E 1、D 3 またはその両方の領域に外来性 DNA を担持している (Graham & Prevec, 1991)。アデノウイルスベクターは、真核細胞遺伝子の発現 (Levrero et al., 1991; Gomez-Foix et al., 1992) およびワクチン開発 (Grunhaus & Horwitz, 1992; Graham & Prevec, 1992) に使用されている。組み換えアデノウイルスを様々な組織に投与する実験としては、気管滴下 (Rosenfeld et al., 1991; Rosenfeld et al., 1992)、筋肉注射 (Ragot et al., 1993)、末梢静脈注射 (Herz & Gerard, 1993)、および脳内への定位性接種 (Le Gal La Salle et al., 1993) が挙げられる。臨床試験における A d ベクターの使用例には、筋肉内注射を用いた抗腫瘍免疫を目的としたポリヌクレオチド療法が含まれる (Stermann et al., Hum. Gene Ther. 7:1083-9 (1998))。

30

【0595】

様々な実施形態では、一つ以上の D A R I C 構成要素および/または本明細書において予期される他のポリペプチドをコードする一つ以上のポリヌクレオチドが、当該一つ以上のポリヌクレオチドを含有する例えば H S V - 1、H S V - 2 といった単純ヘルペスウイルスとともに細胞に形質導入されることで、免疫エフェクター細胞に導入される。

【0596】

成熟 H S V ビリオンは、152 kb の直線型二本鎖 DNA 分子からなるウイルスゲノムを含む、エンベロープ型正 20 面体カプシドからなる。一つの実施形態では、H S V をベースとしたウイルスベクターは、一つ以上の必須または非必須の H S V 遺伝子が欠落して

50

いる。一つの実施形態では、HSVをベースとしたウイルスベクターは、複製能力を欠く。殆どの複製能力を欠くHSVベクターは、一つ以上の中間 - 初期、初期、または後期のHSV遺伝子を除去するための欠失を含有し、複製が阻害されている。例えばHSVベクターは、以下からなる群から選択される前初期遺伝子が欠落していてもよい：ICP4、ICP22、ICP27、ICP47、およびそれらの組み合わせ。HSVベクターの利点は、後期ステージに入り、長期的にDNA発現を生じさせることができる能力と、最大25 kbもの外因性DNAインサートを収容できる、その巨大なウイルスDNAゲノムである。HSV系のベクターは、例えば米国特許第5,837,532号、第5,846,782号および第5,804,413号、ならびに国際特許出願WO 91/02788、WO 96/04394、WO 98/15637およびWO 99/06583に記載されており、それらはその全体で参照により本明細書に援用される。

10

【0597】

G. 遺伝子改変細胞

様々な実施形態では、細胞は、癌治療における使用を目的として、本明細書において予期される一つ以上のDARIC構成要素、DARIC、操作されたTCR、CAR、ゼータカイン、および/または融合タンパク質を発現するよう改変される。細胞は、本明細書において予期されるポリペプチドのうちの一つ以上を発現するよう非遺伝的に改変されてもよく、または特定の好ましい実施形態では、細胞は、本明細書において予期されるポリペプチドの一つ以上を発現するよう遺伝的に改変されてもよい。本明細書において使用される場合、「遺伝子操作された」または「遺伝的に改変された」という用語は、DNAまたはRNAの形態の追加的な遺伝物質を、細胞中の総遺伝物質に加えることを指す。「遺伝的に改変された細胞」、「改変細胞」、および「再指向化細胞」という用語は、特定の

20

【0598】

特定の実施形態では、本明細書において予期される一つ以上のDARIC構成要素は、免疫エフェクター細胞に導入および発現され、当該免疫エフェクター細胞の有効性を改善する。特定の実施形態では、二重標的化免疫エフェクター細胞は、標的細胞が、第一のDARIC結合構成要素に認識される抗原と、第二のDARIC結合構成要素に認識される別の抗原を発現する場合において予期される。特定の実施形態では、一つ以上のDARIC構成要素は、細胞中で例えばCARなどの操作された抗原受容体を共発現することにより標的細胞に再指向化された免疫エフェクター細胞に導入され、および発現される。特定の実施形態では、二重標的化免疫エフェクター細胞は、標的細胞が、操作された抗原受容体に認識される抗原と、DARICに認識される異なる抗原を発現する場合において予期される。

30

【0599】

「免疫エフェクター細胞」は、一つ以上のエフェクター機能（例えば細胞傷害性の細胞殺傷活性、サイトカイン分泌、ADCCおよび/またはCDCの誘導など）を有する免疫系の任意の細胞である。本明細書において予期される免疫エフェクター細胞の例示は、Tリンパ球であり、限定されないが細胞障害性T細胞（CTL；CD8⁺T細胞）、TIL、およびヘルパーT細胞（HTL；CD4⁺T細胞）が挙げられる。特定の実施形態では、細胞は、T細胞を含む。特定の実施形態では、細胞は、T細胞を含む。一つの実施形態では、免疫エフェクター細胞は、ナチュラルキラー（NK）細胞を含む。一つの実施形態では、免疫エフェクター細胞は、ナチュラルキラーT（NKT）細胞を含む。免疫エフェクター細胞は、自己（self）または非自己（non-self、例えば同種、同系または異種）であってもよい。

40

【0600】

本明細書において使用される場合、「自己」とは、同じ対象に由来する細胞を指す。本明細書において使用される場合、「同種」とは、比較した細胞と遺伝的に異なる同じ種の細胞を指す。本明細書において使用される場合、「同系」とは、比較した細胞と遺伝的に同一である、異なる対象の細胞を指す。本明細書において使用される場合、「異種」とは

50

、比較した細胞と異なる種の細胞を指す。好ましい実施形態では、細胞は、ヒトの自己免疫エフェクター細胞である。

【0601】

本明細書において予期される一つ以上のDARIC構成要素またはDARICの導入に適した免疫エフェクター細胞の例としては、Tリンパ球が挙げられる。「T細胞」または「Tリンパ球」という用語は、当分野において認識されており、胸腺細胞、未成熟Tリンパ球、成熟Tリンパ球、静止Tリンパ球、または活性化Tリンパ球を含むことが意図される。T細胞は、例えばTヘルパー1 (Th1) 細胞またはTヘルパー2 (Th2) 細胞などのTヘルパー (Th) 細胞であってもよい。T細胞は、ヘルパーT細胞 (HTL; CD4⁺T細胞) のCD4⁺T細胞、細胞傷害性T細胞 (CTL: CD8⁺T細胞)、CD4⁺CD8⁺T細胞、CD4⁻CD8⁻T細胞、またはT細胞の任意の他のサブセットであってもよい。特定の実施形態における使用に適したT細胞群の他の例としては、ナイーブT細胞およびメモリーT細胞が挙げられる。

10

【0602】

当業者に理解されるように、他の細胞も、本明細書において予期される一つ以上のDARIC構成要素またはDARICを含む免疫エフェクター細胞として使用され得る。特定の実施形態では、免疫エフェクター細胞は、NK細胞、NKT細胞、好中球およびマクロファージも含む。免疫エフェクター細胞は、エフェクター細胞の前駆体も含み、この場合においてそうした前駆細胞は、インビボまたはインビトロで免疫エフェクター細胞に分化するように誘導されてもよい。したがって特定の実施形態では、免疫エフェクター細胞は、例えば臍帯血、骨髄または動員末梢血に由来する細胞のCD34⁺集団内に含有される造血幹細胞 (HSC) などの免疫エフェクター細胞の前駆体を含み、それらは対象に投与されたときに成熟免疫エフェクター細胞へと分化し、またはインビトロで誘導されて成熟免疫エフェクター細胞へと分化してもよい。

20

【0603】

本明細書において使用される場合、「CD34⁺細胞」という用語は、その細胞表面上にCD34タンパク質を発現する細胞を指す。本明細書において使用される場合、「CD34」とは、細胞-細胞接着因子として作用することが多く、リンパ節へのT細胞の侵入に関与する細胞表面糖タンパク質 (例えばシアロムチンタンパク質) を指す。CD34⁺細胞集団は、造血幹細胞 (HSC) を含有し、HSCは患者に投与されたときに分化し、T細胞、NK細胞、NKT細胞、好中球、および単球/マクロファージ系統の細胞を含むすべての造血系の元となる。

30

【0604】

本明細書において予期される一つ以上のDARIC構成要素を発現する免疫エフェクター細胞を作成する方法は、特定の実施形態に提示される。一つの実施形態では、当該方法は、個体から単離された免疫エフェクター細胞にトランスフェクトまたは形質導入を行うことにより、一つ以上の核酸および/もしくはベクターまたはそれらの組み合わせを含む当該免疫エフェクター細胞が、本明細書において予期される一つ以上のDARIC構成要素を含有する工程を含む。一つの実施形態では、当該方法は、個体から単離された免疫エフェクター細胞にトランスフェクトまたは形質導入を行うことにより、当該免疫エフェクター細胞が、本明細書において予期される一つ以上のDARIC構成要素と操作された抗原受容体を発現する工程を含む。ある実施形態では、免疫エフェクター細胞は、インビトロでのさらなる操作を伴わずに個体から単離され、および遺伝子改変される。次いでそうした細胞を当該個体に直接再投与してもよい。さらなる実施形態では、免疫エフェクター細胞は最初にインビトロで活性化され、そして刺激されて増殖し、その後、遺伝子改変される。これに関し、免疫エフェクター細胞は、遺伝子改変される前、および/または遺伝子改変された後に培養され得る。

40

【0605】

特定の実施形態では、本明細書に記載される免疫エフェクター細胞のインビトロ操作または遺伝子改変の前に、対象から細胞源が取得される。特定の実施形態では、改変免疫エ

50

フェクター細胞は、T細胞を含有する。

【0606】

T細胞は、限定されないが、末梢血単核細胞、骨髓、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位の組織、腹水、胸水、脾臓組織および腫瘍を含む多くの源から取得されることができる。ある実施形態では、T細胞は、例えばFICOLL（商標）分離などの沈殿作用といった当業者に公知の技術を任意の回数使用して対象から採取された血液ユニットから取得されることができる。

【0607】

他の実施形態では、単離された、または精製されたT細胞群が使用される。一部の実施形態では、PBMCの単離後、細胞傷害性Tリンパ球とヘルパーTリンパ球の両方を、活性化、拡張および/もしくは遺伝子改変の前または後に、ナイーブT細胞亜群、メモリーT細胞亜群およびエフェクターT細胞亜群へとソーティングしてもよい。

【0608】

一つの実施形態では、単離された、または精製されたT細胞群は、限定されないが、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺またはそれらの組み合わせを含むマーカーのうちの一つ以上を発現する。

【0609】

ある実施形態では、T細胞は個体から単離され、インビトロで最初に活性化および刺激されて増殖した後に改変されて、一つ以上のDARIC構成要素を発現する。

【0610】

T細胞組成物の十分な治療投与量を獲得するために、しばしばT細胞に、一ラウンド以上の刺激、活性化および/または拡張が行われる。特定の実施形態では、T細胞は一般的に、例えば米国特許第6,352,694号、第6,534,055号、第6,905,680号、第6,692,964号、第5,858,358号、第6,887,466号、第6,905,681号、第7,144,575号、第7,067,318号、第7,172,869号、第7,232,566号、第7,175,843号、第5,883,223号、第6,905,874号、第6,797,514号、および第6,867,041号に記載される方法を使用して活性化および拡張され得る。それら特許はその全体で参照により本明細書に援用される。特定の実施形態では、T細胞は、約6時間、約12時間、約18時間、または約24時間活性化および拡張され、その後一つ以上のDARIC構成要素をコードするベクターまたはポリヌクレオチドが、任意で本明細書に予期される操作された抗原受容体と組み合わされて導入される。

【0611】

一つの実施形態では、T細胞は、改変されるときに同時に活性化される。

【0612】

様々な実施形態では、免疫エフェクター細胞の作製方法は、T細胞を含む細胞群を活性化させる工程、および当該T細胞群を拡張させる工程を含む。T細胞活性化は、T細胞のTCR/CD3複合体を介して一次刺激シグナルを提供し、そして例えばCD28などのアクセサリ分子を介して二次共刺激シグナルを提供することにより達成され得る。

【0613】

TCR/CD3複合体は、T細胞と、適切なCD3結合物質、例えばCD3リガンドや抗CD3モノクローナル抗体を接触させることにより刺激されてもよい。CD3抗体の例示としては限定されないが、OKT3、G19-4、BC3および64.1が挙げられる。

【0614】

TCR/CD3複合体を介して提供される一次刺激シグナルに加えて、T細胞反応の誘導には二次的な共刺激性シグナルを必要とする。特定の実施形態では、CD28結合物質を使用して、共刺激性シグナルを提供してもよい。CD28結合物質の例示としては限定されないが、天然CD28リガンド、例えばCD28に対する天然リガンド（例えばタンパク質のB7ファミリーのメンバー、例えばB7-1（CD80）およびB7-2（CD86））；および抗CD28モノクローナル抗体、またはCD28分子と交差結合すること

ができるその断片、例えばモノクローナル抗体の 9 . 3、B - T 3、X R - C D 2 8、K O L T - 2、1 5 E 8、2 4 8 . 2 3 . 2、および E X 5 . 3 D 1 0 が挙げられる。

【 0 6 1 5 】

一つの実施形態では、一次刺激シグナルを提供する分子、例えば T C R / C D 3 複合体を介して刺激を提供する分子、および共刺激性分子は、同じ表面に連結される。

【 0 6 1 6 】

ある実施形態では、刺激シグナルおよび共刺激シグナルを提供する結合物質は、細胞表面上に局在する。これは、細胞に、結合物質をコードする核酸を、細胞表面上での発現に適した形態でトランスフェクトすることにより、もしくは形質導入することにより、または結合物質と細胞表面を連結させることにより、実現され得る。

10

【 0 6 1 7 】

別の実施形態では、一次刺激シグナルを提供する分子、例えば T C R / C D 3 複合体を介して刺激を提供する分子、および共刺激性分子は、抗原提示細胞上に提示される。

【 0 6 1 8 】

一つの実施形態では、一次刺激シグナルを提供する分子、例えば T C R / C D 3 複合体を介して刺激を提供する分子、および共刺激性分子は、別の表面上に提示される。

【 0 6 1 9 】

ある実施形態では、刺激シグナルおよび共刺激シグナルを提供する結合物質のうちの一つは、可溶性であり（溶液で提供される）、他方の物質は、一つ以上の表面上に提供される。

20

【 0 6 2 0 】

特定の実施形態では、刺激シグナルおよび共刺激シグナルを提供する結合物質は両方とも可溶型で提供される（溶液で提供される）。

【 0 6 2 1 】

様々な実施形態では、本明細書において予期される T 細胞を作製する方法は、T 細胞を、抗 C D 3 抗体および抗 C D 2 8 抗体を用いて活性化することを含む。

【 0 6 2 2 】

一つの実施形態では、本明細書において予期される方法により活性化された T 細胞の拡張は、T 細胞を含む細胞群を、数時間（約 3 時間）～約 7 日～約 2 8 日、またはその間の任意の整数の時間数の間、培養することをさらに含む。別の実施形態では、T 細胞組成物は、1 4 日間培養されてもよい。特定の実施形態では、T 細胞は、約 2 1 日間培養される。別の実施形態では、T 細胞組成物は、約 2 ～ 3 日間培養される。数サイクルの刺激 / 活性化 / 拡張が望ましい場合もあり、それにより T 細胞の培養時間は 6 0 日間以上になる可能性もある。

30

【 0 6 2 3 】

特定の実施形態では、T 細胞培養に適した条件には、適切な培地（例えば M i n i m a l E s s e n t i a l M e d i a または R P M I M e d i a 1 6 4 0 または X - v i v o 1 5（L o n z a 社））、および増殖と活性に必要な一つ以上の因子が含まれ、当該因子としては限定されないが血清（例えばウシ胎児血清またはヒト血清）、インターロイキン - 2（I L - 2）、インスリン、I F N - 、I L - 4、I L - 7、I L - 2 1、G M - C S F、I L - 1 0、I L - 1 2、I L - 1 5、T G F および T N F - または当業者に公知の細胞増殖に適した任意の他の添加物が挙げられる。

40

【 0 6 2 4 】

細胞培養培地のさらなる例示としては限定されないが、R P M I 1 6 4 0、C l i c k s、A I M - V、D M E M、M E M、a - M E M、F - 1 2、X - V i v o 1 5、および X - V i v o 2 0、O p t i m i z e r が挙げられ、それらにアミノ酸、ピルビン酸ナトリウムおよびビタミン類が添加され、無血清であるか、または適切な量の血清（または血漿）もしくは所定のホルモンの組み合わせ、および / または T 細胞の増殖と拡張に十分な量のサイトカインが補充される。

【 0 6 2 5 】

50

例えばペニシリンやストレプトマイシンなどの抗生物質は、実験培養でのみ含有され、対象への注入用の細胞培養には含有されない。標的細胞は、例えば適切な温度（例えば37）および大気（例えば空気に5%CO₂を加える）など、増殖をサポートするために必要な条件下で維持される。

【0626】

特定の実施形態では、PBMC、または単離T細胞は、通常はビーズまたは他の表面上に結合された例えば抗CD3抗体および抗CD28抗体などの刺激物質および共刺激物質と、例えばIL-2、IL-7および/またはIL-15などの適切なサイトカインを含む培養培地中で、接触する。

【0627】

他の実施形態では、K562細胞、U937細胞、721.221細胞、T2細胞およびC1R細胞を操作して、様々な共刺激性分子およびサイトカインの安定的な発現と分泌を誘導することにより、人工APC（aAPC）が作製される。特定の実施形態では、K32 aAPCまたはU32 aAPCを使用して、APC細胞表面上の一つ以上の抗体系刺激分子の提示が誘導される。T細胞群は、限定されないがCD137L（4-1BBL）、CD134L（OX40L）および/またはCD80もしくはCD86を含む様々な共刺激性分子を発現するaAPCにより拡張されてもよい。最終的に、aAPCは、遺伝子改変されたT細胞の拡張と、CD8 T細胞上のCD28発現の維持に効率的なプラットフォームを提供する。WO03/057171およびUS2003/0147869に提示されるaAPCは、その全体で参照により本明細書に援用される。

【0628】

特定の実施形態では、一つ以上のDARIC構成要素をコードするポリヌクレオチドが、T細胞群に導入される。特定の実施形態では、一つ以上のDARIC構成要素をコードするポリヌクレオチドが、操作された抗原受容体を発現するT細胞の群に導入される。ポリヌクレオチドは、マイクロインジェクション、トランスフェクション、リポフェクション、ヒートショック、エレクトロポレーション、形質導入、遺伝子銃、マイクロインジェクション、DEAE-デキストラン介在移送などによりT細胞に導入されてもよい。

【0629】

好ましい実施形態では、ポリヌクレオチドは、ウイルス形質導入によりT細胞に導入される。

【0630】

免疫エフェクター細胞またはCD34⁺細胞へのポリヌクレオチドの導入に適したウイルスベクターシステムの例示としては限定されないが、遺伝子移送用のアデノ随伴ウイルス（AAV）、レトロウイルス、単純ヘルペスウイルス、アデノウイルス、ワクシニアウイルスのベクターが挙げられる。

【0631】

一つの実施形態では、ポリヌクレオチドは、AAV形質導入によりT細胞に導入される。

【0632】

一つの実施形態では、ポリヌクレオチドは、レトロウイルス形質導入によりT細胞に導入される。

【0633】

一つの実施形態では、ポリヌクレオチドは、レンチウイルス形質導入によりT細胞に導入される。

【0634】

一つの実施形態では、ポリヌクレオチドは、アデノウイルス形質導入によりT細胞に導入される。

【0635】

一つの実施形態では、ポリヌクレオチドは、単純ヘルペスウイルス形質導入によりT細胞に導入される。

【0636】

10

20

30

40

50

一つの実施形態では、ポリヌクレオチドは、ワクシニアウイルス形質導入によりT細胞に導入される。

【0637】

H. 組成物および製剤

本明細書において予期される組成物は、一つ以上のDARICポリペプチド、DARICポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、それらを含むベクター、遺伝子改変された免疫エフェクター細胞、架橋因子などを含んでもよい。組成物としては限定されないが、医薬組成物が挙げられる。「医薬組成物」とは、細胞または動物への投与に対し、薬学的に許容可能な溶液または生理学的に許容可能な溶液中で、単独で、または一つ以上の他の治療モダリティと併用されて製剤化される組成物を指す。所望の場合には、組成物は、例えばサイトカイン、増殖因子、ホルモン、低分子、化学療法剤、プロドラッグ、薬剤、抗体、または他の様々な薬学的に活性な剤などの他の剤も同様に併用されて投与され得ることも理解されたい。事実上、組成物に含有され得る他の構成要素に制限はないが、追加される剤は、意図される療法を送達する組成物の能力に有害な影響を与えないものとする。

【0638】

本明細書において、「薬学的に許容可能」という文言は、適切な医学的判断の範囲内で、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症を伴わずにヒトおよび動物の組織と接触して使用することに適し、合理的な利益/リスク比に見合った、それら化合物、物質、組成物および/または剤型を指すために採用される。

【0639】

「薬学的に許容可能な担体」という用語は、架橋因子、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、それらを含むベクター、または遺伝子改変された免疫エフェクター細胞と一緒に投与される希釈剤、アジュバント、賦形剤またはビヒクルを指す。薬学的な担体の例示は、例えば細胞培養培地、水および油などの滅菌された液体であってもよく、石油、動物、植物または合成を起源とするものが挙げられ、例えばピーナッツ油、大豆油、鉱物油、ごま油などがある。生理食塩水およびブドウ糖液およびグリセロール溶液も、特に注射用溶液に関して液性担体として採用され得る。特定の実施形態における適切な薬学的賦形剤としては、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、コメ、小麦粉、白墨、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、滑石、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどが挙げられる。任意の従来的な媒または剤が、活性成分と不適合である場合を除き、治療組成物中でのその使用が予期される。補足的な活性成分も、組成物内に組み込まれ得る。

