

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2022-508554

(P2022-508554A)

(43)公表日 令和4年1月19日(2022.1.19)

| (51)国際特許分類              | F I           | テーマコード(参考)        |
|-------------------------|---------------|-------------------|
| C 1 2 N 15/62 (2006.01) | C 1 2 N 15/62 | Z Z N A 4 B 0 6 3 |
| C 1 2 N 15/63 (2006.01) | C 1 2 N 15/63 | Z 4 B 0 6 5       |
| C 1 2 N 5/10 (2006.01)  | C 1 2 N 5/10  | 4 C 0 8 7         |
| C 1 2 Q 1/02 (2006.01)  | C 1 2 Q 1/02  |                   |
| C 1 2 N 15/12 (2006.01) | C 1 2 N 15/12 |                   |

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全323頁) 最終頁に続く

|   |  |
|---|--|
| (21)出願番号 特願2021-542285(P2021-542285)      | (71)出願人 519112069<br>インバクト - バイオ リミテッド<br>イスラエル国, ネス - ジオナ 7 4 0 3<br>6 3 5, イラン ラモン ストリート 2 |
| (86)(22)出願日 令和1年9月27日(2019.9.27)          | (74)代理人 100079108<br>弁理士 稲葉 良幸   |
| (85)翻訳文提出日 令和3年5月21日(2021.5.21)           | (74)代理人 100109346<br>弁理士 大貫 敏史   |
| (86)国際出願番号 PCT/IB2019/001108              | (74)代理人 100117189<br>弁理士 江口 昭彦   |
| (87)国際公開番号 WO2020/065406                  | (74)代理人 100134120<br>弁理士 内藤 和彦   |
| (87)国際公開日 令和2年4月2日(2020.4.2)              | (72)発明者 サギ, ヤエル<br>イスラエル国, ネス ジオナ 7 4 0 3 6<br>3 5, イラン ラモン ストリート 2                          |
| (31)優先権主張番号 62/738,895                    |  |
| (32)優先日 平成30年9月28日(2018.9.28)             |  |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)                  |  |
| (31)優先権主張番号 62/847,830                    |  |
| (32)優先日 令和1年5月14日(2019.5.14)              |  |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)                  |  |
| (81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA) |  |

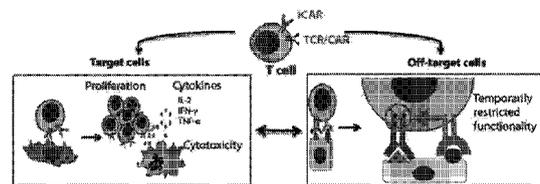
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 癌治療における使用のための活性化抗原受容体 ( a C A R ) / 阻害性キメラ抗原受容体 ( i C A R ) ペアを同定するための方法

(57)【要約】

本発明は、i) エフェクター免疫細胞の望ましくない活性化を防止又は減弱することができる阻害性キメラ抗原受容体 ( i C A R ) 又は保護キメラ抗原受容体 ( p C A R ) であって、i C A R 又は p C A R 標的は、標的細胞外多型エピトープに向けられる、阻害性キメラ抗原受容体 ( i C A R ) 又は保護キメラ抗原受容体 ( p C A R )、及び ii) 活性化キメラ抗原受容体 ( a C A R ) であって、タンパク質の標的非多型細胞表面エピトープに向けられる、活性化キメラ抗原受容体 ( a C A R ) を含む標的ペアを同定するための方法並びに癌の処置におけるそのようなペアの作製方法及び使用を提供する。

Fig. 1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

阻害性キメラ抗原受容体 ( i C A R ) 又は保護キメラ抗原受容体 ( p C A R ) / 活性化キメラ抗原受容体 ( a C A R ) 標的ペアを同定する方法であって、

i ) エフェクター免疫細胞の望ましくない活性化を防止又は減弱することができる i C A R 又は p C A R であって、図 2 2 に列挙された 5 9 8 個の遺伝子からなる群から選択される遺伝子からの標的細胞外多型エピトープに向けられる i C A R 又は p C A R を選択すること；及び

i i ) エフェクター免疫細胞の活性化を誘導することができる a C A R であって、図 2 3 に列挙された 4 9 個の標的タンパク質からなる群から選択されるタンパク質の標的非多型細胞表面エピトープに向けられる a C A R を選択すること；

i i i ) 細胞集団において、ステップ i ) からの前記 i C A R 又は p C A R 及びステップ i i ) からの前記 a C A R を発現させること；

i v ) 前記細胞集団を 1 つ以上のアッセイであって、エフェクター免疫細胞の望ましくない活性化の防止若しくは減弱を検出し、及び / 又はエフェクター免疫細胞の活性化の誘導を検出することができる 1 つ以上のアッセイに供すること；

v ) ステップ i v ) のアッセイ結果に基づいて i C A R 又は p C A R / a C A R 標的ペアを同定すること、  
を含む方法。

## 【請求項 2】

エフェクター免疫細胞の望ましくない活性化の防止若しくは減弱を検出し、及び / 又はエフェクター免疫細胞の活性化の誘導を検出することができる前記 1 つ以上のアッセイは、カスパーゼアッセイ ( カスパーゼ - 3 を含む )、アネキシン v - P I 染色アッセイ、C D 1 0 7 アッセイ及びサイトメトリービーズアレイ ( C B A ) アッセイ ( I F N 、 I L - 2 及び / 又は T N F を測定することを含む ) からなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記標的遺伝子は、ヘテロ接合性の喪失 ( L O H ) を示す染色体領域に位置し、前記 L O H 位置は、置換、欠失及び挿入からなる群から選択されるか、又は本明細書において、前記標的遺伝子は、発現の完全な喪失を示す染色体領域に位置し、前記発現の完全な喪失は、置換、欠失及び挿入からなる群から選択される変異によるものである、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 4】

前記 L O H 位置は、S N P である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 5】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、H L A 遺伝子である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、H L A - A、H L A - B、H L A - C、H L A - G、H L A - E、H L A - F、H L A - D P A 1、H L A - D Q A 1、H L A - D Q B 1、H L A - D Q B 2、H L A - D R B 1 又は H L A - D R B 5 遺伝子である、請求項 5 に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、H L A - A 遺伝子である、請求項 6 に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、H L A - B 遺伝子である、請求項 6 に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、H L A - C 遺伝子である、請求項 6 に記

10

20

30

40

50

載の方法。

【請求項 10】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、HLA-G 遺伝子である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 11】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、HLA-E 遺伝子である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 12】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、HLA-F 遺伝子である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 13】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、HLA-DPA1 遺伝子である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 14】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、HLA-DQA1 遺伝子である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 15】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、HLA-DQB1 遺伝子である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 16】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、HLA-DQB2 遺伝子である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 17】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、HLA-DRB1 遺伝子である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 18】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、HLA-DRB5 遺伝子である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 19】

請求項 1 に記載の iCAR 又は pCAR は、本明細書とともに提出された長い表において提供されるようなセットでペアにされる、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 20】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ABCA4、ADAM30、AQP10、ASTN1、C1orf101、CACNA1S、CATSPER4、CD101、CD164L2、CD1A、CD1C、CD244、CD34、CD46、CELSR2、CHRN2、CLCA2、CLDN19、CLSTN1、CR1、CR2、CRB1、CSF3R、CSMD2、ECE1、ELTD1、EMC1、EPHA10、EPHA2、EPHA8、ERMAP、FCAMR、FCER1A、FCGR1B、FCGR2A、FCGR2B、FCGR3A、FCRL1、FCRL3、FCRL4、FCRL5、FCRL6、GJB4、GPA33、GPR157、GPR37L1、GPR88、HCRT1、IGSF3、IGSF9、IL22RA1、IL23R、ITGA10、KIAA1324、KIAA2013、LDLRAD2、LEPR、LGR6、LRIG2、LRP8、LRR52、LRR8B、LRRN2、LY9、MIA3、MR1、MUC1、MXRA8、NCSTN、NFASC、NOTCH2、NPR1、NTRK1、OPN3、OR10J1、OR10J4、OR10K1、OR10R2、OR10T2、OR10X1、OR11L1、OR14A16、OR14I1、OR14K1、OR2AK2、OR2C3、OR2G2、OR2G3、OR2L2、OR2M7、OR2T12、OR2T27、OR2T1、OR2T3、OR2T29、OR2T33、OR2T34、OR2T35、OR2T3、OR2T4、OR2T5、OR2T6、OR2T7、OR2T8、OR2W3、OR6F1、OR6K2、OR6K3、OR6K6、OR6N1、OR6P

10

20

30

40

50

1、OR6Y1、PDPN、PEAR1、PIGR、PLXNA2、PTCH2、PTCHD2、PTGFRN、PTPRC、PTPRF、PVRL4、RHBG、RXFP4、S1PR1、SCNN1D、SDC3、SELE、SELL、SELP、SEMA4A、SEMA6C、SLAMF7、SLAMF9、SLC2A7、SLC5A9、TACSTD2、TAS1R2、TIE1、TLR5、TMEM81、TNFRSF14、TNFRSF1B、TRABD2B、USH2A、VCAM1及びZP4からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項21】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ABCG5、ALK、ASPRV1、ATRAID、CD207、CD8B、CHRNA1、CLEC4F、CNTNAP5、CRIM1、CXCR1、DNER、DPP10、EDAR、EPCAM、GPR113、GPR148、GPR35、GPR39、GYPC、IL1RL1、ITGA4、ITGA6、ITGAV、LCT、LHCGR、LRP1B、LRP2、LY75、MARCO、MERTK、NRP2、OR6B2、PLA2R1、PLB1、PROKR1、PROM2、SCN7A、SDC1、SLC23A3、SLC5A6、TGOLN2、THSD7B、TM4SF20、TMEFF2、TMEM178A、TPO及びTRABD2Aからなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

10

【請求項22】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ACKR2、ALCAM、ANO10、ATP13A4、BTLA、CACNA1D、CACNA2D2、CACNA2D3、CASR、CCRL2、CD200、CD200R1、CD86、CD96、CDCP1、CDHR4、CELSR3、CHL1、CLDN11、CLDN18、CLSTN2、CSPG5、CX3CR1、CXCR6、CYP8B1、DCBLD2、DRD3、EPHA6、EPHB3、GABRR3、GP5、GPR128、GPR15、GPR27、GRM2、GRM7、HEG1、HTR3C、HTR3D、HTR3E、IGSF11、IL17RC、IL17RD、IL17RE、IL5RA、IMPG2、ITGA9、ITGB5、KCNMB3、LRIG1、LRRC15、LRRN1、MST1R、NAALADL2、NRROS、OR5AC1、OR5H1、OR5H14、OR5H15、OR5H6、OR5K2、OR5K3、OR5K4、PIGX、PLXNB1、PLXND1、PRRT3、PTPRG、ROBO2、RYK、SEMA5B、SIDT1、SLC22A14、SLC33A1、SLC4A7、SLITRK3、STAB1、SUSD5、TFRC、TLR9、TMEM108、TMEM44、TMPRSS7、TNFSF10、UPK1B、VIPR1及びZPLD1からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

20

30

【請求項23】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ANTXR2、BTC、CNGA1、CORIN、EGF、EMCN、ENPEP、EPHA5、ERVMER34-1、EVC2、FAT1、FAT4、FGFRL1、FRAS1、GPR125、GRID2、GYPA、GYPB、KDR、KIAA0922、KLB、MFSD8、PARM1、PDGFRA、RNF150、TENM3、TLR10、TLR1、TLR6、TMEM156、TMPRSS11A、TMPRSS11B、TMPRSS11E、TMPRSS11F、UGT2A1及びUNC5Cからなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

40

【請求項24】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ADAM19、ADRB2、BTNL3、BTNL8、BTNL9、C5orf15、CATSPER3、CD180、CDH12、CDHR2、COL23A1、CSF1R、F2RL2、FAM174A、FAT2、FGFR4、FLT4、GABRA6、GABRG2、GPR151、GPR98、GRM6、HAVCR1、HAVCR2、IL31RA、IL6ST、IL7R、IQGAP2、ITGA1、ITGA2、KCNMB1、LIFR、LNPEP、MEGF10、NIPAL4、NPR3、NRG2、OR2V1、OR2Y1、OSMR、PCDH12

50

、PCDH1、PCDHA1、PCDHA2、PCDHA4、PCDHA8、PCDHA9、PCDHB10、PCDHB11、PCDHB13、PCDHB14、PCDHB15、PCDHB16、PCDHB2、PCDHB3、PCDHB4、PCDHB5、PCDHB6、PCDHGA1、PCDHGA4、PDGFRB、PRLR、SEMA5A、SEMA6A、SGCD、SLC1A3、SLC22A4、SLC22A5、SLC23A1、SLC36A3、SLC45A2、SLC6A18、SLC6A19、SLCO6A1、SV2C、TENM2、TIMD4及びUGT3A1からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項25】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、BAI3、BTN1A1、BTN2A1 10  
、BTN2A2、BTN3A1、BTN3A2、BTNL2、CD83、DCBLD1、  
DLL1、DPCR1、ENPP1、ENPP3、ENPP4、EPHA7、GABBR  
1、GABRR1、GCNT6、GFRAL、GJB7、GLP1R、GPR110、G  
PR111、GPR116、GPR126、GPR63、GPRC6A、HFE、HLA  
-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DOA、HLA-DPA1、HLA-DPB1  
、HLA-DQA1、HLA-DQA2、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA  
-DRB1、HLA-DRB5、HLA-E、HLA-F、HLA-G、IL20RA、  
ITPR3、KIAA0319、LMBRD1、LRFN2、LRP11、MAS1L、  
MEP1A、MICA、MICB、MOG、MUC21、MUC22、NCR2、NOT  
CH4、OPRM1、OR10C1、OR12D2、OR12D3、OR14J1、OR 20  
2B2、OR2B6、OR2J1、OR2W1、OR5V1、PDE10A、PI16、  
PKHD1、PTCRA、PTK7、RAET1E、RAET1G、ROS1、SDIM  
1、SLC16A10、SLC22A1、SLC44A4、TAAR2、TREM1、T  
REML1及びTREML2からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項26】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、AQP1、C7orf50、CD36、  
CDHR3、CNTNAP2、DPP6、EGFR、EPHA1、EPHB6、ERVW  
-1、GHRHR、GJC3、GPNMB、GRM8、HUS1、HYAL4、KIAA  
1324L、LRRN3、MET、MUC12、MUC17、NPC1L1、NPSR1  
、OR2A12、OR2A14、OR2A25、OR2A42、OR2A7、OR2A2 30  
、OR2AE1、OR2F2、OR6V1、PILRA、PILRB、PKD1L1、P  
LXNA4、PODXL、PTPRN2、PTPRZ1、RAMP3、SLC29A4、  
SMO、TAS2R16、TAS2R40、TAS2R4、TFR2、THSD7A、T  
MEM213、TTYH3、ZAN及びZP3からなる群から選択される、請求項1に記載  
の方法。

【請求項27】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ADAM18、ADAM28、ADAM  
32、ADAM7、ADAM9、ADRA1A、CDH17、CHRNA2、CSMD1  
、CSMD3、DCSTAMP、FZD6、GPR124、NRG1、OR4F21、P  
KHD1L1、PRSS55、SCARA3、SCARA5、SDC2、SLC10A5 40  
、SLC39A14、SLC39A4、SLCO5A1、TNFRSF10A及びTNF  
RSF10Bからなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項28】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ABCA1、AQP7、ASTN2、C  
9orf135、CA9、CD72、CNTNAP3B、CNTNAP3、CRB2、E  
NTPD8、GPR144、GRIN3A、IZUMO3、KIAA1161、MAMD  
C4、MEGF9、MUSK、NOTCH1、OR13C2、OR13C3、OR13C  
5、OR13C8、OR13C9、OR13D1、OR13F1、OR1B1、OR1J  
2、OR1K1、OR1L1、OR1L3、OR1L6、OR1L8、OR1N1、OR  
1N2、OR1Q1、OR2S2、PCSK5、PDCD1LG2、PLGRKT、PT 50

PRD、ROR2、SEMA4D、SLC31A1、TEK、TLR4、TMEM2及びVLDLRからなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項29】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ABCC2、ADAM8、ADRB1、ANTXRL、ATRNL1、C10orf54、CDH23、CDHR1、CNNM2、COL13A1、COL17A1、ENTPD1、FZD8、FGFR2、GPR158、GRID1、IL15RA、IL2RA、ITGA8、ITGB1、MRC1、NRG3、NPFFR1、NRP1、OPN4、PCDH15、PKD2L1、PLXDC2、PRLHR、RET、RGR、SLC16A9、SLC29A3、SLC39A12、TACR2、TCTN3、TSPAN15、UNC5B及びVSTM4からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。 10

【請求項30】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、AMICA1、ANO1、ANO3、APLP2、C11orf24、CCKBR、CD248、CD44、CD5、CD6、CD82、CDON、CLMP、CRTAM、DCHS1、DSCAML1、FAT3、FOLH1、GDPD4、GDPD5、GRIK4、HEPHL1、HTR3B、IFITM10、IL10RA、KIRREL3、LGR4、LRP4、LRP5、LRRC32、MCAM、MFRP、MMP26、MPEG1、MRGPRE、MRGPRF、MRGPRX2、MRGPRX3、MRGPRX4、MS4A4A、MS4A6A、MTNR1B、MUC15、NAALAD2、NAALADL1、NCAM1、NRXN2、OR10A2、OR10A5、OR10A6、OR10D3、OR10G4、OR10G7、OR10G8、OR10G9、OR10Q1、OR10S1、OR1S1、OR2AG1、OR2AG2、OR2D2、OR4A47、OR4A15、OR4A5、OR4C11、OR4C13、OR4C15、OR4C16、OR4C3、OR4C46、OR4C5、OR4D6、OR4A8P、OR4D9、OR4S2、OR4X1、OR51E1、OR51L1、OR52A1、OR52E1、OR52E2、OR52E4、OR52E6、OR52I1、OR52I2、OR52J3、OR52L1、OR52N1、OR52N2、OR52N4、OR52W1、OR56B1、OR56B4、OR5A1、OR5A2、OR5AK2、OR5AR1、OR5B17、OR5B3、OR5D14、OR5D16、OR5D18、OR5F1、OR5I1、OR5L2、OR5M11、OR5M3、OR5P2、OR5R1、OR5T2、OR5T3、OR5W2、OR6A2、OR6T1、OR6X1、OR8A1、OR8B12、OR8B2、OR8B3、OR8B4、OR8D1、OR8D2、OR8H1、OR8H2、OR8H3、OR8I2、OR8J1、OR8J2、OR8J3、OR8K1、OR8K3、OR8K5、OR8U1、OR9G1、OR9G4、OR9Q2、P2RX3、PTPRJ、ROBO3、SIGIRR、SLC22A10、SLC3A2、SLC5A12、SLCO2B1、SORL1、ST14、SYT8、TENM4、TMEM123、TMEM225、TMPRSS4、TMPRSS5、TRIM5、TRPM5、TSPAN18及びZP1からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。 30

【請求項31】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ANO4、AVPR1A、BCL2L14、CACNA2D4、CD163、CD163L1、CD27、CD4、CLEC12A、CLEC1B、CLEC2A、CLEC4C、CLEC7A、CLECL1、CLSTN3、GPR133、GPCR5D、ITGA7、ITGB7、KLRB1、KLRC2、KLRC3、KLRC4、KLRF1、KLRF2、LRP1、LRP6、MANSC1、MANSC4、OLR1、OR10AD1、OR10P1、OR2AP1、OR6C1、OR6C2、OR6C3、OR6C4、OR6C6、OR6C74、OR6C76、OR8S1、OR9K2、ORAI1、P2RX4、P2RX7、PRR4、PTPRB、PTPRQ、PTPRR、SCNN1A、SELPLG、SLC2A14、SLC38A4、SLC5A8、SLC6A15、SLC8B1、SLCO1A2、SLCO1B 40 50

1、SLCO1B7、SLCO1C1、SSPN、STAB2、TAS2R10、TAS2R13、TAS2R14、TAS2R20、TAS2R30、TAS2R31、TAS2R42、TAS2R43、TAS2R46、TAS2R7、TMEM119、TMEM132B、TMEM132C、TMEM132D、TMPRSS12、TNFRSF1A、TSPAN8及びVSIG10からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項32】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ATP4B、ATP7B、FLT3、FREM2、HTR2A、KL、PCDH8、RXFP2、SGCG、SHISA2、SLC15A1、SLITRK6及びTNFRSF19からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

10

【請求項33】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ADAM21、BDKRB2、C14orf37、CLEC14A、DLK1、FLRT2、GPR135、GPR137C、JAG2、LTBR4R2、MMP14、OR11G2、OR11H12、OR11H6、OR4K1、OR4K15、OR4K5、OR4L1、OR4N2、OR4N5、SLC24A4及びSYNDIG1Lからなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項34】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ANPEP、CD276、CHRNA7、CHRNB4、CSPG4、DUOX1、DUOX2、FAM174B、GLDN、IGDCC4、ITGA11、LCTL、LTK、LYSMD4、MEGF11、NOX5、NRG4、OCA2、OR4F4、OR4M2、OR4N4、PRTG、RHCG、SCAMP5、SEMA4B、SEMA6D、SLC24A1、SLC24A5、SLC28A1、SPG11、STRA6、TRPM1及びTYRO3からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

20

【請求項35】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ATP2C2、CACNA1H、CD19、CDH11、CDH15、CDH16、CDH3、CDH5、CNGB1、CNTNAP4、GDPD3、GPR56、GPR97、IFT140、IL4R、ITFG3、ITGAL、ITGAM、ITGAX、KCNG4、MMP15、MSLNL、NOMO1、NOMO3、OR2C1、PIEZO1、PKD1、PKD1L2、QPRT、SCNN1B、SEZ6L2、SLC22A31、SLC5A11、SLC7A6、SPN、TMC5、TMC7、TMEM204、TMEM219及びTMEM8Aからなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

30

【請求項36】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ABCC3、ACE、AOC3、ARL17B、ASGR2、C17orf80、CD300A、CD300C、CD300E、CD300LF、CD300LG、CHRNB1、CLEC10A、CNTNAP1、CPD、CXCL16、ERBB2、FAM171A2、GCGR、GLP2R、GP1BA、GPR142、GUCY2D、ITGA2B、ITGA3、ITGAE、ITGB3、KCNJ12、LRRC37A2、LRRC37A3、LRRC37A、LRRC37B、MRC2、NGFR、OR1A2、OR1D2、OR1G1、OR3A1、OR3A2、OR4D1、OR4D2、RNF43、SCARF1、SCN4A、SDK2、SECTM1、SEZ6、SHPK、SLC26A11、SLC5A10、SPACA3、TMEM102、TMEM132E、TNFSF12、TRPV3、TTYH2及びTUSC5からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

40

【請求項37】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、APCDD1、CDH19、CDH20、CDH7、COLEC12、DCC、DSC1、DSG1、DSG3、DYNAP、MEP1B、PTPRM、SIGLEC15及びTNFRSF11Aからなる群から選択される、請求項5に記載の方法。

50

## 【請求項 38】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ABC A 7、ACPT、BCAM、C 19orf38、C19orf59、C5AR1、CATSPERD、CATSPERG、CD22、CD320、CD33、CD97、CEACAM19、CEACAM1、CEACAM21、CEACAM3、CEACAM4、CLEC4M、DLL3、EMR1、EMR2、EMR3、ERVV-1、ERVV-2、FAM187B、FCAR、FFAR3、FPR1、FXVD5、GFY、GP6、GPR42、GRIN3B、ICAM3、IGFLR1、IL12RB1、IL27RA、KIR2DL1、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3、KIRREL2、KISS1R、LAIR1、LDLR、LILRA1、LILRA2、LILRA4、LILRA6、LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5、LINGO3、LPHN1、LRP3、MADCAM1、MAG、MEGF8、MUC16、NCR1、NOTCH3、NPHS1、OR10H1、OR10H2、OR10H3、OR10H4、OR1I1、OR2Z1、OR7A10、OR7C1、OR7D4、OR7E24、OR7G1、OR7G2、OR7G3、PLVAP、PTGIR、PTPRH、PTPRS、PVR、SCN1B、SHISA7、SIGLEC10、SIGLEC11、SIGLEC12、SIGLEC5、SIGLEC6、SIGLEC8、SIGLEC9、SLC44A2、SLC5A5、SLC7A9、SPINT2、TARM1、TGFBRL3、TMC4、TMEM91、TMEM161A、TMPRSS9、TNFSF14、TNFSF9、TRPM4、VN1R2、VSIG10L、VSTM2B及びZNF4からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

10

20

## 【請求項 39】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ABHD12、ADAM33、ADRA1D、APMAP、ATRAN、CD40、CD93、CDH22、CDH26、CDH4、FLRT3、GCNT7、GGT7、JAG1、LRRN4、NPBWR2、OCSTAMP、PTPRA、PTPRT、SEL1L2、SIGLEC1、SIRPA、SIRPB1、SIRPG、SLC24A3、SLC2A10、SLC4A11、SSTR4及びTHBDからなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 40】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、CLDN8、DSCAM、ICOSLG、IFNAR1、IFNGR2、IGSF5、ITGB2、KCNJ15、NCAM2、SLC19A1、TMPRSS15、TMPRSS2、TMPRSS3、TRPM2及びUMODL1からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

30

## 【請求項 41】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、CACNA1I、CELSR1、COMT、CSF2RB、GGT1、GGT5、IL2RB、KREMEN1、MCHR1、OR11H1、P2RX6、PKDREJ、PLXNB2、SCARF2、SEZ6L、SSTR3、SUSD2、TMPRSS6及びTNFRSF13Cからなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 42】

前記細胞外多型エピトープを含む前記遺伝子は、ATP6AP2、ATP7A、CNGA2、EDA2R、FMR1NB、GLRA4、GPR112、GUCY2F、HEPH、P2RY10、P2RY4、PLXNA3、PLXNB3、TLR8、VSIG4及びXGからなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

40

## 【請求項 43】

腫瘍は、乳房腫瘍、前立腺腫瘍、卵巣腫瘍、子宮頸部腫瘍、皮膚腫瘍、膵臓腫瘍、結腸直腸腫瘍、腎腫瘍、肝臓腫瘍、脳腫瘍、リンパ腫、白血病、肺腫瘍及び神経膠腫からなる群から選択される、請求項1～42のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 44】

腫瘍は、副腎腫瘍、腎臓腫瘍、黒色腫、DLBC、乳房腫瘍、肉腫、卵巣腫瘍、肺腫瘍、

50

膀胱腫瘍及び肝臓腫瘍からなる群から選択される、請求項 1 ~ 4 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記副腎腫瘍は、副腎皮質癌である、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記腎臓腫瘍は、嫌色素性腎細胞癌である、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記黒色腫は、ブドウ膜黒色腫である、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 8】

( i ) 請求項 1 ~ 4 6 のいずれか一項に記載の i C A R 又は p C A R と、( i i ) 活性化キメラ抗原受容体 ( a C A R ) とを発現する安全なエフェクター免疫細胞。 10

【請求項 4 9】

前記 a C A R は、腫瘍関連抗原又は非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する、請求項 4 8 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 5 0】

前記 a C A R は、腫瘍関連タンパク質、表 1 に列挙された C A R 標的、前記 i C A R も発現される腫瘍組織で発現される任意の細胞表面タンパク質に向けられるか又は特異的に結合する、請求項 4 8 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 5 1】

非多型細胞表面エピトープは、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 1 0、C D 7、C D 4 9 f、C D 5 6、C D 7 4、C A I X I g、R O R 1、R O R 2、C D 3 0、ルイス Y、C D 3 3、C D 3 4、C D 3 8、C D 1 2 3、C D 2 8、C D 4 4 v 6、C D 4 4、C D 4 1、C D 1 3 3、C D 1 3 8、N K G 2 D - L、C D 1 3 9、B C M A、G D 2、G D 3、h T E R T、F B P、E G P - 2、E G P - 4 0、F R -、L 1 - C A M、E r b B 2、3、4、E G F R v I I I、V E G F R - 2、I L - 1 3 R 2、F A P、メソテリン、c - M E T、P S M A、C E A、k R a s、M A G E - A 1、M U C 1、M U C 1 6、P D L 1、P S C A、E p C A M、F S H R、A F P、A X L、C D 8 0、C D 8 9、C D H 1 7、C L D 1 8、G P C 3、T E M 8、T G F B 1、N Y - E S O - 1、W T - 1 及び E G F R からなる群から選択される、請求項 5 0 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。 20 30