【0640】

一つの実施形態では、薬学的に許容可能な担体を含む組成物が、対象への投与に適している。特定の実施形態では、担体を含む組成物は、例えば血管内（静脈内または動脈内）投与、腹腔内投与または筋肉内投与などの非経口投与に適している。特定の実施形態では、薬学的に許容可能な担体を含む組成物は、脳室内投与、髄腔内投与またはくも膜腔内投与に適している。薬学的に許容可能な担体としては、滅菌水溶液、細胞培養培地または分散液が挙げられる。薬学的に活性な物質に対する、そのような媒および剤の使用は、当分野に公知である。任意の従来的な媒または剤が、架橋因子、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、それらを含むベクター、または遺伝子改変された免疫エフェクター細胞と不適合である場合を除き、医薬組成物におけるそれらの使用が予期される。

【0641】

特定の実施形態では、本明細書において予期される組成物は、一つ以上のDARIC構成要素および/または操作された抗原受容体を発現するよう遺伝子改変されたT細胞と、薬学的に許容可能な担体を含む。本明細書において予期される細胞をベースとした組成物を含有する組成物は、腸内投与または非経口投与により別個に投与されてもよく、または所望の治療目的を果たすための他の適切な化合物と併用して投与されてもよい。

【0642】

特定の実施形態では、本明細書において予期される組成物は、架橋因子と、薬学的に許容可能な担体を含む。

【0643】

薬学的に許容可能な担体は、十分に高い純度のものでなくてはならず、そして治療されるヒト対象への投与に適するよう、十分に毒性が低いものでなければならない。さらに組成物の安定性を維持または増加させなければならない。薬学的に許容可能な担体は、液体または固体であってもよく、予定される投与様式を踏まえ、組成物の他の構成要素と混合されたときに、望ましい体積、濃度を提供するように選択される。例えば薬学的に許容可能な担体は、限定されないが、結合剤（例えば前ゼラチン化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロースなど）、充填剤（例えばラク

トースおよび他の糖類、微結晶セルロース、ペクチン、ゼラチン、硫酸カルシウム、エチルセルロース、ポリアクリレート、リン酸水素カルシウムなど）、潤滑剤（例えばステアリン酸マグネシウム、滑石、シリカ、コロイド状二酸化シリコン、ステアリン酸、ステアリン酸金属塩、水素化植物油、トウモロコシデンプン、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウムなど）、崩壊剤（例えば、デンプン、グリコール酸ナトリウムデンプンなど）、または湿潤剤（例えばラウリル硫酸ナトリウムなど）であってもよい。本明細書において予期される組成物に適切な他の薬学的に許容可能な担体としては限定されないが、水、塩溶液、アルコール、ポリエチレングリコール、ゼラチン、アミロース、ステアリン酸マグネシウム、滑石、ケイ酸、粘性パラフィン、ヒドロキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。

10

20

【0644】

そうした担体溶液は、緩衝剤、希釈剤および他の適切な添加剤を含んでもよい。本明細書において使用される場合、「緩衝剤」という用語は、その化学組成が、pHに大きな変化を与えることなく酸または塩基を中和する溶液または液体を指す。本明細書において予期される緩衝剤の例としては限定されないが、ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水（PBS）、リンゲル溶液、5%ブドウ糖溶液（D5W）、正常/生理学的生理食塩水（0.9% NaCl）が挙げられる。

【0645】

薬学的に許容可能な担体は、組成物のpHを約7に維持するために十分な量で存在してもよい。あるいは組成物は、約6.8~約7.4の範囲のpH、例えば6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3および7.4のpHを有する。さらに別の実施形態では、組成物は約7.4のpHを有する。

30

【0646】

本明細書において予期される組成物は、非毒性の薬学的に許容可能な培地を含有してもよい。組成物は、懸濁液であってもよい。本明細書において使用される場合、「懸濁液」という用語は、細胞が固形支持体に結合しない非接着性の状態を指す。例えば懸濁液として維持される細胞は、攪拌またはかき混ぜられてもよく、例えば培養皿などの支持体に接着しない。

【0647】

特定の実施形態では、本明細書において予期される組成物は、懸濁液で製剤化され、この場合において一つ以上のDA RIC構成要素および/または操作された抗原受容体をコードする一つ以上のポリヌクレオチドで改変されたT細胞は、受容可能な液体培地または溶液、例えば生理食塩水中または無血清培地中に、静脈（IV）バッグなどにおいて分散される。受容可能な希釈剤としては限定されないが、水、PlasmaLyte、リンゲル溶液、等張塩化ナトリウム溶液（生理食塩水）、無血清細胞培養培地、および極低温保存に適した培地、例えばCryos tor（登録商標）培地が挙げられる。

40

【0648】

ある実施形態では、薬学的に許容可能な担体は、ヒトまたは動物を起源とする天然タンパク質を実質的に含まず、改変T細胞群を含む組成物の保存に適している。治療用組成物は、ヒト患者への投与が意図されており、そのため例えばウシ血清アルブミン、ウマ血清

50

およびウシ胎児血清などの細胞培養成分を実質的に含まない。

【0649】

一部の実施形態では、組成物は、薬学的に許容可能な細胞培養培地中で製剤化される。そうした組成物は、ヒト対象への投与に適している。特定の実施形態では、薬学的に許容可能な細胞培養培地は、無血清培地である。

【0650】

無血清培地は、血清含有培地を超える利点をいくつか有しており、シンプルでより明白な組成、汚染物質量の低下、感染性実体の源となる可能性の排除、およびコスト低下が挙げられる。様々な実施形態では、無血清培地は、動物質を含まず、任意で無タンパク質であってもよい。任意で培地はバイオ医薬品的に受容可能な組み換えタンパク質を含有してもよい。「動物質を含まない」培地とは、構成要素が非動物源に由来する培地を指す。組み換えタンパク質は、動物質を含まない培地中で天然動物性タンパク質を置き換え、その栄養素は合成、植物または微生物の源から取得される。「タンパク質を含まない」培地は、対照的に、実質的にタンパク質を含まないと規定される。

10

【0651】

特定の組成物において使用される無血清培地の例示としては限定されないが、QBSF-60 (Quality Biological, Inc.)、StemPro-34 (Life Technologies社)、およびX-VIVO 10が挙げられる。

【0652】

一つの実施形態では、改変T細胞を含む組成物は、PlasmaLyte中で製剤化される。

20

【0653】

様々な実施形態では、改変T細胞を含む組成物は、凍結保存培地中で製剤化される。例えば凍結保存剤を含む凍結保存培地を使用して、融解後の高い細胞活性成績を維持してもよい。特定の組成物において使用される凍結保存培地の例示としては限定されないが、CryoStor CS10、CryoStor CS5、およびCryoStor CS2が挙げられる。

【0654】

一つの実施形態では、組成物は、50:50のPlasmaLyte AとCryoStor CS10を含む溶液中で製剤化される。

30

【0655】

特定の実施形態では、組成物は、マイコプラズマ、エンドトキシンおよび微生物汚染を実質的に含まない。エンドトキシンに関して「実質的に含まない」とは、生物製剤に関してFDAにより許可されるよりも低い細胞投与量当たりのエンドトキシンであることを意味し、1日当たり、5 EU/体重kgの総エンドトキシンであり、平均70kgのヒトに対し、細胞総投与量当たり350 EUである。特定の実施形態では、本明細書において予期される組成物は、約0.5 EU/mL ~ 約5.0 EU/mL、または約0.5 EU/mL、1.0 EU/mL、1.5 EU/mL、2.0 EU/mL、2.5 EU/mL、3.0 EU/mL、3.5 EU/mL、4.0 EU/mL、4.5 EU/mL、もしくは5.0 EU/mLを含有する。

40

【0656】

特定の実施形態では、薬学的に許容可能な担体溶液の製剤は、当分野に公知であり、例えば腸内および非経口、例えば血管内、静脈内、動脈内、骨内、脳室内、大脳内、頭蓋内、髄腔内、クモ膜下腔内、および髄内の投与ならびに製剤を含む様々な治療レジメンにおける、本明細書に記載の特定の組成物の使用に関する適切な投薬レジメンおよび治療レジメンの開発も同様である。当業者であれば、本明細書において予期される特定の実施形態は、例えば薬学分野で公知であり、そして例えばRemington: The Science and Practice of Pharmacy, volume I and volume II, 22nd Edition, Edited by Lloyd V. Allen Jr. Philadelphia, PA: Pharmaceutical Pre

50

ss ; 2012に記載される製剤などの他の製剤を含んでもよいことを理解するであろう。当該文献はその全体で参照により本明細書に援用される。

【0657】

特定の実施形態では、組成物は、本明細書において予期される一つ以上のDARIC構成要素を発現する免疫エフェクター細胞の量を含む。特定の実施形態では、組成物は、本明細書において予期される操作された抗原受容体と一つ以上のDARIC構成要素を発現する免疫エフェクター細胞の量を含む。本明細書において使用される場合、「量」という用語は、架橋因子の存在下で、臨床結果を含む有益な、もしくは所望の予防的結果または治療的結果を実現する、本明細書において予期される一つ以上のDARIC構成要素を含む細胞の「有効な量」または「有効量」を指す。

10

【0658】

「予防有効量」とは、架橋因子の存在下で所望の予防的結果を実現するのに有効な、本明細書において予期される一つ以上のDARIC構成要素を含む細胞の量を指す。必ずではないが典型的には、予防的投与量は、疾患の早期ステージの前、または早期ステージの対象において使用されるため、予防的有効量は、治療的有效量よりも少ない。

【0659】

「治療有効量」とは、架橋因子の存在下で対象（例えば患者）を「治療する」のに有効な、本明細書において予期される一つ以上のDARIC構成要素を含む細胞の量を指す。治療的な量が示されている場合、投与される組成物、細胞、架橋因子などの正確な量は、患者（対象）の年齢、体重、腫瘍の大きさ、感染または転移の程度、および状態における個々の差を考慮し、医師により決定され得る。

20

【0660】

一般的に、本明細書に記載される免疫エフェクター細胞を含む医薬組成物は、 $10^2 \sim 10^{10}$ 細胞/体重kg、好ましくは $10^5 \sim 10^6$ 細胞/体重kgの用量で、当該範囲内のすべての整数値を含み、投与され得ると言える。細胞数は、組成物の意図される最終用途、組成物中に含有される細胞のタイプに依存する。本明細書において提示される用途に関し、細胞は一般的に、リットル以下の量であり、500mL以下、さらには250mLまたは100mL以下であり得る。ゆえに所望される細胞の密度は、多くの場合、 10^6 細胞/mL超であり、一般的には、 10^7 細胞/mL超、一般的には 10^8 細胞/mL以上である。臨床的に関連する免疫細胞数は、複数回の点滴に分けられてもよく、累積的には 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、 10^{11} または 10^{12} 細胞以上となる。一部の実施形態では、具体的には注入される全細胞は特定の標的抗原へと再指向化されるため、 10^6 /キログラム（患者当たり $10^6 - 10^{11}$ ）の範囲の少ない数の細胞が投与される場合がある。

30

【0661】

望ましい場合、治療は、本明細書に記載されるようにマイトージェン（例えばPHA）またはリンホカイン、サイトカインおよび/もしくはケモカイン（例えば、IFN-、IL-2、IL-12、TNF-アルファ、IL-18、およびTNF-ベータ、GM-CSF、IL-4、IL-13、Flt3-L、RANTES、MIP1 など）の投与も含み、免疫反応の誘導を強化してもよい。

40

【0662】

一般的に、本明細書に記載されるように活性化および拡張された細胞を含む組成物は、免疫不全状態の個体で生じる疾患の治療および予防に活用されてもよい。特に本明細書において予期される組成物は、癌の治療に使用される。特定の実施形態では、免疫エフェクター細胞は、単独で投与されてもよく、または担体、希釈剤、賦形剤を併用した医薬組成物として、および/または例えばIL-2もしくは他のサイトカインもしくは他の細胞群などの他の構成要素を併用した医薬組成物として投与されてもよい。

【0663】

特定の実施形態では、医薬組成物は、遺伝子改変されたT細胞の量を、一つ以上の薬学的もしくは生理学的に許容可能な担体、希釈剤または賦形剤と併用して含有する。

50

【 0 6 6 4 】

特定の実施形態では、医薬組成物は、架橋因子の量を、一つ以上の薬学的もしくは生理学的に許容可能な担体、希釈剤または賦形剤と併用して含有する。

【 0 6 6 5 】

特定の実施形態では、組成物は、本明細書において予期される一つ以上の D A R I C 構成要素を含む免疫エフェクター細胞の有効量を、単独で、または架橋因子、および / または一つ以上の治療剤、例えば放射線療法、化学療法、移植、免疫療法、ホルモン療法、光線力学的療法などと併用して含有する。組成物は、抗生物質と併用して投与されてもよい。そうした治療剤は、例えば特定の癌などの本明細書に記載の特定の疾患状態に対する標準治療として当分野において承認されている場合がある。予期される治療剤の例としては、サイトカイン、成長因子、ステロイド、N S A I D s、D M A R D s、抗炎症剤、化学療法剤、放射線療法、治療用抗体、または他の活性で補助的な剤が挙げられる。

10

【 0 6 6 6 】

特定の実施形態では、本明細書において予期される一つ以上の D A R I C 構成要素を含む免疫エフェクター細胞の有効量を含む組成物が対象に投与され、および細胞組成物の前に、細胞組成物の間に、細胞組成物と併用されて、または細胞組成物に続いて、架橋因子の有効量を含む組成物が対象に投与され、任意で対象に反復投与される。

【 0 6 6 7 】

ある実施形態では、本明細書において予期される一つ以上の D A R I C 構成要素をふくむ免疫エフェクター細胞を含む組成物は、任意の数の化学療法剤と併せて投与されてもよい。

20

【 0 6 6 8 】

様々な他の治療剤が、本明細書に記載の組成物と併せて使用されてもよい。一つの実施形態では、本明細書において予期される一つ以上の D A R I C 構成要素を含む免疫エフェクター細胞を含む組成物は、抗炎症剤と共に投与される。抗炎症剤または抗炎症薬としては限定されないが、ステロイドおよびグルココルチコイド（ベタメタゾン、ブデソニド、デキサメタゾン、酢酸ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、プレドニゾン、トリアムシノロンを含む）、アスピリン、イブプロフェン、ナプロキセン、メトトレキサート、スルファサラジン、レフルノミド、抗 T N F 医薬、シクロホスファミドおよびミコフェノール酸塩を含む非ステロイド系抗炎症剤（N S A I D s）が挙げられる。

30

【 0 6 6 9 】

本明細書において予期される一つ以上の D A R I C 構成要素を含む改変 T 細胞を用いた併用治療に適した治療用抗体の例示としては限定されないが、アテゾリズマブ、アベルマブ、バビツキシマブ、ベバシズマブ（アバスチン）、ビバツズマブ、ブリナツモマブ、コナツムマブ、ダラツムマブ、デュリゴツマブ（d u l i g o t u m a b）、ダセツズマブ、ダロツズマブ、デュルバルマブ、エロツズマブ（H u L u c 6 3）、ゲムツズマブ、イブリツモマブ、インダツキシマブ、イノツズマブ、イピリムマブ、ロルボツズマブ、ルカツムマブ、ミラツズマブ、モキセツモマブ、ニボルマブ、オカラツズマブ、オフアツムマブ、ペムブロリズマブ、リツキシマブ、シルツキシマブ、テブロツムマブ、およびウブリツキシマブが挙げられる。

40

【 0 6 7 0 】

ある実施形態では、本明細書に記載の組成物は、サイトカインと併せて投与される。本明細書において使用される場合、「サイトカイン」とは、一つの細胞群により放出され、別の細胞に対して細胞間メディエーターとして作用するタンパク質の総称を意味する。そうしたサイトカインの例としては、リンホカイン、モノカインおよび従来のポリペプチドホルモンである。

【 0 6 7 1 】

I . 治療方法

本明細書において予期される D A R I C および / または操作された抗原受容体を発現す

50

るよう改変された免疫エフェクター細胞は、癌、GVHD、感染性疾患、自己免疫性疾患、炎症性疾患、または免疫不全と関連する少なくとも一つの症状の予防、治療および改善における使用のための養子免疫療法、または予防する、治療する、もしくは改善するための養子免疫療法の改善を提供する。

【0672】

特定の実施形態では、DARICを発現するよう改変された免疫エフェクター細胞は、標的抗原を発現する例えば腫瘍細胞などの標的細胞に対する細胞障害性反応の安全性および有効性を安定させながら、オンターゲット抗原、オフターゲット細胞障害活性のリスク（正常な非標的細胞上の標的抗原を認識する）を減少させるための養子免疫療法の改善を提供する。

10

【0673】

特定の実施形態では、癌、GVHD、感染性疾患、自己免疫性疾患、炎症性疾患または免疫不全の少なくとも一つの症状を予防する、治療する、または改善する方法は、対象に、DARICおよび操作されたTCR、CAR、または標的細胞に細胞を再指向化させるための他の治療用導入遺伝子のうちの一つ以上の構成要素を含む改変された免疫エフェクター細胞またはT細胞の有効量を投与する工程を含む。遺伝子改変された細胞は、化学的に制御可能な免疫刺激性シグナルを伝達するという点で、有効性および安全性の高い細胞免疫療法である。

【0674】

特定の実施形態では、例えばT細胞などの一つ以上の免疫エフェクター細胞は、DARIC結合構成要素とDARICシグナル伝達構成要素の両方を発現するように改変される。この場合、改変された細胞は、その必要のある対象に投与され、免疫エフェクター細胞上に発現されたDARIC結合構成要素と、標的細胞上に発現された標的抗原の相互作用を介して、標的細胞に誘導される。架橋因子は、改変細胞の前に、改変細胞とほぼ同じときに、または改変細胞が対象に投与された後に、対象に投与される。架橋因子の存在下では、DARIC結合構成要素、架橋因子、およびDARICシグナル伝達構成要素の間に三重複合体が形成される。三重複合体が形成されると、DARICは、免疫刺激性シグナルを免疫エフェクター細胞に伝達し、次いで、当該免疫エフェクター細胞から標的細胞に対して細胞障害性反応が惹起される。

20

【0675】

様々な実施形態では、DARICおよび/または操作された抗原受容体を含む免疫エフェクター細胞は、二重標的化戦略を使用して標的細胞に対する細胞障害性反応の安全性と有効性を安定化させ、この場合において、一つ以上の標的細胞が、操作された抗原受容体に認識される一つ以上の抗原と、DARICに認識される一つ以上の標的抗原を発現する。

30

【0676】

特定の実施形態では、例えばT細胞などの一つ以上の免疫エフェクター細胞は、DARIC結合構成要素およびDARICシグナル伝達構成要素の両方、ならびに例えばCARなどの操作された抗原受容体を発現するように改変される。この場合、改変細胞はその必要のある対象に投与され、DARIC結合構成要素およびCARと、標的細胞上に発現される標的抗原の相互作用を介して標的細胞に誘導され、DARIC結合構成要素とCARの両方ともが免疫エフェクター細胞上に発現される。CARと、標的細胞上の標的抗原の相互作用は、標的細胞に対して免疫エフェクター細胞から細胞障害性反応を惹起させ得る。架橋因子は、改変細胞の前に、改変細胞とほぼ同じときに、または改変細胞が対象に投与された後に、対象に投与される。架橋因子の存在下では、DARIC結合構成要素、架橋因子、およびDARICシグナル伝達構成要素の間に三重複合体が形成される。三重複合体が形成されると、DARICは、免疫刺激性シグナルを免疫エフェクター細胞に伝達し、次いで、当該免疫エフェクター細胞から標的細胞に対して細胞障害性反応が惹起され、または増強される。特定の実施形態では、DARIC活性化は、寛解または退縮が不完全であり、状態が再発または治療に対し難治性となる場合に誘導され得る。

40

【0677】

50

特定の好ましい実施形態では、初期T細胞の特異性は、一つ以上のDARIC構成要素を用いて、例えば初期T細胞などのT細胞を遺伝子改変することにより、一つ以上の標的抗原を発現する腫瘍または癌細胞に対して再指向化される。

【0678】

特に好ましい実施形態では、初期T細胞の特異性は、操作された抗原受容体により認識される標的抗原と、DARICにより認識される標的抗原を発現する腫瘍または癌細胞に再指向化される。