【請求項 5 2】

非多型細胞表面エピトープは、5 T 4、A F P、A X L、B 7 H 6、C D 1 3 3、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 3 0、C D 4 4 v 6、C D 5、C D 7、C D 7 0、C D 8 0、C D 8 9、C D H 1 7、C E A、C L D 1 8、C L E C 1 4 a、C L L - 1、c M e t、C S 1、E G F R、E G F R v I I I、E p C A M、N Y - E S O - 1、F A P、F H S R、G P 1 0 0、G P C 3、H E R 2、I L - 1 3 R \_\_、I L - 1 3 R \_\_ 2、K - R a s、メソテリン、M U C 1、M U C - C D、N K G 2 D リガンド、N K G 2 D \_\_ リガンド、P D L 1、P S C A、P S M A、R O R 1、R O R - 2、サバイピン、T E M 8、T G F、V E G F R 2 及び A L K からなる群から選択される、請求項 5 0 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。 40

【請求項 5 3】

自家又は普遍的 ( 同種 ) エフェクター細胞である、請求項 4 8 ~ 5 2 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 5 4】

T 細胞、ナチュラルキラー細胞及びサイトカイン誘導キラー細胞からなる群から選択される、請求項 4 8 ~ 5 3 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 5 5】

前記 i C A R 又は p C A R の発現レベルは、前記 a C A R の発現レベル以上である、請求項 4 8 ~ 5 4 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 5 6】

前記 i C A R 又は p C A R は、第 1 のベクターによって発現され、及び前記 a C A R は、第 2 のベクターによって発現される、請求項 4 8 ~ 5 5 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 5 7】

前記 i C A R 又は p C A R 及び前記 a C A R は、両方とも同じベクターによって発現される、請求項 4 8 ~ 5 6 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 5 7】

前記 a C A R をコードするヌクレオチド配列は、前記 i C A R 又は p C A R をコードするヌクレオチド配列の下流にある、請求項 5 7 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 5 9】

ヌクレオチド配列は、前記 a C A R をコードする前記ヌクレオチド配列と、前記 i C A R 又は p C A R をコードする前記ヌクレオチド配列との間にウイルス自己開裂型 2 A ペプチドを含む、請求項 5 7 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 6 0】

前記ウイルス自己開裂型 2 A ペプチドは、ゾセア・アシグナ ( *Thosea asigna* ) ウイルス ( T a V ) 由来の T 2 A、口蹄疫ウイルス ( F M D V ) 由来の F 2 A、ウマ鼻炎 A ウイルス ( E R A V ) 由来の E 2 A 及びブタテッシュウウイルス - 1 ( P T V 1 ) 由来の P 2 A からなる群から選択される、請求項 5 9 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 6 1】

前記 a C A R をコードする前記ヌクレオチド配列は、柔軟なリンカーを介して前記 i C A R 又は p C A R に連結される、請求項 5 7 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 6 2】

前記 a C A R は、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する少なくとも 1 つのシグナル伝達要素を含む、請求項 4 8 ~ 6 0 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 6 3】

エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する前記少なくとも 1 つのシグナル伝達要素は、例えば、C D 3 又は F c R 鎖の免疫受容体チロシン活性化モチーフ ( I T A M ) と相同である、請求項 6 2 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 6 4】

エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する前記少なくとも 1 つのシグナル伝達要素は、K I R 2 D S 及び K I R 3 D S などの活性化キラー細胞免疫グロブリン様受容体 ( K I R ) と相同である、請求項 6 2 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 6 5】

エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する前記少なくとも 1 つのシグナル伝達要素は、D A P 1 2 などのアダプター分子と相同であるか又はそれである、請求項 6 2 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 6 6】

エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する前記少なくとも 1 つのシグナル伝達要素は、C D 2 7、C D 2 8、I C O S、C D 1 3 7 ( 4 - 1 B B )、C D 1 3 4 ( O X 4 0 ) 又は G I T R の共刺激シグナル伝達要素と相同であるか又はそれである、請求項 6 2 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 6 7】

前記 i C A R 又は p C A R は、標的細胞外多型エピトープに向けられ、前記標的細胞外多型エピトープは、H L A である、請求項 4 8 ~ 6 6 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 6 8】

前記 a C A R は、腫瘍関連抗原又は非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合し、前記腫瘍関連抗原又は非多型細胞表面エピトープは、E G F R、H E R 2、メソテリン及び C E A からなる群から選択される、請求項 4 8 ~ 6 6 のいずれか一項に記載

10

20

30

40

50

の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 69】

前記 iCAR 又は pCAR は、HLA に向けられ、及び前記 aCAR は、EGFR、HER2、メソセリン及びノ又は CEA に向けられるか又は特異的に結合する、請求項 48 ~ 66 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 70】

前記 iCAR 又は pCAR は、HLA に向けられ、及び前記 aCAR は、EGFR に向けられるか又は特異的に結合する、請求項 48 ~ 66 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 80】

前記 iCAR 又は pCAR は、HLA に向けられ、及び前記 aCAR は、HER2 に向けられるか又は特異的に結合する、請求項 48 ~ 66 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 81】

前記 iCAR 又は pCAR は、HLA に向けられ、及び前記 aCAR は、メソセリンに向けられるか又は特異的に結合する、請求項 48 ~ 66 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 82】

前記 iCAR 又は pCAR は、HLA に向けられ、及び前記 aCAR は、CEA に向けられるか又は特異的に結合する、請求項 48 ~ 66 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 83】

前記安全なエフェクター免疫細胞によって標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌若しくは肺癌又は膵臓癌若しくは肺癌に由来する細胞である、請求項 67 ~ 82 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 84】

配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される核酸配列を含み、前記核酸配列は、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部をコードする、請求項 48 ~ 83 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 85】

配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする核酸配列を含み、前記核酸配列は、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部をコードする、請求項 48 ~ 84 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 86】

配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29 及び配列番号 30 からなる群から選択される核酸配列を含み、前記核酸配列は、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部をコードし、前記安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号 1、配列番号 37 及び配列番号 38 からなる群から選択される核酸配列を含み、前記核酸配列は、aCAR 又はその一部をコードする、請求項 48 ~ 85 のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項 87】

配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする核酸配列を含み、前記核酸配列は

10

20

30

40

50

、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードし、前記安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ配列をコードする核酸配列を含み、前記核酸配列は、a C A R又はその一部をコードする、請求項48～84のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項88】

配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29及び配列番号30からなる群から選択される核酸配列を含み、前記核酸配列は、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードし、前記安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ配列をコードする核酸配列を含み、前記核酸配列は、a C A R又はその一部をコードする、請求項48～85のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

10

【請求項89】

配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする核酸配列を含み、前記核酸配列は、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードし、前記安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される核酸配列を含み、前記核酸配列は、a C A R又はその一部をコードする、請求項48～84のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

20

【請求項90】

配列番号31、配列番号32及び配列番号33からなる群から選択される核酸配列を含み、前記核酸配列は、i C A R又はp C A Rとa C A Rとの両方をコードする、請求項48～84のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

【請求項91】

L O Hによって特徴付けられる腫瘍を有する患者の癌を処置するための方法であって、請求項1～88のいずれか一項に記載のi C A R及びa C A Rを発現する安全なエフェクター免疫細胞を前記患者に投与することを含む方法。

30

【請求項92】

標的遺伝子又は標的細胞外多型エピトープ遺伝子の発現の完全な喪失をもたらす遺伝子変異によって特徴付けられる腫瘍を有する患者の癌を処置するための方法であって、請求項1～88のいずれか一項に記載の安全なエフェクター免疫細胞を前記患者に投与することを含む方法。

【請求項93】

i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列であって、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む核酸配列。

40

【請求項94】

a C A R又はその一部をコードする核酸配列であって、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される配列を含む核酸配列。

【請求項95】

核酸配列又は核酸配列組成物であって、1) i C A R若しくはp C A R又はその一部であって、前記核酸配列は、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、

50

配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部；及び 2) aCAR 又はその一部であって、前記核酸配列は、配列番号 1、配列番号 37 及び配列番号 38 からなる群から選択される配列を含む、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列又は核酸配列組成物。

【請求項 96】

iCAR 若しくは pCAR 又はその一部をコードする核酸配列又は核酸配列組成物であって、前記核酸配列は、配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、核酸配列又は核酸配列組成物。

10

【請求項 97】

aCAR 又はその一部をコードする核酸配列又は核酸配列組成物であって、前記核酸配列は、配列番号 2、配列番号 39、配列番号 40、配列番号 41、配列番号 42、配列番号 43、配列番号 44 及び配列番号 45 からなる群から選択されるアミノ配列をコードする、核酸配列又は核酸配列組成物。

【請求項 98】

核酸配列又は核酸配列組成物であって、1) 配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする核酸配列であって、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部をコードする核酸配列、及び 2) 配列番号 2、配列番号 39、配列番号 40、配列番号 41、配列番号 42、配列番号 43、配列番号 44 及び配列番号 45 からなる群から選択されるアミノ配列をコードする核酸配列であって、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む核酸配列又は核酸配列組成物。

20

【請求項 99】

核酸配列又は核酸配列組成物であって、1) iCAR 若しくは pCAR 又はその一部であって、前記核酸配列は、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部；及び 2) 配列番号 2、配列番号 39、配列番号 40、配列番号 41、配列番号 42、配列番号 43、配列番号 44 及び配列番号 45 からなる群から選択されるアミノ配列をコードする核酸配列であって、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列をコードする核酸配列又は核酸配列組成物。

30

【請求項 100】

核酸配列又は核酸配列組成物であって、1) 配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする核酸配列であって、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部をコードする核酸配列、及び 2) aCAR 又はその一部であって、前記核酸配列は、配列番号 1、配列番号 37 及び配列番号 38 からなる群から選択される配列を含む、aCAR 又はその一部を含む核酸配列又は核酸配列組成物。

40

【請求項 101】

iCAR 及び aCAR をコードする核酸配列であって、配列番号 31、配列番号 32 及び配列番号 33 からなる群から選択される配列を含む核酸配列。

【請求項 102】

請求項 93 ~ 101 のいずれか一項に記載の核酸又は核酸配列組成物を含むベクター。

【請求項 103】

ベクター組成物であって、

1) 請求項 93 又は 96 に記載の核酸を含む第 1 の発現ベクター、及び

50

2) 請求項 94 又は 97 に記載の核酸を含む第 2 の発現ベクターを含むベクター組成物。

【請求項 104】

請求項 93 ~ 101 のいずれか一項に記載の核酸又は核酸配列組成物を含む安全なエフェクター細胞。

【請求項 105】

請求項 102 又は 103 に記載のベクター又はベクター組成物を含む安全なエフェクター細胞。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

[0001] 本出願は、2018年9月28日出願の米国仮特許出願第62/738,895号及び2019年5月14日出願の米国仮特許出願第62/847,830号に対する優先権を主張し、それらの各々が参照により本明細書に援用される。

【0002】

A S C I I 表

[0002] 本特許出願は、長い表のセクションを含む。表の写しは、2019年9月27日に出願された対応する米国特許出願公開第16/586,730号及び本件が優先権を主張する仮出願と同時に提出された。2018年9月28日に作成された前記 A S C I I 表は、以下の通りである：(1) 120575-5004-PR aCAR\_iCAR\_pairs\_6\_27\_18 Part 1.txt、66,627,779バイト、(2) 120575-5004-PR aCAR\_iCAR\_pairs\_6\_27\_18 Part 2.txt、99,298,408バイト、(3) 120575-5004-PR candGenes598\_AF10\_LOH20.txt、9,310バイト、(4) 120575-5004-PR extCellIAFnLOH1306.txt、94,814バイト、(5) 120575-5004-PR onlyExtCell1167genes\_no filter.txt、18,122バイト、(6) 120575-5004-PR onlyExtCell3288\_no filter.txt、388,102バイト。

【0003】

発明の分野

[0003] 本発明は、腫瘍細胞の表面上に発現される抗原を認識する活性化キメラ抗原受容体 (aCAR)、正常細胞によって発現されるが、ヘテロ接合性の喪失 (LOH) に起因して腫瘍によって発現されない、同じ又は他の細胞表面抗原の対立遺伝子バリエーションに向けられる阻害性 CAR (iCAR) 及び保護 CAR (pCAR) を用いる、養子細胞移植による癌免疫療法の分野に関する。

【背景技術】

【0004】

発明の背景

[0004] 腫瘍細胞によってのみ発現され、健康な組織によって発現されない標的化可能な抗原の同定は、間違いなく今日の癌免疫療法における主要な課題である。T細胞が腫瘍細胞を根絶可能であることについての臨床的根拠は、T細胞を利用して癌を処置するための非常に多様なアプローチを評価する多くの研究に由来する (Rosenberg and Restifo, 2015)。これらのアプローチは、ドナーリンパ球注入による骨髄移植、腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) の養子移植、CARを介して事前に選択された抗原に遺伝子的に向け直されたT細胞 (Gross and Eshhar, 2016a) 若しくはT細胞受容体 (TCR) を用いる処置又は免疫チェックポイント阻害剤若しくは積極的なワクチン接種の使用を採用する。これらのうち、遺伝子操作されたT細胞の使用及び能動免疫のための異なる戦略は、持続的な臨床応答を発揮するが、副作用が最小限である可能性が高い候補抗原に関する既存の情報を伴う。さらに、S.Rosenbergによる最近のレビューの表題に述べられるように、「好適な標的を見つけることは、癌遺伝子療法の主要な障害である」 (Rosenberg, 2014)。

10

20

30

40

50

## 【0005】

[0005] キメラ抗原受容体（又はCAR）を使用して、MHCに依存しない様式で選択した抗原に対してT細胞（又はナチュラルキラー（NK）細胞及びサイトカイン誘導キラー細胞などの免疫系の他のキラー細胞）を遺伝子的に向け直す概念は、1980年代後半にGross及びEshharによって最初に導入された（Gross et al., 1989）。それらは、柔軟なヒンジ及び膜貫通型の標準的なモチーフを通して、T細胞の活性化が可能なCD3 - の免疫受容体チロシン活性化モチーフ又はFcRγ鎖を含むシグナル伝達成分に融合した細胞外一本鎖抗体可変断片（scFv）をコードするキメラ遺伝子から合成的に生成される。現在、CARは、数十の臨床試験で検査されており、これまでにB細胞性悪性腫瘍に並外れて高い有効性を示している（Dotti et al., 2014; Gill and June, 2015; Gross and Eshhar, 2016a）。CAR-T細胞療法の安全性は、主に腫瘍と健康な組織とを区別するその能力によって決定される。臨床及び前臨床研究で報告されている主要なリスク及び有害な自己免疫効果の直接の原因は、標的抗原の腫瘍外発現から生じる腫瘍外のオンターゲットの毒性である（最近の本発明者らのレビュー（Gross and Eshhar, 2016b）及び（Klebanoff et al., 2016）で詳細に取り扱っている）。このリスクに関して、CAR療法のために現在臨床的又は前臨床的に試験されている共有の非変異細胞表面抗原は、一般に、それらの組織分布及び発現機序に従って多数のカテゴリーに分けることができる。

- 厳密に腫瘍特異的な抗原。おそらく、すでに臨床的に検査されているこの群の唯一のメンバーは、神経膠芽腫で頻繁に過剰発現し、非小細胞肺癌並びに前立腺、乳房、頭頸部及び卵巣癌にも見られるが、正常組織で見られない上皮成長因子受容体（EGFRvIII）のバリエーションである。

- 腫瘍及び重要でない健康な組織上に発現する表面抗原。この群で可能性のあるCAR抗原は、主にB細胞系列に限定される分化関連分子である。これら（及び多くの臨床試験での標的抗原）のうちで卓越しているのは、B細胞分化の非常に早期に獲得され、B細胞受容体（BCR）によるシグナル伝達に關与する汎B細胞マーカーであるCD19である。膜前立腺抗原は、このカテゴリーの抗原の別のクラスを構成する。

- 非悪性腫瘍促進細胞によって典型的に発現される抗原。かかる抗原の1つは、線維芽細胞活性化タンパク質（FAP）であり、これは、様々な原発性及び転移性癌の腫瘍関連線維芽細胞によってほぼ常に発現される細胞表面のセリンプロテアーゼである。別の抗原は、血管内皮増殖因子（VEGF）であり、これは、腫瘍の血管新生中に高度に発現し、多くの重要な臓器の血管及びリンパ管内皮細胞上に通常発現する。

- 重要な健康な組織と共有される腫瘍関連抗原（TAA）。

## 【0006】

[0006] 現在前臨床及び臨床研究で評価されている他のほとんどのTAAは、腫瘍によって過剰発現されるが、より低いレベルで必須の正常組織上にも通常存在する。

## 【0007】

[0007] CAR-T細胞療法で自己免疫に取り組むために考案された広範な戦略は、損傷がすでに明らかであると移動するT細胞を排除又は抑制しようとするもの（対応策）と、最初に潜在的な損傷を防止することを目的とするもの（事前対策）とに分けることができる（Gross and Eshhar, 2016a）。対応アプローチは、多くの場合、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（HSV-tk）並びに短縮型ヒトカスパーゼ9及び変異FK506結合タンパク質を含む融合ポリペプチドであるiC9などの自殺遺伝子を使用する。他のアプローチは、最近実証されたように、無秩序になる人工細胞又はCAR認識部分と細胞内シグナル伝達ドメインとのカップリングを制御するヘテロ二量体化小分子物質を、抗体を利用して選択的に除去する（Wu et al., 2015）。いくつかの事前対策は、CAR-T細胞のインビボでの持続性又は機能を制限するように設計されているが（例えば、遺伝子送達のためのmRNAエレクトロポレーションの使用）、他の事前対応は、療法用CARの抗原選択性を増加する重要な課題に直接対処して、非腫瘍組織への損傷を回避する。これらの2つは、CAR-T細胞が安全に標的とすることができる腫瘍抗原の範囲

を拡大する可能性があり得るため、特に関心を集めている。

- コンビナトリアル（又は「分割」）抗原認識。真の腫瘍特異的表面抗原は、稀であるが、必ずしも所与の腫瘍によって共発現される腫瘍関連抗原として分類されない2つの異なる抗原の組み合わせにより、新しい腫瘍特異的シグネチャを定義することができる。CAR T細胞の活性をかかると抗原ペアに制限することにより、重要な安全規格を提供し、その結果、腫瘍特異的標的の範囲が拡張され、実質的な療法的価値があるものであり得る。第2及び第3世代のCARは、CARエンドドメインで2つ以上のシグナル伝達部分をつなぐことを通して単一抗原に係合すると、療法用T細胞に活性化及び共刺激シグナルを提供するように設計されている。しかしながら、活性化及び共刺激が、同じT細胞の、それぞれ異なる抗原に特異的な2つのCAR間で分割される場合、完全な応答には、2つの抗原の存在下でのみ達成することができる2つの相補的なシグナルの協働を必要とするであろう。この原理は、いくつかの前臨床研究で実証されている（Kloss et al., 2013; Lanitis et al., 2013; Wilkie et al., 2012; 国際公開第2016/126608号）。

【0008】

[0008] 間違いなく興味をそそられる一方、このアプローチは、活性化及び共刺激シグナルの両方の大きさを綿密に滴定して、効果的なオンターゲットの腫瘍上T細胞反応性のみを可能にするであろう最適なバランスに到達する必要性に依然として直面している。かかるバランスが臨床環境で日常的に達成することができるかどうかは、依然として疑問である。

【0009】

[0009] 2つの抗原の独特な組み合わせを発現する標的細胞のみにT細胞応答を制限するための全く新しいアプローチが最近公開された（Roybal et al., 2016a）。その中核的要素は、Notchを含むいくつかの細胞表面受容体の作用機序を利用する「遺伝子的スイッチ」として機能する。かかる受容体のそのリガンドへの結合に続き、二重開裂を受け、その細胞内ドメインの遊離を生じ、これが細胞核へ移行し、ここで転写因子として機能する。この原理の実施は、エフェクターT細胞への2つの遺伝子の共導入を伴う。第1の遺伝子は、構成的に発現し、第1の抗原に向けられた認識部分を備えるかかる開裂可能なキメラ受容体をコードする。この抗原との標的細胞表面上での係合は、第2の抗原に向けられた従来のCARをコードする第2の遺伝子の発現を活性化するのである。標的細胞は、この第2の抗原も同様に共発現する場合にのみ殺傷されるであろう。

【0010】

[0010] 阻害性CAR。向け直されたCARキラー細胞の標的抗原が正常組織と共有されると、腫瘍外反応性が発生する。この正常組織が、腫瘍上に存在しない別の表面抗原を発現する場合、阻害性シグナル伝達部分が存在する、この非共有抗原を標的とする追加のCARを遺伝子改変細胞で共発現することにより、正常組織によるT細胞の活性化を防止することができる。

【0011】

[0011] iCARは、活性化ドメイン（FcRγ又はCD3- など）の代わりに、CTLA-4、PD-1又はNK阻害性受容体などのT細胞活性化に拮抗することができる阻害性受容体に由来するシグナル伝達ドメインを有する。候補aCAR抗原を腫瘍と共有する正常組織が、腫瘍と共有されない別の表面抗原を発現する場合、この非共有抗原を標的とする同じT細胞によって発現されるiCARは、正常組織を保護することができる（図1）。

【0012】

[0012] T細胞と異なり、これらの各々は、体細胞で再構成された遺伝子セグメントによってコードされる独特の2鎖TCRを発現し、NK細胞は、抗原特異的受容体を発現しない。代わりに、NK細胞は、感染した細胞及び健康な細胞の細胞表面において、多数の活性化及び阻害性リガンドをそれぞれ認識する、生殖系列にコードされる活性化及び阻害性受容体のアレイを発現する。KIR3DL1などのNK阻害性受容体に基づくiCAR

10

20

30

40

50

の保護能力について記載されている（米国特許第9,745,368号）。KIR3DL1及び他のNK阻害性受容体は、免疫シナプスを迅速且つ包括的様式で解体することによって機能する。単一NK細胞は、阻害性及び活性化リガンドの両方を発現する耐性細胞を生かし、さらに同時に係合する、活性化リガンドのみを発現する影響を受けやすい細胞を殺傷することができるという説得力のある根拠がある（Abeyweera et al., 2011; Eriksson et al., 1999; Treanor et al., 2006; Vyas et al., 2001）。この絶妙な能力は、結果的に細胞溶解性顆粒のエキソサイトーシスに影響を与える、それぞれの免疫シナプスの各々で形成されるシグナル伝達分子の異なる空間的構成によって制御される（レビューについては、（Huse et al., 2013）を参照されたい）。より最近、Fedorov et al.（Fedorov et al., 2013a; 国際公開第2015/142314号）は、この目的のためにPD-1及びCTLA-4の細胞内ドメインの採用に成功した。NK阻害性受容体と異なり、これらのiCARの調節効果は、細胞全体に影響を与えた。さらに、これらの効果は、一時的であったが、aCAR抗原のみを発現する標的細胞とのその後の遭遇時の完全なT細胞活性化を可能にした。

10

#### 【0013】

[0013] iCAR及びaCARが標的とする抗原の組織分布は、臨床有効性を損なうことなく最大の安全性を与えるために必要である、iCARの最適な作用機序を決定する。例えば、腫瘍の解剖学的部位と、保護される正常組織とが交差しない場合、一過性の阻害（CTLA-4-又はPD-1様）でおそらく十分であろう。これらの部位が重複する場合でもなお、シナプスが制限する阻害（例えば、NK作用機序）のみにより、療服用細胞の一定の麻痺を防止し、その効果的な殺腫瘍活性を可能にするであろう。iCARを使用してオンターゲットの腫瘍外反応性を低減するアプローチは、腫瘍細胞で下方制御されているが、正常組織上に存在する抗原の極端な欠如を被る。

20

#### 【0014】

[0014] 次世代シーケンシング（NGS）は、所与の腫瘍生検における全てのタンパク質コード遺伝子（ゲノム全体の約1%）のDNA配列を決定し、同じ患者の癌の「エクソーム」と、健康な（通常、白血球に由来する）組織のものとの比較を可能にする。エクソームシーケンシングは、生検切除後数日以内に比較的低コストで完了することができる。トランスクリプトーム解析（RNA-seq）は、並行して同じ細胞試料によって実際に発現される遺伝子に関する補足情報を提供することができる。

30

#### 【0015】

[0015] 個々の腫瘍の各々の変異の状況が独特であることは、一層明らかになっている（Lawrence et al., 2013; Vogelstein et al., 2013）。非同義変異の結果として、腫瘍細胞は、患者のHLA生成物の1つ以上の免疫系に対して、自身のネオペプチドのセットを提示する可能性があり得る。実際、患者自身のCD8又はCD4 T細胞レパートリーによって認識され、免疫療法の標的として機能することができる腫瘍特異的ネオエピトープを同定するために、近年、多大な努力が払われている（レビューについては、（Blankenstein et al., 2015; Van Buuren et al., 2014; Heemskerk et al., 2013; Overwijk et al., 2013; Schumacher and Schreiber, 2015）を参照されたい）。しかしながら、累積的な知見は、ネオ抗原系T細胞免疫療法が黒色腫及び肺癌などの高い変異荷重を示す癌に効果的である可能性がより高いことを示唆しているが、多くの場合、変異が少ないほとんどの癌で利点を示し損なう場合がある（Savage, 2014; Schumacher and Schreiber, 2015）。さらに、かなりの腫瘍内の不均一性（Burrell et al., 2013）は、いくつかの抗原の同時の共標的化を伴って、有用な免疫原性ネオペプチドの欠乏の観点から一層必要になるタスクである変異喪失バリエーションの出現を回避する。

40

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0016】

[0016] 概して、遺伝子的に向け直されたキラー細胞の養子移植を介した癌免疫療法の

50

好適な標的を同定する緊急の必要性は、依然としてほとんど満たされていない。

【課題を解決するための手段】

【0017】

発明の概要

[0017] 本発明は、阻害性キメラ抗原受容体 (iCAR) 又は保護キメラ抗原受容体 (pCAR) / 活性化キメラ抗原受容体 (aCAR) 標的ペアを同定する方法であって、  
i) エフェクター免疫細胞の望ましくない活性化を防止又は減弱することができる iCAR 又は pCAR を選択することであって、iCAR 又は pCAR 標的は、図 22 に列挙された 598 個の遺伝子からなる群から選択される遺伝子からの標的細胞外多型エピトープに向けられる、選択すること；

10

ii) エフェクター免疫細胞の活性化を誘導することができる aCAR を選択することであって、aCAR は、図 23 に列挙された 49 個の標的タンパク質からなる群から選択されるタンパク質の標的非多型細胞表面エピトープに向けられる、選択すること；

iii) 細胞集団において、ステップ i) からの iCAR 又は pCAR 及びステップ ii) からの aCAR を発現させること；

iv) 細胞集団を 1 つ以上のアッセイに供することであって、1 つ以上のアッセイは、エフェクター免疫細胞の望ましくない活性化の防止若しくは減弱を検出し、及び / 又はエフェクター免疫細胞の活性化の誘導を検出することができる、供すること；

v) ステップ iv) のアッセイ結果に基づいて iCAR 又は pCAR / aCAR 標的ペアを同定すること

20

を含む方法を提供する。

【0018】

[0018] いくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞の望ましくない活性化の防止若しくは減弱を検出し、及び / 又はエフェクター免疫細胞の活性化の誘導を検出することができる 1 つ以上のアッセイは、カスパーゼアッセイ (カスパーゼ - 3 を含む)、アネキシン v - PI 染色アッセイ、CD107 アッセイ及びサイトメトリービーズアレイ (CBA) アッセイ (IFN、IL - 2 及び / 又は TNF を測定することを含む) からなる群から選択される。

【0019】

[0019] いくつかの実施形態では、標的遺伝子は、ヘテロ接合性の喪失 (LOH) を示す染色体領域に位置し、LOH 位置は、置換、欠失及び挿入からなる群から選択されるか、又は本明細書において、標的遺伝子は、発現の完全な喪失を示す染色体領域に位置し、発現の完全な喪失は、置換、欠失及び挿入からなる群から選択される変異によるものである。

30

【0020】

[0020] いくつかの実施形態では、LOH 位置は、SNP である。

【0021】

[0021] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、HLA 遺伝子である。

【0022】

[0022] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、HLA - A、HLA - B、HLA - C、HLA - G、HLA - E、HLA - F、HLA - DPA1、HLA - DQA1、HLA - DQB1、HLA - DQB2、HLA - DRB1 又は HLA - DRB5 遺伝子である。

40

【0023】

[0023] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、HLA - A 遺伝子である。

【0024】

[0024] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、HLA - B 遺伝子である。

50

## 【 0 0 2 5 】

[0025] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - C 遺伝子である。

## 【 0 0 2 6 】

[0026] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - G 遺伝子である。

## 【 0 0 2 7 】

[0027] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - E 遺伝子である。

## 【 0 0 2 8 】

[0028] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - F 遺伝子である。

## 【 0 0 2 9 】

[0029] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - D P A 1 遺伝子である。

## 【 0 0 3 0 】

[0030] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - D Q A 1 遺伝子である。

## 【 0 0 3 1 】

[0031] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - D Q B 1 遺伝子である。

## 【 0 0 3 2 】

[0032] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - D Q B 2 遺伝子である。

## 【 0 0 3 3 】

[0033] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - D R B 1 遺伝子である。

## 【 0 0 3 4 】

[0034] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - D R B 5 遺伝子である。

## 【 0 0 3 5 】

[0035] いくつかの実施形態では、請求項 1 の i C A R 又は p C A R は、本明細書とともに提出された長い表において提供されるようなセットでペアにされる。