【0679】

特定の実施形態では、本明細書において予期される改変免疫エフェクター細胞は、固形腫瘍または癌の治療に使用される。

【0680】

特定の実施形態では、本明細書において予期される改変免疫エフェクター細胞は、限定されないが、副腎癌、副腎皮質癌、肛門癌、虫垂癌、星状細胞腫、非定型奇形腫様腫瘍/非定型横紋筋様腫瘍、基底細胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脳/CNS癌、乳癌、気管支腫瘍、心臓腫瘍、子宮頸癌、胆管癌、軟骨肉腫、脊索腫、結腸癌、結腸直腸癌、頭蓋咽頭腫、非浸潤性乳管癌(DCIS)、子宮内膜癌、上位腫、食道癌、鼻腔神経芽細胞腫、ユーイング肉腫、頭蓋外胚細胞腫瘍、性腺外胚細胞腫瘍、眼癌、卵管癌、線維性組織肉腫、線維肉腫、胆嚢癌、胃癌、消化管カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍(GIST)、胚細胞腫瘍、神経膠腫、グリア芽腫、頭頸部癌、血管芽細胞腫、肝細胞癌、下咽頭癌、眼内黒色腫、カポジ肉腫、腎癌、喉頭癌、平滑筋肉腫、舌癌、脂肪肉腫、肝癌、肺癌、非小細胞肺癌、胚カルチノイド腫瘍、悪性中皮腫、髄様癌、髄芽腫、髄膜腫、黒色腫、メルケル細胞癌、正中線癌、口腔癌(mouth cancer)、粘液肉腫、骨髓異形成症候群、骨髓増殖性新生物、鼻腔および副鼻腔の癌、上咽頭癌、神経芽細胞腫、乏突起膠腫、口腔癌(oral cancer、oral cavity cancer)、口腔咽頭癌、骨肉腫、卵巣癌、膵臓癌、膵島細胞腫瘍、乳頭癌、傍神経節腫、副甲状腺癌、陰茎癌、咽頭癌、褐色細胞腫、松果体腫、下垂体腫瘍、胸膜肺芽腫、原発性胸膜腫、前立腺癌、直腸癌、網膜芽腫、腎細胞癌、腎盂および尿管の癌、横紋筋肉腫、唾液腺癌、皮脂腺癌、皮膚癌、軟部組織肉腫、扁平上皮細胞癌、小細胞肺癌、小腸癌、胃癌、汗腺癌、滑液腫瘍、精巣癌、咽頭癌、胸腺癌、甲状腺癌、尿道癌、子宮癌、子宮肉腫、腔癌、血管癌、外陰癌、およびウィルムス腫瘍を含む固形腫瘍または癌の治療に使用される

【0681】

特定の実施形態では、本明細書において予期される改変免疫エフェクター細胞は、限定されないが、肝癌、膵臓癌、肺癌、乳癌、膀胱癌、脳腫瘍、骨癌、甲状腺癌、腎癌または皮膚癌を含む固形腫瘍または癌の治療に使用される。

【0682】

特定の実施形態では、本明細書において予期される改変免疫エフェクター細胞は、限定されないが、膵臓癌、膀胱癌および肺癌を含む様々な癌の治療に使用される。

【0683】

特定の実施形態では、本明細書において予期される改変免疫エフェクター細胞は、液状の癌または血液の癌の治療に使用される。

【0684】

特定の実施形態では、本明細書において予期される改変免疫エフェクター細胞は、限定されないが、白血病、リンパ腫および多発性骨髄腫を含むB細胞悪性腫瘍の治療に使用される。

【0685】

特定の実施形態では、本明細書において予期される改変免疫エフェクター細胞は、限定されないが、白血病、リンパ腫および多発性骨髄腫：急性リンパ球性白血病(ALL)、急性骨髄性白血病(AML)、骨髄芽球性白血病、前骨髄球性白血病、骨髄単球性白血病、単球性白血病、赤白血病、有毛細胞白血病(HCL)、慢性リンパ球性白血病(CLL)、および慢性骨髄性白血病(CML)、慢性骨髄単球性白血病(CMML)、および真

10

20

30

40

50

性多血症、ホジキンリンパ腫、結節性リンパ球優位型ホジキンリンパ腫、バーキットリンパ腫、小リンパ球性リンパ腫（SLL）、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、免疫芽球性大細胞型リンパ腫、前駆Bリンパ芽球性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、菌状息肉症、未分化大細胞リンパ腫、セザリー症候群、前駆Tリンパ芽球性リンパ腫、多発性骨髄腫、顕性多発性骨髄腫、くすぶり型多発性骨髄腫、形質細胞白血病、非分泌性骨髄腫、IgD骨髄腫、骨硬化性骨髄腫、孤立性骨形質細胞腫、および髄外形質細胞腫を含む液状の癌の治療に使用される。

【0686】

本明細書において予期される方法における使用に好ましい細胞としては、自己（self）細胞、好ましくは造血細胞、より好ましくはT細胞、そしてより好ましくは免疫エフェクター細胞が挙げられる。

10

【0687】

特定の実施形態では、方法は、一つ以上のDARIC構成要素、および任意で操作された抗原受容体を発現する改変免疫エフェクター細胞の治療有効量、またはそれらを含む組成物の治療有効量を、その必要のある患者に投与する工程を含み、および架橋因子を当該対象に投与する工程も含む。ある実施形態では、細胞は、癌、GVHD、感染性疾患、自己免疫性疾患、炎症性疾患または免疫不全を発症するリスクがある患者の治療に使用される。したがって特定の実施形態は、癌、感染性疾患、自己免疫性疾患、炎症性疾患または免疫不全の少なくとも一つの症状の治療または予防または改善を含み、その必要のある対象に、本明細書において予期される改変免疫エフェクター細胞および架橋因子の治療有効量を投与する工程を含む。

20

【0688】

特定の実施形態では、方法は、DARICシグナル伝達構成要素、および任意で操作された抗原受容体を発現する改変免疫エフェクター細胞の治療有効量、またはそれらを含む組成物の治療有効量を、その必要のある患者に投与する工程、およびDARIC結合構成要素と架橋因子も当該対象に投与する工程を含み、DARIC結合構成要素は、対象への投与の前に架橋因子に結合される。ある実施形態では、細胞は、癌、GVHD、感染性疾患、自己免疫性疾患、炎症性疾患または免疫不全を発症するリスクがある患者の治療に使用される。したがって特定の実施形態は、癌、感染性疾患、自己免疫性疾患、炎症性疾患または免疫不全の少なくとも一つの症状の治療または予防または改善を含み、その必要のある対象に、DARICシグナル伝達構成要素および任意で操作された抗原受容体を発現する改変免疫エフェクター細胞、DARIC結合構成要素および架橋因子の治療有効量を投与する工程を含む。

30

【0689】

改変免疫エフェクター細胞、DARIC結合構成要素、および/または架橋因子の投与の量ならびに頻度は、患者の状態、患者の疾患のタイプおよび重大度といった因子により決定されるが、適切な用量および投与スケジュールは、臨床試験により決定されてもよい。

【0690】

一つの例示的な実施形態では、対象に提供される改変免疫エフェクター細胞の有効量は、少なくとも 2×10^6 細胞/kg、少なくとも 3×10^6 細胞/kg、少なくとも 4×10^6 細胞/kg、少なくとも 5×10^6 細胞/kg、少なくとも 6×10^6 細胞/kg、少なくとも 7×10^6 細胞/kg、少なくとも 8×10^6 細胞/kg、少なくとも 9×10^6 細胞/kg、または少なくとも 10×10^6 細胞/kg、またはそれ以上であり、すべてのその間の細胞投与量を含む。

40

【0691】

別の例示的な実施形態では、対象に提供される改変免疫エフェクター細胞の有効量は、約 2×10^6 細胞/kg、約 3×10^6 細胞/kg、約 4×10^6 細胞/kg、約 5×10^6 細胞/kg、約 6×10^6 細胞/kg、約 7×10^6 細胞/kg、約 8×10^6 細胞/kg、約 9×10^6 細胞/kg、または約 10×10^6 細胞/kg、またはそれ以上であり、すべてのその間の細胞投与量を含む。

50

【0692】

別の例示的な実施形態では、対象に提供される改変免疫エフェクター細胞の有効量は、約 2×10^6 細胞 / kg ~ 約 10×10^6 細胞 / kg、約 3×10^6 細胞 / kg ~ 約 10×10^6 細胞 / kg、約 4×10^6 細胞 / kg ~ 約 10×10^6 細胞 / kg、約 5×10^6 細胞 / kg ~ 約 10×10^6 細胞 / kg、 2×10^6 細胞 / kg ~ 約 6×10^6 細胞 / kg、 2×10^6 細胞 / kg ~ 約 7×10^6 細胞 / kg、 2×10^6 細胞 / kg ~ 約 8×10^6 細胞 / kg、 3×10^6 細胞 / kg ~ 約 6×10^6 細胞 / kg、 3×10^6 細胞 / kg ~ 約 7×10^6 細胞 / kg、 3×10^6 細胞 / kg ~ 約 8×10^6 細胞 / kg、 4×10^6 細胞 / kg ~ 約 6×10^6 細胞 / kg、 4×10^6 細胞 / kg ~ 約 7×10^6 細胞 / kg、 4×10^6 細胞 / kg ~ 約 8×10^6 細胞 / kg、 5×10^6 細胞 / kg ~ 約 6×10^6 細胞 / kg、 5×10^6 細胞 / kg ~ 約 7×10^6 細胞 / kg、 5×10^6 細胞 / kg ~ 約 8×10^6 細胞 / kg、または 6×10^6 細胞 / kg ~ 約 8×10^6 細胞 / kg であり、すべてのその間の細胞投与量を含む。

10

【0693】

当業者であれば、所望の治療効果を発揮させるために、特定の実施形態において予期される組成物の複数回の投与が必要とされる場合があることを認識するであろう。例えば組成物は、1週、2週、3週、1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、6カ月、1年、2年、5年、10年またはそれ以上の期間にわたり、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10回以上投与される場合がある。改変免疫エフェクター細胞、DARIC構成要素、および架橋因子は、同じ組成物もしくは異なる組成物中で、同時に一つ以上の組成物中で、または別の時に複数の組成物中で投与されてもよい。改変免疫エフェクター細胞、DARIC構成要素、および架橋因子は、同じ投与経路または異なる投与経路を介して投与されてもよい。

20

【0694】

ある実施形態では、対象に活性化T細胞が投与され、次いで対象から採血して（またはアフエーシス療法を実施し）、それに由来するT細胞を活性化し、そしてこれら活性化および拡張されたT細胞を患者に再注入することが望ましい場合がある。このプロセスは、数週ごとに複数回実施されてもよい。ある実施形態では、T細胞は、 $10\text{ cc} \sim 400\text{ cc}$ の採血から活性化されてもよい。ある実施形態では、T細胞は、 20 cc 、 30 cc 、 40 cc 、 50 cc 、 60 cc 、 70 cc 、 80 cc 、 90 cc 、 100 cc 、 150 cc 、 200 cc 、 250 cc 、 300 cc 、 350 cc 、または 400 cc 以上の採血から活性化される。学説には拘束されないが、複数回の採血／複数回の再注入のプロトコールを使用することで、T細胞のある群の選択に役立つ場合がある。

30

【0695】

一つの実施形態では、癌と診断された対象を治療する方法は、当該対象から免疫エフェクター細胞を採取する工程、一つ以上のDARIC構成要素をコードする一つ以上のベクターを当該細胞に導入することにより当該免疫エフェクター細胞を改変する工程、および改変免疫エフェクター細胞群を生成する工程、ならびに当該対象に、当該改変免疫エフェクター細胞群を投与する工程を含む。好ましい実施形態では、免疫エフェクター細胞は、T細胞を含有する。

40

【0696】

一つの実施形態では、癌と診断された対象を治療する方法は、当該対象から免疫エフェクター細胞を採取する工程、操作された抗原受容体および一つ以上のDARIC構成要素をコードする一つ以上のベクターを当該細胞に導入することにより当該免疫エフェクター細胞を改変する工程、および改変免疫エフェクター細胞群を生成すること、および当該対象に、当該改変免疫エフェクター細胞群を投与することを含む。好ましい実施形態では、免疫エフェクター細胞は、T細胞を含有する。

【0697】

特定の実施形態において予期される細胞組成物を投与する方法は、生体外で改変された免疫エフェクター細胞の再導入を生じさせるために有効である任意の方法、または対象へ

50

の導入時に成熟免疫エフェクター細胞へと分化する免疫エフェクター細胞の改変前駆体の再導入を生じさせるために有効である任意の方法を含む。一つの方法は、操作された抗原受容体、および一つ以上のDARIC構成要素をコードする一つ以上のベクターを導入することにより生体外で末梢血T細胞を改変する工程、および当該対象に当該形質導入された細胞を戻す工程を含む。

【0698】

特定の実施形態において予期される細胞組成物を投与する方法は、生体外で改変された免疫エフェクター細胞の再導入を生じさせるために有効である任意の方法、または対象への導入時に成熟免疫エフェクター細胞へと分化する免疫エフェクター細胞の改変前駆体の再導入を生じさせるために有効である任意の方法を含む。一つの方法は、一つ以上のDARIC構成要素をコードする一つ以上のベクターを導入することにより生体外で末梢血T細胞を改変する工程、および当該対象に当該形質導入された細胞を戻す工程を含む。

10

【0699】

本明細書に引用されるすべての公表文献、特許出願および登録特許が、個々の公表文献、特許出願または登録特許のそれぞれが具体的に、および個々に参照により援用されることが示されているように、参照により本明細書に援用される。

【0700】

前述の実施形態は、明確性および理解を目的として、図および実施例により詳細に記載されているが、本明細書に予期される教示に照らし、特定の変化および改変が、添付の請求の範囲の主旨または範囲から逸脱することなく実施され得ることが当業者には容易に明らかであろう。以下の実施例は、解説のみを目的として提供されるものであり、限定ではない。当業者であれば、本質的に類似した結果を得るために特定の実施形態において変えられ得る、または改変され得る重要ではない様々なパラメーターが容易に認識されるであろう。

20

【実施例】

【0701】

実施例1

共刺激性ドメインを含むNKGD DARIC結合構成要素

様々な共刺激性シグナル伝達ドメインを含むDARIC結合構成要素を有するNKGD DARICを含むレンチウイルスベクターを設計、構築し、実証した。図2A。共刺激性ドメインは、TNFR2、OX40、CD27、HVEM(TNFRS14)、GITR(TNFRS18)、およびDR3(TNFRS25)タンパク質から取得された。例えば、配列番号1、および配列番号20~22を参照のこと。

30

【0702】

ヒトPBMC(1×10^6 細胞/mL)を、可溶性抗CD3抗体および抗CD28抗体(50 ng/mL)を用いて0日目に活性化した。24時間のインキュベーション後、 1×10^6 個の細胞に、DARICをコードするLVVを形質導入した。追加の非形質導入サンプルを対照(UTD:untitrated)として含めた。3日目に細胞を洗浄し、 0.3×10^6 細胞/mLで再懸濁した。拡張のために、IL-2(250 IU/mL)を含有するT細胞増殖培地中、追加で7日間、細胞を培養した。培地は1日おきに交換した。

40

【0703】

細胞を計数し、各培地交換時に規定密度に分割した。10日間の拡張期間後、T細胞を計数し、CD4およびCD8抗体染色を使用して表現型解析した。

【0704】

UTD T細胞、NKGD DARIC T細胞、NKGD.TNFR2 DARIC T細胞、NKGD.OX40 DARIC T細胞、NKGD.CD27 DARIC T細胞、NKGD.HVEM DARIC T細胞、NKGD.DR3 DARIC T細胞、およびNKGD.GITR DARIC T細胞は、同様の速度の生体外拡張を呈した。図2B。T細胞は、抗NKGD抗体を用いて染色された。DARIC結

50

合構成要素発現は、 $CD4^+$ T細胞上で定量された。発現は、様々なNK G2D DARI IC結合構成要素の間で同等であった。図2C。まとめると、これらのデータから、共刺激性ドメインを含むDARI IC結合構成要素は、生体外のT細胞の拡張または発現を変化させないことが示唆される。

【0705】

UTD T細胞、NK G2D DARI IC T細胞、NK G2D . TNFR2 DARI IC T細胞、NK G2D . OX40 DARI IC T細胞、NK G2D . CD27 DARI IC T細胞、NK G2D . HVEM DARI IC T細胞、NK G2D . DR3 DARI IC T細胞、およびNK G2D . GITR DARI IC T細胞を、NK G2DL⁺ HCT116細胞と、1:1のE:T比で24時間、ラパマイシンの存在下または非存在下で共培養し、サイトカイン産生をQ bead Plex Screenにより分析した。共刺激性ドメインを含むDARI IC結合ドメインは、ラパマイシンの存在下で腫瘍細胞とともにT細胞を培養したときに一貫してサイトカイン産生を強化した。図2D。すべてのT細胞サンプルは、ラパマイシンの非存在下、またはNK G2DL⁺ A549細胞の非存在下ではわずかな量のサイトカインを産生した。NK G2D . TNFR2 DARI IC構造は、他の共刺激性ドメインを発現するDARI IC結合構成要素と比較してサイトカインレベルの増加をもたらした。Id .

10

【0706】

実施例2

NK G2D DARI IC . TNFR T細胞は、ラパマイシン介在性免疫抑制に抵抗性である。

20

【0707】

ヒトPBMCは、実施例1に記載されるように活性化、形質導入および拡張された。抗EGFR CAR T細胞、NK G2D DARI IC T細胞、NK G2D . TNFR2 DARI IC T細胞およびNK G2D . OX40 DARI IC T細胞を、NK G2DL⁺ A549細胞またはNK G2DL⁺ HT1080細胞と1:1の比率で、ビヒクル、ラパマイシン、または非免疫抑制性のラパログAP21967の存在下で共培養した。

【0708】

NK G2D DARI IC T細胞は、二量体形成剤の非存在下で腫瘍細胞と共培養したとき、サイトカインを産生しなかった。図3Aおよび3B。NK G2D DARI IC T細胞を、ラパマイシンおよびAP21967の存在下で腫瘍細胞と共培養したときには、安定的にサイトカインが産生された。Id . 予測されたように、ラパマイシンの添加で、T細胞活性化の抑制が生じ、抗EGFR CAR T細胞からのサイトカイン産生の低下が生じた。Id . ラパマイシンおよびAP21967の共培養中のサイトカイン産生を比較したときに、NK G2D DARI IC T細胞およびNK G2D . OX40 DARI IC T細胞に同様の免疫抑制効果が観察された。予想外なことに、NK G2D . TNFR2 DARI IC T細胞は、ラパマイシンの存在下で培養されたときの免疫抑制に抵抗性であった。一部の例では、AP21967と比較し、ラパマイシンの存在下で共培養されたNK G2D . TNFR2 DARI IC T細胞でのサイトカイン産生は増加させた。Id .

30

【0709】

サイトカイン産生のデータは、AP21967とラパマイシンの比率を使用して正規化された。図3C。レシオメトリック解析を使用したところ、ラパマイシン介在型の免疫抑制は、1を超える値を生じさせた。一方で1未満の値は、ラパマイシン処理がT細胞活性化に対し中立的な効果または相乗的な効果を有していることを示唆する。抗EGFR CAR T細胞、NK G2D DARI IC T細胞、およびNK G2D . OX40 DARI IC T細胞はすべて、A549介在性およびHT1080介在性のサイトカイン産生の両方に対し、1を超える比率を有していた。Id . 対照的に、NK G2D . TNFR2 DARI IC T細胞は、すべてのサイトカイン、およびすべての標的細胞株に対して、1よりもずっと低い比率を有していた。これらのデータから、TNFR2共刺激性ドメインの含有は、NK G2D . TNFR2 DARI IC T細胞において、ラパマイシン介在性の免

40

50

疫抑制を部分的に改善し得ることが示唆される。

【0710】

実施例3

二つの共刺激性ドメインを含むNK G2 D D A R I C 結合構成要素

一重または二重共刺激性シグナル伝達ドメインを含むNK G2 D D A R I C 結合構成要素をコードするレンチウイルスベクターを設計、構築し、実証した。図4A。本実施例で使用されるD A R I C 結合構成要素に使用された共刺激性ドメインは、C D 2 8、D A P 1 0、O X 4 0、またはこれらドメインの組み合わせから取得された。

【0711】

ヒトP B M Cは、実施例1に記載されるように活性化、形質導入および拡張された。抗E G F R C A R T細胞、NK G2 D D A R I C T細胞、NK G2 D . D A P 1 0 D A R I C T細胞、NK G2 D . C D 2 8 D A R I C T細胞、NK G2 D . C D 2 8 . D A P 1 0 D A R I C T細胞、NK G2 D . D A P 1 0 . O X 4 0 D A R I C T細胞、およびNK G2 D . O X 4 0 . D A P 1 0 D A R I C T細胞は、生体外拡張に関し類似した速度を呈し、NK G2 D D A R I Cは、元のNK G2 D D A R I Cと比較して同等の発現レベルを有した。

10

【0712】

抗E G F R C A R T細胞、NK G2 D D A R I C T細胞、NK G2 D . D A P 1 0 D A R I C T細胞、NK G2 D . C D 2 8 D A R I C T細胞、NK G2 D . C D 2 8 . D A P 1 0 D A R I C T細胞、NK G2 D . D A P 1 0 . O X 4 0 D A R I C T細胞、およびNK G2 D . O X 4 0 . D A P 1 0 D A R I C T細胞を、NK G2 D L⁺ A 5 4 9細胞と、1:1のE:T比で24時間、ラパマイシンの存在下または非存在下で共培養し、サイトカイン産生をQ b e a d P l e x S c r e e nにより分析した。C D 2 8共刺激性ドメイン、D A P 1 0共刺激性ドメイン、またはC D 2 8共刺激性ドメインとD A P 1 0共刺激性ドメインを含むD A R I C 結合構成要素は、サイトカイン産生に対し、最小限の影響を与えた。図4B。さらにD A P 1 0共刺激性ドメインを含み、O X 4 0共刺激性ドメインを(いずれか方向性で)含む、または含まないD A R I C 結合構成要素は、サイトカイン産生に変化をもたらさなかった。図4C。

20

【0713】

実施例4

I C O Sドメインを含むNK G2 D D A R I C

I C O S膜貫通ドメインおよび/または共刺激性ドメインを含むNK G2 D D A R I C構造をコードするレンチウイルスベクターを設計、構築し、実証した。図5A。D m r Aは、F K B P 1 2である。D m r Bは、F K B P 1 2 F 3 6 Vである。D m r Cは、F R B (2 0 2 1 - 2 1 1 3) T 2 0 9 8 Lである。

30

【0714】

ヒトP B M Cは、実施例1に記載されるように活性化、形質導入および拡張された。抗E G F R C A R T細胞、NK G2 D D A R I C T細胞は、対照として使用した。様々なD A R I C T細胞群が、元のNK G2 D D A R I Cと比較して同様の生体外拡張の速度、同様のC D 4 : C D 8比率を呈し、そして同等の発現レベルを有していた。

40

【0715】

抗E G F R C A R T細胞およびD A R I C T細胞を、NK G2 D L⁺ A 5 4 9細胞と1:1のE:T比で24時間、A P 2 1 9 6 7の存在下または非存在下で共培養し、サイトカイン産生を、Q b e a d P l e x S c r e e nにより分析した。I C O S膜貫通ドメインまたは共刺激性ドメインを単独で、またはD A P 1 0と組み合わせて含むD A R I C 結合構成要素は、サイトカイン産生に対し最小限の影響を与えた。対照的に、I C O S膜貫通ドメインまたは共刺激性ドメインを含むD A R I Cシグナル伝達構成要素は、NK G2 D D A R I C対照T細胞と比較して大きくサイトカイン産生を低下させた。図5Bおよび図5C。

【0716】

50

実施例 5

二重標的化 D A R I C プラットフォーム

D A R I C シグナル伝達構成要素 (F R B T 2 0 9 8 L - C D 8 T M - C D 1 3 7 - C D 3)、N K G 2 D . T N F R 2 D A R I C 結合構成要素、および C D 1 9 D A R I C 結合構成要素 (抗 C D 1 9 s c F V - F K B P 1 2 - C D 4 T M) を含むレンチウイルスベクターを設計、構築し、実証した。図 6 A。

【 0 7 1 7 】

ヒト P B M C は、実施例 4 に記載されるように活性化、形質導入および拡張された。U T D T 細胞、N K G 2 D . T N F R 2 D A R I C T 細胞、C D 1 9 D A R I C T 細胞、および N K G 2 D / C D 1 9 D A R I C 二重標的化 T 細胞を、抗 N K G 2 D 抗体または組み換え C D 1 9 - F c タンパク質のいずれかで染色した。N K G 2 D D A R I C 結合構成要素、および C D 1 9 D A R I C 結合構成要素は、D A R I C 一重標的化 T 細胞および D A R I C 二重標的化 T 細胞の両方において、同様の発現レベルであった。図 6 B および図 6 C。

【 0 7 1 8 】

U T D T 細胞、N K G 2 D . T N F R 2 D A R I C T 細胞、C D 1 9 D A R I C T 細胞および N K G 2 D / C D 1 9 D A R I C 二重標的化 T 細胞を、N K G 2 D L ⁺ A 5 4 9 細胞、N K G 2 D L ^{neg} マウス B 細胞株 A 2 0、および C D 1 9 を安定的に発現する A 2 0 細胞 (A 2 0 - h C D 1 9) とともに、A P 2 1 9 6 7 の存在下または非存在下で 2 4 時間、1 : 1 の E : T 比で共培養した。サイトカイン産生は、Q b e a d アッセイキットを使用して培養上清から測定した。A P 2 1 9 6 7 またはラパマイシンの非存在下では、わずかなサイトカイン産生が観察された。N K G 2 D / C D 1 9 - D A R I C 二重標的化 T 細胞は、A 5 4 9 細胞および A 2 0 - C D 1 9 細胞の両方と培養されたときに G M - C S F を産生した。N K G 2 D . T N F R 2 D A R I C T 細胞および C D 1 9 D A R I C T 細胞は、同系リガンドを発現する標的細胞と共培養されたときにサイトカインを産生した。図 6 D。

【 0 7 1 9 】

実施例 6

共刺激性ドメインを含む C D 1 9 D A R I C 結合構成要素

C D 1 9 D A R I C 結合構成要素およびシグナル伝達構成要素を設計、構築し、実証した。C D 1 9 D A R I C レンチウイルスベクターは、以下をコードするポリヌクレオチドに操作可能に連結された M N D U 3 プロモーターを含んで構築された：D A R I C シグナル伝達構成要素 (C D 8 - シグナルペプチド、F R B バリエーション (T 8 2 L)、C D 8 膜貫通ドメイン、細胞内 4 - 1 B B 共刺激性ドメイン、および C D 3 シグナル伝達ドメイン) ; P 2 A 配列 ; および D A R I C 結合構成要素 (I g - シグナルペプチド、抗 C D 1 9 s c F v 結合ドメイン、G 4 S リンカー、F K B P 1 2 ドメイン、C D 4 膜貫通ドメイン、および O X 4 0 共刺激性ドメインまたは T N F R 2 共刺激性ドメイン) 。図 7 A ; 配列番号 2 3。

【 0 7 2 0 】

ヒト P B M C は、実施例 1 に記載されるように活性化、形質導入および拡張された。U T D T 細胞、抗 C D 1 9 C A R T 細胞、C D 1 9 D A R I C T 細胞、C D 1 9 . O X 4 0 D A R I C T 細胞、および C D 1 9 . T N F R 2 D A R I C T 細胞は、同様の生体外拡張速度を呈した。T 細胞を、組換え C D 1 9 - F c タンパク質で染色し、抗 C D 1 9 s c F v 発現を、C D 4 ⁺ T 細胞上で定量した。発現は、様々な C D 1 9 C A R および D A R I C 結合構成要素の間で同等であった。図 7 B。

【 0 7 2 1 】

U T D T 細胞、抗 C D 1 9 C A R T 細胞、C D 1 9 D A R I C T 細胞、C D 1 9 . O X 4 0 D A R I C T 細胞、および C D 1 9 . T N F R 2 D A R I C T 細胞は、C D 1 9 ⁺ N a l m 6 (図 7 C) または C D 1 9 ⁺ J e k o - 1 (図 7 D) 腫瘍細胞株とともに 2 4 時間、ラパマイシンの存在下または非存在下、1 : 1 の E : T 比率で共培

10

20

30

40

50

養された。サイトカイン産生は、Q b e a d アッセイキットを使用して培養上清から測定した。C D 1 9 . O X 4 0 D A R I C T 細胞およびC D 1 9 . T N F R 2 D A R I C T 細胞は、抗C D 1 9 C A R T 細胞およびC D 1 9 D A R I C T 細胞と比較し、ラパマイシンの存在下でサイトカイン産生の一貫した増加を示した。図7 C および7 D。

【0722】

実施例7

共刺激性ドメインを含むC D 3 3 D A R I C 結合構成要素

C D 3 3 D A R I C 結合構成要素およびシグナル伝達構成要素を設計、構築し、実証した。C D 3 3 D A R I C レンチウイルスベクターは、以下をコードするポリヌクレオチドに操作可能に連結されたM N D U 3 プロモーターを含んで構築された：D A R I C シグナル伝達構成要素（C D 8 - シグナルペプチド、F R B バリエーション（T 8 2 L）、C D 8 膜貫通ドメイン、細胞内4 - 1 B B 共刺激性ドメイン、およびC D 3 ゼータシグナル伝達ドメイン）；P 2 A 配列；およびD A R I C 結合構成要素（I g - シグナルペプチド、二つの抗C D 3 s c F v 結合ドメインのうちの一つ、G 4 S リンカー、F K B P 1 2 ドメイン、C D 4 膜貫通ドメイン、およびO X 4 0 共刺激性ドメインまたはT N F R 2 共刺激性ドメイン）。図8 A；配列番号28および29。

【0723】

ヒトP B M C は、実施例1に記載されるように活性化、形質導入および拡張された。U T D T 細胞、抗C D 3 3 (s c F v - 1) C A R T 細胞、抗C D 3 3 (s c F v - 2) C A R T 細胞、C D 3 3 (s c F v - 1) D A R I C T 細胞、C D 3 3 (s c F v - 2) D A R I C T 細胞、C D 3 3 . O X 4 0 (s c F v - 1) D A R I C T 細胞、C D 3 3 . O X 4 0 (s c F v - 2) D A R I C T 細胞、C D 3 3 . T N F R 2 (s c F v - 1) D A R I C T 細胞、およびC D 3 3 . T N F R 2 (s c F v - 2) D A R I C T 細胞は、同様の生体外拡張の速度を呈した。T 細胞を、組換えC D 3 3 - F c タンパク質で染色し、抗C D 3 3 s c F v 発現を、C D 4 + T 細胞上で定量した。発現は、様々なC D 3 3 D A R I C 結合構成要素の間で同等であった。図8 B。

【0724】

U T D T 細胞、抗C D 3 3 (s c F v - 1) C A R T 細胞、抗C D 3 3 (s c F v - 2) C A R T 細胞、C D 3 3 (s c F v - 1) D A R I C T 細胞、C D 3 3 (s c F v - 2) D A R I C T 細胞、C D 3 3 . O X 4 0 (s c F v - 1) D A R I C T 細胞、C D 3 3 . O X 4 0 (s c F v - 2) D A R I C T 細胞、C D 3 3 . T N F R 2 (s c F v - 1) D A R I C T 細胞、およびC D 3 3 . T N F R 2 (s c F v - 2) D A R I C T 細胞は、C D 3 3 + T H P - 1 腫瘍細胞株またはC D 3 3 + M o l m - 1 腫瘍細胞株と1：1のE：T比で24時間、ラパマイシンの存在下または非存在下で共培養された。サイトカイン産生は、Q b e a d アッセイキットを使用して培養上清から測定した。抗C D 3 3 C A R T 細胞およびC D 3 3 D A R I C T 細胞と比較して、共刺激性ドメインと共に結合構成要素を含むC D 3 3 D A R I C は、ラパマイシンの存在下でサイトカイン産生の一貫した増加を示した。図8 C。

【0725】

一般的に以下の請求の範囲において、使用される用語は、請求の範囲を本明細書に開示される特定の実施形態に限定するとは解釈されず、請求の範囲は、当該請求の範囲が権利付与される均等の全範囲に沿って、すべての可能性のある実施形態を含むと解釈されるものとする。したがって、請求の範囲は、本開示により限定されない。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目1)

非天然細胞であって、

(a) 第一の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、第一の共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに

(b) 細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、

10

20

30

40

50

ント、第二の膜貫通ドメイン、および第二の共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含み、

架橋因子は、前記非天然細胞表面上のポリペプチド複合体の形成を促進し、前記架橋因子は、前記第一および第二の多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、非天然細胞。

(項目 2)

前記第一および第二の多量体形成ドメインが異なっている、項目 1 に記載の非天然細胞。

(項目 3)

前記第一および第二の共刺激性ドメインが異なっている、項目 1 または項目 2 に記載の非天然細胞。

(項目 4)

前記第一の多量体形成ドメインおよび前記第二の多量体形成ドメインは、ラパマイシンまたはそのラパログ、クーママイシンまたはその誘導体、ジベレリンまたはその誘導体、アブシジン酸 (ABA) またはその誘導体、メトトレキサートまたはその誘導体、シクロスポリン A またはその誘導体、FK506 / シクロスポリン A (FKCSA) またはその誘導体、およびトリメトプリム (Tmp) - FK506 結合タンパク質 (FKBP) の合成リガンド (SLF) またはその誘導体、からなる群から選択される架橋因子と会合する、項目 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 5)

前記第一の多量体形成ドメインおよび前記第二の多量体形成ドメインは、FKBP と FKBP - rapamycin binding (FRB)、FKBP とカルシニューリン、FKBP とシクロフィリン、FKBP と細菌ジヒドロ葉酸レダクターゼ (DHFR)、カルシニューリンとシクロフィリン、および PYR1-like 1 (PYL1) と abscisic acid insensitive 1 (ABI1) からなる群から選択されるペアである、項目 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 6)

前記第一の多量体形成ドメインは、FKBP ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、前記第二の多量体形成ドメインは、FRB ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、項目 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 7)

前記第一の多量体形成ドメインは、FRB ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、前記第二の多量体形成ドメインは、FKBP ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、項目 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 8)

前記架橋因子が、AP21967、シロリムス、エベロリムス、ノボリムス、ピメクロリムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス、およびゾタロリムスからなる群から選択される、項目 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 9)

前記第一および第二の多量体形成ドメインは、FRB T2098L および FKBP12 から選択され、前記架橋因子は、シロリムスまたは AP21967 である、項目 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 10)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、T 細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、CD3、CD3、CD3、CD3、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、CD278、アムニオンレス (AMN: amnionless)、および programmed cell death 1 (PDCD1) からなる群から選択されるポリペプチドから選択される、項目 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

10

20

30

40

50

(項目 1 1)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、C D 4 膜貫通ドメイン、C D 8 膜貫通ドメイン、およびA M N膜貫通ドメインからなる群から選択される、項目 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 1 2)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは、異なっている、項目 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 1 3)

前記共刺激性ドメインおよび/または前記一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ(I T A M)を含有する、項目 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

10

(項目 1 4)

前記第一および第二の共刺激性ドメインは独立して、T o l l 様受容体 1 (T L R 1)、T L R 2、T L R 3、T L R 4、T L R 5、T L R 6、T L R 7、T L R 8、T L R 9、T L R 1 0、c a s p a s e r e c r u i t m e n t d o m a i n f a m i l y m e m b e r 1 1 (C A R D 1 1)、C D 2、C D 7、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 0、C D 4 0、C D 5 4 (I C A M)、C D 8 3、C D 9 4、C D 1 3 4 (O X 4 0)、C D 1 3 7 (4 - 1 B B)、C D 2 7 8 (I C O S)、D N A X - A c t i v a t i o n P r o t e i n 1 0 (D A P 1 0)、L i n k e r f o r a c t i v a t i o n o f T - c e l l s f a m i l y m e m b e r 1 (L A T)、S H 2 D o m a i n - C o n t a i n i n g L e u k o c y t e P r o t e i n O f 7 6 k D (S L P 7 6)、T c e l l r e c e p t o r a s s o c i a t e d t r a n s m e m b r a n e a d a p t o r 1 (T R A T 1)、T N F R 2、T N F R S 1 4、T N F R S 1 8、T N F R S 2 5、およびz e t a c h a i n o f T c e l l r e c e p t o r a s s o c i a t e d p r o t e i n k i n a s e 7 0 (Z A P 7 0) からなる群から選択される共刺激性分子から選択される、項目 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

20

(項目 1 5)

前記第一の共刺激性ドメインは、C D 2 8、C D 1 3 4 およびC D 1 3 7 からなる群から選択される共刺激性分子から単離され、前記第二の共刺激性ドメインは、C D 2 8、C D 2 7 8、T N F R S 1 4、T N F R S 1 8、T N F R S 2 5、O X 4 0 またはT N F R 2 から単離される、項目 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

30

(項目 1 6)

前記第一の共刺激性ドメインは、C D 1 3 7 から単離され、前記第二の共刺激性ドメインは、O X 4 0 またはT N F R 2 から単離される、項目 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 1 7)

前記第一の共刺激性ドメインは、C D 1 3 7 から単離され、前記第二の共刺激性ドメインは、O X 4 0 から単離される、項目 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 1 8)

前記第一の共刺激性ドメインは、C D 1 3 7 から単離され、前記第二の共刺激性ドメインは、T N F R 2 から単離される、項目 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

40

(項目 1 9)

前記一次シグナル伝達ドメインは、F c R、F c R、C D 3、C D 3、C D 3、C D 3、C D 2 2、C D 7 9 a、C D 7 9 b、およびC D 6 6 d からなる群から選択されるポリペプチドから単離される、項目 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 2 0)

前記一次シグナル伝達ドメインは、C D 3 ポリペプチドから単離される、項目 1 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 2 1)

50

前記細胞外結合ドメインは、抗体もしくはその抗原結合断片、受容体細胞外ドメイン、またはリガンドを含む、項目 1 ~ 20 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 22)

前記細胞外結合ドメインは、ラクダ Ig、リヤマ Ig、アルパカ Ig、Ig NAR、Fab'断片、F(ab')₂断片、二特異性 Fab 二量体 (Fab₂)、三特異性 Fab 三量体 (Fab₃)、Fv、一本鎖 Fv タンパク質 (scFv)、bis-scFv、(scFv)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化 Fv タンパク質 (dsFv)、およびシングルドメイン抗体 (sdAb、ラクダ科 VHH、ナノボディ) からなる群から選択される抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 1 ~ 21 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

10

(項目 23)

前記細胞外結合ドメインが、ヒト化抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 1 ~ 22 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 24)

前記細胞外結合ドメインが、ヒト抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 1 ~ 22 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 25)

前記細胞外結合ドメインが、scFv を含む、項目 1 ~ 24 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 26)

前記細胞外結合ドメインが、一つ以上のラクダ科 VHH 抗体を含む、項目 1 ~ 23 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

20

(項目 27)

前記細胞外結合ドメインは、腫瘍関連抗原 (TAA)、腫瘍特異的抗原 (TSA)、NK G2D リガンド、T 細胞受容体 (TCR) リガンド、および TCR リガンドからなる群から選択される抗原に結合する、項目 1 ~ 26 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 28)

前記細胞外結合ドメインは、アルファ葉酸受容体 (FR)、 $\alpha_v\beta_6$ インテグリン、B 細胞成熟抗原 (BCMA)、B7-H3 (CD276)、B7-H6、炭酸脱水素酵素 I X 型 (CAIX)、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、癌胎児性抗原 (CEA)、クローディン 6 (CLDN6)、クローディン 18 アイソフォーム 2 (CLDN18.2)、C-type lectin-like molecule-1 (CLL-1)、CD2 subset 1 (CS-1)、chondroitin sulfate proteoglycan 4 (CSPG4)、cutaneous T cell lymphoma-associated antigen 1 (CTAGE1)、delta like canonical Notch ligand 3 (DLL3)、上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR)、上皮細胞増殖因子受容体バリエーション III (EGFRvIII)、epithelial glycoprotein 2 (EGP2)、epithelial glycoprotein 40 (EGP40)、上皮細胞接着分子 (EPCAM)、ephrin type-A receptor 2 (EPHA2)、erb-b2 receptor tyrosine kinase 4 (ERBB4)、fibroblast activation protein (FAP)、Fc Receptor Like 5 (FCRL5)、fetal acetylcholinesterase receptor (AChR)、ガングリオシド G2 (GD2)、ガングリオシド G3 (GD3)、グリピカン-3 (GPC3)、ErbB2 (HER2) を含む EGFR ファミリー、HER2 p95、IL-10R、IL-13R₂、Kappa、cancer/testis antigen 2 (LAGE-1A)、Lambda、Lewis-Y

30

40

50

(LeY)、L1 cell adhesion molecule (L1-CAM)、melanoma antigen gene (MAGE) - A1、MAGE - A3、MAGE - A4、MAGE - A6、MAGEA10、melanoma antigen recognized by T cells 1 (MelanAまたはMART1)、メソテリン (MSLN)、MUC1、MUC16、MHC class I chain related proteins A (MICA)、MHC class I chain related proteins B (MICB)、神経細胞接着分子 (NCAM)、cancer/testis antigen 1 (NY-ESO-1)、ポリシアル酸; placenta-specific 1 (PLAC1)、preferentially expressed antigen in melanoma (PRAME)、prostate stem cell antigen (PSCA)、前立腺特異的膜抗原 (PSMA)、receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 1 (ROR1)、synovial sarcoma、X breakpoint 2 (SSX2)、サバイピン、tumor associated glycoprotein 72 (TAG72)、tumor endothelial marker 1 (TEM1/CD248)、tumor endothelial marker 7-related (TEM7R)、trophoblast glycoprotein (TPBG)、UL16-binding protein (ULBP) 1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、血管内皮細胞増殖因子受容体2 (VEGFR2)、およびWilms tumor 1 (WT-1) からなる群から選択される抗原に結合する、項目1~27のいずれか一項に記載の非天然細胞。

10

20

(項目29)

非天然細胞であって、

(a) FK506結合タンパク質 (FKBP) 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに

(b) 抗体またはその抗原結合断片、FKBP-ラパマイシン結合 (FRB) 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびOX40共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含み、

架橋因子は、前記非天然細胞表面上のポリペプチド複合体の形成を促進し、前記架橋因子は、前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、非天然細胞。

30

(項目30)

非天然細胞であって、

(a) FKBP多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに

(b) 抗体またはその抗原結合断片、FRB多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびTNFR2共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含み、

架橋因子は、前記非天然細胞表面上のポリペプチド複合体の形成を促進し、前記架橋因子は、前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、非天然細胞。

40

(項目31)

非天然細胞であって、

(a) FRB多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに

(b) 抗体またはその抗原結合断片、FKBP多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびOX40共刺激性ドメインを含む第二の

50

ポリペプチド、を含み、

架橋因子は、前記非天然細胞表面上のポリペプチド複合体の形成を促進し、前記架橋因子は、前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、非天然細胞。

(項目 3 2)

非天然細胞であって、

(a) F R B 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および / または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに

(b) 抗体またはその抗原結合断片、 F K B P 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および T N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含み、

10

架橋因子は、前記非天然細胞表面上のポリペプチド複合体の形成を促進し、前記架橋因子は、前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、非天然細胞。

(項目 3 3)

前記架橋因子が、 A P 2 1 9 6 7、シロリムス、エベロリムス、ノボリムス、ピメクロリムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス、およびゾタロリムスからなる群から選択される、項目 2 9 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 3 4)

20

前記 F R B 多量体形成ドメインは、 F R B T 2 0 9 8 L であり、前記 F K B P 多量体形成ドメインは F K B P 1 2 であり、前記架橋因子は、シロリムスまたは A P 2 1 9 6 7 である、項目 2 9 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 3 5)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、 T 細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 4、 C D 5、 C D 8 、 C D 9、 C D 1 6、 C D 2 2、 C D 2 7、 C D 2 8、 C D 3 3、 C D 3 7、 C D 4 5、 C D 6 4、 C D 8 0、 C D 8 6、 C D 1 3 4、 C D 1 3 7、 C D 1 5 2、 C D 1 5 4、 A M N、および P D C D 1 からなる群から選択されるポリペプチドから選択される、項目 2 9 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