## 【 0 0 3 6 】

[0036] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、A B C A 4、A D A M 3 0、A Q P 1 0、A S T N 1、C 1 o r f 1 0 1、C A C N A 1 S、C A T S P E R 4、C D 1 0 1、C D 1 6 4 L 2、C D 1 A、C D 1 C、C D 2 4 4、C D 3 4、C D 4 6、C E L S R 2、C H R N B 2、C L C A 2、C L D N 1 9、C L S T N 1、C R 1、C R 2、C R B 1、C S F 3 R、C S M D 2、E C E 1、E L T D 1、E M C 1、E P H A 1 0、E P H A 2、E P H A 8、E R M A P、F C A M R、F C E R 1 A、F C G R 1 B、F C G R 2 A、F C G R 2 B、F C G R 3 A、F C R L 1、F C R L 3、F C R L 4、F C R L 5、F C R L 6、G J B 4、G P A 3 3、G P R 1 5 7、G P R 3 7 L 1、G P R 8 8、H C R T R 1、I G S F 3、I G S F 9、I L 2 2 R A 1、I L 2 3 R、I T G A 1 0、K I A A 1 3 2 4、K I A A 2 0 1 3、L D L R A D 2、L E P R、L G R 6、L R I G 2、L R P 8、L R R C 5 2、L R R C 8 B、L R R N 2、L Y 9、M I A 3、M R 1、M U C 1、M X R A 8、N C S T N、N F A S C、N O T C H 2、N P R 1、N T R K 1、O P N 3、O R 1 0 J 1、O R 1 0 J 4、O R 1 0 K 1、O R 1 0 R 2、O R 1 0 T 2、O R 1 0 X 1、O R 1 1 L 1、O R 1 4 A 1 6、O R 1 4 I 1、O R 1 4 K 1、O R 2 A K 2、O R 2 C 3、O R 2 G 2、O R 2 G 3、O R 2 L 2、O R 2 M 7、O R 2 T 1 2、O R 2 T 2 7、O R 2 T 1、O R 2 T 3、O R 2 T 2 9、O R 2 T

10

20

30

40

50

33、OR2T34、OR2T35、OR2T3、OR2T4、OR2T5、OR2T6、OR2T7、OR2T8、OR2W3、OR6F1、OR6K2、OR6K3、OR6K6、OR6N1、OR6P1、OR6Y1、PDPN、PEAR1、PIGR、PLXNA2、PTCH2、PTCHD2、PTGFRN、PTPRC、PTPRF、PVRL4、RHBG、RXFP4、S1PR1、SCNN1D、SDC3、SELE、SELL、SELP、SEMA4A、SEMA6C、SLAMF7、SLAMF9、SLC2A7、SLC5A9、TACSTD2、TAS1R2、TIE1、TLR5、TMEM81、TNFRSF14、TNFRSF1B、TRABD2B、USH2A、VCAM1及びZP4からなる群から選択される。

**【0037】**

[0037] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ABCG5、ALK、ASPRV1、ATRAID、CD207、CD8B、CHNG、CLEC4F、CNTNAP5、CRIM1、CXCR1、DNER、DPP10、EDAR、EPCAM、GPR113、GPR148、GPR35、GPR39、GYPC、IL1RL1、ITGA4、ITGA6、ITGAV、LCT、LHCGR、LRP1B、LRP2、LY75、MARCO、MERTK、NRP2、OR6B2、PLA2R1、PLB1、PROKR1、PROM2、SCN7A、SDC1、SLC23A3、SLC5A6、TGOLN2、THSD7B、TM4SF20、TMEFF2、TMEM178A、TPO及びTRABD2Aからなる群から選択される。

**【0038】**

[0038] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ACKR2、ALCAM、ANO10、ATP13A4、BTLA、CACNA1D、CACNA2D2、CACNA2D3、CASR、CCRL2、CD200、CD200R1、CD86、CD96、CDCP1、CDHR4、CELSR3、CHL1、CLDN11、CLDN18、CLSTN2、CSPG5、CX3CR1、CXCR6、CYP8B1、DCBLD2、DRD3、EPHA6、EPHB3、GABRR3、GP5、GPR128、GPR15、GPR27、GRM2、GRM7、HEG1、HTR3C、HTR3D、HTR3E、IGSF11、IL17RC、IL17RD、IL17RE、IL5RA、IMPG2、ITGA9、ITGB5、KCNMB3、LRIG1、LRRC15、LRRN1、MST1R、NAALADL2、NRROS、OR5AC1、OR5H1、OR5H14、OR5H15、OR5H6、OR5K2、OR5K3、OR5K4、PIGX、PLXNB1、PLXND1、PRRT3、PTPRG、ROBO2、RYK、SEMA5B、SIDT1、SLC22A14、SLC33A1、SLC4A7、SLITRK3、STAB1、SUSD5、TFRC、TLR9、TMEM108、TMEM44、TMPRSS7、TNFSF10、UPK1B、VIPR1及びZPLD1からなる群から選択される。

**【0039】**

[0039] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ANTXR2、BTC、CNGA1、CORIN、EGF、EMCN、ENPEP、EPHA5、ERVMER34-1、EVC2、FAT1、FAT4、FGFRL1、FRAS1、GPR125、GRID2、GYPA、GYPB、KDR、KIAA0922、KLB、MFS D8、PARM1、PDGFRA、RNF150、TENM3、TLR10、TLR1、TLR6、TMEM156、TMPRSS11A、TMPRSS11B、TMPRSS11E、TMPRSS11F、UGT2A1及びUNC5Cからなる群から選択される。

**【0040】**

[0040] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ADAM19、ADRB2、BTNL3、BTNL8、BTNL9、C5orf15、CATSPER3、CD180、CDH12、CDHR2、COL23A1、CSF1R、F2RL2、FAM174A、FAT2、FGFR4、FLT4、GABRA6、GABRG2、GPR151、GPR98、GRM6、HAVCR1、HAVCR2、IL31RA、IL

10

20

30

40

50

6ST、IL7R、IQGAP2、ITGA1、ITGA2、KCNMB1、LIFR、LNPEP、MEGF10、NIPAL4、NPR3、NRG2、OR2V1、OR2Y1、OSMR、PCDH12、PCDH1、PCDHA1、PCDHA2、PCDHA4、PCDHA8、PCDHA9、PCDHB10、PCDHB11、PCDHB13、PCDHB14、PCDHB15、PCDHB16、PCDHB2、PCDHB3、PCDHB4、PCDHB5、PCDHB6、PCDHGA1、PCDHGA4、PDGFRB、PRLR、SEMA5A、SEMA6A、SGCD、SLC1A3、SLC22A4、SLC22A5、SLC23A1、SLC36A3、SLC45A2、SLC6A18、SLC6A19、SLCO6A1、SV2C、TENM2、TIMD4及びUGT3A1からなる群から選択される。

10

## 【0041】

[0041] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、BAI3、BTN1A1、BTN2A1、BTN2A2、BTN3A1、BTN3A2、BTNL2、CD83、DCBLD1、DLL1、DPCR1、ENPP1、ENPP3、ENPP4、EPHA7、GABBR1、GABRR1、GCNT6、GFRAL、GJB7、GLP1R、GPR110、GPR111、GPR116、GPR126、GPR63、GPRC6A、HFE、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DOA、HLA-DPA1、HLA-DPB1、HLA-DQA1、HLA-DQA2、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1、HLA-DRB5、HLA-E、HLA-F、HLA-G、IL20RA、ITPR3、KIAA0319、LMBRD1、LRFN2、LRP11、MAS1L、MEP1A、MICA、MICB、MOG、MUC21、MUC22、NCR2、NOTCH4、OPRM1、OR10C1、OR12D2、OR12D3、OR14J1、OR2B2、OR2B6、OR2J1、OR2W1、OR5V1、PDE10A、PI16、PKHD1、PTCRA、PTK7、RAET1E、RAET1G、ROS1、SDIM1、SLC16A10、SLC22A1、SLC44A4、TAAR2、TREM1、TREM1及びTREM2からなる群から選択される。

20

## 【0042】

[0042] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、AQP1、C7orf50、CD36、CDHR3、CNTNAP2、DPP6、EGFR、EPHA1、EPHB6、ERVW-1、GHRHR、GJC3、GPNMB、GRM8、HUS1、HYAL4、KIAA1324L、LRRN3、MET、MUC12、MUC17、NPC1L1、NPSR1、OR2A12、OR2A14、OR2A25、OR2A42、OR2A7、OR2A2、OR2AE1、OR2F2、OR6V1、PILRA、PILRB、PKD1L1、PLXNA4、PODXL、PTPRN2、PTPRZ1、RAMP3、SLC29A4、SMO、TAS2R16、TAS2R40、TAS2R4、TFR2、THSD7A、TMEM213、TTYH3、ZAN及びZP3からなる群から選択される。

30

## 【0043】

[0043] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ADAM18、ADAM28、ADAM32、ADAM7、ADAM9、ADRA1A、CDH17、CHRNA2、CSMD1、CSMD3、DCSTAMP、FZD6、GPR124、NRG1、OR4F21、PKHD1L1、PRSS55、SCARA3、SCARA5、SDC2、SLC10A5、SLC39A14、SLC39A4、SLCO5A1、TNFRSF10A及びTNFRSF10Bからなる群から選択される。

40

## 【0044】

[0044] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ABCA1、AQP7、ASTN2、C9orf135、CA9、CD72、CNTNAP3B、CNTNAP3、CRB2、ENTPD8、GPR144、GRIN3A、IZUMO3、KIAA1161、MAMDC4、MEGF9、MUSK、NOTCH1、OR13C2、OR13C3、OR13C5、OR13C8、OR13C9、OR13D1、OR13

50

F 1、OR 1 B 1、OR 1 J 2、OR 1 K 1、OR 1 L 1、OR 1 L 3、OR 1 L 6、OR 1 L 8、OR 1 N 1、OR 1 N 2、OR 1 Q 1、OR 2 S 2、PCSK 5、PDCD 1 LG 2、PLGRKT、PTPRD、ROR 2、SEMA 4 D、SLC 3 1 A 1、TEK、TLR 4、TMEM 2 及びVLDLR からなる群から選択される。

【0045】

[0045] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ABCC 2、ADAM 8、ADRB 1、ANTXR 1、ATRNL 1、C10orf54、CDH 2 3、CDHR 1、CNNM 2、COL 1 3 A 1、COL 1 7 A 1、ENTPD 1、FZD 8、FGFR 2、GPR 1 5 8、GRID 1、IL 1 5 RA、IL 2 RA、ITGA 8、ITGB 1、MRC 1、NRG 3、NPF 1、NRP 1、OPN 4、PCDH 1 5、PKD 2 L 1、PLXDC 2、PRLHR、RET、RGR、SLC 1 6 A 9、SLC 2 9 A 3、SLC 3 9 A 1 2、TACR 2、TCTN 3、TSPAN 1 5、UNC 5 B 及びVSTM 4 からなる群から選択される。

10

【0046】

[0046] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、AMICA 1、ANO 1、ANO 3、APLP 2、C11orf24、CCKBR、CD 2 4 8、CD 4 4、CD 5、CD 6、CD 8 2、CDON、CLMP、CRTAM、DCHS 1、DSCAML 1、FAT 3、FOLH 1、GDPD 4、GDPD 5、GRIK 4、HEPH L 1、HTR 3 B、IFITM 1 0、IL 1 0 RA、KIRREL 3、LGR 4、LRP 4、LRP 5、LRRC 3 2、MCAM、MFRP、MMP 2 6、MPEG 1、MRGP RE、MRGPRF、MRGPRX 2、MRGPRX 3、MRGPRX 4、MS 4 A 4 A、MS 4 A 6 A、MTNR 1 B、MUC 1 5、NAALAD 2、NAALADL 1、NCAM 1、NRXN 2、OR 1 0 A 2、OR 1 0 A 5、OR 1 0 A 6、OR 1 0 D 3、OR 1 0 G 4、OR 1 0 G 7、OR 1 0 G 8、OR 1 0 G 9、OR 1 0 Q 1、OR 1 0 S 1、OR 1 S 1、OR 2 AG 1、OR 2 AG 2、OR 2 D 2、OR 4 A 4 7、OR 4 A 1 5、OR 4 A 5、OR 4 C 1 1、OR 4 C 1 3、OR 4 C 1 5、OR 4 C 1 6、OR 4 C 3、OR 4 C 4 6、OR 4 C 5、OR 4 D 6、OR 4 A 8 P、OR 4 D 9、OR 4 S 2、OR 4 X 1、OR 5 1 E 1、OR 5 1 L 1、OR 5 2 A 1、OR 5 2 E 1、OR 5 2 E 2、OR 5 2 E 4、OR 5 2 E 6、OR 5 2 I 1、OR 5 2 I 2、OR 5 2 J 3、OR 5 2 L 1、OR 5 2 N 1、OR 5 2 N 2、OR 5 2 N 4、OR 5 2 W 1、OR 5 6 B 1、OR 5 6 B 4、OR 5 A 1、OR 5 A 2、OR 5 AK 2、OR 5 AR 1、OR 5 B 1 7、OR 5 B 3、OR 5 D 1 4、OR 5 D 1 6、OR 5 D 1 8、OR 5 F 1、OR 5 I 1、OR 5 L 2、OR 5 M 1 1、OR 5 M 3、OR 5 P 2、OR 5 R 1、OR 5 T 2、OR 5 T 3、OR 5 W 2、OR 6 A 2、OR 6 T 1、OR 6 X 1、OR 8 A 1、OR 8 B 1 2、OR 8 B 2、OR 8 B 3、OR 8 B 4、OR 8 D 1、OR 8 D 2、OR 8 H 1、OR 8 H 2、OR 8 H 3、OR 8 I 2、OR 8 J 1、OR 8 J 2、OR 8 J 3、OR 8 K 1、OR 8 K 3、OR 8 K 5、OR 8 U 1、OR 9 G 1、OR 9 G 4、OR 9 Q 2、P 2 RX 3、PTPRJ、ROBO 3、SIGIRR、SLC 2 2 A 1 0、SLC 3 A 2、SLC 5 A 1 2、SLCO 2 B 1、SORL 1、ST 1 4、SYT 8、TENM 4、TMEM 1 2 3、TMEM 2 2 5、TMPRSS 4、TMPRSS 5、TRIM 5、TRPM 5、TSPAN 1 8 及びZP 1 からなる群から選択される。

20

30

40

【0047】

[0047] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ANO 4、AVPR 1 A、BCL 2 L 1 4、CACNA 2 D 4、CD 1 6 3、CD 1 6 3 L 1、CD 2 7、CD 4、CLEC 1 2 A、CLEC 1 B、CLEC 2 A、CLEC 4 C、CLEC 7 A、CLECL 1、CLSTN 3、GPR 1 3 3、GPRC 5 D、ITGA 7、ITGB 7、KLRB 1、KLRC 2、KLRC 3、KLRC 4、KLRF 1、KLRF 2、LRP 1、LRP 6、MANSC 1、MANSC 4、OLR 1、OR 1 0 AD 1、OR 1 0 P 1、OR 2 AP 1、OR 6 C 1、OR 6 C 2、OR 6 C 3、OR 6 C 4、OR 6 C 6、OR 6 C 7 4、OR 6 C 7 6、OR 8 S 1、OR 9 K 2、ORAI 1、P 2 RX 4、P 2

50

RX7、PRR4、PTPRB、PTPRQ、PTPRR、SCNN1A、SELPLG、SLC2A14、SLC38A4、SLC5A8、SLC6A15、SLC8B1、SLCO1A2、SLCO1B1、SLCO1B7、SLCO1C1、SSPN、STAB2、TAS2R10、TAS2R13、TAS2R14、TAS2R20、TAS2R30、TAS2R31、TAS2R42、TAS2R43、TAS2R46、TAS2R7、TMEM119、TMEM132B、TMEM132C、TMEM132D、TMPRSS12、TNFRSF1A、TSPAN8及びVSIG10からなる群から選択される。

【0048】

[0048] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ATP4B、ATP7B、FLT3、FREM2、HTR2A、KL、PCDH8、RXFP2、SGCG、SHISA2、SLC15A1、SLITRK6及びTNFRSF19からなる群から選択される。

10

【0049】

[0049] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ADAM21、BDKRB2、C14orf37、CLEC14A、DLK1、FLRT2、GPR135、GPR137C、JAG2、LTBR2、MMP14、OR11G2、OR11H12、OR11H6、OR4K1、OR4K15、OR4K5、OR4L1、OR4N2、OR4N5、SLC24A4及びSYNDIG1Lからなる群から選択される。

【0050】

[0050] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ANPEP、CD276、CHRNA7、CHRNB4、CSPG4、DUOX1、DUOX2、FAM174B、GLDN、IGDCC4、ITGA11、LCTL、LTK、LYSMD4、MEGF11、NOX5、NRG4、OCA2、OR4F4、OR4M2、OR4N4、PRTG、RHCG、SCAMP5、SEMA4B、SEMA6D、SLC24A1、SLC24A5、SLC28A1、SPG11、STRA6、TRPM1及びTYRO3からなる群から選択される。

20

【0051】

[0051] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ATP2C2、CACNA1H、CD19、CDH11、CDH15、CDH16、CDH3、CDH5、CNGB1、CNTNAP4、GDPD3、GPR56、GPR97、IFT140、IL4R、ITFG3、ITGAL、ITGAM、ITGAX、KCNG4、MMP15、MSLNL、NOMO1、NOMO3、OR2C1、PIEZO1、PKD1、PKD1L2、QPRT、SCNN1B、SEZ6L2、SLC22A31、SLC5A11、SLC7A6、SPN、TMC5、TMC7、TMEM204、TMEM219及びTMEM8Aからなる群から選択される。

30

【0052】

[0052] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ABCC3、ACE、AOC3、ARL17B、ASGR2、C17orf80、CD300A、CD300C、CD300E、CD300LF、CD300LG、CHRNB1、CLEC10A、CNTNAP1、CPD、CXCL16、ERBB2、FAM171A2、GCGR、GLP2R、GP1BA、GPR142、GUCY2D、ITGA2B、ITGA3、ITGAE、ITGB3、KCNJ12、LRRC37A2、LRRC37A3、LRRC37A、LRRC37B、MRC2、NGFR、OR1A2、OR1D2、OR1G1、OR3A1、OR3A2、OR4D1、OR4D2、RNF43、SCARF1、SCN4A、SDK2、SECTM1、SEZ6、SHPK、SLC26A11、SLC5A10、SPACA3、TMEM102、TMEM132E、TNFSF12、TRPV3、TTYH2及びTUSC5からなる群から選択される。

40

【0053】

[0053] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、APCDD

50

1、CDH19、CDH20、CDH7、COLEC12、DCC、DSC1、DSG1、DSG3、DYNAP、MEP1B、PTPRM、SIGLEC15及びTNFRSF11Aからなる群から選択される。

【0054】

[0054] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ABCA7、ACPT、BCAM、C19orf38、C19orf59、C5AR1、CATSPERD、CATSPERG、CD22、CD320、CD33、CD97、CEACAM19、CEACAM1、CEACAM21、CEACAM3、CEACAM4、CLEC4M、DLL3、EMR1、EMR2、EMR3、ERVV-1、ERVV-2、FAM187B、FCAR、FFAR3、FPR1、FXFD5、GFY、GP6、GPR42、GRIN3B、ICAM3、IGFLR1、IL12RB1、IL27RA、KIR2DL1、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3、KIRREL2、KISS1R、LAIR1、LDLR、LILRA1、LILRA2、LILRA4、LILRA6、LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5、LINGO3、LPHN1、LRP3、MADCAM1、MAG、MEGF8、MUC16、NCR1、NOTCH3、NPHS1、OR10H1、OR10H2、OR10H3、OR10H4、OR1I1、OR2Z1、OR7A10、OR7C1、OR7D4、OR7E24、OR7G1、OR7G2、OR7G3、PLVAP、PTGIR、PTPRH、PTPRS、PVR、SCN1B、SHISA7、SIGLEC10、SIGLEC11、SIGLEC12、SIGLEC5、SIGLEC6、SIGLEC8、SIGLEC9、SLC44A2、SLC5A5、SLC7A9、SPINT2、TARM1、TGFBRL3、TMC4、TMEM91、TMEM161A、TMPRSS9、TNFSF14、TNFSF9、TRPM4、VN1R2、VSI10L、VSTM2B及びZNF4からなる群から選択される。

10

20

【0055】

[0055] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ABHD12、ADAM33、ADRA1D、APMAP、ATRNL、CD40、CD93、CDH22、CDH26、CDH4、FLRT3、GCNT7、GGT7、JAG1、LRRN4、NPBWR2、OCSTAMP、PTPRA、PTPRT、SEL1L2、SIGLEC1、SIRPA、SIRPB1、SIRPG、SLC24A3、SLC2A10、SLC4A11、SSTR4及びTHBDからなる群から選択される。

30

【0056】

[0056] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、CLDN8、DSCAM、ICOSLG、IFNAR1、IFNGR2、IGSF5、ITGB2、KCNJ15、NCAM2、SLC19A1、TMPRSS15、TMPRSS2、TMPRSS3、TRPM2及びUMODL1からなる群から選択される。

【0057】

[0057] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、CACNA1I、CELSR1、COMT、CSF2RB、GGT1、GGT5、IL2RB、KREMEN1、MCHR1、OR11H1、P2RX6、PKDREJ、PLXNB2、SCARF2、SEZ6L、SSTR3、SUSD2、TMPRSS6及びTNFRSF13Cからなる群から選択される。

40

【0058】

[0058] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ATP6AP2、ATP7A、CNGA2、EDA2R、FMR1NB、GLRA4、GPR112、GUCY2F、HEPH、P2RY10、P2RY4、PLXNA3、PLXNB3、TLR8、VSI4及びXGからなる群から選択される。

【0059】

[0059] いくつかの実施形態では、腫瘍は、乳房腫瘍、前立腺腫瘍、卵巣腫瘍、子宮頸部腫瘍、皮膚腫瘍、膵臓腫瘍、結腸直腸腫瘍、腎腫瘍、肝臓腫瘍、脳腫瘍、リンパ腫、白

50

血病、肺腫瘍及び神経膠腫からなる群から選択される。

【0060】

[0060] いくつかの実施形態では、腫瘍は、副腎腫瘍、腎臓腫瘍、黒色腫、DLBC、乳房腫瘍、肉腫、卵巣腫瘍、肺腫瘍、膀胱腫瘍及び肝臓腫瘍からなる群から選択される。

【0061】

[0061] いくつかの実施形態では、副腎腫瘍は、副腎皮質癌である。

【0062】

[0062] いくつかの実施形態では、腎臓腫瘍は、嫌色素性腎細胞癌である。

【0063】

[0063] いくつかの実施形態では、黒色腫は、ブドウ膜黒色腫である。

10

【0064】

[0064] 本発明は、(i)本明細書に記載のiCAR又はpCARと、(ii)活性化キメラ抗原受容体(aCAR)とを発現する安全なエフェクター免疫細胞も提供する。

【0065】

[0065] いくつかの実施形態では、aCARは、腫瘍関連抗原又は非多型細胞表面エпитープに向けられるか又は特異的に結合する。

【0066】

[0066] いくつかの実施形態では、aCARは、腫瘍関連タンパク質、表1に列挙されたCAR標的、iCARも発現される腫瘍組織で発現される任意の細胞表面タンパク質に向けられるか又は特異的に結合する。

20

【0067】

[0067] いくつかの実施形態では、非多型細胞表面エピトープは、CD19、CD20、CD22、CD10、CD7、CD49f、CD56、CD74、CAIX、Ig、ROR1、ROR2、CD30、ルイスY、CD33、CD34、CD38、CD123、CD28、CD44v6、CD44、CD41、CD133、CD138、NKG2D-L、CD139、BCMA、GD2、GD3、hTERT、FBP、EGP-2、EGP-40、FR-、L1-CAM、Erbb2、3、4、EGFRvIII、VEGFR-2、IL-13R<sub>2</sub>、FAP、メソテリン、c-MET、PSMA、CEA、KRas、MAGE-A1、MUC1、MUC16、PDL1、PSCA、EpCAM、FSHR、AFP、AXL、CD80、CD89、CDH17、CLD18、GPC3、TEM8、TGFB1、NY-ESO-1、WT-1及びEGFRからなる群から選択される。

30

【0068】

[0068] いくつかの実施形態では、非多型細胞表面エピトープは、5T4、AFP、AXL、B7H6、CD133、CD19、CD20、CD22、CD30、CD44v6、CD5、CD7、CD70、CD80、CD89、CDH17、CEA、CLD18、CLEC14a、CLL-1、cMet、CS1、EGFR、EGFRvIII、EpCAM、NY-ESO-1、FAP、FHSR、GP100、GPC3、HER2、IL-13R<sub>2</sub>、IL-13R<sub>2</sub>、K-Ras、メソテリン、MUC1、MUC-CD、NKG2Dリガンド、NKG2D<sub>2</sub>リガンド、PDL1、PSCA、PSMA、ROR1、ROR-2、サバイピン、TEM8、TGF、VEGFR2及びALKからなる群から選択される。

40

【0069】

[0069] いくつかの実施形態では、安全なエフェクター免疫細胞は、自家又は普遍的(同種)エフェクター細胞である。

【0070】

[0070] いくつかの実施形態では、安全なエフェクター免疫細胞は、T細胞、ナチュラルキラー細胞及びサイトカイン誘導キラー細胞からなる群から選択される。

【0071】

[0071] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARの発現レベルは、aCARの

50

発現レベル以上である。

【0072】

[0072] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、第1のベクターによって発現され、及びaCARは、第2のベクターによって発現される。

【0073】

[0073] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCAR及びaCARは、両方とも同じベクターによって発現される。

【0074】

[0074] いくつかの実施形態では、aCARをコードするヌクレオチド配列は、iCAR又はpCARをコードするヌクレオチド配列の下流にある。

10

【0075】

[0075] いくつかの実施形態では、ヌクレオチド配列は、aCARをコードするヌクレオチド配列と、iCAR又はpCARをコードするヌクレオチド配列との間にウイルス自己開裂型2Aペプチドを含む。

【0076】

[0076] いくつかの実施形態では、ウイルス自己開裂型2Aペプチドは、ゾセア・アシグナ(Thosea asigna)ウイルス(TaV)由来のT2A、口蹄疫ウイルス(FMDV)由来のF2A、ウマ鼻炎Aウイルス(ERAV)由来のE2A及びブタテッシュウウイルス-1(PTV1)由来のP2Aからなる群から選択される。

20

【0077】

[0077] いくつかの実施形態では、aCARをコードするヌクレオチド配列は、柔軟なリンカーを介してiCAR又はpCARに連結される。

【0078】

[0078] いくつかの実施形態では、aCARは、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素を含む。

【0079】

[0079] いくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素は、例えば、CD3又はFcR鎖の免疫受容体チロシン活性化モチーフ(ITAM)と相同である。

【0080】

[0080] いくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素は、KIR2DS及びKIR3DSなどの活性化キラー細胞免疫グロブリン様受容体(KIR)と相同である。

30

【0081】

[0081] いくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素は、DAP12などのアダプター分子と相同であるか又はそれである。

【0082】

[0082] いくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素は、CD27、CD28、ICOS、CD137(4-1BB)、CD134(OX40)又はGITRの共刺激シグナル伝達要素と相同であるか又はそれである。

40

【0083】

[0083] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、標的細胞外多型エピトープに向けられ、標的細胞外多型エピトープは、HLAである。

【0084】

[0084] いくつかの実施形態では、aCARは、腫瘍関連抗原又は非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合し、腫瘍関連抗原又は非多型細胞表面エピトープは、EGFR、HER2、メソテリン及びCEAからなる群から選択される。

【0085】

50

[0085] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、HLAに向けられ、及びaCARは、EGFR、HER2、メソセリン及び/又はCEAに向けられるか又は特異的に結合する。

【0086】

[0086] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、HLAに向けられ、及びaCARは、EGFRに向けられるか又は特異的に結合する。

【0087】

[0087] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、HLAに向けられ、及びaCARは、HER2に向けられるか又は特異的に結合する。

【0088】

[0088] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、HLAに向けられ、及びaCARは、メソセリンに向けられるか又は特異的に結合する。

【0089】

[0089] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、HLAに向けられ、及びaCARは、CEAに向けられるか又は特異的に結合する。

【0090】

[0090] いくつかの実施形態では、安全なエフェクター免疫細胞によって標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌若しくは肺癌又は膵臓癌若しくは肺癌に由来する細胞である。

【0091】

[0091] いくつかの実施形態では、安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される核酸配列を含み、核酸配列は、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする。

【0092】

[0092] いくつかの実施形態において、安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする核酸配列を含み、核酸配列は、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする。

【0093】

[0093] いくつかの実施形態では、安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29及び配列番号30からなる群から選択される核酸配列を含み、核酸配列は、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードし、安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される核酸配列を含み、核酸配列は、aCAR又はその一部をコードする。

【0094】

[0094] いくつかの実施形態において、安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする核酸配列を含み、核酸配列は、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードし、安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする核酸配列を含み、核酸配列は、aCAR又はその一部をコードする。

【0095】

[0095] いくつかの実施形態では、安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号9、配列

10

20

30

40

50

番号 1 1、配列番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、配列番号 2 0、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 6、配列番号 2 7、配列番号 2 8、配列番号 2 9 及び配列番号 3 0 からなる群から選択される核酸配列を含み、核酸配列は、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部をコードし、安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号 2、配列番号 3 9、配列番号 4 0、配列番号 4 1、配列番号 4 2、配列番号 4 3、配列番号 4 4 及び配列番号 4 5 からなる群から選択されるアミノ配列をコードする核酸配列を含み、核酸配列は、a C A R 又はその一部をコードする。

【 0 0 9 6 】

[0096] いくつかの実施形態において、安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号 6、配列番号 1 0、配列番号 4 6、配列番号 4 7、配列番号 4 8 及び配列番号 4 9 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする核酸配列を含み、核酸配列は、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部をコードし、安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号 1、配列番号 3 7 及び配列番号 3 8 からなる群から選択される核酸配列を含み、核酸配列は、a C A R 又はその一部をコードする。

10

【 0 0 9 7 】

[0097] いくつかの実施形態では、安全なエフェクター免疫細胞は、配列番号 3 1、配列番号 3 2 及び配列番号 3 3 からなる群から選択される核酸配列を含み、核酸配列は、i C A R 又は p C A R と a C A R との両方をコードする。

【 0 0 9 8 】

[0098] 本発明は、L O H によって特徴付けられる腫瘍を有する患者の癌を処置するための方法であって、請求項 1 ~ 8 8 のいずれかに記載の i C A R 及び a C A R を発現する安全なエフェクター免疫細胞を患者に投与することを含む方法も提供する。

20

【 0 0 9 9 】

[0099] 本発明は、標的遺伝子又は標的細胞外多型エピトープ遺伝子の発現の完全な喪失をもたらす遺伝子変異によって特徴付けられる腫瘍を有する患者の癌を処置するための方法であって、請求項 1 ~ 8 8 のいずれかに記載の安全なエフェクター免疫細胞を患者に投与することを含む方法も提供する。

【 0 1 0 0 】

[00100] 本発明は、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部をコードする核酸配列であって、配列番号 9、配列番号 1 1、配列番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、配列番号 2 0、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 6、配列番号 2 7、配列番号 2 8、配列番号 2 9、配列番号 3 0、配列番号 3 1、配列番号 3 2、配列番号 3 3、配列番号 3 4、配列番号 3 5 及び配列番号 3 6 からなる群から選択される配列を含む核酸配列をさらに提供する。

30

【 0 1 0 1 】

[00101] 本発明は、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列であって、配列番号 1、配列番号 3 7 及び配列番号 3 8 からなる群から選択される配列を含む核酸配列をさらに提供する。

40

【 0 1 0 2 】

[00102] 本発明は、核酸配列又は核酸配列組成物であって、1) i C A R 若しくは p C A R 又はその一部であって、核酸配列は、配列番号 9、配列番号 1 1、配列番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、配列番号 2 0、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 6、配列番号 2 7、配列番号 2 8、配列番号 2 9、配列番号 3 0、配列番号 3 4、配列番号 3 5 及び配列番号 3 6 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部；及び 2) a C A R 又はその一部であって、核酸配列は、配列番号 1、配列番号 3 7 及び配列番号 3 8 からなる群から選択される配列を含む、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列又は核酸配列組成物をさらに

50

提供する。

【0103】

[00103] 本発明は、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列又は核酸配列組成物であって、核酸配列は、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、核酸配列又は核酸配列組成物をさらに提供する。

【0104】

[00104] 本発明は、a C A R又はその一部をコードする核酸配列又は核酸配列組成物であって、核酸配列は、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ配列をコードする、核酸配列又は核酸配列組成物をさらに提供する。

10

【0105】

[00105] 本発明は、核酸配列又は核酸配列組成物であって、1)配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする核酸配列であって、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列、及び2)配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ配列をコードする核酸配列であって、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む核酸配列又は核酸配列組成物をさらに提供する。

【0106】

[00106] 本発明は、核酸配列又は核酸配列組成物であって、1) i C A R若しくはp C A R又はその一部であって、核酸配列は、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、i C A R若しくはp C A R又はその一部；及び2)配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ配列をコードする核酸配列であって、a C A R又はその一部をコードする核酸配列をコードする核酸配列又は核酸配列組成物をさらに提供する。

20

30

【0107】

[00107] 本発明は、核酸配列又は核酸配列組成物であって、1)配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする核酸配列であって、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列、及び2) a C A R又はその一部であって、核酸配列は、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される配列を含む、a C A R又はその一部を含む核酸配列又は核酸配列組成物をさらに提供する。

【0108】

[00108] 本発明は、i C A R及びa C A Rをコードする核酸配列であって、配列番号31、配列番号32及び配列番号33からなる群から選択される配列を含む核酸配列も提供する。

40

【0109】

[00109] 本発明は、本明細書に記載の核酸又は核酸配列組成物を含むベクターも提供する。

【0110】

[00110] いくつかの実施形態では、ベクター組成物は、

- 1) 請求項93又は94のいずれか一項に記載の核酸を含む第1の発現ベクター、及び
- 2) 請求項96又は97のいずれか一項に記載の核酸を含む第2の発現ベクターを含む。

50

## 【0111】

【00111】本発明は、本明細書に記載の核酸又は核酸配列組成物を含む安全なエフェクター細胞も提供する。

## 【0112】

【00112】本発明は、本明細書に記載のベクター又はベクター組成物を含む、エフェクター細胞も提供する。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0113】

図面の簡単な説明

【図1】【00113】iCARの概念を示す（（Fedorov et al., 2013aから引用））。 10

【図2】【00114】aCAR / pCARの分子設計及び作用機序を示す。正常細胞上のその抗原へのpCARの結合は、これらがaCAR抗原を発現するか又はしないかに関係なく、迅速なRIP及びポリペプチドの3つの別個の断片への分解を生じることが予想される。

【図3A】【00115】HLAクラスI遺伝子座をコードする染色体領域でLOHを受けている腫瘍試料の割合を示す。TCGAデータベースからの腫瘍型におけるA . HLA - G、B . HLA - A、C . ZNRD1。腎臓嫌色素性 [ K I C H ]、副腎皮質癌 [ A C C ]、膵臓腺癌 [ P A A D ]、肉腫 [ S A R C ]、腎臓腎乳頭状細胞癌 [ K I R P ]、食道癌 [ E S C A ]、肺扁平上皮癌 [ L U S C ]、腎臓腎淡明細胞癌 [ K I R C ]、膀胱尿路上皮癌 [ B L C A ]、卵巣漿液性嚢胞腺癌 [ O V ]、胸腺腫 [ T H Y M ]、子宮頸部扁平上皮癌及び子宮頸部腺癌 [ C E S C ]、頭頸部扁平上皮癌 [ H N S C ]、乳房浸潤癌 [ B R C A ]、胃腺癌 [ S T A D ]、リンパ性新生物びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 [ D L B C ]、多形神経膠芽腫 [ G B M ]、結腸腺癌 [ C O A D ]、直腸腺癌 [ R E A D ]、肺腺癌 [ L U A D ]、精巣胚細胞腫瘍 [ T G C T ]、中皮腫 [ M E S O ]、胆管癌 [ C H O L ]、子宮癌肉腫 [ U C S ]、皮膚黒色腫 [ S K C M ]、子宮体部子宮内膜癌 [ U C E C ]、脳低グレード神経膠腫 [ L G G ]、前立腺腺癌 [ P R A D ]、肝臓肝細胞癌 [ L I H C ]、甲状腺癌 [ T H C A ]、褐色細胞腫及び傍神経節腫 [ P C P G ]、急性骨髄性白血病 [ L A M L ]、ブドウ膜黒色腫 [ U V M ]。 20

【図3B】【00115】HLAクラスI遺伝子座をコードする染色体領域でLOHを受けている腫瘍試料の割合を示す。TCGAデータベースからの腫瘍型におけるA . HLA - G、B . HLA - A、C . ZNRD1。腎臓嫌色素性 [ K I C H ]、副腎皮質癌 [ A C C ]、膵臓腺癌 [ P A A D ]、肉腫 [ S A R C ]、腎臓腎乳頭状細胞癌 [ K I R P ]、食道癌 [ E S C A ]、肺扁平上皮癌 [ L U S C ]、腎臓腎淡明細胞癌 [ K I R C ]、膀胱尿路上皮癌 [ B L C A ]、卵巣漿液性嚢胞腺癌 [ O V ]、胸腺腫 [ T H Y M ]、子宮頸部扁平上皮癌及び子宮頸部腺癌 [ C E S C ]、頭頸部扁平上皮癌 [ H N S C ]、乳房浸潤癌 [ B R C A ]、胃腺癌 [ S T A D ]、リンパ性新生物びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 [ D L B C ]、多形神経膠芽腫 [ G B M ]、結腸腺癌 [ C O A D ]、直腸腺癌 [ R E A D ]、肺腺癌 [ L U A D ]、精巣胚細胞腫瘍 [ T G C T ]、中皮腫 [ M E S O ]、胆管癌 [ C H O L ]、子宮癌肉腫 [ U C S ]、皮膚黒色腫 [ S K C M ]、子宮体部子宮内膜癌 [ U C E C ]、脳低グレード神経膠腫 [ L G G ]、前立腺腺癌 [ P R A D ]、肝臓肝細胞癌 [ L I H C ]、甲状腺癌 [ T H C A ]、褐色細胞腫及び傍神経節腫 [ P C P G ]、急性骨髄性白血病 [ L A M L ]、ブドウ膜黒色腫 [ U V M ]。 30

【図3C】【00115】HLAクラスI遺伝子座をコードする染色体領域でLOHを受けている腫瘍試料の割合を示す。TCGAデータベースからの腫瘍型におけるA . HLA - G、B . HLA - A、C . ZNRD1。腎臓嫌色素性 [ K I C H ]、副腎皮質癌 [ A C C ]、膵臓腺癌 [ P A A D ]、肉腫 [ S A R C ]、腎臓腎乳頭状細胞癌 [ K I R P ]、食道癌 [ E S C A ]、肺扁平上皮癌 [ L U S C ]、腎臓腎淡明細胞癌 [ K I R C ]、膀胱尿路上皮癌 [ B L C A ]、卵巣漿液性嚢胞腺癌 [ O V ]、胸腺腫 [ T H Y M ]、子宮頸部扁平上皮癌及び子宮頸部腺癌 [ C E S C ]、頭頸部扁平上皮癌 [ H N S C ]、乳房浸潤癌 [ B R C A ]、胃腺癌 [ S T A D ]、リンパ性新生物びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 [ D L B 40

C ]、多形神経膠芽腫 [ G B M ]、結腸腺癌 [ C O A D ]、直腸腺癌 [ R E A D ]、肺腺癌 [ L U A D ]、精巢胚細胞腫瘍 [ T G C T ]、中皮腫 [ M E S O ]、胆管癌 [ C H O L ]、子宮癌肉腫 [ U C S ]、皮膚黒色腫 [ S K C M ]、子宮体部子宮内膜癌 [ U C E C ]、脳低グレード神経膠腫 [ L G G ]、前立腺腺癌 [ P R A D ]、肝臓肝細胞癌 [ L I H C ]、甲状腺癌 [ T H C A ]、褐色細胞腫及び傍神経節腫 [ P C P G ]、急性骨髄性白血病 [ L A M L ]、ブドウ膜黒色腫 [ U V M ]

【図 4】[00116]ゲノム内の全ての他のタンパク質コード遺伝子と比較した H L A - A の発現を示す。各遺伝子の値は、G T E X (gtexportal.org) から得た組織中央値の平均 R P K M 値を反映する。

【図 5】[00117]実施例 5 における、癌全体の H L A タンパク質のヘテロ接合性の喪失の分析のために提案されたワークフローを示す。

10

【図 6】[00118]ABSOLUTE 処理されたコピー数データを使用した pancan12 のデータのセットにおける L O H の頻度を示す。線は、頻度の 95% 二項信頼区間を表す。

【図 7】[00119]H L A - A で観察された L O H の種類を示す。H L A - A L O H の 588 エピソードのうち、H L A - A 遺伝子内に切断点が含まれるものはなかった。

【図 8】[00120]H L A - A を包含する欠失の長さ (塩基対) の分布を示す。これらの欠失の大部分は、染色体 6 p 超の長さである。

【図 9】[00121]相対的に H L A - A の L O H を有する患者の割合と、-0.1 の閾値での ABSOLUTE コピー数データとの間の相関性を示す。

【図 10A】[00122]H L A - A、H L A - B、H L A - C の L O H の比率の 32 の癌全体の比較により、ほぼ同一のパターンの L O H が明らかになることを示す。

20

【図 10B】[00122]H L A - A、H L A - B、H L A - C の L O H の比率の 32 の癌全体の比較により、ほぼ同一のパターンの L O H が明らかになることを示す。

【図 10C】[00122]H L A - A、H L A - B、H L A - C の L O H の比率の 32 の癌全体の比較により、ほぼ同一のパターンの L O H が明らかになることを示す。

【図 11】[00123]染色体 6 p の欠失で選別した A M L コピー数プロファイルの I G V スクリーンショットを示す。青は、欠失を示し、赤は、増幅を示す。H L A - A の欠失はない。

【図 12】[00124]全ての S N P について L O H を受けているブドウ膜黒色腫腫瘍の割合を示す。

30

【図 13】[00125]T C G A 研究略称を提供する (<https://gdc.cancer.gov/resources-tcga-users/tcga-code-tables/tcga-study-abbreviations>でも入手可能)。

【図 14】[00126]第 17 染色体上にコードされる腫瘍抑制タンパク質 T P 5 3 に隣接する染色体領域の喪失を示す。i C A R 標的として同定された、第 17 染色体上にコードされている遺伝子は、患者 R C 0 0 1 の処置に使用することができる。

【図 15】[00127]i C A R 及び a C A R 構築物の概略図を提供する。

【図 16】[00128]E L I S A によって測定された I L - 2 分泌に関するデータを提供する。i C A R は、i C A R 標的を発現する標的細胞との相互作用により、I L - 2 分泌を特異的に阻害する。

【図 17】[00129]C B A によって測定された、i C A R 標的を発現する標的細胞との相互作用により、i C A R が I L - 2 分泌を特異的に阻害することを示す。

40

【図 18】[00130]C D 1 9 発現標的細胞による、C D 1 9 a C A R Jurkat - N F A T の特異的活性化を示す。

【図 19】[00131]C D 1 9 a C A R / H L A - A 2 i C A R Jurkat - N F A T における N F A T 活性化の特異的阻害を示す。

【図 20】[00132]異なる E / T 比での N F A T 活性化の特異的阻害を示す。

【図 21A】[0001]図 15 の i C A R 及び a C A R 構築物の配列を提供する。C D 1 9 a C A R \_\_ I R E S \_\_ R F P \_\_ P 2 A P u r o - D N A 配列 (配列番号 1) である。

【図 21B】[0001]図 15 の i C A R 及び a C A R 構築物の配列を提供する。C D 1 9 a C A R - タンパク質配列 (配列番号 2) である。

50

【図21C】[0001]図15のiCAR及びaCAR構築物の配列を提供する。RFP-タンパク質配列(配列番号3)である。

【図21D】[0001]図15のiCAR及びaCAR構築物の配列を提供する。プロマイシン耐性タンパク質配列(配列番号4)である。

【図21E】[0001]図15のiCAR及びaCAR構築物の配列を提供する。CD20 iCAR\_\_IRES\_\_GFP\_\_P2A\_\_Hygro-DNA配列(配列番号5)である。

【図21F(1)】[0001]図15のiCAR及びaCAR構築物の配列を提供する。CD20 iCAR-タンパク質配列(配列番号6)である。

【図21F(2)】[0001]図15のiCAR及びaCAR構築物の配列を提供する。CD20 iCAR-タンパク質配列(配列番号6)である。

【図21G】[0001]図15のiCAR及びaCAR構築物の配列を提供する。ハイグロマイシン耐性-タンパク質配列(配列番号8)である。

【図21H】[0001]図15のiCAR及びaCAR構築物の配列を提供する。HLA-A2 iCAR\_\_IRES\_\_GFP\_\_P2A\_\_Hygro-DNA配列(配列番号9)である。

【図21I】[0001]図15のiCAR及びaCAR構築物の配列を提供する。HLA-A2 iCAR-タンパク質配列(配列番号10)である。

【図21J】[0001]iCAR DNA配列CD8 SP-1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV-94-828; CTLA4(ヒンジ+TM+細胞内ドメイン)-829-1074(配列番号11)である。

【図21K】[0001]iCAR DNA配列CD8 SP-1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV-94-828; LAG-3(ヒンジ+TM+細胞内ドメイン)-829-1,143(配列番号12)である。

【図21L】[0001]iCAR DNA配列CD8 SP-1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV-94-828; 2B4(ヒンジ+TM+細胞内ドメイン)-829-1,269(配列番号13)である。

【図21M】[0001]iCAR DNA配列CD8 SP-1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV-94-828; BTLA(ヒンジ+TM+細胞内ドメイン)-829-1,293(配列番号14)である。

【図21N】[0001]iCAR DNA配列CD8 SP-1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV-94-828; KIR2DL2(ヒンジ+TM+細胞内ドメイン)-829-1,185(配列番号15)である。

【図21O】[0001]iCAR DNA配列CD8 SP-1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV-94-828; KIR2DL3(ヒンジ+TM+細胞内ドメイン)-829-1,164(配列番号16)である。

【図21P】[0001]iCAR DNA配列CD8 SP-1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV-94-828; PD1ヒンジ-829-906; PD1 TM-907-969; KIR2DL2(シグナル伝達ドメイン)-970-1221(配列番号17)である。

【図21Q】[0001]iCAR DNA配列CD8 SP-1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV-94-828; PD1ヒンジ-829-906; PD1 TM-907-969; BTLA(シグナル伝達ドメイン)-970-1302(配列番号18)である。

【図21R】[0001]iCAR DNA配列CD8 SP-1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV-94-828; PD1ヒンジ-829-906; PD1 TM-907-969; CTLA4(シグナル伝達ドメイン)-970-1092(配列番号19)である。

【図21S】[0001]iCAR DNA配列CD8 SP-1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV-94-828; PD1ヒンジ-829-906; PD1 TM-907-969; CSK(シグナル伝達ドメイン)-970-1734(配列

10

20

30

40

50

番号 20) である。

【図 21T】[0001] iCAR DNA 配列 CD8 SP - 1 - 63 ; Myc タグ - 64 - 93 ; HLA - A2 scFV - 94 - 828 ; PD1 ヒンジ - 829 - 906 ; PD1 TM - 907 - 969 ; PD1 シグナル伝達 - 970 - 1260 ; GC リンカー - 1261 - 1305 ; CTLA4 (シグナル伝達ドメイン) - 1306 - 1428 (配列番号 21) である。

【図 21U】[0001] iCAR DNA 配列 CD8 SP - 1 - 63 ; Myc タグ - 64 - 93 ; HLA - A2 scFV - 94 - 828 ; PD1 ヒンジ - 829 - 906 ; PD1 TM - 907 - 969 ; PD1 シグナル伝達 - 970 - 1260 ; GC リンカー - 1261 - 1305 ; LAG3 (シグナル伝達ドメイン) - 1306 - 1467 (配列番号 22) である。

【図 21V】[0001] iCAR DNA 配列 CD8 SP - 1 - 63 ; Myc タグ - 64 - 93 ; HLA - A2 scFV - 94 - 828 ; PD1 ヒンジ - 829 - 906 ; PD1 TM - 907 - 969 ; PD1 シグナル伝達 - 970 - 1260 ; GC リンカー - 1261 - 1305 ; 2B4 (シグナル伝達ドメイン) - 1306 - 1665 (配列番号 23) である。

【図 21X】[0001] iCAR DNA 配列 CD8 SP - 1 - 63 ; Myc タグ - 64 - 93 ; HLA - A2 scFV - 94 - 828 ; PD1 ヒンジ - 829 - 906 ; PD1 TM - 907 - 969 ; PD1 シグナル伝達 - 970 - 1260 ; GC リンカー - 1261 - 1305 ; CD300LF (シグナル伝達ドメイン) - 1306 - 1644 (配列番号 24) である。

【図 21Y】[0001] iCAR DNA 配列 CD8 SP - 1 - 63 ; Myc タグ - 64 - 93 ; HLA - A2 scFV - 94 - 828 ; PD1 ヒンジ - 829 - 906 ; PD1 TM - 907 - 969 ; PD1 シグナル伝達 - 970 - 1260 ; GC リンカー - 1261 - 1305 ; BTLA (シグナル伝達ドメイン) - 1306 - 1428 (配列番号 25) である。

【図 21Z】[0001] iCAR DNA 配列 CD8 SP - 1 - 63 ; Myc タグ - 64 - 93 ; HLA - A2 scFV - 94 - 828 ; PD1 ヒンジ - 829 - 906 ; PD1 TM - 907 - 969 ; PD1 シグナル伝達 - 970 - 1260 ; GC リンカー - 1261 - 1305 ; LAIR1 (シグナル伝達ドメイン) - 1306 - 1608 (配列番号 26) である。

【図 21AA】[0001] iCAR DNA 配列 CD8 SP - 1 - 63 ; Myc タグ - 64 - 93 ; HLA - A2 scFV - 94 - 828 ; PD1 ヒンジ - 829 - 906 ; PD1 TM - 907 - 969 ; PD1 シグナル伝達 - 970 - 1260 ; GC リンカー - 1261 - 1305 ; TIGIT (シグナル伝達ドメイン) - 1306 - 1551 (配列番号 27) である。

【図 21AB】[0001] iCAR DNA 配列 CD8 SP - 1 - 63 ; Myc タグ - 64 - 93 ; HLA - A2 scFV - 94 - 828 ; PD1 ヒンジ - 829 - 906 ; PD1 TM - 907 - 969 ; PD1 シグナル伝達 - 970 - 1260 ; GC リンカー - 1261 - 1305 ; VISTA (シグナル伝達ドメイン) - 1306 - 1593 (配列番号 28) である。

【図 21AC】[0001] iCAR DNA 配列 CD8 SP - 1 - 63 ; Myc タグ - 64 - 93 ; HLA - A2 scFV - 94 - 828 ; PD1 ヒンジ - 829 - 906 ; PD1 TM - 907 - 969 ; PD1 シグナル伝達 - 970 - 1260 ; GC リンカー - 1261 - 1305 ; Ly9 (シグナル伝達ドメイン) - 1306 - 1842 (配列番号 29) である。

【図 21AD】[0001] iCAR DNA 配列 CD8 SP - 1 - 63 ; Myc タグ - 64 - 93 ; PSMA scFV - 94 - 867 ; PD1 ヒンジ - 868 - 944 ; PD1 TM - 945 - 1007 ; PD1 (シグナル伝達) - 1008 - 1299 (配列番号 30) である。

10

20

30

40

50

【図21AE】[0001] iCAR及びaCAR DNA配列CD8 SP 1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV 94-828; PD1ヒンジ-829-906; PD1 TM-907-969; PD1(シグナル伝達)-970-1260; IRES-1264-1850; CD8 SP-1857-1916; FLAGタグ-1917-1940; CD19 scFV-1941-2666; CD8ヒンジ-2667-2801; CD8 TM-2802-2873; 41BB-2874-2999; CD3z-3000-3335(配列番号31)である。

【図21AF】[0001] iCAR及びaCAR DNA配列であり、iCAR DNA配列CD8 SP 1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV 94-828; PD1ヒンジ-829-906; PD1 TM-907-969; IRES-973-1559; CD8 SP-1566-1625; FLAGタグ-1626-1649; CD19 scFV-1650-2375; CD8ヒンジ-2376-2510; CD8 TM-2511-2582; 41BB-2583-2708; CD3z 2709-3044(配列番号32)である。

【図21AG】[0001] iCAR及びaCAR DNA配列CD8 SP 1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV 94-828; PD1ヒンジ-829-906; PD1 TM-907-969; PD1(シグナル伝達)-970-1260; P2A-1261-1326; CD8 SP-1327-1351; FLAGタグ-1352-1410; CD19 scFV-1411-2136; CD8ヒンジ-2137-2271; CD8 TM-2272-2343; 41BB-2344-2469; CD3z 2470-2805(配列番号33)である。

【図21AH】[0001] iCAR DNA配列CD8 SP 1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV 94-828; PD1ヒンジ-829-906; PD1 TM-907-969(配列番号34)である。

【図21AI】[0001] iCAR DNA配列CD8 SP 1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV 94-828; PD1ヒンジ-829-906; PD1 TM-907-969; PD1(シグナル伝達)-970-1260(配列番号35)である。

【図21AJ】[0001] iCAR DNA配列CD8 SP 1-63; Mycタグ-64-93; HLA-A2 scFV 94-828; PD1ヒンジ-829-906; PD1 TM-907-969; PD1(シグナル伝達)-970-1260; GSリンカー-1261-1305; PD1(シグナル伝達)1306-1596(配列番号36)である。

【図21AK】[0001] aCAR DNA配列CD8シグナルペプチド 1-63; Flagタグ 64-87; CD19 scFV 88-813; CD8ヒンジ 814-948; CD8 TM 949-1020; CD28 1021-1677; CD3z 1678-2013(配列番号37)である。

【図21AL】[0001] aCAR DNA配列CD8 SP-ヌクレオチド1-63; Mycタグ-ヌクレオチド64-93; scFV EGFR 94-816; CD8ヒンジ817-951; CD8 TM 952-1023; 41BB 1024-1149; CD3z 1150-1485(配列番号38)である。

【図21AM】[0001] aCARアミノ酸配列EGFR aCAR(セツキシマブscFvに基づく)(配列番号39)である。

【図21AN】[0001] aCARアミノ酸配列EGFR aCAR(パニツムマブscFvに基づく)(配列番号40)である。

【図21AO】[0001] aCARアミノ酸配列EGFR aCAR(ニモツズマブscFvに基づく)(配列番号41)である。

【図21AP】[0001] aCARアミノ酸配列EGFR aCAR(ネシツムマブscFvに基づく)(配列番号42)である。

【図21AQ】[0001] aCARアミノ酸配列EGFR aCAR(C10 scFvに

10

20

30

40

50

基づく) (配列番号43)である。

【図21AR】[0001]トラスツズマブ s c F v に基づく a C A R アミノ酸配列 H E R 2 a C A R (配列番号44)である。

【図21AS】[0001]ペルツズマブ s c F v に基づく a C A R アミノ酸配列 H E R 2 a C A R (配列番号45)である。

【図21AT】[0001]a C A R アミノ酸配列ヒト化 H L A - A 2 s c F v - I g G - V K A 1 7 / V H 1 - 3 (配列番号46)である。

【図21AU】[0001]a C A R アミノ酸配列ヒト化 H L A - A 2 s c F v - I g G - V K A 1 7 / V H 1 - 6 9 (配列番号47)である。

【図21AV】[0001]a C A R アミノ酸配列ヒト化 H L A - A 2 s c F v - I g G - V K A 1 8 / V H 1 - 3 (配列番号48)である。 10

【図21AW】[0001]a C A R アミノ酸配列ヒト化 H L A - A 2 s c F v - I g G - V K A 1 8 / V H 1 - 6 9 (配列番号49)である。

【図22】[0002]598個の i C A R 標的のリストを提供する。

【図23】[0003]49個の a C A R 標的のリストを提供する。

【図24】[0004]27の腫瘍型のリストを提供する。

【図25】[0005]免疫学的インビトロの概念実証 ( P o C ) に関する図を提供する。 m R N A エレクトロポレーションによる a C A R ( C D 1 9 ) / i C A R ( H L A - A 2 ) 構築物の発現 ( P o C ) 。

【図26】[0006]C D 1 0 7 a プロトコルを示す概略図を提供する。 20

【図27】[0007]ゲーティング戦略制御に関するデータを提供する。エフェクター / 標的 ( E / T ) 。

【図28】[0008]2つの C A R を 1 : 1 の比で発現するエフェクター T 細胞が R a j i - A 2 の存在下で 5 0 % 阻害されたことを示すデータを提供する。