30

(項目 3 6)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、 C D 4 膜貫通ドメインおよび C D 8 膜貫通ドメインからなる群から選択されるポリペプチドから選択される、項目 2 9 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 3 7)

前記共刺激性ドメインおよび / または前記一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ (I T A M) を含有する、項目 2 9 ~ 3 6 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 3 8)

前記共刺激性ドメインは、 T o l l 様受容体 1 (T L R 1)、 T L R 2、 T L R 3、 T L R 4、 T L R 5、 T L R 6、 T L R 7、 T L R 8、 T L R 9、 T L R 1 0、 c a s p a s e r e c r u i t m e n t d o m a i n f a m i l y m e m b e r 1 1 (C A R D 1 1)、 C D 2、 C D 7、 C D 2 7、 C D 2 8、 C D 3 0、 C D 4 0、 C D 5 4 (I C A M)、 C D 8 3、 C D 9 4、 C D 1 3 4 (O X 4 0)、 C D 1 3 7 (4 - 1 B B)、 C D 2 7 8 (I C O S)、 D N A X - A c t i v a t i o n P r o t e i n 1 0 (D A P 1 0)、 L i n k e r f o r a c t i v a t i o n o f T - c e l l s f a m i l y m e m b e r 1 (L A T)、 S H 2 D o m a i n - C o n t a i n i n g L e u k o c y t e P r o t e i n O f 7 6 k D (S L P 7 6)、 T c e l l r e c e p t o r a s s o c i a t e d t r a n s m e m b r a n e a d a p t o r 1 (T R A T 1)、 T N F R 2、 T N F R S 1 4、 T N F R S 1 8、 T N F R S 2 5、およ

40

50

び zeta chain of T cell receptor associated protein kinase 70 (ZAP70) からなる群から選択される共刺激性分子から単離される、項目 29 ~ 37 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 39)

前記共刺激性ドメインは、CD28、CD134、およびCD137 からなる群から選択される共刺激性分子から単離される、項目 29 ~ 38 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 40)

前記共刺激性ドメインは、CD137 共刺激性分子 から単離される、項目 29 ~ 39 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

10

(項目 41)

前記一次シグナル伝達ドメインは、FcR、FcR、CD3、CD3、CD3、CD3、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66d からなる群から選択されるポリペプチドから単離される、項目 29 ~ 40 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 42)

前記一次シグナル伝達ドメインは、CD3 ポリペプチドから単離される、項目 29 ~ 41 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 43)

前記抗体またはその抗原結合断片は、ラクダIg、リヤマIg、アルパカIg、IgNAR、Fab'断片、F(ab')₂断片、二特異性Fab二量体(Fab₂)、三特異性Fab三量体(Fab₃)、Fv、一本鎖Fvタンパク質(scFv)、bis-scFv、(scFv)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化Fvタンパク質(dsFv)、およびシングルドメイン抗体(sdAb、ラクダ科VHH、ナノボディ) からなる群から選択される、項目 29 ~ 42 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

20

(項目 44)

前記抗体またはその抗原結合断片が、ヒトまたはヒト化されている、項目 29 ~ 43 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 45)

前記抗体またはその抗原結合断片が、scFvまたは一つ以上のラクダ科VHH抗体を含む、項目 29 ~ 44 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

30

(項目 46)

前記抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍関連抗原(TAA)、腫瘍特異的抗原(TSA)、NKG2Dリガンド、T細胞受容体(TCR)リガンド、およびTCRリガンド からなる群から選択される抗原に結合する、項目 29 ~ 45 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 47)

前記抗体またはその抗原結合断片が、FR、v₆インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、Achr、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2 p95、IL-10R、IL-13R₂、Kappa、LAGE-1A、Lambda、LeY、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM

40

50

1 / C D 2 4 8、T E M 7 R、T P B G、U L B P 1、U L B P 2、U L B P 3、U L B P 4、U L B P 5、U L B P 6、V E G F R 2、および W T - 1 からなる群から選択される抗原に結合する、項目 2 9 ~ 4 6 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 4 8)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B C M A、B 7 - H 3、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 3、C D 7 9 A、C D 7 9 B および / または E G F R v I I I に結合する、項目 2 9 ~ 4 7 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 4 9)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B C M A に結合する、項目 2 9 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

10

(項目 5 0)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 1 9 に結合する、項目 2 9 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 5 1)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 2 0 または C D 2 2 に結合する、項目 2 9 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 5 2)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B 7 - H 3 に結合する、項目 2 9 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 5 3)

20

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 3 3 に結合する、項目 2 9 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 5 4)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 7 9 A に結合する、項目 2 9 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 5 5)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 7 9 B に結合する、項目 2 9 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 5 6)

前記抗体またはその抗原結合断片が、E G F R v I I I に結合する、項目 2 9 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

30

(項目 5 7)

非天然細胞であって、

(a) F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに

(b) 抗体またはその抗原結合断片、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、および T N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含み、

架橋因子は、前記非天然細胞表面上のポリペプチド複合体の形成を促進し、前記架橋因子は、前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、非天然細胞。

40

(項目 5 8)

非天然細胞であって、

(a) F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに

(b) 抗体またはその抗原結合断片、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、および O X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含み、

50

架橋因子は、前記非天然細胞表面上のポリペプチド複合体の形成を促進し、前記架橋因子は、前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、非天然細胞。

(項目 5 9)

非天然細胞であって、

(a) F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに

(b) 抗体またはその抗原結合断片、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、および T N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含み、

10

架橋因子は、前記非天然細胞表面上のポリペプチド複合体の形成を促進し、前記架橋因子は、前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、非天然細胞。

(項目 6 0)

非天然細胞であって、

(a) F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに

(b) 抗体またはその抗原結合断片、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、および O X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含み、

20

架橋因子は、前記非天然細胞表面上のポリペプチド複合体の形成を促進し、前記架橋因子は、前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、非天然細胞。

(項目 6 1)

前記架橋因子が、A P 2 1 9 6 7 またはシロリムスである、項目 5 7 ~ 6 0 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 6 2)

前記抗体またはその抗原結合断片は、ラクダ I g、リャマ I g、アルパカ I g、I g N A R、F a b ' 断片、F (a b ')₂断片、二特異性 F a b 二量体 (F a b 2)、三特異性 F a b 三量体 (F a b 3)、F v、一本鎖 F v タンパク質 (s c F v)、b i s - s c F v、(s c F v)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化 F v タンパク質 (d s F v)、およびシングルドメイン抗体 (s d A b、ラクダ科 V H H、ナノボディ) からなる群から選択される、項目 5 7 ~ 6 1 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

30

(項目 6 3)

前記抗体またはその抗原結合断片が、ヒトまたはヒト化されている、項目 5 7 ~ 6 2 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 6 4)

前記抗体またはその抗原結合断片が、s c F v または一つ以上のラクダ科 V H H 抗体を含む、項目 5 7 ~ 6 3 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

40

(項目 6 5)

前記抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍関連抗原 (T A A)、腫瘍特異的抗原 (T S A)、N K G 2 D リガンド、T 細胞受容体 (T C R) リガンド、および T C R リガンドからなる群から選択される抗原に結合する、項目 5 7 ~ 6 4 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 6 6)

前記抗体またはその抗原結合断片が、F R、 $\alpha_v\beta_6$ インテグリン、B C M A、B 7 - H 3、B 7 - H 6、C A I X、C D 1 6、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 0、C

50

D 3 3、C D 3 7、C D 3 8、C D 4 4、C D 4 4 v 6、C D 4 4 v 7 / 8、C D 7 0、C D 7 9 a、C D 7 9 b、C D 1 2 3、C D 1 3 3、C D 1 3 8、C D 1 7 1、C E A、C L D N 6、C L D N 1 8 . 2、C L L - 1、C S - 1、C S P G 4、C T A G E 1、D L L 3、E G F R、E G F R v I I I、E G P 2、E G P 4 0、E P C A M、E P H A 2、E R B B 4、F A P、F C R L 5、A c h R、G D 2、G D 3、G P C 3、H E R 2、H E R 2 p 9 5、I L - 1 0 R、I L - 1 3 R 2、K a p p a、L A G E - 1 A、L a m b d a、L e Y、L 1 - C A M、M A G E - A 1、M A G E - A 3、M A G E - A 4、M A G E - A 6、M A G E A 1 0、M e l a n A または M A R T 1、S L N)、M U C 1、M U C 1 6、M I C A、M I C B、N C A M、N Y - E S O - 1、P L A C 1、P R A M E、P S C A、P S M A、R O R 1、S S X 2、サバイピン、T A G 7 2、T E M 1 / C D 2 4 8、T E M 7 R、T P B G、U L B P 1、U L B P 2、U L B P 3、U L B P 4、U L B P 5、U L B P 6、V E G F R 2、および W T - 1 からなる群から選択される抗原に結合する、項目 5 7 ~ 6 5 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

10

(項目 6 7)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B C M A、B 7 - H 3、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 3、C D 7 9 A、C D 7 9 B および / または E G F R v I I I に結合する、項目 5 7 ~ 6 6 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 6 8)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B C M A に結合する、項目 5 7 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

20

(項目 6 9)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 1 9 に結合する、項目 5 7 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 7 0)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 2 0 または C D 2 2 に結合する、項目 5 7 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 7 1)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B 7 H 3 に結合する、項目 5 7 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 7 2)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 3 3 に結合する、項目 5 7 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

30

(項目 7 3)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 7 9 A に結合する、項目 5 7 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 7 4)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 7 9 B に結合する、項目 5 7 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 7 5)

前記抗体またはその抗原結合断片は、E G F R v I I I に結合し、任意で前記抗体は、E G F R 8 0 6 またはその抗原結合断片である、項目 5 7 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

40

(項目 7 6)

前記多量体形成ドメインは、前記第一のポリペプチドと前記第二のポリペプチドが発現されるとき、細胞外に局在する、項目 1 ~ 7 5 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 7 7)

前記細胞が、造血細胞である、項目 1 ~ 7 6 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 7 8)

前記細胞が、T 細胞である、項目 1 ~ 7 6 のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目 7 9)

50

前記細胞が、 $CD3^{+}$ 、 $CD4^{+}$ および/または $CD8^{+}$ 細胞である、項目1～76のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目80)

前記細胞が、免疫エフェクター細胞である、項目1～76のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目81)

前記細胞が、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)、またはヘルパーT細胞である、項目1～76のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目82)

前記細胞が、ナチュラルキラー(NK)細胞またはナチュラルキラーT(NKT)細胞である、項目1～76のいずれか一項に記載の非天然細胞。

10

(項目83)

前記細胞の源は、末梢血単核細胞、骨髓、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位の組織、腹水、胸水、脾臓組織または腫瘍である、項目1～82のいずれか一項に記載の非天然細胞。

(項目84)

融合ポリペプチドであって、

(a) 第一の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、第一の共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに

20

(b) ポリペプチド切断シグナル；ならびに

(c) 細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および第二の共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含む、融合ポリペプチド。

(項目85)

前記第一および第二の多量体形成ドメインが、異なっている、項目84に記載の融合ポリペプチド。

(項目86)

前記第一および第二の共刺激性ドメインが、異なっている、項目84または項目85に記載の融合ポリペプチド。

30

(項目87)

前記第一の多量体形成ドメインおよび前記第二の多量体形成ドメインは、ラパマイシンまたはそのラパログ、クーママイシンまたはその誘導体、ジベレリンまたはその誘導体、アブシジン酸(ABA)またはその誘導体、メトトレキサートまたはその誘導体、シクロスポリンAまたはその誘導体、FK506/シクロスポリンA(FKCSA)またはその誘導体、およびトリメトプリム(Tmp)-FK506結合タンパク質(FKBP)の合成リガンド(SLF)またはその誘導体、からなる群から選択される架橋因子と会合する、項目84～86のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目88)

前記第一の多量体形成ドメインおよび前記第二の多量体形成ドメインは、FKBPとFKBP-rapamycin binding(FRB)、FKBPとカルシニューリン、FKBPとシクロフィリン、FKBPと細菌ジヒドロ葉酸レダクターゼ(DHFR)、カルシニューリンとシクロフィリン、およびPYR1-like 1(PYL1)とabscisic acid insensitive 1(ABI1)からなる群から選択されるペアである、項目84～87のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

40

(項目89)

前記第一の多量体形成ドメインは、FKBPポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、前記第二の多量体形成ドメインは、FRBポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、項目84～88のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目90)

50

前記第一の多量体形成ドメインは、F R B ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、
前記第二の多量体形成ドメインは、F K B P ポリペプチドまたはそのバリエーションを含む、
項目 8 4 ~ 8 8 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 9 1)

前記架橋因子が、A P 2 1 9 6 7、シロリムス、エベロリムス、ノボリムス、ピメクロ
リムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス、およびゾタ
ロリムスからなる群から選択される、項目 8 4 ~ 9 0 のいずれか一項に記載の融合ポリペ
プチド。

(項目 9 2)

前記第一および第二の多量体形成ドメインは、F R B T 2 0 9 8 L および F K B P 1 2
から選択され、前記架橋因子は、シロリムスまたは A P 2 1 9 6 7 である、項目 8 4 ~ 9
1 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

10

(項目 9 3)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、T 細胞受容体
のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C
D 3 、 C D 4 、 C D 5 、 C D 8 、 C D 9 、 C D 1 6 、 C D 2 2 、 C D 2 7 、 C D 2 8
、 C D 3 3 、 C D 3 7 、 C D 4 5 、 C D 6 4 、 C D 8 0 、 C D 8 6 、 C D 1 3 4 、 C D 1
3 7 、 C D 1 5 2 、 C D 1 5 4 、 C D 2 7 8 、 アムニオンレス (A M N) 、 および p r o
g r a m m e d c e l l d e a t h 1 (P D C D 1) からなる群から選択されるポリ
ペプチドから選択される、項目 8 4 ~ 9 2 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

20

(項目 9 4)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、C D 4 膜貫通
ドメイン、C D 8 膜貫通ドメイン、および A M N 膜貫通ドメインからなる群から選択さ
れる、項目 8 4 ~ 9 3 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 9 5)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは、異なっている、項目 8
4 ~ 9 4 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 9 6)

前記共刺激性ドメインおよび / または前記一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チ
ロシン活性化モチーフ (I T A M) を含有する、項目 8 4 ~ 9 5 のいずれか一項に記載の
融合ポリペプチド。

30

(項目 9 7)

前記第一および第二の共刺激性ドメインは独立して、T o l l 様受容体 1 (T L R 1)
、 T L R 2 、 T L R 3 、 T L R 4 、 T L R 5 、 T L R 6 、 T L R 7 、 T L R 8 、 T L R 9
、 T L R 1 0 、 c a s p a s e r e c r u i t m e n t d o m a i n f a m i l y
m e m b e r 1 1 (C A R D 1 1) 、 C D 2 、 C D 7 、 C D 2 7 、 C D 2 8 、 C D 3 0
、 C D 4 0 、 C D 5 4 (I C A M) 、 C D 8 3 、 C D 9 4 、 C D 1 3 4 (O X 4 0) 、 C
D 1 3 7 (4 - 1 B B) 、 C D 2 7 8 (I C O S) 、 D N A X - A c t i v a t i o n
P r o t e i n 1 0 (D A P 1 0) 、 L i n k e r f o r a c t i v a t i o n o f
T - c e l l s f a m i l y m e m b e r 1 (L A T) 、 S H 2 D o m a i n
- C o n t a i n i n g L e u k o c y t e P r o t e i n O f 7 6 k D (S L
P 7 6) 、 T c e l l r e c e p t o r a s s o c i a t e d t r a n s m e m b
r a n e a d a p t o r 1 (T R A T 1) 、 T N F R 2 、 T N F R S 1 4 、 T N F R S
1 8 、 T N F R S 2 5 、 および z e t a c h a i n o f T c e l l r e c e p t
o r a s s o c i a t e d p r o t e i n k i n a s e 7 0 (Z A P 7 0) からな
る群から選択される共刺激性分子から選択される、項目 8 4 ~ 9 6 のいずれか一項に記載
の融合ポリペプチド。

40

(項目 9 8)

前記第一の共刺激性ドメインは、C D 2 8 、 C D 1 3 4 および C D 1 3 7 からなる群か
ら選択される共刺激性分子から単離され、前記第二の共刺激性ドメインは、C D 2 8 、 C

50

D 2 7 8、T N F R S 1 4、T N F R S 1 8、T N F R S 2 5、O X 4 0 または T N F R 2 から単離される、項目 8 4 ~ 9 7 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 9 9)

前記第一の共刺激性ドメインは、C D 1 3 7 から単離され、前記第二の共刺激性ドメインは、O X 4 0 または T N F R 2 から単離される、項目 8 4 ~ 9 8 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 0 0)

前記第一の共刺激性ドメインは、C D 1 3 7 から単離され、前記第二の共刺激性ドメインは、O X 4 0 から単離される、項目 8 4 ~ 9 9 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 0 1)

前記第一の共刺激性ドメインは、C D 1 3 7 から単離され、前記第二の共刺激性ドメインは、T N F R 2 から単離される、項目 8 4 ~ 9 9 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 0 2)

前記一次シグナル伝達ドメインは、F c R 、 F c R 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 2 2、C D 7 9 a、C D 7 9 b、および C D 6 6 d からなる群から選択されるポリペプチドから単離される、項目 8 4 ~ 1 0 1 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 0 3)

前記一次シグナル伝達ドメインは、C D 3 ポリペプチドから単離される、項目 8 4 ~ 1 0 2 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 0 4)

前記細胞外結合ドメインは、抗体もしくはその抗原結合断片、受容体細胞外ドメイン、またはリガンドを含む、項目 8 4 ~ 1 0 3 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 0 5)

前記細胞外結合ドメインは、ラクダ I g、リヤマ I g、アルパカ I g、I g N A R、F a b ' 断片、F (a b ')₂断片、二特異性 F a b 二量体 (F a b 2)、三特異性 F a b 三量体 (F a b 3)、F v、一本鎖 F v タンパク質 (s c F v)、b i s - s c F v、(s c F v)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化 F v タンパク質 (d s F v)、およびシングルドメイン抗体 (s d A b、ラクダ科 V H H、ナノボディ) からなる群から選択される抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 8 4 ~ 1 0 4 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 0 6)

前記細胞外結合ドメインが、ヒト化抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 8 4 ~ 1 0 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 0 7)

前記細胞外結合ドメインが、ヒト抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 8 4 ~ 1 0 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 0 8)

前記細胞外結合ドメインが、s c F v を含む、項目 8 4 ~ 1 0 7 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 0 9)

前記細胞外結合ドメインが、一つ以上のラクダ科 V H H 抗体を含む、項目 8 4 ~ 1 0 7 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 1 0)

前記細胞外結合ドメインは、腫瘍関連抗原 (T A A)、腫瘍特異的抗原 (T S A)、N K G 2 D リガンド、T 細胞受容体 (T C R) リガンド、および T C R リガンドからなる群から選択される抗原に結合する、項目 8 4 ~ 1 0 9 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

10

20

30

40

50

(項目 1 1 1)

前記細胞外結合ドメインが、FR、v、6インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、AChR、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2p95、IL-10R、IL-13R2、Kappa、LAGE-1A、Lambd a、LeY、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイビン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT-1からなる群から選択される抗原に結合する、項目84~110のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

10

(項目 1 1 2)

融合ポリペプチドであって、
 (a) 第一の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、
 (b) ポリペプチド切断シグナル；ならびに
 (c) 細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびOX40共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含む、融合ポリペプチド。

20

(項目 1 1 3)

融合ポリペプチドであって、
 (a) 第一の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、
 (b) ポリペプチド切断シグナル；ならびに
 (c) 細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびTNFR2共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含む、融合ポリペプチド。

30

(項目 1 1 4)

前記第一および第二の多量体形成ドメインが、同じである、項目112または項目113に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 1 5)

前記第一および第二の多量体形成ドメインが、異なっている、項目112または項目113に記載の融合ポリペプチド。

40

(項目 1 1 6)

前記第一の多量体形成ドメインおよび前記第二の多量体形成ドメインは、ラパマイシンまたはそのラパログ、クーママイシンまたはその誘導体、ジベレリンまたはその誘導体、ABAまたはその誘導体、メトトレキサートまたはその誘導体、シクロスポリンAまたはその誘導体、FKCsAまたはその誘導体、およびSLFまたはその誘導体からなる群から選択される架橋因子と会合する、項目112~115に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 1 7)

前記第一の多量体形成ドメインおよび前記第二の多量体形成ドメインは、FKBPとFRB、FKBPとカルシニューリン、FKBPとシクロフィリン、FKBPとDHFR、カルシニューリンとシクロフィリン、およびPYL1とABI1からなる群から選択され

50

るペアである、項目 1 1 2 ~ 1 1 6 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 1 8)

前記第一の多量体形成ドメインは、F K B P ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、前記第二の多量体形成ドメインは、F R B ポリペプチドまたはそのバリエーションを含む、項目 1 1 2 ~ 1 1 7 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 1 9)

前記第一の多量体形成ドメインは、F R B ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、前記第二の多量体形成ドメインは、F K B P ポリペプチドまたはそのバリエーションを含む、項目 1 1 2 ~ 1 1 7 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 2 0)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、T 細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 4、C D 5、C D 8 、C D 9、C D 1 6、C D 2 2、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 3、C D 3 7、C D 4 5、C D 6 4、C D 8 0、C D 8 6、C D 1 3 4、C D 1 3 7、C D 1 5 2、C D 1 5 4、AMN、および P D C D 1 からなる群から選択されるポリペプチドから選択される、項目 1 1 2 ~ 1 1 9 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 2 1)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは、C D 4 膜貫通ドメインおよび C D 8 膜貫通ドメインからなる群から独立して選択される、項目 1 1 2 ~ 1 2 0 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 2 2)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは、同一である、項目 1 1 2 ~ 1 2 1 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 2 3)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは、異なっている、項目 1 1 2 ~ 1 2 1 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 2 4)