【図29】[0009]C D 1 0 7 a の阻害の程度に対する異なる a C A R / i C A R 比の影響の試験に関するデータを提供する。

【図30】[0010]エフェクター / 標的 ( E / T ) 比 2 : 1、a C A R ( 1 u g ) 及び i C A R ( 5 u g ) : 1 対 5 の比率の E P T 細胞を示すデータを提供し、C D 1 0 7 a の阻害の程度に対する a C A R / i C A R 比に関するさらなるデータを示す。

【図31】[0011]エフェクター / 標的 ( E / T ) 比 2 : 1、a C A R ( 2 u g ) 及び i C A R ( 2、4、10 u g )、E P T 細胞を示す、図30と同じ実験からの追加データを提供し、C D 1 0 7 a の阻害の程度に対する a C A R / i C A R 比に関するさらなるデータを示す。 30

【図32】[0012]i C A R と共発現させた場合、C D 1 9 - C A R の発現がより低下することを示すデータを提供する。

【図33】[0013]阻害が a C A R / i C A R 比に依存することを示すデータを提供する。阻害率 =  $100 * (1 - (Raj i - A 2 \text{ を伴う } T \text{ 細胞中の } C D 1 0 7 a / Raj i \text{ を伴う } C D 1 0 7 a T \text{ 細胞}))$ 。

【図34】[0014]カスパーゼ - 3 プロトコルを示す概略図を提供する。

【図35】[0015]経時実験における E / T 比を示すデータを提供する ( 標的 = R a j i ; エフェクター = a C A R E P T 細胞 ) 。 40

【図36】[0016]経時実験における E / T 比を示すデータを提供する ( 標的 = R a j i ; エフェクター = ブランク E P T 細胞 ) 。

【図37】[0017]カスパーゼ - 3 活性化の程度に対する時間及び E / T 比の影響を示すデータを提供する。

【図38】[0018]カスパーゼ - 3 の阻害に対する a C A R / i C A R 比、E / T 比及びタイミングの影響の試験に関するデータを提供する。

【図39】[0019]3時間での R a j i 細胞及び R a j i - A 2 細胞の E / T 比の比較を示すデータを提供する。E / T = 1 ; 3時間のコインキュベーション。1  $\mu$  g の a C A R と、1  $\mu$  g の i C A R 又は 1 の a C A R と、5  $\mu$  g の i C A R とを伴う T 細胞 E P 。 50

【図40】[0020]E/T = 1の場合のaCAR/iCAR比5での有意な殺傷阻害を示すデータを提供する。

【図41】[0021]1時間での様々なaCAR/iCAR比の比較を示すデータを提供する。E/T = 5、1時間。

【図42】[0022]1時間での様々なaCAR/iCAR比の比較を示すデータを提供する。E/T = 2、1時間。

【図43】[0023]1時間での様々なaCAR/iCAR比の比較を示すデータを提供する。E/T = 1、1時間。

【図44】[0024]HLA-A2 iCARが異なるE/T比で特異的な保護を与えることを示すデータを提供する。

【図45】[0025]iCARによるカスパーゼ阻害に対するドナー効果を示すデータを提供する。E/T比2:1又は1:1、aCAR(1µg)及びiCAR(5µg)、EP T細胞。

【図46】[0026]ドナー3について様々なaCAR/iCAR比の比較を示すデータを提供する。E/T比2:1又は1:1、aCAR(1µg)及びiCAR(5µg)、EP T細胞、ドナー3。

【図47】[0027]ドナー3細胞がバックグラウンドレベルに対して有意な阻害を示したことを示すデータを提供する。

【図48】[0028]ドナー5について様々なaCAR/iCAR比の比較を示すデータを提供する。E/T比2:1又は1:1、aCAR(1µg)及びiCAR(5µg)、EP T細胞、ドナー5。

【図49】[0029]ドナー3と同様に、ドナー5細胞がバックグラウンドレベルに対して有意な阻害を示したことを示すデータを提供する。

【図50A】[0030]次の要素：シグナルペプチド、scFv、ヒンジ、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインで構成される(CARをさらに最適化するための)追加の構築物を設計するために使用されるスキームを提供する。

【図50B】[0030]次の要素：シグナルペプチド、scFv、ヒンジ、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインで構成される(CARをさらに最適化するための)追加の構築物を設計するために使用されるスキームを提供する。

【図51】[0031]iCAR及びaCARの比率が増加するにつれて、Raji-A2の保護が強化されることを示すデータを提供する。

【図52】[0032]iCARが広範囲のE/T比で保護を提供することを示すデータを提供する。

【図53】[0033]aCAR及びiCAR mRNAでエレクトロポレーションしたT細胞と共培養した標的細胞のカスパーゼ3発現を示すデータを提供する。Raji-Vは、Violet CellTraceで標識されたRaji細胞である。Raji-A2 Vは、Violet CellTraceで標識されたRaji-A2細胞である。

【図54】[0034]aCARのみで又は二重CARを異なるaCAR:iCAR比で、エレクトロポレーションしたT細胞におけるIFNγ分泌及び計算された阻害%を示すデータを提供する。T細胞を異なる標的細胞と共培養し、IFNγ及び阻害%を算出した。T細胞の最大の阻害は、aCAR:iCAR比が1:5の場合に観察される。

【図55】[0035]腫瘍細胞又は「腫瘍外」細胞と共培養したエレクトロポレーションしたT細胞のIFNγ及びTNFαの分泌を示すデータを提供する。データは、「腫瘍外」細胞による刺激後、aCAR及びiCARの両方でエレクトロポレーションしたT細胞におけるIFNγ及びTNFαサイトカイン分泌の特異的な減少を示す。阻害率(表100)を、次の式を使用して計算した： $\% \text{阻害率} = 100 \times [1 - (\text{RAJI-A2 濃度} / \text{RAJI 濃度})]$ 。

【図56】[0036]CD107a発現の%阻害率を示すデータを提供する。

【図57】[0037]二重CAR(aCAR及びiCAR)発現T細胞は、別々に共培養した場合又は一緒に混合した場合、「オフターゲット」細胞から腫瘍細胞を識別することを

10

20

30

40

50

示すデータを提供する。

【発明を実施するための形態】

【0114】

発明の詳細な説明

I. 序論

[0038] A. G. Knudsonによって1971年に提唱された腫瘍抑制遺伝子(TSG)の革新的な概念(Knudson Jr., 1971)に言及して、Devilee、Cleton-Jansen及びCornelisseは、「Ever since Knudson」(Devilee et al., 2001)と題したそのエッセイの冒頭の段落で、「多くの刊行物は、多様な腫瘍における多くの異なる染色体上のLOHを記録しており、多数のTSGの存在を示唆している。Knudsonの2段階侵襲説は、これらのLOH事象がTSGの両方の対立遺伝子の不活性化における第2のステップであると予測している」と記載している。ヒトの癌における遺伝子的不安定性に関するその独創的なレビュー(Lengauer et al., 1998)において、Lengauer、Kinzler及びVogelsteinは、「大部分の癌は、染色体が喪失又は獲得されていることを核型研究が示しており、核型データは、かかる変化の真の程度を実に過小評価していることを分子研究が示している。ヘテロ接合性の喪失、すなわち腫瘍における母方又は父方の対立遺伝子の喪失は広範囲に及び、多くの場合、反対の対立遺伝子の獲得を伴う。例えば、腫瘍は、父方の第8染色体を複製しながら、母方の第8染色体を喪失し得、細胞には正常な第8染色体の核型を有するが、異常な第8染色体の「対立遺伝子型」が残っている。結腸、乳房、膵臓又は前立腺の「平均的な」癌は、その対立遺伝子の25%を喪失している場合があり、腫瘍がその対立遺伝子の半分以上を喪失していることは珍しいことではない」と記述した。その後、これらの観察は、強化され、多くの報告書において、事実上全ての癌腫を含むほぼ全てのヒトの癌に拡張された(レビューについては、(McGranahan et al., 2012)を参照されたい)。ほぼ全ての個々の腫瘍は、完全な染色体、染色体腕全体又は異なるサイズのサブ染色体領域の多数の喪失を呈することが現在明確に確立されている。エクソーム配列データに基づいて、任意の所与の細胞試料におけるLOHプロファイルを決定するための新しいアルゴリズム(例えば、Sathirapongsasuti et al., 2011など)が迅速に開発されている。現在、統計的バイアスが一部の解釈の有効性について疑問を投げかける場合があるが(Teo et al., 2012)、かかるアルゴリズムにより、NGS以前の時代にこの目的で採用されていた、LOHプロファイルを確立するための他のほとんどの方法論が改善され置き換えられる可能性が高い。

【0115】

[0039] 早期のLOH事象は、同じ組織の前癌細胞で検出することができるが、周囲の正常細胞では検出することができない(Barrett et al., 1999)。LOHは不可逆的であり、事象は蓄積するのみであり得るため、腫瘍の不均一性は、腫瘍の進行全体にわたる喪失の蓄積を反映する。後期のLOH事象で異なる腫瘍サブクローンが発生し得るが、所与の患者における前癌細胞、推定腫瘍幹細胞及び全ての腫瘍サブクローンによって共有される最小限のLOHシグネチャの存在が通例であることが予想される。この「幹の」LOHパターンから発する分岐は、同じ患者における全ての腫瘍細胞と一緒に網羅する、部分的に重複するシグネチャの限定的なセットを依然として作製するであろう。

【0116】

[0040] 総合的なLOH事象による不可避な結果は、欠失した染色体物質上にある他の全ての遺伝子の付随する喪失であり、これらには当然、膜貫通タンパク質をコードする多くの遺伝子が含まれる。それらの同一性に関して、3,702個の異なるヒト細胞表面タンパク質(「サーフェソーム」)のカタログが編集されている(Da Cunha et al., 2009)。サーフェソーム遺伝子の42%の発現は、広範な組織分布を示すが、85個の遺伝子は、検査された全ての組織によって発現され、これはハウスキーピング遺伝子のホールマークである。これらの遺伝子は候補であり、それらの異なる多型バリエーションは、本発明のiCAR及びaCARの標的として機能し得る。

【0117】

[0041] より最近では、Bausch-Fluck et al. (Bausch-Fluck et al., 2015) は、そのケモプロテオーム細胞表面捕捉技術 (Chemoproteomic Cell Surface Capture technology) を適用して、41種類のヒト細胞の1492個の細胞表面糖タンパク質を組み合わせたセットを同定した。サーフェソームの大部分は、各々が固有のプロファイルを呈する、任意の所与の腫瘍によって発現されると予想されている。細胞表面タンパク質をコードする遺伝子は、他の全ての遺伝子よりも、それらのコード領域の単一ヌクレオチド多型 (SNP) がわずかに豊富であることが見出された (Da Cunha et al., 2009)。稀である多型のインフレーム挿入及び欠失は、バリエーションの数にさらに寄与し、ペプチド配列を変更する (非同義) SNP よりもポリペプチド生成物に、より強力な構造効果を発揮する可能性がある。まとめると、典型的なゲノムは、非同義のバリエーションを有する10,000~12,000の部位及び190~210のインフレーム挿入/欠失を含有する (Abecasis et al., 2010; Auton et al., 2015)。HLA遺伝子座 (<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>) 又はある特定のGタンパク質共役受容体 (GPCR) 遺伝子 (Lee et al., 2003; Rana et al., 2001) などの高度に多型の遺伝子は、固有のバリエーション「ホットスポット」を作製するため、これらのバリエーションは、ゲノム全体にわたり均一に分布しない。LOH関連ホットスポットの別の層は、ある特定の染色体又は異なる癌の染色体腕 (例えば、小細胞肺癌の3p及び17p (Lindblad-Toh et al., 2000)、結腸直腸癌の17p及び18q (Vogelstein et al., 1989)、乳癌の17q及び19 (Li et al., 2014; Wang et al., 2004)、黒色腫の9p (Stark and Hayward, 2007)、膠芽腫の10q (Ohgaki et al., 2004) など) の頻繁な喪失から生じる。

#### 【0118】

[0042] 表面タンパク質の対立遺伝子多様性のかなりの部分は、それぞれの遺伝子生成物の細胞外部分に影響を与え、原則的に、高度に特異的なmAbによって他のバリエーションを認識及び区別することができる、固有の対立遺伝子制限エピトープを作製する可能性がある。単一アミノ酸のみが異なる同じタンパク質の2つのバリエーションを区別するmAbを単離することができることが十分に記録されている (例えば、優れた特異性でRas癌遺伝子の点変異生成物を認識するmAbの早期の例 (Carney et al., 1986) を参照されたい)。興味深いことに、タンパク質エピトープの単一アミノ酸交換に特異的な2つのmAbは、それらの重鎖及び軽鎖V遺伝子プールとは構造的に異なる可変領域を使用することができることが示された (Stark and Caton, 1991)。最近、Skora et al. (Skora et al., 2015) は、変異KRAS及びEGFRタンパク質に由来するHLA-I結合ネオペプチドと、両方の場合に1つのアミノ酸が異なるそれらの野生型対応物とを区別することができる、ペプチド特異的scFvの単離を報告した。

#### 【0119】

[0043] 全てを考慮すると、腫瘍細胞の独特の抗原シグネチャが出現し、これが個々の患者の全身における他の全ての細胞との明確な区別を可能にすることができる。これは、LOHのために腫瘍細胞表面に存在しないが、これらの遺伝子を発現する原発癌組織又は他の組織の正常細胞上に存在する対立遺伝子バリエーションによってコードされる、全ての膜貫通タンパク質を含む。当然、LOHによる影響を受ける各遺伝子は、真のハウスキーピング遺伝子を除き、固有のパターンの組織分布を特徴とするであろう。これらの遺伝子の大部分は、腫瘍形成又は形質転換された表現型の維持に直接関与することは予想されず、この意味では、それらの喪失は「パッセンジャー」の性質のものである。

#### 【0120】

[0044] 独特な分子描写が、ほぼ全ての腫瘍のLOHによって不可避に形作られており、正常細胞上に存在する多くの多型表面構造が存在しないことを特徴とすることを、上で提示された理論的根拠は主張している。個々の腫瘍のこの自明のシグネチャを標的化可能な抗原エピトープのセットに変換することは、特定の「存在しないこと」の認識を、標的細胞の殺傷を誘発することが可能な活性化の合図に翻訳するための、実用可能な免疫学的戦略を伴う。重要なことに、オンターゲットの腫瘍外反応性が厳密に回避されることを確

実にするための安全装置を組み込むことは、この戦略の将来の臨床的实施に非常に好ましいであろう。

【0121】

[0045] 本発明は、遺伝子の単一ペアの各療法的キラー細胞における共発現を通して、この課題に取り組む。このペアの一方のパートナーは、活性化CAR (aCAR) をコードし、他方は保護CAR (pCAR) 又は阻害性CAR (iCAR) をコードする

【0122】

II. 定義の選択

[0046] 本明細書で使用される「核酸分子」という用語は、DNA 又はRNA 分子を指す。

10

【0123】

[0047] 「コードする」という用語は、定義されたヌクレオチド配列 (例えば、rRNA、tRNA 及び mRNA) のいずれかを有する生物学的プロセスにおける他のポリマー及び高分子又は定義されたアミノ酸の配列を合成するためのテンプレートとして機能する遺伝子、cDNA 又は mRNA などのポリヌクレオチドの特定のヌクレオチド配列の固有の特性及びそれらから生じる生物学的特性を指す。したがって、その遺伝子に対応する mRNA の転写及び翻訳により、細胞又は他の生物学的系においてタンパク質が生成される場合、遺伝子はタンパク質をコードする。ヌクレオチド配列が mRNA 配列のものと同一であり、通常、配列表に提供されているコード鎖及び遺伝子又は cDNA の転写のテンプレートとして使用される非コード鎖の両方は、その遺伝子又は cDNA のタンパク質又は他の生成物をコードすると称することができる。

20

【0124】

[0048] 特に明記しない限り、「アミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列」には、互いの縮重バージョンであり、同じアミノ酸配列をコードする全てのヌクレオチド配列が含まれる。タンパク質及びRNA をコードするヌクレオチド配列には、イントロンが含まれ得る。

【0125】

[0049] 「内因性」という用語は、生物、細胞、組織若しくは系から又はそれらの内部で生成された任意の物質を指す。

【0126】

[0050] 「外因性」という用語は、生物、細胞、組織若しくは系の外部から導入されるか又はそれらの外部で生成される任意の物質を指す。

30

【0127】

[0051] 本明細書で使用される「発現」という用語は、そのプロモーターによって推進される特定のヌクレオチド配列の転写及び/又は翻訳として定義される。

【0128】

[0052] 「発現ベクター」は、発現するヌクレオチド配列に操作可能に連結された、発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含むベクターを指す。発現ベクターは、発現に十分なシス作用要素を含み、発現のための他の要素は、宿主細胞によって又はインビトロ発現系において供給することができる。発現ベクターには、組換えポリヌクレオチドを組み込んだコスミド、プラスミド (例えば、裸の又はリポソームに含有されている) 及びウイルス (例えば、レンチウイルス、レトロウイルス、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルス) などの当技術分野で既知の全てのもが含まれる。

40

【0129】

[0053] 本明細書で使用される「ゲノムバリエーション」という用語は、同じゲノム位置での参照又はコンセンサス配列と比較した、配列決定された試料におけるゲノムレベルでの少なくとも1つのヌクレオチドの変化を指す。

【0130】

[0054] バリエーションに関して本明細書で使用される「対応する参照対立遺伝子」という用語は、バリエーションと同じゲノム位置の参照若しくはコンセンサス配列又はヌクレオチド

50

を意味する。

【0131】

[0055] タンパク質に関して本明細書で使用される「細胞外ドメイン」という用語は、細胞膜の外側にあるタンパク質の領域を意味する。

【0132】

[0056] 本明細書で使用される「ヘテロ接合性の喪失」又は「LOH」という用語は、体細胞における2つの染色体の1つのコピーにおける完全な染色体又はその一部などの染色体物質の喪失を意味する。

【0133】

[0057] バリエント又は参照対立遺伝子に関して本明細書で使用される「配列領域」という用語は、バリエントの位置から上流で始まり、下流で終わり、抗体によって認識され得る「エピトープペプチド」に翻訳され得る配列を意味し得る。

10

【0134】

[0058] 「CAR」という用語は、その用語が本明細書で使用される場合、例えばT細胞又はNK細胞由来の細胞免疫機能受容体又はアダプター分子と、構造的及び機能的特性を共有するキメラポリペプチドを指す。CARには、TCAR及びNKRCARが含まれる。同種抗原に結合すると、CARは、CARが配置されている細胞傷害性細胞を活性化若しくは不活性化するか、又は細胞の抗腫瘍活性を調節するか、又は細胞の免疫応答を調節することができる。

【0135】

[0059] 多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエントに特異的に結合する、scFvなどの細胞外ドメインに関連して、本明細書で使用される「特異的結合」という用語は、1つの対立遺伝子バリエントへのscFvの相対的結合及び同じ多型細胞表面エピトープの対応する異なる対立遺伝子バリエントに結合し損なうことを指す。これは、アビディティ(T細胞上のCARコピーの数、標的細胞(又は保護される細胞)の表面上の抗原分子の数及び使用される特定のCARの親和性に依存するため、機能的定義は、ELISAにおいて、特定のscFvが、それが特異的である多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエントに対して有意なシグナルを提供すること、又はFACSアッセイにおいて、scFvを提示するCARでトランスフェクトされた細胞が、多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエントで明確に標識されるが、同じ多型細胞表面エピトープの対応する異なる対立遺伝子バリエントを使用する同じアッセイでは、検出可能なシグナルは提供されないであろうことであろう。

20

30

【0136】

[0060] 本明細書で使用される「処置する」という用語は、所望の生理学的効果を得る手段を指す。その効果は、疾患及び/又は疾患に起因する症状を部分的又は完全に治癒するという観点において療法的であり得る。この用語は、疾患を阻害すること、例えばその発症を阻止すること又は疾患を改善すること、例えば疾患の退行を引き起こすことを指す。

【0137】

[0061] 本明細書で使用される場合、「対象」又は「個体」又は「動物」又は「患者」又は「哺乳類」という用語は、診断、予後又は療法が望まれる任意の対象、特に哺乳類対象、例えばヒトを指す。

40

【0138】

[0062] 「安全なエフェクター免疫細胞」又は「安全なエフェクター細胞」という語句には、本明細書に記載の少なくとも1つのiCAR又はpCARを発現する、本発明によって記載される細胞が含まれる。いくつかの実施形態では、「安全なエフェクター免疫細胞」又は「安全なエフェクター細胞」は、対象に投与可能である。いくつかの実施形態では、「安全なエフェクター免疫細胞」又は「安全なエフェクター細胞」は、本明細書に記載のaCARをさらに発現する。いくつかの実施形態では、「安全なエフェクター免疫細胞」又は「安全なエフェクター細胞」は、本明細書に記載のiCAR又はpCARをさら

50

に発現する。いくつかの実施形態では、「安全なエフェクター免疫細胞」又は「安全なエフェクター細胞」は、本明細書に記載の i C A R 又は p C A R 及び本明細書に記載の a C A R をさらに発現する。

【0139】

[0063] 本発明に従って使用するための医薬組成物は、1つ以上の生理学的に許容可能な担体又は賦形剤を使用して、従来の様式で製剤化することができる。担体は、組成物の他の成分と適合し、そのレシピエントに有害でないという意味で、「許容可能」でなければならない。

【0140】

[0064] 「有効量」又は「治療有効量」という語句は、本明細書では互換的に使用され、特定の生物学的結果を達成するのに有効な、本明細書に記載の化合物、製剤、物質又は組成物の量を指す。

10

【0141】

[0065] 担体、投与モード、剤形などの次の例示は、本発明での使用について、担体、投与モード、剤形などを選択することができる既知の可能性として列挙されている。しかしながら、当業者は、選択された任意の所与の製剤及び投与モードをまず試験して、それが所望の結果を達成することを決定すべきであることを理解するであろう。

【0142】

[0066] 投与の方法には、限定されないが、非経口、例えば静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、粘膜（例えば、経口、鼻腔内、口腔、膣、直腸、眼内）、髄腔内、局所及び皮内経路が含まれる。投与は、全身的又は局所的であり得る。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、経口投与に適している。

20

【0143】

[0067] 「担体」という用語は、活性剤とともに投与される希釈剤、アジュバント、賦形剤又はビヒクルを指す。医薬組成物中の担体は、微結晶性セルロース、ポリビニルピロリドン（ポリピドン又はポピドン）、トラガカントガム、ゼラチン、デンプン、ラクトース又はラクトース水和物などの結合剤；アルギン酸、トウモロコシデンプンなどの崩壊剤；ステアリン酸マグネシウム又はラウリル硫酸ナトリウムなどの潤滑剤又は界面活性剤；及びコロイド状二酸化ケイ素などの流動促進剤を含み得る。

【0144】

[0068] 本明細書で使用される「末梢血単核細胞（P B M C）」という用語は、リンパ球、単球又はマクロファージなどの円形の核を有する任意の血液細胞を指す。血液から P B M C を単離するための方法は、当業者に容易に明らかである。非限定的な例は、単球とリンパ球とで血漿の層の下でパフィーコートを形成して、血の層を分離する親水性多糖類であるフィコールを使用するか、又は赤血球と、白血球の少ない血漿とをドナーに返血することによる白血球濃縮物の調製である、白血球除去法による、全血由来のこれらの細胞の抽出である。

30

【0145】

[0069] 本明細書で使用される「癌」という用語は、異常な細胞の迅速且つ制御されない増殖を特徴とする疾患として定義される。癌細胞は、局所的に又は血流及びリンパ系を通して身体他の部分に広がり得る。様々な癌の例には、限定されないが、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、子宮頸癌、皮膚癌、膵臓癌、結腸直腸癌、腎癌、肝臓癌、脳癌、リンパ腫、白血病、肺癌、神経膠腫などが含まれる。

40

【0146】

I I I . C A R - T 系：i C A R、p C A R 及び a C A R

[0070] 本発明は、正常細胞を安全に保ちながら腫瘍細胞の特異的標的化を可能にする新しい手段を提供することを強調すべきである。本明細書に提示された概念は、i C A R（又は p C A R 又は保護 C A R）の新しい標的の同定を提供し、これらの標的は、それらがある染色体領域の L O H に起因して腫瘍細胞から喪失しているが、正常組織で発現したままの、多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションを含むと定義される。多型

50

多様性のため、2つの対立遺伝子を区別し、腫瘍細胞で欠落している対立遺伝子のみを標的とすることが可能である。さらに、標的抗原は、LOHによって喪失した領域にあるように選択され、したがってかかる遺伝子に単純に連結することができるため、それ自体が必ずしも腫瘍抑制遺伝子又は癌に関与すると予測される遺伝子である必要はない。これは、腫瘍関連抗原又は多型に関係なく腫瘍で下方制御された抗原を標的とする癌療法でこれまでに採用又は提案された方法とは、概念的に異なる。本方法は、本明細書に記載のiCAR及び/又はpCARの共発現を通して正常細胞の保護を与えることにより、腫瘍関連抗原を超えてaCARの選択を広げることも提供する。

【0147】

[0071] LOHはゲノム事象であり、腫瘍からの特定のバリエーションの総合的な喪失を生じ、喪失した対立遺伝子を取り戻す可能性は非常に稀であるため、この区別は非常に重要である。LOH事象が腫瘍の発生の非常に早期に発生する場合、転移性腫瘍を含む初期の前悪性組織に由来する全ての腫瘍細胞では、標的シグネチャは確実に均質である。加えて、LOHはほぼ全ての種類の癌で発生し、したがってこの概念は、これら全ての癌の種類に関連するマーカーを開発するための普遍的なツールとして信頼することができる。LOH事象はある程度ランダムであるため、本発明は、その患者で発生した特定のLOH事象に基づいて、個々の癌患者の各々に個別化された腫瘍マーカーの選択をさらに提供する。この概念を実行するために信頼されるツールである、aCAR及びiCARは周知であり、例えば本明細書に完全に開示されているかのように参照により援用される、国際公開第2015/142314号及び米国特許第9,745,368号の両方で教示されているように、当技術分野で周知の方法を使用して簡単に調製することができる。

【0148】

[0072] 1つの戦略によれば、各所与のペアの2つのCARは、ヘテロ接合である患者の同じ標的遺伝子の異なる対立遺伝子バリエーションの生成物を特異的に認識する。基本的な原理は次のとおりである：aCARは、所与の腫瘍細胞によって発現され、LOHによって影響を受けない選択された細胞表面タンパク質の対立遺伝子バリエーションを標的とするが、pCAR又はiCARは、LOHに起因してこれらの腫瘍細胞から喪失した同じ遺伝子の対立遺伝子バリエーションによってコードされる生成物を標的とする。前記遺伝子を発現するその個々の患者の他の正常組織では、両方の対立遺伝子が存在し、同等に機能的である、すなわち発現は全ての組織で二対立遺伝子性であることが知られている（ランダムな単一对立遺伝子性の発現を呈し得る他の遺伝子とは対照的である（Chess, 2012; Savova et al., 2016））。1つのシナリオでは、2つのCARは、タンパク質生成物の同じ位置にある、1つ又は数個のみのアミノ酸が異なる2つの関連するエピトープを標的とする。別のシナリオでは、aCARは同じタンパク質上の非多型エピトープを標的とするが、pCAR又はiCARは、対立遺伝子特異的である。この場合、正常細胞上のaCARエピトープの密度は、一般にiCAR又はpCARのものよりも2倍高いであろう。いくつかの実施形態では、単一核酸ベクターは、aCAR及びiCAR又はpCARの両方をコードする。

【0149】

[0073] 別の戦略は、pCAR又はiCARがハウスキーピング遺伝子のタンパク質生成物を標的とすることを利用する。定義では、これらの遺伝子は体内の全ての細胞上に発現するため、pCAR又はiCARの安全な標的である。すなわち、pCAR又はiCARが、ヘテロ接合である所与の患者のハウスキーピング遺伝子の膜生成物を標的とする場合、LOHに起因してこの対立遺伝子を喪失した腫瘍細胞を除く、体内の全ての細胞が保護されるであろう。この戦略により、aCAR標的遺伝子生成物を、pCAR又はiCARのものから脱共役することを可能にする。実際、この場合のaCAR標的は、腫瘍によって発現される任意の非多型エピトープであり得る。この戦略の多様性は、例えば、臨床使用中又は臨床試験中の検査下のaCARを、ヘテロ接合性であり、腫瘍の少なくとも原発組織、好ましくはaCAR標的抗原が発現する追加の重要な正常組織で発現する所与の患者の遺伝子の膜生成物に向けられたiCAR又はpCARと組み合わせた、非多型腫瘍