前記共刺激性ドメインおよび / または前記一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ (I T A M) を含有する、項目 1 1 2 ~ 1 2 3 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 2 5)

前記共刺激性ドメインは、T L R 1、T L R 2、T L R 3、T L R 4、T L R 5、T L R 6、T L R 7、T L R 8、T L R 9、T L R 1 0、C A R D 1 1、C D 2、C D 7、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 0、C D 4 0、C D 5 4 (I C A M)、C D 8 3、C D 9 4、C D 1 3 4 (O X 4 0)、C D 1 3 7 (4 - 1 B B)、C D 2 7 8 (I C O S)、D A P 1 0、L A T、S L P 7 6、T R A T 1、T N F R 2、T N F R S 1 4、T N F R S 1 8、T N F R S 2 5、および Z A P 7 0 からなる群から選択される共刺激性分子から単離される、項目 1 1 2 ~ 1 2 4 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 2 6)

前記共刺激性ドメインは、C D 2 8、C D 1 3 4、および C D 1 3 7 からなる群から選択される共刺激性分子から単離される、項目 1 1 2 ~ 1 2 5 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 2 7)

前記共刺激性ドメインは、C D 1 3 7 共刺激性分子から単離される、項目 1 1 2 ~ 1 2 6 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 2 8)

前記一次シグナル伝達ドメインは、F c R 、F c R 、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 2 2、C D 7 9 a、C D 7 9 b、および C D 6 6 d からなる群から選択されるポリペプチドから単離される、項目 1 1 2 ~ 1 2 7 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 2 9)

前記一次シグナル伝達ドメインは、C D 3 ポリペプチドから単離される、項目 1 1 2

10

20

30

40

50

～ 1 2 8 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 3 0)

前記細胞外結合ドメインは、抗体もしくはその抗原結合断片、受容体細胞外ドメイン、またはリガンドを含む、項目 1 1 2 ～ 1 2 9 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 3 1)

前記細胞外結合ドメインは、ラクダ Ig、リャマ Ig、アルパカ Ig、Ig NAR、Fab'断片、F(ab')₂断片、二特異性 Fab 二量体 (Fab₂)、三特異性 Fab 三量体 (Fab₃)、Fv、一本鎖 Fv タンパク質 (scFv)、bis-scFv、(scFv)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化 Fv タンパク質 (dsFv)、およびシングルドメイン抗体 (sdAb、ラクダ科 VHH、ナノボディ) からなる群から選択される抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 1 1 2 ～ 1 3 0 に記載の融合ポリペプチド。

10

(項目 1 3 2)

前記細胞外結合ドメインが、ヒト化抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 1 1 2 ～ 1 3 1 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 3 3)

前記細胞外結合ドメインが、ヒト抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 1 1 2 ～ 1 3 1 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 3 4)

前記細胞外結合ドメインが、scFv を含む、項目 1 1 2 ～ 1 3 3 に記載の融合ポリペプチド。

20

(項目 1 3 5)

前記細胞外結合ドメインが、一つ以上のラクダ科 VHH 抗体を含む、項目 1 1 2 ～ 1 3 1 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 3 6)

前記細胞外結合ドメインは、腫瘍関連抗原 (TAA)、腫瘍特異的抗原 (TSA)、NK 細胞リガンド、T 細胞受容体 (TCR) リガンド、および TCR リガンドからなる群から選択される抗原に結合する、項目 1 1 2 ～ 1 3 5 に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 3 7)

前記細胞外結合ドメインが、FR_γ、₆ インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、AChR、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2p95、IL-10R、IL-13R₂、Kappa、LAGE-1A、Lambd a、LeY、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanA または MART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、および WT-1 からなる群から選択される抗原に結合する、項目 1 1 2 ～ 1 3 6 に記載の融合ポリペプチド。

30

40

(項目 1 3 8)

融合ポリペプチドであって、

(a) FKB P 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および / または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) ポリペプチド切断シグナル ; ならびに

50

(c) 抗体またはその抗原結合断片、F R B 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および O X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含む、融合ポリペプチド。

(項目 1 3 9)

融合ポリペプチドであって、

(a) F K B P 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および / または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) ポリペプチド切断シグナル ; ならびに

(c) 抗体またはその抗原結合断片、F R B 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および T N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含む、融合ポリペプチド。

10

(項目 1 4 0)

融合ポリペプチドであって、

(a) F R B 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および / または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) 抗体またはその抗原結合断片、F K B P 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および O X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含む融合ポリペプチド。

20

(項目 1 4 1)

融合ポリペプチドであって、

(a) F R B 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および / または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) ポリペプチド切断シグナル ; ならびに

(c) 抗体またはその抗原結合断片、F K B P 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および T N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含む、融合ポリペプチド。

(項目 1 4 2)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、T 細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 3 、C D 4 、C D 5 、C D 8 、C D 9 、C D 1 6 、C D 2 2 、C D 2 7 、C D 2 8 、C D 3 3 、C D 3 7 、C D 4 5 、C D 6 4 、C D 8 0 、C D 8 6 、C D 1 3 4 、C D 1 3 7 、C D 1 5 2 、C D 1 5 4 、A M N 、および P D C D 1 からなる群から選択されるポリペプチドから選択される、項目 1 3 8 ~ 1 4 1 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

30

(項目 1 4 3)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、C D 4 膜貫通ドメインおよび C D 8 膜貫通ドメインからなる群から選択されるポリペプチドから選択される、項目 1 3 8 ~ 1 4 2 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

40

(項目 1 4 4)

前記共刺激性ドメインおよび / または前記一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ (I T A M) を含有する、項目 1 3 8 ~ 1 4 3 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 4 5)

前記共刺激性ドメインは、T L R 1 、T L R 2 、T L R 3 、T L R 4 、T L R 5 、T L R 6 、T L R 7 、T L R 8 、T L R 9 、T L R 1 0 、C A R D 1 1 、C D 2 、C D 7 、C D 2 7 、C D 2 8 、C D 3 0 、C D 4 0 、C D 5 4 (I C A M) 、C D 8 3 、C D 9 4 、C D 1 3 4 (O X 4 0) 、C D 1 3 7 (4 - 1 B B) 、C D 2 7 8 (I C O S) 、D A P

50

10、LAT、SLP76、TRAF1、TNFR2、TNFRS14、TNFRS18、TNFRS25、およびZAP70からなる群から選択される共刺激性分子から単離される、項目138～144のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目146)

前記共刺激性ドメインは、CD28、CD134、およびCD137からなる群から選択される共刺激性分子から単離される、項目138～145のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目147)

前記共刺激性ドメインは、CD137共刺激性分子から単離される、項目138～146のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目148)

前記一次シグナル伝達ドメインは、FcR γ 、FcR δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD3 η 、CD3 ξ 、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66dからなる群から選択されるポリペプチドから単離される、項目138～147のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目149)

前記一次シグナル伝達ドメインは、CD3 ϵ ポリペプチドから単離される、項目138～148のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目150)

前記抗体またはその抗原結合断片が、ラクダIg γ 、ラマIg γ 、アルパカIg γ 、IgNA γ R、Fab'断片、F(ab') $_2$ 断片、二特異性Fab二量体(Fab $_2$)、三特異性Fab三量体(Fab $_3$)、Fv、一本鎖Fvタンパク質('scFv)、ビス-scFv、(scFv) $_2$ 、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化Fvタンパク質('dsFv)、およびシングルドメイン抗体(sdAb、ラクダ科VHH、ナノボディ)からなる群から選択される、項目138～149のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目151)

前記抗体またはその抗原結合断片が、ヒトまたはヒト化されている、項目138～150のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目152)

前記抗体またはその抗原結合断片が、scFvまたは一つ以上のラクダ科VHH抗体を含む、項目138～150のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目153)

前記抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍関連抗原(TAA)、腫瘍特異的抗原(TSA)、NKG2Dリガンド、T細胞受容体(TCR)リガンド、およびTCRリガンドからなる群から選択される抗原に結合する、項目138～152のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目154)

前記抗体またはその抗原結合断片が、FR γ 、 $\alpha_v\beta_6$ インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、Achr、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2 p95、IL-10R、IL-13R α_2 、Kappa、LAGE-1A、Lambda、LeY、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM

10

20

30

40

50

1 / C D 2 4 8、T E M 7 R、T P B G、U L B P 1、U L B P 2、U L B P 3、U L B P 4、U L B P 5、U L B P 6、V E G F R 2、および W T - 1 からなる群から選択される抗原に結合する、項目 1 3 8 ~ 1 5 3 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 5 5)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B C M A、B 7 - H 3、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 3、C D 7 9 A、C D 7 9 B および / または E G F R v I I I に結合する、項目 1 3 8 ~ 1 5 4 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 5 6)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B C M A に結合する、項目 1 3 8 ~ 1 5 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

10

(項目 1 5 7)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 1 9 に結合する、項目 1 3 8 ~ 1 5 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 5 8)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 2 0 または C D 2 2 に結合する、項目 1 3 8 ~ 1 5 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 5 9)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B 7 - H 3 に結合する、項目 1 3 8 ~ 1 5 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 6 0)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 3 3 に結合する、項目 1 3 8 ~ 1 5 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

20

(項目 1 6 1)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 7 9 A に結合する、項目 1 3 8 ~ 1 5 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 6 2)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 7 9 B に結合する、項目 1 3 8 ~ 1 5 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 6 3)

前記抗体またはその抗原結合断片が、E G F R v I I I に結合する、項目 1 3 8 ~ 1 5 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

30

(項目 1 6 4)

融合ポリペプチドであって、

(a) F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) ポリペプチド切断シグナル；ならびに

(c) 抗体またはその抗原結合断片、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、および T N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含む融合ポリペプチド。

40

(項目 1 6 5)

融合ポリペプチドであって、

(a) F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) ポリペプチド切断シグナル；ならびに

(c) 抗体またはその抗原結合断片、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、および O X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含む融合ポリペプチド。

(項目 1 6 6)

50

融合ポリペプチドであって、

(a) F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、 C D 8 膜貫通ドメイン、 C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) ポリペプチド切断シグナル；ならびに

(c) 抗体またはその抗原結合断片、 F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、 C D 4 膜貫通ドメイン、および T N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含む融合ポリペプチド。

(項目 1 6 7)

融合ポリペプチドであって、

(a) F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、 C D 8 膜貫通ドメイン、 C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) ポリペプチド切断シグナル；ならびに

(c) 抗体またはその抗原結合断片、 F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、 C D 4 膜貫通ドメイン、および O X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、を含む融合ポリペプチド。

(項目 1 6 8)

前記抗体またはその抗原結合断片が、ラクダ I g、ラマ I g、アルパカ I g、 I g N A R、 F a b ' 断片、 F (a b ')₂断片、二特異性 F a b 二量体 (F a b 2)、三特異性 F a b 三量体 (F a b 3)、 F v、一本鎖 F v タンパク質 (「 s c F v 」)、ビス - s c F v、 (s c F v)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化 F v タンパク質 (「 d s F v 」)、およびシングルドメイン抗体 (s d A b、ラクダ科 V H H、ナノボディ) からなる群から選択される、項目 1 6 4 ~ 1 6 7 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 6 9)

前記抗体またはその抗原結合断片が、ヒトまたはヒト化されている、項目 1 6 4 ~ 1 6 8 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 7 0)

前記抗体またはその抗原結合断片が、 s c F v または一つ以上のラクダ科 V H H 抗体を含む、項目 1 6 4 ~ 1 6 9 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 7 1)

前記抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍関連抗原 (T A A)、腫瘍特異的抗原 (T S A)、 N K G 2 D リガンド、 T 細胞受容体 (T C R) リガンド、および T C R リガンドからなる群から選択される抗原に結合する、項目 1 6 4 ~ 1 7 0 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 7 2)

前記抗体またはその抗原結合断片が、 F R 、 v₆ インテグリン、 B C M A、 B 7 - H 3、 B 7 - H 6、 C A I X、 C D 1 6、 C D 1 9、 C D 2 0、 C D 2 2、 C D 3 0、 C D 3 3、 C D 3 7、 C D 3 8、 C D 4 4、 C D 4 4 v 6、 C D 4 4 v 7 / 8、 C D 7 0、 C D 7 9 a、 C D 7 9 b、 C D 1 2 3、 C D 1 3 3、 C D 1 3 8、 C D 1 7 1、 C E A、 C L D N 6、 C L D N 1 8 . 2、 C L L - 1、 C S - 1、 C S P G 4、 C T A G E 1、 D L L 3、 E G F R、 E G F R v I I I、 E G P 2、 E G P 4 0、 E P C A M、 E P H A 2、 E R B B 4、 F A P、 F C R L 5、 A c h R、 G D 2、 G D 3、 G P C 3、 H E R 2、 H E R 2 p 9 5、 I L - 1 0 R、 I L - 1 3 R₂、 K a p p a、 L A G E - 1 A、 L a m b d a、 L e Y、 L 1 - C A M、 M A G E - A 1、 M A G E - A 3、 M A G E - A 4、 M A G E - A 6、 M A G E A 1 0、 M e l a n A または M A R T 1、 S L N)、 M U C 1、 M U C 1 6、 M I C A、 M I C B、 N C A M、 N Y - E S O - 1、 P L A C 1、 P R A M E、 P S C A、 P S M A、 R O R 1、 S S X 2、 サバイビン、 T A G 7 2、 T E M 1 / C D 2 4 8、 T E M 7 R、 T P B G、 U L B P 1、 U L B P 2、 U L B P 3、 U L B

10

20

30

40

50

P 4、U L B P 5、U L B P 6、V E G F R 2、およびW T - 1からなる群から選択される抗原に結合する、項目 1 6 4 ~ 1 7 1 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 7 3)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B C M A、B 7 - H 3、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 3、C D 7 9 A、C D 7 9 B および / または E G F R v I I I に結合する、項目 1 6 4 ~ 1 7 2 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 7 4)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B C M A に結合する、項目 1 6 4 ~ 1 7 3 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 7 5)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 1 9 に結合する、項目 1 6 4 ~ 1 7 3 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 7 6)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 2 0 または C D 2 2 に結合する、項目 1 6 4 ~ 1 7 3 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 7 7)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B 7 - H 3 に結合する、項目 1 6 4 ~ 1 7 3 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 7 8)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 3 3 に結合する、項目 1 6 4 ~ 1 7 3 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 7 9)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 7 9 A に結合する、項目 1 6 4 ~ 1 7 3 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 8 0)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 7 9 B に結合する、項目 1 6 4 ~ 1 7 3 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 8 1)

前記抗体またはその抗原結合断片は、E G F R v I I I に結合し、任意で前記抗体は、E G F R 8 0 6 またはその抗原結合断片である、項目 1 6 4 ~ 1 7 3 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 8 2)

前記多量体形成ドメインは、前記第一のポリペプチドと前記第二のポリペプチドが発現されるとき、細胞外に局在する、項目 1 6 4 ~ 1 8 1 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 8 3)

前記ポリペプチド切断シグナルが、ウイルス自己切断ポリペプチドである、項目 8 4 ~ 1 8 2 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 8 4)

前記ポリペプチド切断シグナルが、ウイルス自己切断 2 A ポリペプチドである、項目 8 4 ~ 1 8 3 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 8 5)

前記ポリペプチド切断シグナルは、口蹄疫ウイルス (F M D V) (F 2 A) ペプチド、ウマ鼻炎 A ウイルス (E R A V) (E 2 A) ペプチド、T h o s e a a s i g n a ウイルス (T a V) (T 2 A) ペプチド、ブタテッシュウウイルス - 1 (P T V - 1) (P 2 A) ペプチド、タイロウイルス 2 A ペプチド、および脳心筋炎ウイルス 2 A ペプチドからなる群から選択されるウイルス自己切断ポリペプチドである、項目 8 4 ~ 1 8 4 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド。

(項目 1 8 6)

項目 1 ~ 8 3 のいずれか一項に記載の第一または第二のポリペプチドをコードする、ま

10

20

30

40

50

たは項目 8 4 ~ 1 8 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド。

(項目 1 8 7)

項目 1 ~ 8 3 のいずれか一項に記載の第一または第二のポリペプチドをコードする、または項目 8 4 ~ 1 8 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドをコードする、cDNA。

(項目 1 8 8)

項目 1 ~ 8 3 のいずれか一項に記載の第一または第二のポリペプチドをコードする、または項目 8 4 ~ 1 8 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドをコードする、RNA。

(項目 1 8 9)

項目 1 8 6 ~ 1 8 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含有するベクター。

10

(項目 1 9 0)

前記ベクターが、発現ベクターである、項目 1 8 9 に記載のベクター。

(項目 1 9 1)

前記ベクターが、トランスポゾンである、項目 1 8 9 に記載のベクター。

(項目 1 9 2)

前記ベクターが、piggyBACトランスポゾンまたはSleeping Beautyトランスポゾンである、項目 1 9 1 に記載のベクター。

(項目 1 9 3)

前記ベクターが、ウイルスベクターである、項目 1 8 9 に記載のベクター。

(項目 1 9 4)

20

前記ベクターが、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター、ヘルペスウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、またはレトロウイルスベクターである、項目 1 9 3 に記載のベクター。

(項目 1 9 5)

前記レトロウイルスベクターが、レンチウイルスベクターである、項目 1 9 4 に記載のベクター。

(項目 1 9 6)

前記レンチウイルスベクターが、ヒト免疫不全ウイルス1(HIV-1)、ヒト免疫不全ウイルス2(HIV-2)、ピスナ-マエディウイルス(VMV)ウイルス、ヤギ関節炎脳炎ウイルス(CAEV)、ウマ伝染性貧血ウイルス(EIAV)、ネコ免疫不全ウイルス(FIV)、ウシ免疫不全ウイルス(BIV)、およびサル免疫不全ウイルス(SIV)からなる群から選択される、項目 1 9 5 に記載のベクター。

30

(項目 1 9 7)

項目 1 ~ 8 3 のいずれか一項に記載の非天然細胞、項目 8 4 ~ 1 8 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド、項目 1 8 6 ~ 1 8 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、または項目 1 8 9 ~ 1 9 6 のいずれか一項に記載のベクターを含む、組成物。

(項目 1 9 8)

薬学的に許容される担体、および項目 1 ~ 8 3 のいずれか一項に記載の非天然細胞、項目 8 4 ~ 1 8 5 のいずれか一項に記載の融合ポリペプチド、項目 1 8 6 ~ 1 8 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、または項目 1 8 9 ~ 1 9 6 のいずれか一項に記載のベクターを含む医薬組成物。

40

(項目 1 9 9)

その必要のある対象を治療する方法であって、項目 1 9 7 または項目 1 9 8 に記載の組成物の有効量を前記対象に投与することを含む、方法。

(項目 2 0 0)

癌、感染性疾患、自己免疫性疾患、炎症性疾患および免疫不全の少なくとも一つの症状、もしくはそれらと関連する状態を治療、予防または改善する方法であって、項目 1 9 7 または項目 1 9 8 に記載の組成物の有効量を前記対象に投与することを含む、方法。

(項目 2 0 1)

固形癌を治療する方法であって、項目 1 9 7 または項目 1 9 8 に記載の組成物の有効量

50

を前記対象に投与することを含む、方法。

(項目 2 0 2)

前記固形癌は、肝癌、膵臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、精巣癌、膀胱癌、脳腫瘍、肉腫、頭頸部癌、骨癌、甲状腺癌、腎癌、または皮膚癌を含む、項目 2 0 1 に記載の方法。

(項目 2 0 3)

前記固形癌は、膵臓癌、肺癌または乳癌である、項目 2 0 1 または 2 0 2 に記載の方法。

(項目 2 0 4)

悪性血液疾患を治療する方法であって、項目 1 9 7 または項目 1 9 8 に記載の組成物の有効量を前記対象に投与することを含む、方法。

(項目 2 0 5)

前記悪性血液疾患は、白血病、リンパ腫または多発性骨髄腫である、項目 2 0 4 に記載の方法。

(項目 2 0 6)

ポリペプチド複合体であって、

(a) 第一の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、第一の共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、ならびに

(b) 細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、および第二の共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに

(c) 前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、架橋因子、を含むポリペプチド複合体。

(項目 2 0 7)

前記第一および第二の多量体形成ドメインが、異なっている、項目 2 0 6 に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 0 8)

前記第一および第二の共刺激性ドメインが、異なっている、項目 2 0 6 または項目 2 0 7 に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 0 9)

前記第一の多量体形成ドメインおよび前記第二の多量体形成ドメインは、ラパマイシンまたはそのラパログ、クーママイシンまたはその誘導体、ジベレリンまたはその誘導体、アブシジン酸 (ABA) またはその誘導体、メトトレキサートまたはその誘導体、シクロスポリン A またはその誘導体、FK506 / シクロスポリン A (FKCsA) またはその誘導体、およびトリメトプリム (Tmp) - FK506 結合タンパク質 (FKBP) の合成リガンド (SLF) またはその誘導体、からなる群から選択される架橋因子と会合する、項目 2 0 6 ~ 2 0 8 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 1 0)

前記第一の多量体形成ドメインおよび前記第二の多量体形成ドメインは、FKBP と FKBP - rapamycin binding (FRB)、FKBP とカルシニューリン、FKBP とシクロフィリン、FKBP と細菌ジヒドロ葉酸レダクターゼ (DHFR)、カルシニューリンとシクロフィリン、および PYR1-like 1 (PYL1) と abscisic acid insensitive 1 (ABI1) からなる群から選択されるペアである、項目 2 0 6 ~ 2 0 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 1 1)