関連抗原を標的とする既知の a C A R を利用するであろう。

【 0 1 5 0 】

[0074] i C A R / p C A R 標的抗原からの a C A R のものの脱共役を可能にする同じ理論的根拠に続き、後者は、必ずしもハウスキーピング遺伝子の生成物である必要はない。いくつかの実施形態では、i C A R 及び / 又は p C A R は、腫瘍に加えて、a C A R 標的抗原を発現する重要な正常組織を保護するために、その発現パターンが十分に広い任意の遺伝子生成物である。当然の結果として、a C A R 抗原は、ハウスキーピング遺伝子について主張されているように、既知の「腫瘍関連抗原」に限定されない、腫瘍によって発現される任意の非多型エピトープであり得、候補 a C A R のリストを大幅に拡大することができる理由であり得る。一般に、ハウスキーピング遺伝子及び非ハウスキーピング遺伝子の両方では、かかる正常な重要な組織の同定及び発現レベルは、かかる候補 a C A R 標的の優先順位付けにおける重要な基準として機能するであろう。

10

【 0 1 5 1 】

[0075] i C A R によって送信される阻害性シグナルが、a C A R シグナルを上回って厳密且つ永続的に優位であり、i C A R と a C A R との間で取り違えた認識が発生しないことを確実にするための処置をとらなければならない。i C A R の優位性により、両方の対立遺伝子を発現する正常細胞との遭遇時に、キラー細胞の活性化が防止されることが保証される。しかしながら、このデフォルトのブレーキは、腫瘍細胞との係合時に動作しないであろう：その標的抗原が存在しない場合、i C A R は阻害性シグナルを送達せず、したがって期待される a C A R が媒介する細胞活性化及びその後の腫瘍細胞の溶解を解放するであろう。

20

【 0 1 5 2 】

[0076] i C A R 技術は、免疫チェックポイントに基づき得る。この点では、P D - 1 及び C T L A - 4 の調節要素が i C A R シグナル伝達成分として組み込まれると、強力な T 細胞阻害能力を有するという実証 (Fedorov et al., 2013b ; 国際公開第 2 0 1 5 / 1 4 2 3 1 4 号) は、期待できるものであったが、これらの観察の一般性は、最近疑問視された (Chicaybam and Bonamino, 2014, 2015)。さらに、これらのチェックポイントタンパク質によって誘発される正確な分子経路は完全には理解されていないが、それらの関与により、近位及び遠位の両方のメカニズムを通して T 細胞の活性化が減衰され、付随する活性化刺激に T 細胞が応答しなくなる (Nirschl and Drake, 2013)。したがって、P D - 1 及び C T L A - 4 の i C A R によって保護された不活性化状態は、確かに一時的且つ可逆的であるが (Fedorov et al., 2013b)、i C A R 及び a C A R の両方の標的を発現する組織では T 細胞は活性化されないであろう。対照的に、活性化受容体を上回る N K 阻害性受容体の優位性は、時間的メカニズムではなく空間的メカニズムを通して、健康な細胞が N K 細胞の攻撃から免れることを確実にする (Long et al., 2013)。単一 N K 細胞が、阻害性及び活性化リガンドの両方を発現する耐性細胞を生かし、さらに同時に係合する、活性化リガンドのみを発現する影響を受けやすい細胞を殺傷することができるという説得力のある根拠がある。この絶妙な能力は、結果的に細胞溶解性顆粒のエキソサイトーシスに影響を与える、それぞれの免疫シナプスの各々で形成されるシグナル伝達分子の異なる空間的構成によって制御される (例えば、Abeyweera et al., 2011 ; Eriksson et al., 1999 ; Treanor et al., 2006 ; Vyas et al., 2001 ; 米国特許第 9 , 7 4 5 , 3 6 8 号)。

30

40

【 0 1 5 3 】

[0077] 上に説明したように、i C A R によって行使される制御に基づく戦略は、a C A R 活性を上回る i C A R 活性の優位性に依存する。いくつかの実施形態では、本発明は、シナプス選択的な様式で C A R T 細胞で動作し、共発現 a C A R を上回る完全な優位性を保証するように設計されている、本明細書では p C A R (「保護 C A R については、図 2 を参照されたい」と称されるこの種類の i C A R を提供する。いくつかの実施形態では、本発明によって提供される i C A R は、本明細書で保護 C A R ( p C A R ) と称されるこの特定の種類の i C A R である。

50

## 【0154】

[0078] いくつかの実施形態では、本発明の pCAR は、2つの技術的特色を統合する。第1に、pCAR は、aCAR の活性化部分 (FcR / CD3 - ) を、認識ユニット及び共刺激要素 (例えば、CD28、4-1BB、CD134 (OX40)、GITR、IL2R 及び STAT3 結合モチーフ (YXXQ)) から、それらを2つの異なるポリペプチド生成物上に遺伝子的に配置することによって脱共役を可能にする。これらの要素の再結合は aCAR 機能に必須であり、ポリペプチドの各々に別個に組み込まれたそれぞれの結合部位を架橋することができるヘテロ二量体化薬物の添加によってのみ行われるであろう (図2B)。同様に分割された認識部分と活性化部分とを、ヘテロ二量体化薬物によって架橋することによる、完全に機能的な CAR の再構築は、最近 Wu et al. によつて報告されている (Wu et al., 2015)。この目的のために、これらの著者らは、FK506 結合タンパク質ドメイン (FKBP、104個のアミノ酸) 及びラパマイシン類似体 AP21967 の存在下でヘテロ二量体化する (下記スキーム I) FKBP - ラパマイシン結合ドメインの T2089L 変異体 (FRB、89個のアミノ酸) を使用した。この薬物は、ラパマイシンと比較して1000分の1の免疫抑制活性を有し (Bayle et al., 2006; Graef et al., 1997; Liberias et al., 1997)、市販されている (ARGENTTM, Regulated Heterodimerization Kit, ARIAD)。いくつかの実施形態では、薬物は、経口投与される。

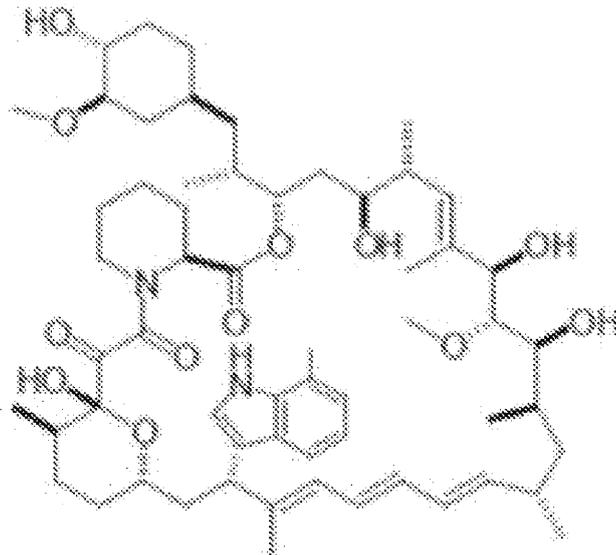
10

## 【0155】

スキーム I. AP21967 の構造

20

## 【化1】



30

[0079] 第2に、pCAR 認識ユニット及び欠落している活性化ドメインをそれぞれ、2つの膜内開裂部位を含有する RIP 制御受容体の膜貫通ドメインの2つの表面上に移植する (図2A)。pCAR をその抗原に結合することにより、まず細胞外ディスインテグリン及びエクトドメインを除去するメタロプロテイナーゼ (ADAM) ファミリーのメンバーにより、次いで pCAR の細胞内ドメインを遊離させる細胞内 - セクレターゼにより、コードされるポリペプチドの二重開裂が誘発されるであろう。この最初の開裂事象は、短縮型 aCAR の能力を中断して、その欠落している活性化要素が、機能的に膜に固定された構成へのアクセスを獲得し、したがって操作モードを獲得すると予測される (図2C)。この原理は最近、CAR T 細胞の活性の、腫瘍細胞上の2つの異なる抗原の同時認識を制限して、Notch 受容体 (Morsut et al., 2016; Roybal et al., 2016b) 又は上皮細胞接着分子 (本発明者の監督下での理学修士論文、EpCAM, Pizem, Y.) の RIP を通して機能する2つのよく研究された受容体のいずれかを適用するように設計

40

50

された新しい遺伝子スイッチの開発に利用された。これらの研究では、RIP系CARが1つの抗原に結合すると、遺伝子操作された細胞内ドメインが放出され、細胞核に移行し、そこで第2のCARの発現が活性化される。保護抗原の存在下で、任意の可能性のあるaCAR活性を無力化するためのみに、このプロセスを利用する本発明と異なる。いくつかの実施形態では、最初の開裂事象は、短縮型aCARの能力を邪魔して、その欠落している活性化要素が、機能的に膜に固定された構成へのアクセスを獲得し、その結果、操作モードを獲得する。

【0156】

【0080】上に提案された作用機序は、局所効果を発揮すると予測されているため、同じシナプスにあるaCARのみが影響を受け、抗原と生成して結合し、免疫シナプスを形成することがもはや不可能になる。結果として、aCARと多数の非腫瘍細胞との相互作用が発生する可能性が高いときでさえ、細胞がさらなる相互作用を完全に行うことが可能なように、それらは一過性且つ非機能的であることがのみ予想される。

10

【0157】

【0081】aCARの機能は完全にpCARの存在に依存するため、それらのaCARの対応物を上回るpCARの優位性は、この系に固有である。所与のT細胞におけるpCARの相対的な不足は、活性化ドメインの欠如に起因して、aCARを非機能的にするであろう。いくつかの実施形態では、所与のT細胞におけるpCARの不足は、活性化ドメインの欠如に起因して、aCARを非機能的にする。

【0158】

20

【0082】認識ドメイン及び活性化ドメインの両方が形質膜に局在していることが重要である(Wu et al., 2015)。したがって、活性化ドメインを形質膜から切り離す第2の開裂により、このドメインが非機能的になり、不要な細胞活性化が防止されるであろう。いくつかの実施形態では、認識ドメイン及び活性化ドメインが形質膜に局在している。いくつかの実施形態では、第2の開裂は、活性化ドメインを形質膜から切り離し、このドメインが非機能的になり、望ましくない細胞の活性化が防止される。

【0159】

【0083】aCAR及びpCARは、相互に排他的なメカニズムを介して機能するように設計されている。開裂を受けるpCARの能力は、阻害性シグナル伝達の強さに依存しないため、シグナル伝達結果の完了は起こらないであろう。pCARが開裂する限り、aCARは、それぞれの抗原との相互作用の相対的なアビディティに関係なく、別の重要なレベルの安全性を確保するシナリオを機能させることができない。

30

【0160】

【0084】いくつかの実施形態では、哺乳類組織はヒト組織であり、他の実施形態では、関連する哺乳類正常組織は、腫瘍が発生した正常組織である。

【0161】

【0085】いくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞は、T細胞、ナチュラルキラー細胞又はサイトカイン誘導キラー細胞である。

【0162】

【0086】いくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を阻害可能な少なくとも1つのシグナル伝達要素は、PD1;CTLA4;BTLA;2B4;CD160;CEACAM1などのCEACAM;KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR2DL5A、KIR2DL5B、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3、LIR1、LIR2、LIR3、LIR5、LIR8及びCD94-NKG2AなどのKIR;LAG3;TIM3;T細胞活性化のVドメインIg抑制因子(VISTA);インターフェロン遺伝子の刺激因子(STING);免疫受容阻害チロシンモチーフ(ITIM)含有タンパク質、T細胞免疫グロブリン及びITIMドメイン(TIGIT)並びにアデノシン受容体(例えば、A2aR)からなる群から選択される、免疫チェックポイントタンパク質などの免疫チェックポイントタンパク質のシグナル伝達要素と相同である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイントタンパク質は、負の免

40

50

疫調節因子である。いくつかの実施形態では、負の免疫調節因子は、2B4、LAG-3及びBTLA-4からなる群から選択される。

【0163】

[0087] いくつかの実施形態では、免疫チェックポイントタンパク質は、ナチュラルキラー細胞阻害性受容体、例えばKIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR2DL5A、KIR2DL5B、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3などのKIR又はLIR1、LIR2、LIR3、LIR5、LIR8などの白血球Ig様受容体及びCD94-NKG2A、CD94とヘテロ二量体を形成し、2つのITIMを含有するC型レクチン受容体である。

【0164】

[0088] iCARでキラー細胞受容体を調製及び使用するための方法は、本明細書に完全に開示されているかのように、参照により援用される米国特許第9,745,368号に記載されている。

【0165】

[0089] いくつかの実施形態では、上の実施形態のいずれか1つの細胞外ドメインは、柔軟なヒンジ及び膜貫通型の標準的なモチーフを通して、前記細胞内ドメインに融合されている。

【0166】

I. 標的の同定：aCAR、iCAR及びpCAR

[0090] 本発明は、細胞外多型エピトープを有する候補遺伝子の同定に基づく、aCAR、iCAR及び/又はpCAR標的の同定のための方法を提供する。いくつかの実施形態では、aCARは、腫瘍組織上に発現する任意の細胞外タンパク質に向けることができる。いくつかの実施形態では、aCAR標的は、非腫瘍組織上にさらに発現し、iCAR標的は、非腫瘍組織上にも発現するが、腫瘍組織上に発現しない。

【0167】

[0091] いくつかの実施形態では、候補遺伝子を同定する方法は、まず、遺伝子が細胞外多型エピトープを含む膜貫通タンパク質をコードすることを決定することを含む。いくつかの実施形態では、候補遺伝子を同定する方法は、遺伝子が少なくとも2つの発現する対立遺伝子を有することを決定することをさらに含む。いくつかの実施形態では、これらの対立遺伝子は、少なくとも1つの対立遺伝子多様性を呈する。いくつかの実施形態では、対立遺伝子多様性には、例えば、1つ以上のSNP、挿入及び/又は欠失の存在が含まれる。いくつかの実施形態では、遺伝子に見られる対立遺伝子多様性は、タンパク質の細胞外領域の参照配列と比較してアミノ酸の変化を引き起こす。いくつかの実施形態では、遺伝子は、ヘテロ接合性の喪失(LOH)を受ける染色体領域に位置する。いくつかの実施形態では、遺伝子は、癌のヘテロ接合性の喪失(LOH)を受ける染色体領域に位置する。いくつかの実施形態では、遺伝子は、発現の完全な喪失が存在するような遺伝子変異を受ける染色体領域に位置する。いくつかの実施形態では、発現の完全な喪失は、変異による1つの対立遺伝子の喪失及びLOHによる第2の対立遺伝子の喪失に起因する。いくつかの実施形態では、発現の完全な喪失は、変異による両方の対立遺伝子の喪失に起因する。いくつかの実施形態では、発現の完全な喪失は、LOHによる両方の対立遺伝子の喪失に起因する。いくつかの実施形態では、遺伝子は、対応する領域がLOHを受けたことが見出された腫瘍型の起源組織で発現する。いくつかの実施形態では、遺伝子は、aCARが発現する少なくとも1つ以上の組織に発現する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCAR標的は、aCARが発現する重要な臓器細胞に発現する。

【0168】

[0092] いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、少なくとも1つの細胞外多型エピトープを有する遺伝子の同定に基づいて選択され、前記遺伝子が、少なくとも2つの発現対立遺伝子を有する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、ヘテロ接合性の喪失を受ける染色体領域に位置する遺伝子の同定に基づいて選択される。いくつかの実施形態では、

10

20

30

40

50

iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、癌のヘテロ接合性の喪失を受ける染色体領域に位置する遺伝子の同定に基づいて選択される。いくつかの実施形態では、理論上のSNPのスコアが計算され、閾値限界が決定される。例えば、SNPの32%のみが染色体上に腫瘍抑制遺伝子を有する場合、腫瘍抑制遺伝子を有するパーセントイルランクは、0.68であろう。さらに、例えば、対立遺伝子が、0.49(0.5が最も高い可能性である場合)のマイナー対立遺伝子の割合を有する場合、パーセントイルランクは0.99であろう。LOHの比率が0.10であり、SNPの75%がそれを超えるLOHを有する場合、パーセントイルランクは0.25であろう。組織全体の発現値の標準偏差対このSNPが存在する遺伝子の中央値の比が1.3であり、それが他の遺伝子の90%より良好である場合、パーセントイルランクは0.9である。このSNPの合計スコアは、 $0.68 * 0.99 * 0.25 * 0.9 = 0.15$ であろう。いくつかの実施形態では、このLOH候補スコアは、候補遺伝子が、好適なiCAR又はpCAR標的であるかを決定するための1つの方法として採用することができる。いくつかの実施形態では、このLOHスコアに基づいて標的を選択することができる。いくつかの実施形態では、候補遺伝子は、iCAR又はpCAR標的として好適であると決定されている。0.4超のLOH候補スコアに基づいたLOH候補。

10

## 【0169】

[0093] いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、少なくとも1つの細胞外多型エピトープを有する遺伝子から選択される。いくつかの実施形態では、標的は、第1染色体、第2染色体、第3染色体、第4染色体、第5染色体、第6染色体、第7染色体、第8染色体、第9染色体、第10染色体、第11染色体、第12染色体、第13染色体、第14染色体、第15染色体、第16染色体、第17染色体、第18染色体、第19染色体、第20染色体、第21染色体、第22染色体又はX染色体上に位置する遺伝子である。

20

## 【0170】

[0094] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第1染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、ABCA4、ADAM30、AQP10、ASTN1、C1orf101、CACNA1S、CATSPER4、CD101、CD164L2、CD1A、CD1C、CD244、CD34、CD46、CELSR2、CHRN2、CLCA2、CLDN19、CLSTN1、CR1、CR2、CRB1、CSF3R、CSMD2、ECE1、ELTD1、EMC1、EPHA10、EPHA2、EPHA8、ERMAP、FCAMR、FCER1A、FCGR1B、FCGR2A、FCGR2B、FCGR3A、FCRL1、FCRL3、FCRL4、FCRL5、FCRL6、GJB4、GPA33、GPR157、GPR37L1、GPR88、HCRTR1、IGSF3、IGSF9、IL22RA1、IL23R、ITGA10、KIAA1324、KIAA2013、LDRAD2、LEPR、LGR6、LRIG2、LRP8、LRRC52、LRRC8B、LRRN2、LY9、MIA3、MR1、MUC1、MXRA8、NCSTN、NFASC、NOTCH2、NPR1、NTRK1、OPN3、OR10J1、OR10J4、OR10K1、OR10R2、OR10T2、OR10X1、OR11L1、OR14A16、OR14I1、OR14K1、OR2AK2、OR2C3、OR2G2、OR2G3、OR2L2、OR2M7、OR2T12、OR2T27、OR2T1、OR2T3、OR2T29、OR2T33、OR2T34、OR2T35、OR2T3、OR2T4、OR2T5、OR2T6、OR2T7、OR2T8、OR2W3、OR6F1、OR6K2、OR6K3、OR6K6、OR6N1、OR6P1、OR6Y1、PDPN、PEAR1、PIGR、PLXNA2、PTCH2、PTCHD2、PTGFRN、PTPRC、PTPRF、PTGFRN、PVRL4、RHBG、RXFP4、S1PR1、SCNN1D、SDC3、SELE、SELL、SELP、SEMA4A、SEMA6C、SLAMF7、SLAMF9、SLC2A7、SLC5A9、TACSTD2、TAS1R2、TIE1、TLR5、TMEM81、TNFRSF14、TNFRSF1B、TRAB

30

40

50

D 2 B、U S H 2 A、V C A M 1 及び Z P 4 からなる群から選択される。

【0171】

[0095] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第2染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、i C A R 及び / 又は p C A R における使用のための標的は、A B C G 5、A L K、A S P R V 1、A T R A I D、C D 2 0 7、C D 8 B、C H R N G、C L E C 4 F、C N T N A P 5、C R I M 1、C X C R 1、D N E R、D P P 1 0、E D A R、E P C A M、G P R 1 1 3、G P R 1 4 8、G P R 3 5、G P R 3 9、G Y P C、I L 1 R L 1、I T G A 4、I T G A 6、I T G A V、L C T、L H C G R、L R P 1 B、L R P 2、L Y 7 5、M A R C O、M E R T K、N R P 2、O R 6 B 2、P L A 2 R 1、P L B 1、P R O K R 1、P R O M 2、S C N 7 A、S D C 1、S L C 2 3 A 3、S L C 5 A 6、T G O L N 2、T H S D 7 B、T M 4 S F 2 0、T M E F F 2、T M E M 1 7 8 A、T P O 及び T R A B D 2 A からなる群から選択される。

10

【0172】

[0096] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第3染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、i C A R 及び / 又は p C A R における使用のための標的は、A C K R 2、A L C A M、A N O 1 0、A T P 1 3 A 4、B T L A、C A C N A 1 D、C A C N A 2 D 2、C A C N A 2 D 3、C A S R、C C R L 2、C D 2 0 0、C D 2 0 0 R 1、C D 8 6、C D 9 6、C D C P 1、C D H R 4、C E L S R 3、C H L 1、C L D N 1 1、C L D N 1 8、C L S T N 2、C S P G 5、C X 3 C R 1、C X C R 6、C Y P 8 B 1、D C B L D 2、D R D 3、E P H A 6、E P H B 3、G A B R R 3、G P 5、G P R 1 2 8、G P R 1 5、G P R 2 7、G R M 2、G R M 7、H E G 1、H T R 3 C、H T R 3 D、H T R 3 E、I G S F 1 1、I L 1 7 R C、I L 1 7 R D、I L 1 7 R E、I L 5 R A、I M P G 2、I T G A 9、I T G B 5、K C N M B 3、L R I G 1、L R R C 1 5、L R R N 1、M S T 1 R、N A A L A D L 2、N R R O S、O R 5 A C 1、O R 5 H 1、O R 5 H 1 4、O R 5 H 1 5、O R 5 H 6、O R 5 K 2、O R 5 K 3、O R 5 K 4、P I G X、P L X N B 1、P L X N D 1、P R R T 3、P T P R G、R O B O 2、R Y K、S E M A 5 B、S I D T 1、S L C 2 2 A 1 4、S L C 3 3 A 1、S L C 4 A 7、S L I T R K 3、S T A B 1、S U S D 5、T F R C、T L R 9、T M E M 1 0 8、T M E M 4 4、T M P R S S 7、T N F S F 1 0、U P K 1 B、V I P R 1 及び Z P L D 1 からなる群から選択される。

20

30

【0173】

[0097] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第4染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、i C A R 及び / 又は p C A R における使用のための標的は、A N T X R 2、B T C、C N G A 1、C O R I N、E G F、E M C N、E N P E P、E P H A 5、E R V M E R 3 4 - 1、E V C 2、F A T 1、F A T 4、F G F R L 1、F R A S 1、G P R 1 2 5、G R I D 2、G Y P A、G Y P B、K D R、K I A A 0 9 2 2、K L B、M F S D 8、P A R M 1、P D G F R A、R N F 1 5 0、T E N M 3、T L R 1 0、T L R 1、T L R 6、T M E M 1 5 6、T M P R S S 1 1 A、T M P R S S 1 1 B、T M P R S S 1 1 E、T M P R S S 1 1 F、U G T 2 A 1 及び U N C 5 C からなる群から選択される。

40

【0174】

[0098] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第5染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、i C A R 及び / 又は p C A R における使用のための標的は、A D A M 1 9、A D R B 2、B T N L 3、B T N L 8、B T N L 9、C 5 o r f 1 5、C A T S P E R 3、C D 1 8 0、C D H 1 2、C D H R 2、C O L 2 3 A 1、C S F 1 R、F 2 R L 2、F A M 1 7 4 A、F A T 2、F G F R 4、F L T 4、G A B R A 6、G A B R G 2、G P R 1 5 1、G P R 9 8、G R M 6、H A V C R 1、H A V C R 2、I L 3 1 R A、I L 6 S T、I L 7 R、I Q G A P 2、I T G A 1、I T G A 2、K C N M B 1、L I F R、L N P E P、M E G F 1 0、N I P A L 4、N P R 3、N R G 2、O R 2 V 1、O R 2 Y 1、O S M R、P C D H 1 2、P C D H 1、P C D H A 1、P C

50

DHA 2、PCDHA 4、PCDHA 8、PCDHA 9、PCDHB 10、PCDHB 11、PCDHB 13、PCDHB 14、PCDHB 15、PCDHB 16、PCDHB 2、PCDHB 3、PCDHB 4、PCDHB 5、PCDHB 6、PCDHGA 1、PCDHGA 4、PDGFRB、PRLR、SEMA 5A、SEMA 6A、SGCD、SLC 1A 3、SLC 22A 4、SLC 22A 5、SLC 23A 1、SLC 36A 3、SLC 45A 2、SLC 6A 18、SLC 6A 19、SLCO 6A 1、SV 2C、TENM 2、TIMD 4 及び UGT 3A 1 からなる群から選択される。

【0175】

[0099] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第6染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、BAI 3、BTN1A 1、BTN2A 1、BTN2A 2、BTN3A 1、BTN3A 2、BTNL 2、CD 83、DCBLD 1、DLL 1、DPCR 1、ENPP 1、ENPP 3、ENPP 4、EPHA 7、GABBR 1、GABRR 1、GCNT 6、GFRAL、GJB 7、GLP 1R、GPR 110、GPR 111、GPR 116、GPR 126、GPR 63、GPRC 6A、HFE、HLA - A、HLA - B、HLA - C、HLA - DOA、HLA - DPA 1、HLA - DPB 1、HLA - DQA 1、HLA - DQA 2、HLA - DQB 1、HLA - DQB 2、HLA - DRB 1、HLA - DRB 5、HLA - E、HLA - F、HLA - G、IL 20RA、ITPR 3、KIAA 0319、LMBRD 1、LRFN 2、LRP 11、MAS 1L、MEP 1A、MICA、MICB、MOG、MUC 21、MUC 22、NCR 2、NOTCH 4、OPRM 1、OR10C 1、OR12D 2、OR12D 3、OR14J 1、OR2B 2、OR2B 6、OR2J 1、OR2W 1、OR5V 1、PDE 10A、PI 16、PKHD 1、PTCRA、PTK 7、RAET 1E、RAET 1G、ROS 1、SDIM 1、SLC 16A 10、SLC 22A 1、SLC 44A 4、TAAR 2、TREM 1、TREM L 1及びTREM L 2からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第6染色体上に位置し、HLA 標的を含む。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、HLA - A、HLA - B、HLA - C、HLA - DOA、HLA - DPA 1、HLA - DPB 1、HLA - DQA 1、HLA - DQA 2、HLA - DQB 1、HLA - DQB 2、HLA - DRB 1、HLA - DRB 5、HLA - E、HLA - F、HLA - Gである。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、HLA - A 2である。

【0176】

[00100] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第7染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、AQP 1、C7orf 50、CD 36、CDHR 3、CNTNAP 2、DPP 6、EGFR、EPHA 1、EPHB 6、ERVW - 1、GHRHR、GJC 3、GPNMB、GRM 8、HUS 1、HYAL 4、KIAA 1324L、LRRN 3、MET、MUC 12、MUC 17、NPC 1L 1、NPSR 1、OR2A 12、OR2A 14、OR2A 25、OR2A 42、OR2A 7、OR2A 2、OR2AE 1、OR2F 2、OR6V 1、PILRA、PILRB、PKD 1L 1、PLXNA 4、PODXL、PTPRN 2、PTPRZ 1、RAMP 3、SLC 29A 4、SMO、TAS 2R 16、TAS 2R 40、TAS 2R 4、TFR 2、THSD 7A、TMEM 213、TTYH 3、ZAN及びZP 3からなる群から選択される。

【0177】

[00101] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第8染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、ADAM 18、ADAM 28、ADAM 32、ADAM 7、ADAM 9、ADRA 1A、CDH 17、CHRNA 2、CSMD 1、CSMD 3、DCSTAMP、FZD 6、GPR 124、NRG 1、OR4F 21、PKHD 1L 1、PRSS 55、SCARA 3、SCARA 5、SDC 2、SLC 10A 5、SLC 39A 14、SLC 39

A4、SLCO5A1、TNFRSF10A及びTNFRSF10Bからなる群から選択される。

【0178】

[00102] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第9染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、ABCA1、AQP7、ASTN2、C9orf135、CA9、CD72、CNTNAP3B、CNTNAP3、CRB2、ENTPD8、GPR144、GRIN3A、IZUMO3、KIAA1161、MAMDC4、MEGF9、MUSK、NOTCH1、OR13C2、OR13C3、OR13C5、OR13C8、OR13C9、OR13D1、OR13F1、OR1B1、OR1J2、OR1K1、OR1L1、OR1L3、OR1L6、OR1L8、OR1N1、OR1N2、OR1Q1、OR2S2、PCSK5、PDCD1LG2、PLGRKT、PTPRD、ROR2、SEMA4D、SLC31A1、TEK、TLR4、TMEM2及びVLDLRからなる群から選択される。