前記第一の多量体形成ドメインは、FKBP ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、前記第二の多量体形成ドメインは、FRB ポリペプチドまたはそのバリエーションを含む、項目 2 0 6 ~ 2 1 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 1 2)

前記第一の多量体形成ドメインは、FRB ポリペプチドまたはそのバリエーションを含み、

10

20

30

40

50

前記第二の多量体形成ドメインは、FKBPポリペプチドまたはそのバリエーションを含む、項目206～211のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目213)

前記架橋因子が、AP21967、シロリムス、エベロリムス、ノボリムス、ピメクロリムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス、およびゾタロリムスからなる群から選択される、項目206～212のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目214)

前記第一および第二の多量体形成ドメインは、FRBT2098LおよびFKBP12から選択され、前記架橋因子は、シロリムスまたはAP21967である、項目206～213のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

10

(項目215)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、CD3、CD3、CD3、CD3、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、CD278、アムニオンレス (AMN)、およびprogrammed cell death 1 (PDCD1) からなる群から選択されるポリペプチドから選択される、項目206～214のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

20

(項目216)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、CD4膜貫通ドメイン、CD8膜貫通ドメイン、およびAMN膜貫通ドメインからなる群から選択される、項目206～215のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目217)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは、異なっている、項目206～216のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目218)

前記共刺激性ドメインおよび/または前記一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ (ITAM) を含有する、項目206～217のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

30

(項目219)

前記第一および第二の共刺激性ドメインは独立して、Toll様受容体1 (TLR1)、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、caspase recruitment domain family member 11 (CARD11)、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54 (ICAM)、CD83、CD94、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD278 (ICOS)、DNAX-Activation Protein 10 (DAP10)、Linker for activation of T-cells family member 1 (LAT)、SH2 Domain-Containing Leukocyte Protein Of 76 kD (SLP76)、T cell receptor associated transmembrane adaptor 1 (TRAT1)、TNFR2、TNFRS14、TNFRS18、TNFRS25、およびzeta chain of T cell receptor associated protein kinase 70 (ZAP70) からなる群から選択される共刺激性分子から単離される、項目206～218のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

40

(項目220)

前記第一の共刺激性ドメインは、CD28、CD134およびCD137からなる群から選択される共刺激性分子から単離され、前記第二の共刺激性ドメインは、CD28、C

50

D 2 7 8、T N F R S 1 4、T N F R S 1 8、T N F R S 2 5、O X 4 0 または T N F R 2 から単離される、項目 2 0 6 ~ 2 1 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 2 1)

前記第一の共刺激性ドメインは、C D 1 3 7 から単離され、前記第二の共刺激性ドメインは、O X 4 0 または T N F R 2 から単離される、項目 2 0 6 ~ 2 2 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 2 2)

前記第一の共刺激性ドメインは、C D 1 3 7 から単離され、前記第二の共刺激性ドメインは、O X 4 0 から単離される、項目 2 0 6 ~ 2 2 1 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 2 3)

前記第一の共刺激性ドメインは、C D 1 3 7 から単離され、前記第二の共刺激性ドメインは、T N F R 2 から単離される、項目 2 0 6 ~ 2 2 1 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 2 4)

前記一次シグナル伝達ドメインは、F c R 、 F c R 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 2 2、C D 7 9 a、C D 7 9 b、および C D 6 6 d からなる群から選択されるポリペプチドから単離される、項目 2 0 6 ~ 2 2 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 2 5)

前記一次シグナル伝達ドメインは、C D 3 ポリペプチドから単離される、項目 2 0 6 ~ 2 2 4 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 2 6)

前記細胞外結合ドメインは、抗体もしくはその抗原結合断片、受容体細胞外ドメイン、またはリガンドを含む、項目 2 0 6 ~ 2 2 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 2 7)

前記細胞外結合ドメインは、ラクダ I g、リヤマ I g、アルパカ I g、I g N A R、F a b ' 断片、F (a b ')₂断片、二特異性 F a b 二量体 (F a b 2)、三特異性 F a b 三量体 (F a b 3)、F v、一本鎖 F v タンパク質 (s c F v)、b i s - s c F v、(s c F v)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化 F v タンパク質 (d s F v)、およびシングルドメイン抗体 (s d A b、ラクダ科 V H H、ナノボディ) からなる群から選択される抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 2 0 6 ~ 2 2 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 2 8)

前記細胞外結合ドメインが、ヒト化抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 2 0 6 ~ 2 2 7 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 2 9)

前記細胞外結合ドメインが、ヒト抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 2 0 6 ~ 2 2 7 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 3 0)

前記細胞外結合ドメインが、s c F v を含む、項目 2 0 6 ~ 2 2 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 3 1)

前記細胞外結合ドメインが、一つ以上のラクダ科 V H H 抗体を含む、項目 2 0 6 ~ 2 2 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 3 2)

前記細胞外結合ドメインは、腫瘍関連抗原 (T A A)、腫瘍特異的抗原 (T S A)、N K G 2 D リガンド、T 細胞受容体 (T C R) リガンド、および T C R リガンドからなる群から選択される抗原に結合する、項目 2 0 6 ~ 2 3 1 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

10

20

30

40

50

(項目 2 3 3)

前記細胞外結合ドメインが、FR、 _v ₆インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD133、CD138、CD171、CEA、CLDN6、CLDN18.2、CLL-1、CS-1、CSPG4、CTAGE1、DLL3、EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、AChR、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2p95、IL-10R、IL-13R₂、Kappa、LAGE-1A、Lambd_a、LeY、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイピン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT-1からなる群から選択される抗原に結合する、項目206～232のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

10

(項目 2 3 4)

ポリペプチド複合体であって、
 (a) 第一の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、
 (b) 細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびOX40共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに
 (c) 前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、架橋因子、を含むポリペプチド複合体。

20

(項目 2 3 5)

ポリペプチド複合体であって、
 (a) 第一の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、
 (b) 細胞外結合ドメイン、第二の多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、第二の膜貫通ドメイン、およびTNFR2共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに
 (c) 前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、架橋因子、を含むポリペプチド複合体。

30

(項目 2 3 6)

前記第一および第二の多量体形成ドメインが、同じである、項目234または項目235に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 3 7)

前記第一および第二の多量体形成ドメインが、異なっている、項目234または項目236に記載のポリペプチド複合体。

40

(項目 2 3 8)

前記第一の多量体形成ドメインおよび前記第二の多量体形成ドメインは、ラパマイシンまたはそのラパログ、クーママイシンまたはその誘導体、ジベレリンまたはその誘導体、ABAまたはその誘導体、メトトレキサートまたはその誘導体、シクロスポリンAまたはその誘導体、FKCsAまたはその誘導体、およびSLFまたはその誘導体からなる群から選択される架橋因子と会合する、項目234～237のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 3 9)

50

前記第一の多量体形成ドメインおよび前記第二の多量体形成ドメインは、FKBPとFRB、FKBPとカルシニューリン、FKBPとシクロフィリン、FKBPとDHFR、カルシニューリンとシクロフィリン、およびPYL1とABI1からなる群から選択されるペアである、項目234～238のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目240)

前記第一の多量体形成ドメインは、FKBPポリペプチドまたはそのバリエントを含み、前記第二の多量体形成ドメインは、FRBポリペプチドまたはそのバリエントを含む、項目234～239のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目241)

前記第一の多量体形成ドメインは、FRBポリペプチドまたはそのバリエントを含み、前記第二の多量体形成ドメインは、FKBPポリペプチドまたはそのバリエントを含む、項目234～239のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

10

(項目242)

前記架橋因子が、AP21967、シロリムス、エベロリムス、ノボリムス、ピメクロリムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス、およびゾタロリムスからなる群から選択される、項目234～241のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目243)

前記第一および第二の多量体形成ドメインは、FRBT2098LおよびFKBP12から選択され、前記架橋因子は、シロリムスまたはAP21967である、項目234～242のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

20

(項目244)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、CD3、CD3、CD3、CD3、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、AMN、およびPD1からなる群から選択されるポリペプチドから選択される、項目234～243のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目245)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは、CD4膜貫通ドメインおよびCD8膜貫通ドメインからなる群から独立して選択される、項目234～244のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

30

(項目246)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは、同じである、項目234～245のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目247)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは、異なっている、項目234～245のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目248)

前記共刺激性ドメインおよび/または前記一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ(ITAM)を含有する、項目234～247のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

40

(項目249)

前記共刺激性ドメインは、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、CARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54(ICAM)、CD83、CD94、CD134(OX40)、CD137(4-1BB)、CD278(ICOS)、DAP10、LAT、SLP76、TRAT1、TNFR2およびZAP70からなる群から選択される共刺激性分子から単離される、項目234～248のいずれか一項に記載のポリ

50

ペプチド複合体。

(項目 2 5 0)

前記共刺激性ドメインは、C D 2 8、C D 1 3 4、およびC D 1 3 7 からなる群から選択される共刺激性分子から単離される、項目 2 3 4 ~ 2 4 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 5 1)

前記共刺激性ドメインは、C D 1 3 7 共刺激性分子から単離される、項目 2 3 4 ~ 2 5 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 5 2)

前記一次シグナル伝達ドメインは、F c R 、 F c R 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 2 2、C D 7 9 a、C D 7 9 b、およびC D 6 6 d からなる群から選択されるポリペプチドから単離される、項目 2 3 4 ~ 2 5 1 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 5 3)

前記一次シグナル伝達ドメインは、C D 3 ポリペプチドから単離される、項目 2 3 4 ~ 2 5 2 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 5 4)

前記細胞外結合ドメインは、抗体もしくはその抗原結合断片、受容体細胞外ドメイン、またはリガンドを含む、項目 2 3 4 ~ 2 5 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 5 5)

前記細胞外結合ドメインは、ラクダI g、リヤマI g、アルパカI g、I g N A R、F a b ' 断片、F (a b ')₂断片、二特異性F a b 二量体 (F a b 2)、三特異性F a b 三量体 (F a b 3)、F v、一本鎖F vタンパク質 (s c F v)、b i s - s c F v、(s c F v)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化F vタンパク質 (d s F v)、およびシングルドメイン抗体 (s d A b、ラクダ科V H H、ナノボディ) からなる群から選択される抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 2 3 4 ~ 2 5 4 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 5 6)

前記細胞外結合ドメインが、ヒト化抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 2 3 4 ~ 2 5 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 5 7)

前記細胞外結合ドメインが、ヒト抗体またはその抗原結合断片を含む、項目 2 3 4 ~ 2 5 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 5 8)

前記細胞外結合ドメインが、s c F vを含む、項目 2 3 4 ~ 2 5 7 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 5 9)

前記細胞外結合ドメインが、一つ以上のラクダ科V H H抗体を含む、項目 2 3 4 ~ 2 5 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 6 0)

前記細胞外結合ドメインは、腫瘍関連抗原 (T A A)、腫瘍特異的抗原 (T S A)、N K G 2 D リガンド、T 細胞受容体 (T C R) リガンド、および T C R リガンドからなる群から選択される抗原に結合する、項目 2 3 4 ~ 2 5 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 6 1)

前記細胞外結合ドメインが、F R 、_v 6 インテグリン、B C M A、B 7 - H 3、B 7 - H 6、C A I X、C D 1 6、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 0、C D 3 3、C D 3 7、C D 3 8、C D 4 4、C D 4 4 v 6、C D 4 4 v 7 / 8、C D 7 0、C D 7 9 a、C D 7 9 b、C D 1 2 3、C D 1 3 3、C D 1 3 8、C D 1 7 1、C E A、C L D N 6、C L D N 1 8、2、C L L - 1、C S - 1、C S P G 4、C T A G E 1、D L L 3、

10

20

30

40

50

EGFR、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EPHA2、ERBB4、FAP、FCRL5、Achr、GD2、GD3、GPC3、HER2、HER2p95、IL-10R、IL-13R2、Kappa、LAGE-1A、Lambd a、LeY、L1-CAM、MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A6、MAGEA10、MelanAまたはMART1、SLN)、MUC1、MUC16、MICA、MICB、NCAM、NY-ESO-1、PLAC1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX2、サバイビン、TAG72、TEM1/CD248、TEM7R、TPBG、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、VEGFR2、およびWT-1からなる群から選択される抗原に結合する、項目234～260のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

10

(項目262)

ポリペプチド複合体であって、

(a) FKB P多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエント、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) 抗体またはその抗原結合断片、FRB多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエント、第二の膜貫通ドメイン、およびOX40共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに

(c) 前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、架橋因子、を含むポリペプチド複合体。

20

(項目263)

ポリペプチド複合体であって、

(a) FKB P多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエント、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) 抗体またはその抗原結合断片、FRB多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエント、第二の膜貫通ドメイン、およびTNFR2共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに

(c) 前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、架橋因子、を含むポリペプチド複合体。

30

(項目264)

ポリペプチド複合体であって、

(a) FRB多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエント、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) 抗体またはその抗原結合断片、FKB P多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエント、第二の膜貫通ドメイン、およびOX40共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに

(c) 前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、架橋因子、を含むポリペプチド複合体。

40

(項目265)

ポリペプチド複合体であって、

(a) FRB多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエント、第一の膜貫通ドメイン、共刺激性ドメイン、および/または一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) 抗体またはその抗原結合断片、FKB P多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエント、第二の膜貫通ドメイン、およびTNFR2共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに

(c) 前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、架橋因子、を含むポリペプチド複合体。

50

(項目 2 6 6)

前記架橋因子が、AP 2 1 9 6 7、シロリムス、エベロリムス、ノボリムス、ピメクロリムス、リダフォロリムス、タクロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス、およびゾタロリムスからなる群から選択される、項目 2 6 2 ~ 2 6 5のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 6 7)

前記 F R B 多量体形成ドメインは、F R B T 2 0 9 8 Lであり、F K B P 多量体形成ドメインは F K B P 1 2であり、架橋因子は、シロリムスまたは AP 2 1 9 6 7である、項目 2 6 2 ~ 2 6 6のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 6 8)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、T 細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖、ガンマ鎖またはデルタ鎖、C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 4、C D 5、C D 8 、 C D 9、C D 1 6、C D 2 2、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 3、C D 3 7、C D 4 5、C D 6 4、C D 8 0、C D 8 6、C D 1 3 4、C D 1 3 7、C D 1 5 2、C D 1 5 4、AMN、および P D C D 1からなる群から選択されるポリペプチドから選択される、項目 2 6 2 ~ 2 6 7のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 6 9)

前記第一の膜貫通ドメインおよび前記第二の膜貫通ドメインは独立して、C D 4 膜貫通ドメインおよび C D 8 膜貫通ドメインからなる群から選択されるポリペプチドから選択される、項目 2 6 2 ~ 2 6 8のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 7 0)

前記共刺激性ドメインおよび / または前記一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ (I T A M)を含有する、項目 2 6 2 ~ 2 6 9のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 7 1)

前記共刺激性ドメインは、T L R 1、T L R 2、T L R 3、T L R 4、T L R 5、T L R 6、T L R 7、T L R 8、T L R 9、T L R 1 0、C A R D 1 1、C D 2、C D 7、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 0、C D 4 0、C D 5 4 (I C A M)、C D 8 3、C D 9 4、C D 1 3 4 (O X 4 0)、C D 1 3 7 (4 - 1 B B)、C D 2 7 8 (I C O S)、D A P 1 0、L A T、S L P 7 6、T R A T 1、T N F R 2および Z A P 7 0からなる群から選択される共刺激性分子から単離される、項目 2 6 2 ~ 2 7 0のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 7 2)

前記共刺激性ドメインは、C D 2 8、C D 1 3 4、および C D 1 3 7からなる群から選択される共刺激性分子から単離される、項目 2 6 2 ~ 2 7 1のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 7 3)

前記共刺激性ドメインは、C D 1 3 7 共刺激性分子から単離される、項目 2 6 2 ~ 2 7 2のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 7 4)

前記一次シグナル伝達ドメインは、F c R 、 F c R 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 2 2、C D 7 9 a、C D 7 9 b、および C D 6 6 dからなる群から選択されるポリペプチドから単離される、項目 2 6 2 ~ 2 7 3のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 7 5)

前記一次シグナル伝達ドメインは、C D 3 ポリペプチドから単離される、項目 2 6 2 ~ 2 7 4のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 7 6)

前記抗体またはその抗原結合断片が、ラクダ I g、ラマ I g、アルパカ I g、I g N A

10

20

30

40

50

R、F a b ' 断片、F (a b ')₂断片、二特異性F a b 二量体 (F a b 2)、三特異性F a b 三量体 (F a b 3)、F v、一本鎖F vタンパク質 (「s c F v」)、ビス-s c F v、(s c F v)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化F vタンパク質 (「d s F v」)、およびシングルドメイン抗体 (s d A b、ラクダ科V H H、ナノボディ) からなる群から選択される、項目2 6 2 ~ 2 7 5のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目2 7 7)

前記抗体またはその抗原結合断片が、ヒトまたはヒト化されている、項目2 6 2 ~ 2 7 6のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目2 7 8)

前記抗体またはその抗原結合断片が、s c F vまたは一つ以上のラクダ科V H H抗体を含む、項目2 6 2 ~ 2 7 7のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目2 7 9)

前記抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍関連抗原 (T A A)、腫瘍特異的抗原 (T S A)、N K G 2 Dリガンド、T細胞受容体 (T C R)リガンド、およびT C Rリガンドからなる群から選択される抗原に結合する、項目2 6 2 ~ 2 7 8のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目2 8 0)

前記抗体またはその抗原結合断片が、F R、v₆インテグリン、B C M A、B 7 - H 3、B 7 - H 6、C A I X、C D 1 6、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 0、C D 3 3、C D 3 7、C D 3 8、C D 4 4、C D 4 4 v 6、C D 4 4 v 7 / 8、C D 7 0、C D 7 9 a、C D 7 9 b、C D 1 2 3、C D 1 3 3、C D 1 3 8、C D 1 7 1、C E A、C L D N 6、C L D N 1 8 . 2、C L L - 1、C S - 1、C S P G 4、C T A G E 1、D L L 3、E G F R、E G F R v I I I、E G P 2、E G P 4 0、E P C A M、E P H A 2、E R B B 4、F A P、F C R L 5、A c h R、G D 2、G D 3、G P C 3、H E R 2、H E R 2 p 9 5、I L - 1 0 R、I L - 1 3 R₂、K a p p a、L A G E - 1 A、L a m b d a、L e Y、L 1 - C A M、M A G E - A 1、M A G E - A 3、M A G E - A 4、M A G E - A 6、M A G E A 1 0、M e l a n AまたはM A R T 1、S L N)、M U C 1、M U C 1 6、M I C A、M I C B、N C A M、N Y - E S O - 1、P L A C 1、P R A M E、P S C A、P S M A、R O R 1、S S X 2、サバイピン、T A G 7 2、T E M 1 / C D 2 4 8、T E M 7 R、T P B G、U L B P 1、U L B P 2、U L B P 3、U L B P 4、U L B P 5、U L B P 6、V E G F R 2、およびW T - 1からなる群から選択される抗原に結合する、項目2 6 2 ~ 2 7 9のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目2 8 1)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B C M A、B 7 - H 3、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 3、C D 7 9 A、C D 7 9 Bおよび/またはE G F R v I I Iに結合する、項目2 6 2 ~ 2 8 0のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目2 8 2)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B C M Aに結合する、項目2 6 2 ~ 2 8 1のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目2 8 3)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 1 9に結合する、項目2 6 2 ~ 2 8 1のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目2 8 4)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 2 0またはC D 2 2に結合する、項目2 6 2 ~ 2 8 1のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目2 8 5)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B 7 - H 3に結合する、項目2 6 2 ~ 2 8 1のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目2 8 6)

10

20

30

40

50

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 3 3 に結合する、項目 2 6 2 ~ 2 8 1 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 8 7)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 7 9 A に結合する、項目 2 6 2 ~ 2 8 1 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 8 8)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 7 9 B に結合する、項目 2 6 2 ~ 2 8 1 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 8 9)

前記抗体またはその抗原結合断片が、E G F R v I I I に結合する、項目 2 6 2 ~ 2 8 1 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 9 0)

ポリペプチド複合体であって、

(a) F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) 抗体またはその抗原結合断片、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、および T N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに

(c) 前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、架橋因子、を含むポリペプチド複合体。

(項目 2 9 1)

ポリペプチド複合体であって、

(a) F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) 抗体またはその抗原結合断片、F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、および O X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに

(c) 前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、架橋因子、を含むポリペプチド複合体。

(項目 2 9 2)

ポリペプチド複合体であって、

(a) F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) 抗体またはその抗原結合断片、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、および T N F R 2 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに

(c) 前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それらの間に配置される、架橋因子、を含むポリペプチド複合体。

(項目 2 9 3)

ポリペプチド複合体であって、

(a) F R B T 2 0 9 8 L 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 8 膜貫通ドメイン、C D 1 3 7 共刺激性ドメイン、および C D 3 一次シグナル伝達ドメインを含む第一のポリペプチド、

(b) 抗体またはその抗原結合断片、F K B P 1 2 多量体形成ドメインポリペプチドまたはそのバリエーション、C D 4 膜貫通ドメイン、および O X 4 0 共刺激性ドメインを含む第二のポリペプチド、ならびに

(c) 前記第一および第二のポリペプチドの多量体形成ドメインと関連付けられ、それ

10

20

30

40

50

らの間に配置される、架橋因子、を含むポリペプチド複合体。

(項目 2 9 4)

前記架橋因子が、A P 2 1 9 6 7 またはシロリムスである、項目 2 9 0 ~ 2 9 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 9 5)