10

【0179】

[00103] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第10染色体上に位置する。いくつかの例では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、ABCC2、ADAM8、ADRB1、ANTXR1、ATRNL1、C10orf54、CDH23、CDHR1、CNNM2、COL13A1、COL17A1、ENTPD1、FZD8、FGFR2、GPR158、GRID1、IL15RA、IL2RA、ITGA8、ITGB1、MRC1、NRG3、NPF1R1、NRP1、OPN4、PCDH15、PKD2L1、PLXDC2、PRLHR、RET、RGR、SLC16A9、SLC29A3、SLC39A12、TACR2、TCTN3、TSPAN15、UNC5B及びVSTM4からなる群から選択される。

20

【0180】

[00104] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第11染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、AMICA1、ANO1、ANO3、APLP2、C11orf24、CCKBR、CD248、CD44、CD5、CD6、CD82、CDON、CLMP、CRTAM、DCHS1、DSCAML1、FAT3、FOLH1、GDPD4、GDPD5、GRIK4、HEPHL1、HTR3B、IFITM10、IL10RA、KIRREL3、LGR4、LRP4、LRP5、LRRC32、MCAM、MFRP、MMP26、MPEG1、MRGPRE、MRGPRF、MRGPRX2、MRGPRX3、MRGPRX4、MS4A4A、MS4A6A、MTNR1B、MUC15、NAALAD2、NAALADL1、NCAM1、NRXN2、OR10A2、OR10A5、OR10A6、OR10D3、OR10G4、OR10G7、OR10G8、OR10G9、OR10Q1、OR10S1、OR1S1、OR2AG1、OR2AG2、OR2D2、OR4A47、OR4A15、OR4A5、OR4C11、OR4C13、OR4C15、OR4C16、OR4C3、OR4C46、OR4C5、OR4D6、OR4A8P、OR4D9、OR4S2、OR4X1、OR51E1、OR51L1、OR52A1、OR52E1、OR52E2、OR52E4、OR52E6、OR52I1、OR52I2、OR52J3、OR52L1、OR52N1、OR52N2、OR52N4、OR52W1、OR56B1、OR56B4、OR5A1、OR5A2、OR5AK2、OR5AR1、OR5B17、OR5B3、OR5D14、OR5D16、OR5D18、OR5F1、OR5I1、OR5L2、OR5M11、OR5M3、OR5P2、OR5R1、OR5T2、OR5T3、OR5W2、OR6A2、OR6T1、OR6X1、OR8A1、OR8B12、OR8B2、OR8B3、OR8B4、OR8D1、OR8D2、OR8H1、OR8H2、OR8H3、OR8I2、OR8J1、OR8J2、OR8J3、OR8K1、OR8K3、OR8K5、OR8U1、OR9G1、OR9G4、OR9Q2、P2RX3、PTPRJ、ROBO3、SIGIRR、SLC22A10、SLC3

30

40

50

A 2、SLC5A12、SLCO2B1、SORL1、ST14、SYT8、TENM4、TMEM123、TMEM225、TMPRSS4、TMPRSS5、TRIM5、TRPM5、TSPAN18及びZP1からなる群から選択される。

【0181】

[00105] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第12染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、ANO4、AVPR1A、BCL2L14、CACNA2D4、CD163、CD163L1、CD27、CD4、CLEC12A、CLEC1B、CLEC2A、CLEC4C、CLEC7A、CLECL1、CLSTN3、GPR133、GPC5D、ITGA7、ITGB7、KLRB1、KLRC2、KLRC3、KLRC4、KLRF1、KLRF2、LRP1、LRP6、MANSC1、MANSC4、OLR1、OR10AD1、OR10P1、OR2AP1、OR6C1、OR6C2、OR6C3、OR6C4、OR6C6、OR6C74、OR6C76、OR8S1、OR9K2、ORAI1、P2RX4、P2RX7、PRR4、PTPRB、PTPRQ、PTPRR、SCNN1A、SELP1G、SLC2A14、SLC38A4、SLC5A8、SLC6A15、SLC8B1、SLCO1A2、SLCO1B1、SLCO1B7、SLCO1C1、SSPN、STAB2、TAS2R10、TAS2R13、TAS2R14、TAS2R20、TAS2R30、TAS2R31、TAS2R42、TAS2R43、TAS2R46、TAS2R7、TMEM119、TMEM132B、TMEM132C、TMEM132D、TMPRSS12、TNFRSF1A、TSPAN8及びVSIG10からなる群から選択される。

10

20

【0182】

[00106] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第13染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、ATP4B、ATP7B、FLT3、FREM2、HTR2A、KL、PCDH8、RXFP2、SGCG、SHISA2、SLC15A1、SLITRK6及びTNFRSF19からなる群から選択される。

【0183】

[00107] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第14染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、ADAM21、BDKRB2、C14orf37、CLEC14A、DLLK1、FLRT2、GPR135、GPR137C、JAG2、LTB4R2、MMP14、OR11G2、OR11H12、OR11H6、OR4K1、OR4K15、OR4K5、OR4L1、OR4N2、OR4N5、SLC24A4及びSYNDIG1Lからなる群から選択される。

30

【0184】

[00108] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第15染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、ANPEP、CD276、CHRNA7、CHRN4、CSPG4、DUOX1、DUOX2、FAM174B、GLDN、IGDCC4、ITGA11、LCTL、LTK、LYSMD4、MEGF11、NOX5、NRG4、OCA2、OR4F4、OR4M2、OR4N4、PRTG、RHCG、SCAMP5、SEMA4B、SEMA6D、SLC24A1、SLC24A5、SLC28A1、SPG11、STRA6、TRPM1及びTYRO3からなる群から選択される。

40

【0185】

[00109] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第16染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、ATP2C2、CACNA1H、CD19、CDH11、CDH15、CDH16、CDH3、CDH5、CNGB1、CNTNAP4、GDPD3、GPR56、GPR97、IFT140、IL4R、ITFG3、ITGAL、ITGAM、IT

50

GAX、KCNG4、MMP15、MSLNL、NOMO1、NOMO3、OR2C1、PIEZO1、PKD1、PKD1L2、QPRT、SCNN1B、SEZ6L2、SLC22A31、SLC5A11、SLC7A6、SPN、TMC5、TMC7、TMEM204、TMEM219及びTMEM8Aからなる群から選択される。

【0186】

[00110] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第17染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、ABCC3、ACE、AOC3、ARL17B、ASGR2、C17orf80、CD300A、CD300C、CD300E、CD300LF、CD300LG、CHRN1、CLEC10A、CNTNAP1、CPD、CXCL16、ERBB2、FAM171A2、GCGR、GLP2R、GP1BA、GPR142、GUCY2D、ITGA2B、ITGA3、ITGAE、ITGB3、KCNJ12、LRRC37A2、LRRC37A3、LRRC37A、LRRC37B、MRC2、NGFR、OR1A2、OR1D2、OR1G1、OR3A1、OR3A2、OR4D1、OR4D2、RNF43、SCARF1、SCN4A、SDK2、SECTM1、SEZ6、SHPK、SLC26A11、SLC5A10、SPACA3、TMEM102、TMEM132E、TNFSF12、TRPV3、TTYH2及びTUSC5からなる群から選択される。

10

【0187】

[00111] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第18染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、APCDD1、CDH19、CDH20、CDH7、COLEC12、DCC、DSC1、DSG1、DSG3、DYNAP、MEP1B、PTPRM、SIGLEC15及びTNFRSF11Aからなる群から選択される。

20

【0188】

[00112] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第19染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、ABCA7、ACPT、BCAM、C19orf38、C19orf59、C5AR1、CATSPERD、CATSPERG、CD22、CD320、CD33、CD97、CEACAM19、CEACAM1、CEACAM21、CEACAM3、CEACAM4、CLEC4M、DLL3、EMR1、EMR2、EMR3、ERVV-1、ERVV-2、FAM187B、FCAR、FFAR3、FPR1、FXVD5、GFY、GP6、GPR42、GRIN3B、ICAM3、IGFLR1、IL12RB1、IL27RA、KIR2DL1、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3、KIRREL2、KISS1R、LAIR1、LILR、LILRA1、LILRA2、LILRA4、LILRA6、LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5、LINGO3、LPHN1、LRP3、MADCAM1、MAG、MEGF8、MUC16、NCR1、NOTCH3、NPHS1、OR10H1、OR10H2、OR10H3、OR10H4、OR1I1、OR2Z1、OR7A10、OR7C1、OR7D4、OR7E24、OR7G1、OR7G2、OR7G3、PLVAP、PTGIR、PTPRH、PTPRS、PVR、SCN1B、SHISA7、SIGLEC10、SIGLEC11、SIGLEC12、SIGLEC5、SIGLEC6、SIGLEC8、SIGLEC9、SLC44A2、SLC5A5、SLC7A9、SPINT2、TARM1、TGFB3L、TMC4、TMEM91、TMEM161A、TMPRSS9、TNFSF14、TNFSF9、TRPM4、VN1R2、VSI10L、VSTM2B及びZNRF4からなる群から選択される。

30

40

【0189】

[00113] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第20染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用

50

のための標的は、ABHD12、ADAM33、ADRA1D、APMAP、ATRN、CD40、CD93、CDH22、CDH26、CDH4、FLRT3、GCNT7、GGT7、JAG1、LRRN4、NPBWR2、OCSTAMP、PTPRA、PTPR T、SEL1L2、SIGLEC1、SIRPA、SIRPB1、SIRPG、SLC24A3、SLC2A10、SLC4A11、SSTR4及びTHBDからなる群から選択される。

【0190】

[00114] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第21染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、CLDN8、DSCAM、ICOSLG、IFNAR1、IFNGR2、IGSF5、ITGB2、KCNJ15、NCAM2、SLC19A1、TMPRSS15、TMPRSS2、TMPRSS3、TRPM2及びUMODL1からなる群から選択される。

10

【0191】

[00115] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第22染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、CACNA1I、CELSR1、COMT、CSF2RB、GGT1、GGT5、IL2RB、KREMEN1、MCHR1、OR11H1、P2RX6、PKDREJ、PLXNB2、SCARF2、SEZ6L、SSTR3、SUSD2、TMPRSS6及びTNFRSF13Cからなる群から選択される。

20

【0192】

[00116] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、X染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための標的は、ATP6AP2、ATP7A、CNGA2、EDA2R、FMR1NB、GLRA4、GPR112、GUCY2F、HEPH、P2RY10、P2RY4、PLXNA3、PLXNB3、TLR8、VSIG4及びXGからなる群から選択される。

【0193】

[00117] いくつかの実施形態では、癌を処置するために使用されるaCARは、標的タンパク質が発現する全ての正常組織上にiCARが発現する限り、腫瘍組織上に発現する任意の膜タンパク質に向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、aCARは、腫瘍関連タンパク質、腫瘍関連抗原及び/又は臨床試験の抗原、表1に列挙されているCAR標的並びに本明細書に列挙されている基準に従って、標的の結合に関してiCARと一致又はペアにすることができる腫瘍組織に発現する任意の細胞表面タンパク質に特異的に結合することができるか又は向けることができる。いくつかの実施形態では、iCARがaCARと同じ組織又は任意の重要な組織に発現するが、腫瘍細胞では喪失されている限り、aCARは、細胞外ドメインを有する任意の発現タンパク質であり得る。いくつかの実施形態では、上に記載の癌の種類の一つなどの癌を処置するために使用されるaCARは、CD19などの表1に列挙されている抗原から選択される非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、aCAR、iCAR及び/又はpCAR標的は、細胞外ドメインを有する任意の標的である。いくつかの実施形態では、癌の処置に使用されるaCARは、限定されないが、次のリストの抗原：CD19、CD20、CD22、CD10、CD7、CD49f、CD56、CD74、CAIX Ig、ROR1、ROR2、CD30、ルイスY、CD33、CD34、CD38、CD123、CD28、CD44v6、CD44、CD41、CD133、CD138、NKG2D-L、CD139、BCMA、GD2、GD3、hTERT、FBP、EGP-2、EGP-40、FR-、L1-CAM、Erbb2、3、4、EGFRvIII、VEGFR-2、IL-13R2、FAP、メソテリン、c-MET、PSMA、CEA、KRAS、MAGE-A1、MUC1MUC16、PDL1、PSCA、EpCAM、FSHR、AFP、AXL、CD80、CD89、CDH17、CLD18、GPC3、TEM8、TGFB1、NY-ESO-1 WT-1及び

30

40

50

EGFRから選択される非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、aCAR、iCAR及び/又はpCAR標的は、表1に列挙されている抗原である。

【0194】

【表1】

表1. CAR 標的抗原、*ClinicalTrials.gov* に登録されている試験で評価されたものを含む

|        | 抗原               | 主な構造的／機能的特徴                           | 悪性腫瘍                   | 可能性のある腫瘍外標的             |
|--------|------------------|---------------------------------------|------------------------|-------------------------|
| 血液悪性腫瘍 | CD19             | BCRによるシグナル伝達に関与する汎B細胞マーカー             | ALL, CLL, NHL, HL, PLL | 正常B細胞                   |
|        | CD20             | 4回膜貫通型、Ca輸送及びB細胞活性化の制御                | CLL, NHL               | 正常B細胞                   |
|        | CD22             | B細胞系列特異的接着受容体、シアル酸結合Ig型レクチンファミリー      | ALL, NHL               | 正常B細胞                   |
|        | Igκ              | 正常ヒトB細胞のおよそ65%が発現するIg軽鎖アイソタイプ         | CLL, NHL, MM           | 正常B細胞                   |
|        | ROR1             | 腫瘍におけるI型オーファン受容体チロシンキナーゼ様、生存シグナル伝達受容体 | CLL, NHL               | 膵臓、脂肪細胞                 |
|        | CD30             | TNFRメンバー、NF-κBが関与する細胞増殖及び生存に対する多面的効果  | NHL, TCL, HL           | 休止CD8 T細胞、活性化B細胞及びTh2細胞 |
|        | ルイス <sup>Y</sup> | (CD174) 2つのフコース基を有する膜オリゴ糖             | AML, MM                | 初期骨髄系前駆細胞               |

10

20

30

【0195】

40

50

【表 2】

|         |  |         |  |
|---------|--|---------|--|
| CD33    | 骨髄単球系列の接着分子として機能するシアル酸結合Ig型レクチン                    | AML     | 造血系前駆細胞; 骨髄単球系前駆細胞; 単球                           |
| CD123   | IL-3受容体の $\alpha$ 鎖                                | AML     | BM骨髄系前駆細胞; DC、B細胞; マスト細胞、単球; マクロファージ; 巨核細胞; 内皮細胞 |
| NKG2D-L | MHC-I分子との類似性を有する、NK及びT細胞活性化受容体NKG2Dのリガンド; 炎症中に上方制御 | AML, MM | 胃腸上皮、内皮細胞及び線維芽細胞;                                |
| CD139   | シンデカン-1、細胞表面へパラン硫酸プロテオグリカン、ECM受容体                  | MM      | 前駆体&血漿B細胞; 上皮                                    |
| BCMA    | TNFRメンバー、BAFF及びAPRILに結合、増殖シグナル伝達に関与                | MM      | B細胞  |

10

20

【 0 1 9 6 】

30

40

50

【表 3】

|      |                   |   |                         |                                   |    |
|------|-------------------|---|-------------------------|-----------------------------------|----|
|      | TACI              |   | MM                      | 単核細胞、<br>心臓                       |    |
| 固形腫瘍 | GD2               | ジシアロガングリオシド   | NB; 肉腫; 固形腫瘍            | 皮膚;<br>神経細胞                       | 10 |
|      | FR- $\alpha$      | GPI連結葉酸受容体、還元型葉酸補因子の取り込みに機能する                                     | 卵巣癌                     | 腎臓、肺、<br>甲状腺、腎臓<br>& 乳房上皮の<br>先端面 |    |
|      | L1-CAM            | CD171、Igスーパーファミリーの神経細胞接着分子  | NB                      | CNS; 交感神経節; 副腎髄質                  |    |
|      | ErbB2             | HER2、受容体チロシンタンパク質キナーゼのEGFRファミリーメンバー                               | 脳、CNS、神経膠腫、GBM、H&N、固形腫瘍 | 胃腸、呼吸器、生殖器&尿路上皮、皮膚、乳房&胎盤; 造血細胞    | 20 |
|      | EGFRvIII          | スプライスバリエント、生存促進性シグナルを絶えず送達する短縮型細胞外ドメインをコードする増幅されたEGFR遺伝子のインフレーム欠失 | 脳、CNS、神経膠腫、GBM          | なし                                |    |
|      | VEGFR-2           | IgスーパーファミリーのIII型膜貫通キナーゼ受容体、血管内皮機能を制御する                            | 固形腫瘍                    | 血管及びリンパ管内皮                        | 30 |
|      | IL-13R $\alpha$ 2 | 2つのIL-13受容体のうちの1つの $\alpha$ 鎖                                     | 脳、CNS、神経膠腫、GBM          | アストロサイト;<br>脳; H&N組織              |    |
|      | FAP               | 細胞表面セリンプロテアーゼ   | 中皮腫                     | 慢性炎症、創傷治癒、組織リモデリングにおける線維芽細胞       | 40 |

【 0 1 9 7 】

【表 4】

|  |                      |  |              |                             |    |
|--|----------------------|--|--------------|-----------------------------|----|
|  | メソテリン                | 機能未知の40kDa細胞表面糖タンパク質   | 中皮腫、膵臓、卵巣    | 腹膜、胸膜、及び心膜中皮表面              |    |
|  | c-MET                | 肝細胞増殖因子受容体(HGFR)、ジスルフィド連結 $\alpha$ - $\beta$ ヘテロ二量体受容体チロシンキナーゼ | TNBC         | 肝臓、胃腸管、甲状腺、腎臓、脳             |    |
|  | PSMA                 | N-アセチル化アルファ連結酸性ジペプチダーゼ及び葉酸ヒドロラーゼ活性を有するII型膜糖タンパク質               | 前立腺          | 正常な前立腺及び腸の上皮並びに腎近位尿細管細胞の先端面 | 10 |
|  | CEA                  | 表面糖タンパク質、細胞接着分子のIgスーパーファミリー及びCEA関連ファミリーのメンバー                   | 結腸直腸、乳房、固形腫瘍 | 先端上皮表面: 結腸、胃、食道&舌           |    |
|  | EGFR                 | ErbB1、Her1、リガンド結合により細胞の分化及び増殖をシグナル伝達する受容体チロシンキナーゼ              | 固形腫瘍         | 上皮、間葉&神経由来の組織               | 20 |
|  | 5T4                  | mの細胞表面に発現する腫瘍関連抗原  | 固形腫瘍         | 上皮由来の組織                     |    |
|  | GPC3                 | ヘパラン硫酸プロテオグリカン、  | 固形腫瘍         | 尿組織                         |    |
|  | ROR1                 | 受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体   | 固形腫瘍及びCLL    | 尿、膵臓、結腸、卵巣、脳、単球             | 30 |
|  | MUC遺伝子(MUC-1、MUC-16) | 上皮表面における保護粘膜バリアの形成に重要な役割を果たすO-グリコシル化タンパク質                      | 固形腫瘍         | 結腸、腎臓、肺、乳房、膵臓、尿             |    |
|  | PDL1                 | 造血細胞及び非造血細胞によって発現される免疫阻害性受容体リガンド                               | 肺            | 脾臓、乳房                       | 40 |

【 0 1 9 8 】

【表 5】

表 2: 他の CAR 標的抗原

|        | 抗原            | 主な構造的／機能的特徴   | 悪性腫瘍                            |
|--------|---------------|---|---------------------------------|
| 血液悪性腫瘍 | CD38          | 膜貫通シグナル伝達及び細胞接着に関与する表面環状ADPリボースヒドロラーゼ                 | CLL, NHL, MM                    |
|        | CS1           | 細胞表面シグナル伝達リンパ球活性化分子 (SLAM)                            | MM                              |
| 固形腫瘍   | PSCA          | Thy-1/Ly-6ファミリーのGPIアンカー型膜糖タンパク質                       | 前立腺、膀胱、膵臓                       |
|        | CD44v6        | ヒアルロン酸受容体CD44の選択的にスプライシングされたバリエーション6                  | H&N、肝臓、膵臓、胃、乳房、結腸; AML, NHL, MM |
|        | CD44v7/8      | ヒアルロン酸受容体CD44の選択的にスプライシングされたバリエーション7/8                | 乳房、子宮頸部                         |
|        | MUC1          | 糖タンパク質のムチンファミリーの高密度グリコシル化メンバー                         | 結腸、肺、膵臓、乳房、卵巣、前立腺、腎臓、胃、H&N      |
|        | L-11 $\alpha$ | IL-11受容体の $\alpha$ サブユニット                             | 結腸、胃、乳房、前立腺; 骨肉腫                |
|        | EphA2         | エリスロポエチン産生肝細胞癌A2 (EphA2)受容体、受容体チロシンキナーゼのEphファミリーのメンバー | 神経膠腫; 乳房、結腸、卵巣、前立腺、膵臓           |
|        | CAIX          | 膜貫通亜鉛金属酵素   | RCC; 低酸素下の腫瘍                    |
|        | CSPG4         | 高分子量黒色腫関連抗原、細胞表面プロテオグリカン                              | RCC; 低酸素下の腫瘍                    |

10

20

30

## 【0199】

II. 認識部分: aCAR、iCAR及びpCAR

[00118] 本発明は、標的への特異的結合を提供するように設計された認識部分も提供する。認識部分は、aCAR、iCAR及び/又はpCARの特異的且つ標的化された結合の指示を可能にする。いくつかの実施形態では、標的への特異的結合を提供するように設計された認識部分は、細胞外多型エピトープへの特異的結合を提供する。いくつかの実施形態では、認識部分は、aCAR、iCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインの一部である。いくつかの実施形態では、細胞外ドメインは、ヒト化抗体; ヒト抗体; 抗体の機能的断片; ナノボディなどの単一ドメイン抗体; 組換え抗体; 単一鎖可変断片 (ScFv) などの抗体、それらの誘導体又は断片を含む。いくつかの実施形態では、細胞外ドメインは、アフィボディ分子; アフィリン; アフィマー; アフィチン; アルファボディ; アンチカリン; アビマー; DARPIn; ファイノマー (fynomer); Kunitzドメインペプチド; 及びモノボディなどの抗体ミメティックを含む。いくつかの実施形態では、細胞

40

50

外ドメインは、アプタマーを含む。

【0200】

[00119] 一般に、任意の関連する技術を使用して、a C A R及びp C A R又はi C A Rにそれらの標的への特異的結合を与える認識部分を操作することができる。例えば、このi C A R - a C A Rライブラリーを構成する認識部分は、理想的にはコンビナトリアルディスプレイライブラリーから選択されたマスター認識部分プールから誘導することができるため、

- 集合的に、選択された認識部分は、22個のヒト常染色体全ての2つの腕の各々にある遺伝子アレイの細胞表面生成物を標的とする。隣接する遺伝子間の距離が短いほど、網羅範囲はより広く、したがって使用の普遍性がより大きい。

- 選択した遺伝子の各々では、一セットの対立遺伝子特異的認識部分が単離され、各々がヒト集団で一般的な異なる対立遺伝子パリアント間の厳密な区別を可能にする。標的パリアントの数が多ければ、患者に提供することができる療法用遺伝子ペアの数も多い。

【0201】

[00120] 所与の対立遺伝子生成物は、各々の場合の特定のL O Hパターンに応じて、ある患者では可能性のあるp C A R又はi C A R標的になり得、同じ対立遺伝子が存在する別の患者では有用なa C A R標的になり得る。したがって、好適な認識部分遺伝子が同定されると、p C A R又はi C A R及びa C A R遺伝子の両方の足場にそれぞれ移植されるであろう。したがって、同じ遺伝子の対立遺伝子パリアントに向けられた全ての認識部分が、同様の範囲の結合親和性を有することが望ましい。認識部分のかかる所与のセット内で、p C A R - a C A R又はi C A R - a C A Rペアの全ての可能な組み合わせを事前に組み立てて、集団全体でその遺伝子の可能性のある対立遺伝子組成の最も高い網羅範囲を確実にすることができる。

【0202】

[00121] いくつかの実施形態では、患者は、メジャー対立遺伝子及びマイナー対立遺伝子ではヘテロ接合性であり、その生成物は、非同義のS N P又は頻度は低いインデルの結果として、コードされるポリペプチドに沿った位置が1つ異なる。いくつかの他の実施形態では、2つの別個の位置で、メジャー対立遺伝子と異なる2つのマイナー対立遺伝子の場合、患者は、ヘテロ接合性である。個々の患者の前記遺伝子が関与する特定のL O H事象に応じて、所与のパリアントエピトープは、ある患者ではi C A R標的として、別の患者ではa C A R標的として機能することができる。いくつかの実施形態では、i C A R標的として機能することができるパリアントエピトープは、メジャー対立遺伝子パリアントではない。いくつかの実施形態では、i C A R標的として機能することができるパリアントエピトープは、マイナー対立遺伝子である。

【0203】

[00122] パリアント特異的m A b (例えば、マイナー対立遺伝子「a」によってコードされるエピトープに特異的なm A b)の同定は、当技術分野で周知であり、原則的に、任意の従来抗原決定基のm A bの同定と同様であり、通常、例えばファージ(Barbas et al., 2004)、リボソーム(Hanes et al., 1997)又は酵母(Chao et al., 2006)ディスプレイ技術を利用する、組換え抗体s c F vライブラリーの高スループットスクリーニングを介して最も良好に達成することができる。ライブラリースクリーニングに採用される抗原は、2つの対立遺伝子間の多様性の位置にまたがる合成ペプチド(典型的には、長さが15~20アミノ酸以上)、この分野で活動している多くの企業の1つによって市販若しくは調整して合成されたかのいずれでもあり得る組換え全長ポリペプチド又はさらに遺伝子トランスフェクション(例えば、p G E M 4 Z / A 6 4ベクターにインビトロm R N A転写のテンプレートとしてクローニングされた全長c D N Aをコードするm R N Aのエレクトロポレーション(Boczowski et al., 2000))、続いてこの対立遺伝子を発現しない同じ細胞への減算ステップの実施により、高レベルで前記対立遺伝子パリアントを発現する細胞全体、のいずれかであり得る。これらの方法は周知であり、例えばMolecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition) Green and

10

20

30

40

50

Sambrook, Cold Spring Harbor Laboratory Press ; Antibodies: A Laboratory Manual (Second Edition), Edited by Edward A. Greenfield, 2012 CSH laboratory press ; Using Antibodies, A laboratory manual by Ed Harlow and David Lane, 1999 CSH laboratory pressに記載されている。

【0204】

[00123] 定義により、メジャー対立遺伝子(「A」)によってコードされる対応するエピトープ(同じ位置)は、単一アミノ酸(SNP)又は長さ(インデル、例えば挿入又は欠失)の同一性において「a」によって作製されるものと異なる独特な抗原決定基を作製する。この決定基は、原則的に、同じ又は他の抗体ディスプレイスクリーニング技術によって同定されたmAbの異なるセットによって認識されることができる。例えば、最初のセットからの抗体が、対立遺伝子「a」の生成物には結合するが「A」のものには結合せず、第2のセットからのAbが、補完的に「A」には結合するが、「a」には結合しないという、同定された2つのセットのmAbの各々の固有のメンバーが、2つのエピトープ又はバリエーションを区別する能力は、ELISA若しくはフローサイトメトリー(Skora et al., 2015)などの従来の結合アッセイ又は細胞染色の他の技法を使用して決定することができる。代わりに、「A」には結合しない「a」結合Abが同定され、そのタンパク質配列が決定されると、算出方法を使用して、「a」ではなく「A」に結合する「相補的」抗体scFv配列を予測することができる可能性がある。かかる算出方法については、例えば、(Sela-Culang et al., 2015a,b)を参照されたい。

10

【0205】

[00124] いくつかの実施形態では、例えば、標的遺伝子としてのHLAクラスI遺伝子座遺伝子HLA-A、HLA-B及びHLA-Cに関して、利用可能な多くの対立遺伝子特異的モノクローナル抗体、例えば、限定されないが、実施例3に列挙されている抗体がある。

20

【0206】

[00125] いくつかの実施形態では、認識部分の生成における使用のための標的は、少なくとも1つの細胞外多型エピトープを含む。いくつかの実施形態では、標的は、第1染色体、第2染色体、第3染色体、第4染色体、第5染色体、第6染色体、第7染色体、第8染色体、第9染色体、第10染色体、第11染色体、第12染色体、第13染色体、第14染色体、第15染色体、第16染色体、第17染色体、第18染色体、第19染色体、第20染色体、第21染色体、第22染色体又はX染色体上に位置する遺伝子生成物である。