前記抗体またはその抗原結合断片が、ラクダ I g、ラマ I g、アルパカ I g、I g N A R、F a b ' 断片、F (a b ')₂断片、二特異性 F a b 二量体 (F a b 2)、三特異性 F a b 三量体 (F a b 3)、F v、一本鎖 F v タンパク質 (「 s c F v 」)、ビス - s c F v、(s c F v)₂、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化 F v タンパク質 (「 d s F v 」)、およびシングルドメイン抗体 (s d A b、ラクダ科 V H H、ナノボディ) からなる群から選択される、項目 2 9 0 ~ 2 9 4 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

10

(項目 2 9 6)

前記抗体またはその抗原結合断片が、ヒトまたはヒト化されている、項目 2 9 0 ~ 2 9 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 9 7)

前記抗体またはその抗原結合断片が、s c F v または一つ以上のラクダ科 V H H 抗体を含む、項目 2 9 0 ~ 2 9 6 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 2 9 8)

前記抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍関連抗原 (T A A)、腫瘍特異的抗原 (T S A)、N K G 2 D リガンド、T 細胞受容体 (T C R) リガンド、および T C R リガンドからなる群から選択される抗原に結合する、項目 2 9 0 ~ 2 9 7 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

20

(項目 2 9 9)

前記抗体またはその抗原結合断片が、F R、_v ₆ インテグリン、B C M A、B 7 - H 3、B 7 - H 6、C A I X、C D 1 6、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 0、C D 3 3、C D 3 7、C D 3 8、C D 4 4、C D 4 4 v 6、C D 4 4 v 7 / 8、C D 7 0、C D 7 9 a、C D 7 9 b、C D 1 2 3、C D 1 3 3、C D 1 3 8、C D 1 7 1、C E A、C L D N 6、C L D N 1 8 . 2、C L L - 1、C S - 1、C S P G 4、C T A G E 1、D L L 3、E G F R、E G F R v I I I I、E G P 2、E G P 4 0、E P C A M、E P H A 2、E R B B 4、F A P、F C R L 5、A c h R、G D 2、G D 3、G P C 3、H E R 2、H E R 2 p 9 5、I L - 1 0 R、I L - 1 3 R 2、K a p p a、L A G E - 1 A、L a m b d a、L e Y、L 1 - C A M、M A G E - A 1、M A G E - A 3、M A G E - A 4、M A G E - A 6、M A G E A 1 0、M e l a n A または M A R T 1、S L N)、M U C 1、M U C 1 6、M I C A、M I C B、N C A M、N Y - E S O - 1、P L A C 1、P R A M E、P S C A、P S M A、R O R 1、S S X 2、サバイピン、T A G 7 2、T E M 1 / C D 2 4 8、T E M 7 R、T P B G、U L B P 1、U L B P 2、U L B P 3、U L B P 4、U L B P 5、U L B P 6、V E G F R 2、および W T - 1 からなる群から選択される抗原に結合する、項目 2 9 0 ~ 2 9 8 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

30

(項目 3 0 0)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B C M A、B 7 - H 3、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 3、C D 7 9 A、C D 7 9 B および / または E G F R v I I I I に結合する、項目 2 9 0 ~ 2 9 9 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

40

(項目 3 0 1)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B C M A に結合する、項目 2 9 0 ~ 3 0 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 3 0 2)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 1 9 に結合する、項目 2 9 0 ~ 3 0 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 3 0 3)

50

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 2 0 または C D 2 2 に結合する、項目 2 9 0 ~ 3 0 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 3 0 4)

前記抗体またはその抗原結合断片が、B 7 - H 3 に結合する、項目 2 9 0 ~ 3 0 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 3 0 5)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 3 3 に結合する、項目 2 9 0 ~ 3 0 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 3 0 6)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 7 9 A に結合する、項目 2 9 0 ~ 3 0 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 3 0 7)

前記抗体またはその抗原結合断片が、C D 7 9 B に結合する、項目 2 9 0 ~ 3 0 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 3 0 8)

前記抗体またはその抗原結合断片は、E G F R v I I I に結合し、任意で前記抗体は、E G F R 8 0 6 またはその抗原結合断片である、項目 2 9 0 ~ 3 0 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

(項目 3 0 9)

前記多量体形成ドメインは、前記第一のポリペプチドと前記第二のポリペプチドが発現されるとき、細胞外に局在する、項目 2 9 0 ~ 3 0 0 のいずれか一項に記載のポリペプチド複合体。

【図面】

【図 1】

【図 1】

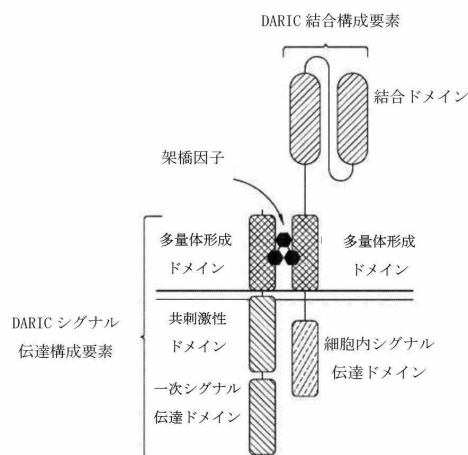


図 1

【図 2 - 1】

【図 2 - 1】

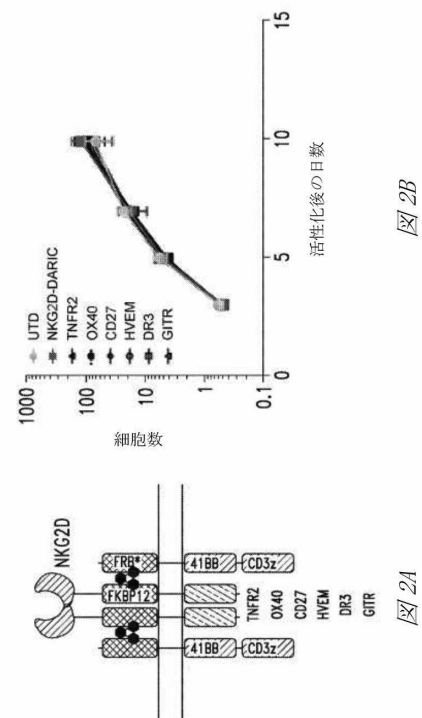


図 2B

図 2A

10

20

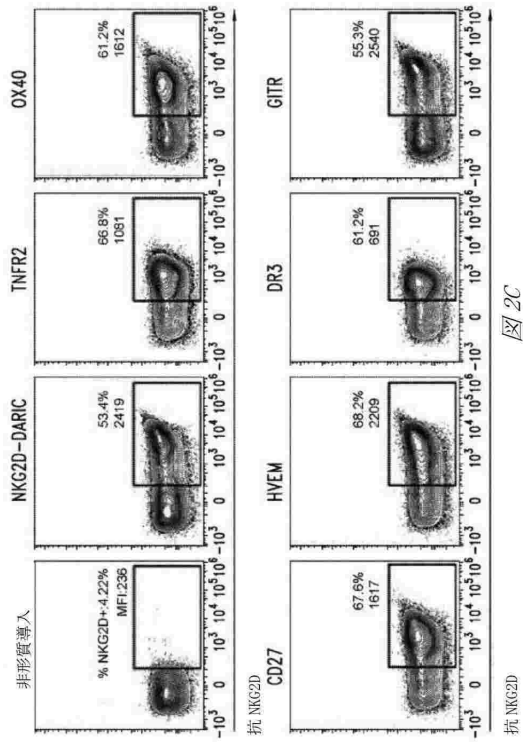
30

40

50

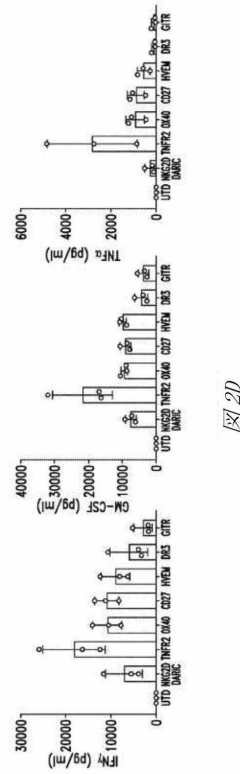
【図 2 - 2】

【図 2 - 2】



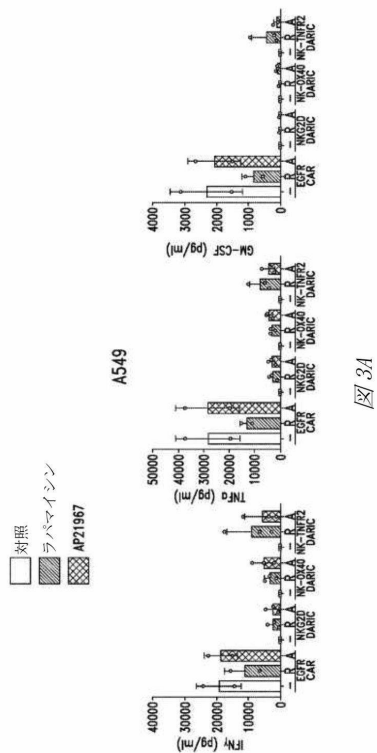
【図 2 - 3】

【図 2 - 3】



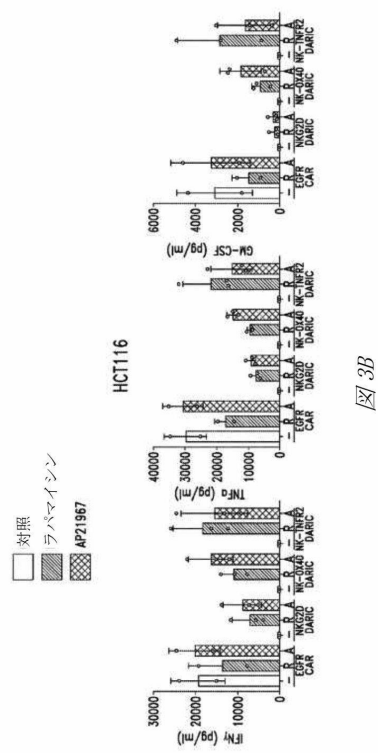
【図 3 - 1】

【図 3 - 1】



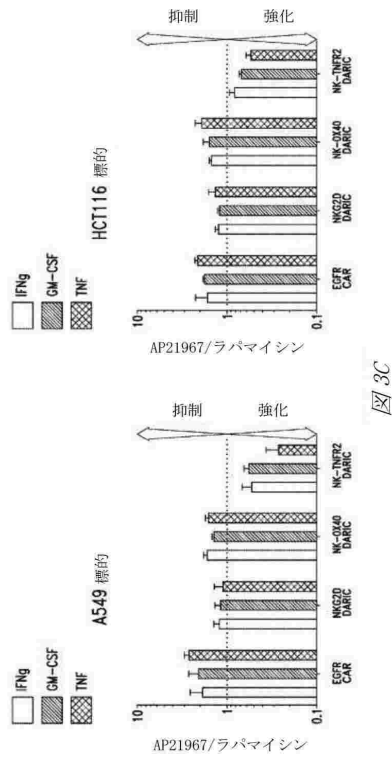
【図 3 - 2】

【図 3 - 2】



【図 3 - 3】

【図 3 - 3】



【図 4 - 1】

【図 4 - 1】

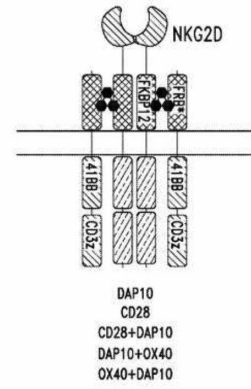


図 4A

【図 4 - 2】

【図 4 - 2】

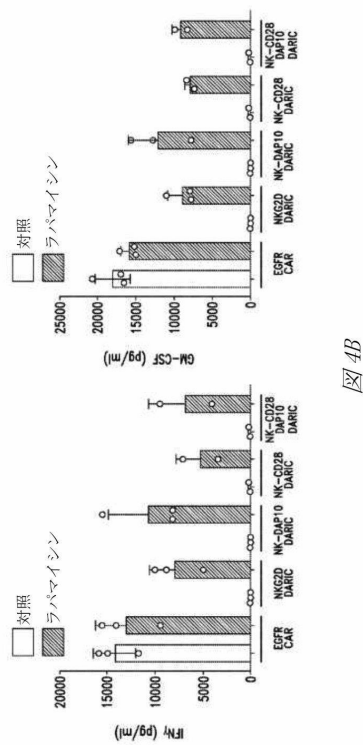


図 4B

【図 4 - 3】

【図 4 - 3】

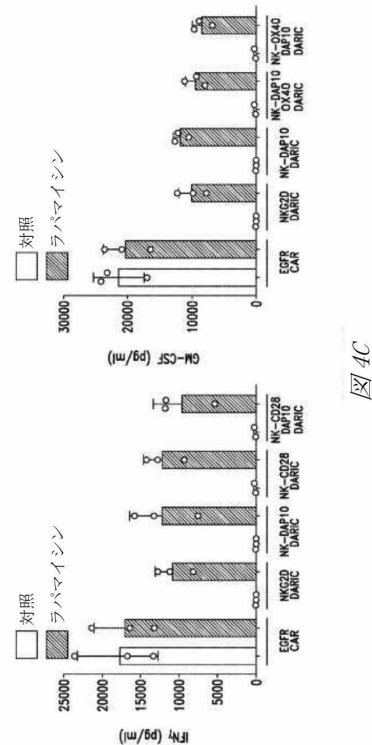


図 4C

10

20

30

40

50

【図 6 - 2】

【図 6 - 2】

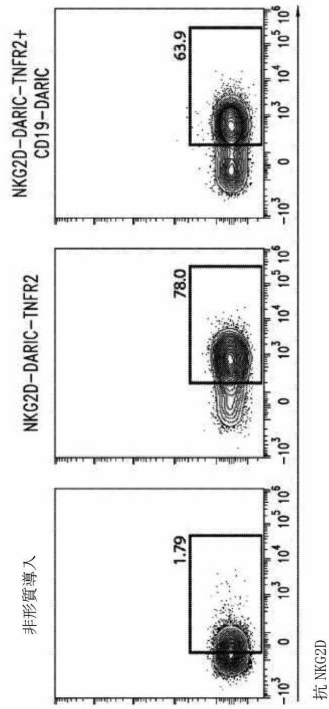


図 6B

【図 6 - 3】

【図 6 - 3】

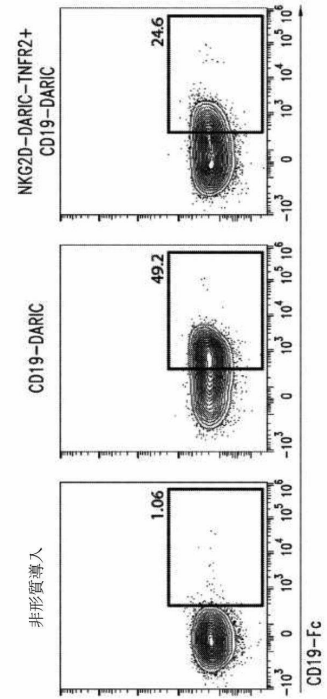


図 6C

【図 6 - 4】

【図 6 - 4】

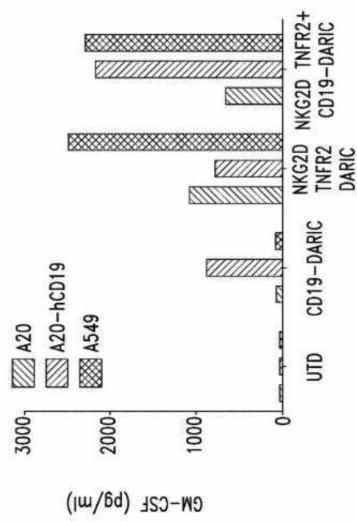


図 6D

【図 7 - 1】

【図 7 - 1】

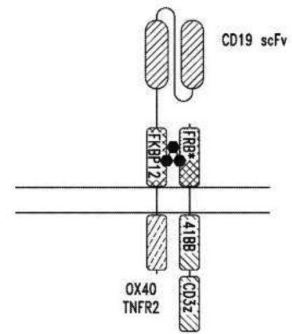


図 7A

10

20

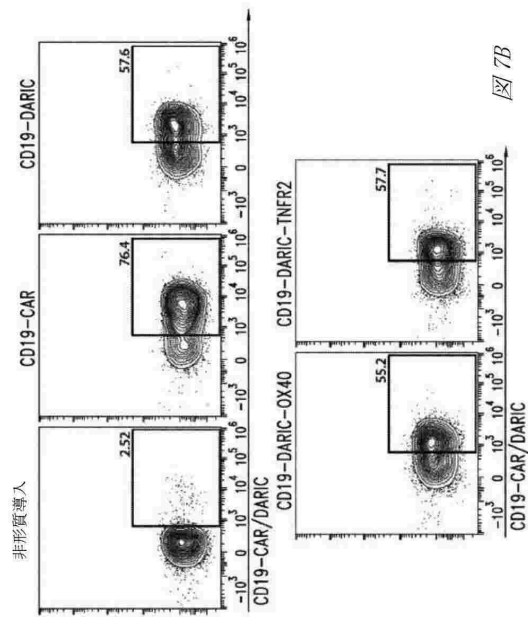
30

40

50

【図 7 - 2】

【図 7 - 2】



【図 7 - 3】

【図 7 - 3】

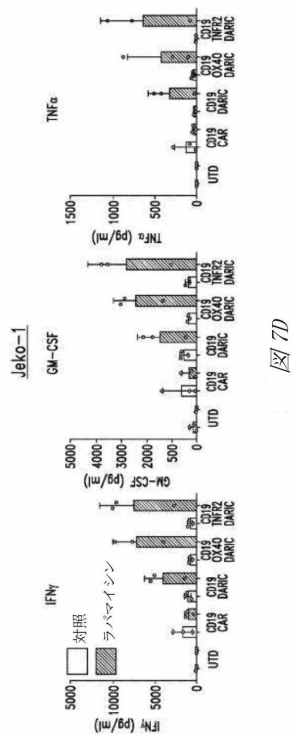


10

20

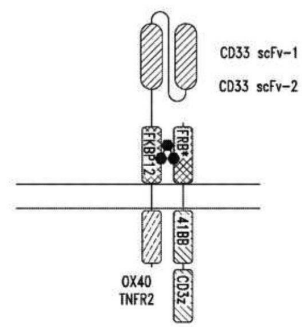
【図 7 - 4】

【図 7 - 4】



【図 8 - 1】

【図 8 - 1】



30

40

図 8A

50

【図 8 - 2】

【図 8 - 2】

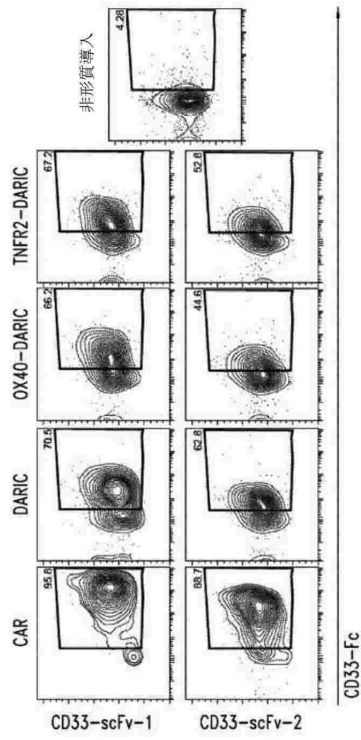


図 8B

【図 8 - 3】

【図 8 - 3】

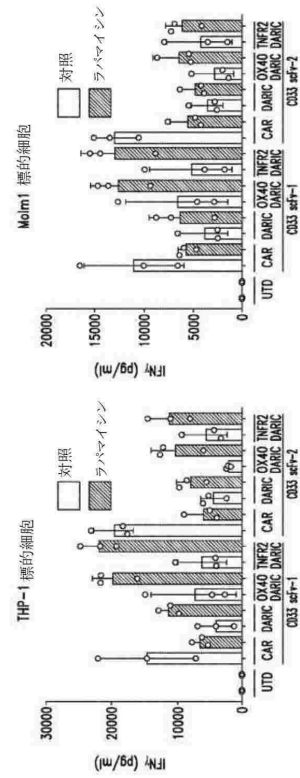


図 8C

【配列表】

0007636650000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 0 7 K	14/705 (2006.01)	C 0 7 K	14/705	
C 0 7 K	16/00 (2006.01)	C 0 7 K	16/00	
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00	
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

前置審査

ニュー エスダブリュー 1 1 0 1 4

(72)発明者 アストラカーン, アレクサンダー

アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 1 6, シアトル, 4 9 ティーエイチ アベニュー エスダブ
リュー 3 4 3 3

(72)発明者 レオン, ワイ - ハン

アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 9 9, シアトル, 2 2 エヌディー アベニュー ダブリュー
3 4 3 9 エー

審査官 長谷川 強

(56)参考文献 特表 2 0 1 6 - 5 3 1 5 6 7 (J P , A)

国際公開第 2 0 1 5 / 1 4 2 6 6 1 (W O , A 1)

国際公開第 2 0 1 7 / 1 8 0 9 9 3 (W O , A 1)

国際公開第 2 0 1 7 / 1 5 6 4 8 4 (W O , A 1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 1 2 N 5 / 1 0

A 6 1 K 3 5 / 1 2

A 6 1 P 3 5 / 0 0

A 6 1 P 3 5 / 0 2

A 6 1 P 3 7 / 0 2

C 1 2 N 1 / 1 5

C 1 2 N 1 / 1 9

C 1 2 N 1 / 2 1

C 0 7 K 1 4 / 7 0 5

C 0 7 K 1 6 / 0 0

C 0 7 K 1 9 / 0 0

C 1 2 N 1 5 / 1 3

C 1 2 N 1 5 / 6 2

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)