30

【0207】

[00126] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第1染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、ABCA4、ADAM30、AQP10、ASTN1、C1orf101、CACNA1S、CATSPER4、CD101、CD164L2、CD1A、CD1C、CD244、CD34、CD46、CELSR2、CHRN2、CLCA2、CLDN19、CLSTN1、CR1、CR2、CRB1、CSF3R、CSMD2、ECE1、ELTD1、EMC1、EPHA10、EPHA2、EPHA8、ERMAP、FCAMR、FCER1A、FCGR1B、FCGR2A、FCGR2B、FCGR3A、FCRL1、FCRL3、FCRL4、FCRL5、FCRL6、GJB4、GPA33、GPR157、GPR37L1、GPR88、HCRTR1、IGSF3、IGSF9、IL22RA1、IL23R、ITGA10、KIAA1324、KIAA2013、LDLRAD2、LEPR、LGR6、LRIG2、LRP8、LRRC52、LRRC8B、LRRN2、LY9、MIA3、MR1、MUC1、MXRA8、NCSTN、NFASC、NOTCH2、NPR1、NTRK1、OPN3、OR10J1、OR10J4、OR10K1、OR10R2、OR10T2、OR10X1、OR11L1、OR14A16、OR14I1、OR14K1、OR2AK2、OR2C3、OR2G2、OR

40

50

2G3、OR2L2、OR2M7、OR2T12、OR2T27、OR2T1、OR2T3、OR2T29、OR2T33、OR2T34、OR2T35、OR2T3、OR2T4、OR2T5、OR2T6、OR2T7、OR2T8、OR2W3、OR6F1、OR6K2、OR6K3、OR6K6、OR6N1、OR6P1、OR6Y1、PDPN、PEAR1、PIGR、PLXNA2、PTCH2、PTCHD2、PTGFRN、PTPRC、PTPRF、PTGFRN、PVRL4、RHBG、RXFP4、S1PR1、SCNN1D、SDC3、SELE、SELL、SELP、SEMA4A、SEMA6C、SLAMF7、SLAMF9、SLC2A7、SLC5A9、TACSTD2、TAS1R2、TIE1、TLR5、TMEM81、TNFRSF14、TNFRSF1B、TRABD2B、USH2A、VCAM1及びZP4からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

10

## 【0208】

[00127] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第1染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、ABCA4、ADAM30、AQP10、ASTN1、C1orf101、CACNA1S、CATSPER4、CD101、CD164L2、CD1A、CD1C、CD244、CD34、CD46、CELSR2、CHRN2、CLCA2、CLDN19、CLSTN1、CR1、CR2、CRB1、CSF3R、CSMD2、ECE1、ELTD1、EMC1、EPHA10、EPHA2、EPHA8、ERMAP、FCAMR、FCER1A、FCGR1B、FCGR2A、FCGR2B、FCGR3A、FCRL1、FCRL3、FCRL4、FCRL5、FCRL6、GJB4、GPA33、GPR157、GPR37L1、GPR88、HCRTR1、IGSF3、IGSF9、IL22RA1、IL23R、ITGA10、KIAA1324、KIAA2013、LDLRAD2、LEPR、LGR6、LRIG2、LRP8、LRR52、LRR8B、LRRN2、LY9、MIA3、MR1、MUC1、MXRA8、NCSTN、NFASC、NOTCH2、NPR1、NTRK1、OPN3、OR10J1、OR10J4、OR10K1、OR10R2、OR10T2、OR10X1、OR11L1、OR14A16、OR14I1、OR14K1、OR2AK2、OR2C3、OR2G2、OR2G3、OR2L2、OR2M7、OR2T12、OR2T27、OR2T1、OR2T3、OR2T29、OR2T33、OR2T34、OR2T35、OR2T3、OR2T4、OR2T5、OR2T6、OR2T7、OR2T8、OR2W3、OR6F1、OR6K2、OR6K3、OR6K6、OR6N1、OR6P1、OR6Y1、PDPN、PEAR1、PIGR、PLXNA2、PTCH2、PTCHD2、PTGFRN、PTPRC、PTPRF、PTGFRN、PVRL4、RHBG、RXFP4、S1PR1、SCNN1D、SDC3、SELE、SELL、SELP、SEMA4A、SEMA6C、SLAMF7、SLAMF9、SLC2A7、SLC5A9、TACSTD2、TAS1R2、TIE1、TLR5、TMEM81、TNFRSF14、TNFRSF1B、TRABD2B、USH2A、VCAM1及びZP4からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

20

30

40

## 【0209】

[00128] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第2染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、ABCG5、ALK、ASPRV1、ATRAID、CD207、CD8B、CHRNA2、CLEC4E、CNTNAP5、CRIM1、CXCR1、DNER、DPP10、EDAR、EPCAM、GPR113、GPR148、GPR35、GPR39、GYPC、IL1RL1、ITGA4、ITGA6、ITGAV、LCT、LHCGR、LRP1B、LRP2、LY75、MARCO、MERTK、NRP2、OR6

50

B 2、P L A 2 R 1、P L B 1、P R O K R 1、P R O M 2、S C N 7 A、S D C 1、S L C 2 3 A 3、S L C 5 A 6、T G O L N 2、T H S D 7 B、T M 4 S F 2 0、T M E F F 2、T M E M 1 7 8 A、T P O 及び T R A B D 2 A からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0210】

[00129] いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R における使用のための認識部分は、第2染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R における使用のための認識部分は、A B C G 5、A L K、A S P R V 1、A T R A I D、C D 2 0 7、C D 8 B、C H R N G、C L E C 4 F、C N T N A P 5、C R I M 1、C X C R 1、D N E R、D P P 1 0、E D A R、E P C A M、G P R 1 1 3、G P R 1 4 8、G P R 3 5、G P R 3 9、G Y P C、I L 1 R L 1、I T G A 4、I T G A 6、I T G A V、L C T、L H C G R、L R P 1 B、L R P 2、L Y 7 5、M A R C O、M E R T K、N R P 2、O R 6 B 2、P L A 2 R 1、P L B 1、P R O K R 1、P R O M 2、S C N 7 A、S D C 1、S L C 2 3 A 3、S L C 5 A 6、T G O L N 2、T H S D 7 B、T M 4 S F 2 0、T M E F F 2、T M E M 1 7 8 A、T P O 及び T R A B D 2 A からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

10

【0211】

[00130] いくつかの実施形態では、a C A R における使用のための認識部分は、第3染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、a C A R における使用のための認識部分は、A C K R 2、A L C A M、A N O 1 0、A T P 1 3 A 4、B T L A、C A C N A 1 D、C A C N A 2 D 2、C A C N A 2 D 3、C A S R、C C R L 2、C D 2 0 0、C D 2 0 0 R 1、C D 8 6、C D 9 6、C D C P 1、C D H R 4、C E L S R 3、C H L 1、C L D N 1 1、C L D N 1 8、C L S T N 2、C S P G 5、C X 3 C R 1、C X C R 6、C Y P 8 B 1、D C B L D 2、D R D 3、E P H A 6、E P H B 3、G A B R R 3、G P 5、G P R 1 2 8、G P R 1 5、G P R 2 7、G R M 2、G R M 7、H E G 1、H T R 3 C、H T R 3 D、H T R 3 E、I G S F 1 1、I L 1 7 R C、I L 1 7 R D、I L 1 7 R E、I L 5 R A、I M P G 2、I T G A 9、I T G B 5、K C N M B 3、L R I G 1、L R R C 1 5、L R R N 1、M S T 1 R、N A A L A D L 2、N R R O S、O R 5 A C 1、O R 5 H 1、O R 5 H 1 4、O R 5 H 1 5、O R 5 H 6、O R 5 K 2、O R 5 K 3、O R 5 K 4、P I G X、P L X N B 1、P L X N D 1、P R R T 3、P T P R G、R O B O 2、R Y K、S E M A 5 B、S I D T 1、S L C 2 2 A 1 4、S L C 3 3 A 1、S L C 4 A 7、S L I T R K 3、S T A B 1、S U S D 5、T F R C、T L R 9、T M E M 1 0 8、T M E M 4 4、T M P R S S 7、T N F S F 1 0、U P K 1 B、V I P R 1 及び Z P L D 1 からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

20

30

【0212】

[00131] いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R における使用のための認識部分は、第3染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R における使用のための認識部分は、A C K R 2、A L C A M、A N O 1 0、A T P 1 3 A 4、B T L A、C A C N A 1 D、C A C N A 2 D 2、C A C N A 2 D 3、C A S R、C C R L 2、C D 2 0 0、C D 2 0 0 R 1、C D 8 6、C D 9 6、C D C P 1、C D H R 4、C E L S R 3、C H L 1、C L D N 1 1、C L D N 1 8、C L S T N 2、C S P G 5、C X 3 C R 1、C X C R 6、C Y P 8 B 1、D C B L D 2、D R D 3、E P H A 6、E P H B 3、G A B R R 3、G P 5、G P R 1 2 8、G P R 1 5、G P R 2 7、G R M 2、G R M 7、H E G 1、H T R 3 C、H T R 3 D、H T R 3 E、I G S F 1 1、I L 1

40

50

7RC、IL17RD、IL17RE、IL5RA、IMPG2、ITGA9、ITGB5、KCNMB3、LRIG1、LRRC15、LRRN1、MST1R、NAALADL2、NRROS、OR5AC1、OR5H1、OR5H14、OR5H15、OR5H6、OR5K2、OR5K3、OR5K4、PIGX、PLXNB1、PLXND1、PRRT3、PTPRG、ROBO2、RYK、SEMA5B、SIDT1、SLC22A14、SLC33A1、SLC4A7、SLITRK3、STAB1、SUSD5、TFRC、TLR9、TMEM108、TMEM44、TMPRSS7、TNFSF10、UPK1B、VIPR1及びZPLD1からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0213】

10

[00132] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第4染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、ANTXR2、BTC、CNGA1、CORIN、EGF、EMCN、ENPEP、EPHA5、ERVMER34-1、EVC2、FAT1、FAT4、FGFRL1、FRAS1、GPR125、GRID2、GYPA、GYPB、KDR、KIAA0922、KLB、MFSD8、PARM1、PDGFRA、RNF150、TENM3、TLR10、TLR1、TLR6、TMEM156、TMPRSS11A、TMPRSS11B、TMPRSS11E、TMPRSS11F、UGT2A1及びUNC5Cからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

20

【0214】

[00133] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第4染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、ANTXR2、BTC、CNGA1、CORIN、EGF、EMCN、ENPEP、EPHA5、ERVMER34-1、EVC2、FAT1、FAT4、FGFRL1、FRAS1、GPR125、GRID2、GYPA、GYPB、KDR、KIAA0922、KLB、MFSD8、PARM1、PDGFRA、RNF150、TENM3、TLR10、TLR1、TLR6、TMEM156、TMPRSS11A、TMPRSS11B、TMPRSS11E、TMPRSS11F、UGT2A1及びUNC5Cからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

30

【0215】

[00134] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第5染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、ADAM19、ADRB2、BTNL3、BTNL8、BTNL9、C5orf15、CATSPER3、CD180、CDH12、CDHR2、COL23A1、CSF1R、F2RL2、FAM174A、FAT2、FGFR4、FLT4、GABRA6、GABRG2、GPR151、GPR98、GRM6、HAVCR1、HAVCR2、IL31RA、IL6ST、IL7R、IQGAP2、ITGA1、ITGA2、KCNMB1、LIFR、LNPEP、MEGF10、NIPAL4、NPR3、NRG2、OR2V1、OR2Y1、OSMR、PCDH12、PCDH1、PCDHA1、PCDHA2、PCDHA4、PCDHA8、PCDHA9、PCDHB10、PCDHB11、PCDHB13、PCDHB14、PCDHB15、PCDHB16、PCDHB2、PCDHB3、PCDHB4、PCDHB5、PCDHB6、PCDHGA1、PCDHGA4、PDGFRB、PRLR、SEMA5A、SEMA6A、SGCD、SLC1A3、SLC22A4、SLC22A5、SLC23A1、SLC36A3、SLC45A2、SLC6A18、SLC6A19、SLCO6A1、SV2C、TENM2、

40

50

TIMD4及びUGT3A1からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0216】

[00135] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第5染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、ADAM19、ADRB2、BTNL3、BTNL8、BTNL9、C5orf15、CATSPER3、CD180、CDH12、CDHR2、COL23A1、CSF1R、F2RL2、FAM174A、FAT2、FGFR4、FLT4、GABRA6、GABRG2、GPR151、GPR98、GRM6、HAVCR1、HAVCR2、IL31RA、IL6ST、IL7R、IQGAP2、ITGA1、ITGA2、KCNMB1、LIFR、LNPEP、MEGF10、NIPAL4、NPR3、NRG2、OR2V1、OR2Y1、OSMR、PCDH12、PCDH1、PCDHA1、PCDHA2、PCDHA4、PCDHA8、PCDHA9、PCDHB10、PCDHB11、PCDHB13、PCDHB14、PCDHB15、PCDHB16、PCDHB2、PCDHB3、PCDHB4、PCDHB5、PCDHB6、PCDHGA1、PCDHGA4、PDGFRB、PRLR、SEMA5A、SEMA6A、SGCD、SLC1A3、SLC22A4、SLC22A5、SLC23A1、SLC36A3、SLC45A2、SLC6A18、SLC6A19、SLCO6A1、SV2C、TENM2、TIMD4及びUGT3A1からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0217】

[00136] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第6染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、BAI3、BTN1A1、BTN2A1、BTN2A2、BTN3A1、BTN3A2、BTNL2、CD83、DCBLD1、DLL1、DPCR1、ENPP1、ENPP3、ENPP4、EPHA7、GABBR1、GABRR1、GCNT6、GFRA1、GJB7、GLP1R、GPR110、GPR111、GPR116、GPR126、GPR63、GPCR6A、HFE、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DOA、HLA-DPA1、HLA-DPB1、HLA-DQA1、HLA-DQA2、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1、HLA-DRB5、HLA-E、HLA-F、HLA-G、IL20RA、ITPR3、KIAA0319、LMBRD1、LRFN2、LRP11、MAS1L、MEP1A、MICA、MICB、MOG、MUC21、MUC22、NCR2、NOTCH4、OPRM1、OR10C1、OR12D2、OR12D3、OR14J1、OR2B2、OR2B6、OR2J1、OR2W1、OR5V1、PDE10A、PI16、PKHD1、PTCRA、PTK7、RAET1E、RAET1G、ROS1、SDIM1、SLC16A10、SLC22A1、SLC44A4、TAAR2、TREM1、TREM1L1及びTREM1L2からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0218】

[00137] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第6染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、BAI3、BTN1A1、BTN2A1、BTN2A2、BTN3A1、BTN3A2、BTNL2、CD83、DCBLD1、DLL1、DPCR1、ENPP1、ENPP3、ENPP4、EPHA7、GABBR1、GABRR1、GCNT6、GFRA1、GJB7、GLP1R、GPR110、GPR

111、GPR116、GPR126、GPR63、GPCR6A、HFE、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DOA、HLA-DPA1、HLA-DPB1、HLA-DQA1、HLA-DQA2、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1、HLA-DRB5、HLA-E、HLA-F、HLA-G、IL20RA、ITPR3、KIAA0319、LMBRD1、LRFN2、LRP11、MAS1L、MEP1A、MICA、MICB、MOG、MUC21、MUC22、NCR2、NOTCH4、OPRM1、OR10C1、OR12D2、OR12D3、OR14J1、OR2B2、OR2B6、OR2J1、OR2W1、OR5V1、PDE10A、PI16、PKHD1、PTCRA、PTK7、RAET1E、RAET1G、ROS1、SDIM1、SLC16A10、SLC22A1、SLC44A4、TAAR2、TREM1、TREM1及びTREM2からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。 10

【0219】

[00138] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第7染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、AQP1、C7orf50、CD36、CDHR3、CNTNAP2、DPP6、EGFR、EPHA1、EPHB6、ERVW-1、GHRHR、GJC3、GPNMB、GRM8、HUS1、HYAL4、KIAA1324L、LRRN3、MET、MUC12、MUC17、NPC1L1、NPSR1、OR2A12、OR2A14、OR2A25、OR2A42、OR2A7、OR2A2、OR2AE1、OR2F2、OR6V1、PILRA、PILRB、PKD1L1、PLXNA4、PODXL、PTPRN2、PTPRZ1、RAMP3、SLC29A4、SMO、TAS2R16、TAS2R40、TAS2R4、TFR2、THSD7A、TMEM213、TTYH3、ZAN及びZP3からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。 20

【0220】

[00139] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第7染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、AQP1、C7orf50、CD36、CDHR3、CNTNAP2、DPP6、EGFR、EPHA1、EPHB6、ERVW-1、GHRHR、GJC3、GPNMB、GRM8、HUS1、HYAL4、KIAA1324L、LRRN3、MET、MUC12、MUC17、NPC1L1、NPSR1、OR2A12、OR2A14、OR2A25、OR2A42、OR2A7、OR2A2、OR2AE1、OR2F2、OR6V1、PILRA、PILRB、PKD1L1、PLXNA4、PODXL、PTPRN2、PTPRZ1、RAMP3、SLC29A4、SMO、TAS2R16、TAS2R40、TAS2R4、TFR2、THSD7A、TMEM213、TTYH3、ZAN及びZP3からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。 30

【0221】

[00140] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第8染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、ADAM18、ADAM28、ADAM32、ADAM7、ADAM9、ADRA1A、CDH17、CHRNA2、CSMD1、CSMD3、DCSTAMP、FZD6、GPR124、NRG1、OR4F21、PKHD1L1、PRSS55、SCARA3、SCARA5、SDC2、SLC10A5、SLC39A14、SLC39A4、SLCO5A1、TNFRSF10A及びTNFRSF10Bからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへ 40

の特異性を提供する。

【0222】

[00141] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第8染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、ADAM18、ADAM28、ADAM32、ADAM7、ADAM9、ADRA1A、CDH17、CHRNA2、CSMD1、CSMD3、DCSTAMP、FZD6、GPR124、NRG1、OR4F21、PKHD1L1、PRSS55、SCARA3、SCARA5、SDC2、SLC10A5、SLC39A14、SLC39A4、SLCO5A1、TNFRSF10A及びTNFRSF10Bからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

10

【0223】

[00142] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第9染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、ABCA1、AQP7、ASTN2、C9orf135、CA9、CD72、CNTNAP3B、CNTNAP3、CRB2、ENTPD8、GPR144、GRIN3A、IZUMO3、KIAA1161、MAMDC4、MEGF9、MUSK、NOTCH1、OR13C2、OR13C3、OR13C5、OR13C8、OR13C9、OR13D1、OR13F1、OR1B1、OR1J2、OR1K1、OR1L1、OR1L3、OR1L6、OR1L8、OR1N1、OR1N2、OR1Q1、OR2S2、PCSK5、PDCD1LG2、PLGRKT、PTPRD、ROR2、SEMA4D、SLC31A1、TEK、TLR4、TMEM2及びVLDLRからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

20

【0224】

[00143] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第9染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、ABCA1、AQP7、ASTN2、C9orf135、CA9、CD72、CNTNAP3B、CNTNAP3、CRB2、ENTPD8、GPR144、GRIN3A、IZUMO3、KIAA1161、MAMDC4、MEGF9、MUSK、NOTCH1、OR13C2、OR13C3、OR13C5、OR13C8、OR13C9、OR13D1、OR13F1、OR1B1、OR1J2、OR1K1、OR1L1、OR1L3、OR1L6、OR1L8、OR1N1、OR1N2、OR1Q1、OR2S2、PCSK5、PDCD1LG2、PLGRKT、PTPRD、ROR2、SEMA4D、SLC31A1、TEK、TLR4、TMEM2及びVLDLRからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

30

40

【0225】

[00144] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第10染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、ABCC2、ADAM8、ADRB1、ANTXR1、ATRNL1、C10orf54、CDH23、CDHR1、CNNM2、COL13A1、COL17A1、ENTPD1、FZD8、FGFR2、GPR158、GRID1、IL15RA、IL2RA、ITGA8、ITGB1、MRC1、NRG3、NPFFR1、NRP1、OPN4、PCDH15、PKD2L1、PLXDC2、PRLHR、RET、RGR、SLC16A9、SLC29A3、SLC39A12、TACR2、TCTN3、T

50

SPAN15、UNC5B及びVSTM4からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0226】

[00145] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第10染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、ABCC2、ADAM8、ADRB1、ANTXR1、ATRNL1、C10orf54、CDH23、CDHR1、CNNM2、COL13A1、COL17A1、ENTPD1、FZD8、FGFR2、GPR158、GRID1、IL15RA、IL2RA、ITGA8、ITGB1、MRC1、NRG3、NPPFR1、NRP1、OPN4、PCDH15、PKD2L1、PLXDC2、PRLHR、RET、RGR、SLC16A9、SLC29A3、SLC39A12、TACR2、TCTN3、TSPAN15、UNC5B及びVSTM4からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

10

【0227】

[00146] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第11染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、AMICA1、ANO1、ANO3、APLP2、C11orf24、CCKBR、CD248、CD44、CD5、CD6、CD82、CDON、CLMP、CRTAM、DCHS1、DSCAML1、FAT3、FOLH1、GDPD4、GDPD5、GRIK4、HEPHE1、HTR3B、IFITM10、IL10RA、KIRREL3、LGR4、LRP4、LRP5、LRRC32、MCAM、MFRP、MMP26、MPEG1、MRGPRE、MRGPRF、MRGPRX2、MRGPRX3、MRGPRX4、MS4A4A、MS4A6A、MTNR1B、MUC15、NAALAD2、NAALADL1、NCAM1、NRXN2、OR10A2、OR10A5、OR10A6、OR10D3、OR10G4、OR10G7、OR10G8、OR10G9、OR10Q1、OR10S1、OR1S1、OR2AG1、OR2AG2、OR2D2、OR4A47、OR4A15、OR4A5、OR4C11、OR4C13、OR4C15、OR4C16、OR4C3、OR4C46、OR4C5、OR4D6、OR4A8P、OR4D9、OR4S2、OR4X1、OR51E1、OR51L1、OR52A1、OR52E1、OR52E2、OR52E4、OR52E6、OR52I1、OR52I2、OR52J3、OR52L1、OR52N1、OR52N2、OR52N4、OR52W1、OR56B1、OR56B4、OR5A1、OR5A2、OR5AK2、OR5AR1、OR5B17、OR5B3、OR5D14、OR5D16、OR5D18、OR5F1、OR5I1、OR5L2、OR5M11、OR5M3、OR5P2、OR5R1、OR5T2、OR5T3、OR5W2、OR6A2、OR6T1、OR6X1、OR8A1、OR8B12、OR8B2、OR8B3、OR8B4、OR8D1、OR8D2、OR8H1、OR8H2、OR8H3、OR8I2、OR8J1、OR8J2、OR8J3、OR8K1、OR8K3、OR8K5、OR8U1、OR9G1、OR9G4、OR9Q2、P2RX3、PTPRJ、ROBO3、SIGIRR、SLC22A10、SLC3A2、SLC5A12、SLCO2B1、SORL1、ST14、SYT8、TENM4、TMEM123、TMEM225、TMPRSS4、TMPRSS5、TRIM5、TRPM5、TSPAN18及びZP1からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

20

30

40

【0228】

[00147] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第11染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又

50

は p C A R における使用のための認識部分は、A M I C A 1、A N O 1、A N O 3、A P L P 2、C 1 1 o r f 2 4、C C K B R、C D 2 4 8、C D 4 4、C D 5、C D 6、C D 8 2、C D O N、C L M P、C R T A M、D C H S 1、D S C A M L 1、F A T 3、F O L H 1、G D P D 4、G D P D 5、G R I K 4、H E P H L 1、H T R 3 B、I F I T M 1 0、I L 1 0 R A、K I R R E L 3、L G R 4、L R P 4、L R P 5、L R R C 3 2、M C A M、M F R P、M M P 2 6、M P E G 1、M R G P R E、M R G P R F、M R G P R X 2、M R G P R X 3、M R G P R X 4、M S 4 A 4 A、M S 4 A 6 A、M T N R 1 B、M U C 1 5、N A A L A D 2、N A A L A D L 1、N C A M 1、N R X N 2、O R 1 0 A 2、O R 1 0 A 5、O R 1 0 A 6、O R 1 0 D 3、O R 1 0 G 4、O R 1 0 G 7、O R 1 0 G 8、O R 1 0 G 9、O R 1 0 Q 1、O R 1 0 S 1、O R 1 S 1、O R 2 A G 1、O R 2 A G 2、O R 2 D 2、O R 4 A 4 7、O R 4 A 1 5、O R 4 A 5、O R 4 C 1 1、O R 4 C 1 3、O R 4 C 1 5、O R 4 C 1 6、O R 4 C 3、O R 4 C 4 6、O R 4 C 5、O R 4 D 6、O R 4 A 8 P、O R 4 D 9、O R 4 S 2、O R 4 X 1、O R 5 1 E 1、O R 5 1 L 1、O R 5 2 A 1、O R 5 2 E 1、O R 5 2 E 2、O R 5 2 E 4、O R 5 2 E 6、O R 5 2 I 1、O R 5 2 I 2、O R 5 2 J 3、O R 5 2 L 1、O R 5 2 N 1、O R 5 2 N 2、O R 5 2 N 4、O R 5 2 W 1、O R 5 6 B 1、O R 5 6 B 4、O R 5 A 1、O R 5 A 2、O R 5 A K 2、O R 5 A R 1、O R 5 B 1 7、O R 5 B 3、O R 5 D 1 4、O R 5 D 1 6、O R 5 D 1 8、O R 5 F 1、O R 5 I 1、O R 5 L 2、O R 5 M 1 1、O R 5 M 3、O R 5 P 2、O R 5 R 1、O R 5 T 2、O R 5 T 3、O R 5 W 2、O R 6 A 2、O R 6 T 1、O R 6 X 1、O R 8 A 1、O R 8 B 1 2、O R 8 B 2、O R 8 B 3、O R 8 B 4、O R 8 D 1、O R 8 D 2、O R 8 H 1、O R 8 H 2、O R 8 H 3、O R 8 I 2、O R 8 J 1、O R 8 J 2、O R 8 J 3、O R 8 K 1、O R 8 K 3、O R 8 K 5、O R 8 U 1、O R 9 G 1、O R 9 G 4、O R 9 Q 2、P 2 R X 3、P T P R J、R O B O 3、S I G I R R、S L C 2 2 A 1 0、S L C 3 A 2、S L C 5 A 1 2、S L C O 2 B 1、S O R L 1、S T 1 4、S Y T 8、T E N M 4、T M E M 1 2 3、T M E M 2 2 5、T M P R S S 4、T M P R S S 5、T R I M 5、T R P M 5、T S P A N 1 8 及び Z P 1 からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0229】

[00148] いくつかの実施形態では、a C A R における使用のための認識部分は、第 1 2 染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、a C A R における使用のための認識部分は、A N O 4、A V P R 1 A、B C L 2 L 1 4、C A C N A 2 D 4、C D 1 6 3、C D 1 6 3 L 1、C D 2 7、C D 4、C L E C 1 2 A、C L E C 1 B、C L E C 2 A、C L E C 4 C、C L E C 7 A、C L E C L 1、C L S T N 3、G P R 1 3 3、G P R C 5 D、I T G A 7、I T G B 7、K L R B 1、K L R C 2、K L R C 3、K L R C 4、K L R F 1、K L R F 2、L R P 1、L R P 6、M A N S C 1、M A N S C 4、O L R 1、O R 1 0 A D 1、O R 1 0 P 1、O R 2 A P 1、O R 6 C 1、O R 6 C 2、O R 6 C 3、O R 6 C 4、O R 6 C 6、O R 6 C 7 4、O R 6 C 7 6、O R 8 S 1、O R 9 K 2、O R A I 1、P 2 R X 4、P 2 R X 7、P R R 4、P T P R B、P T P R Q、P T P R R、S C N N 1 A、S E L P L G、S L C 2 A 1 4、S L C 3 8 A 4、S L C 5 A 8、S L C 6 A 1 5、S L C 8 B 1、S L C O 1 A 2、S L C O 1 B 1、S L C O 1 B 7、S L C O 1 C 1、S S P N、S T A B 2、T A S 2 R 1 0、T A S 2 R 1 3、T A S 2 R 1 4、T A S 2 R 2 0、T A S 2 R 3 0、T A S 2 R 3 1、T A S 2 R 4 2、T A S 2 R 4 3、T A S 2 R 4 6、T A S 2 R 7、T M E M 1 1 9、T M E M 1 3 2 B、T M E M 1 3 2 C、T M E M 1 3 2 D、T M P R S S 1 2、T N F R S F 1 A、T S P A N 8 及び V S I G 1 0 からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0230】

[00149] いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R における使用のための認識

部分は、第12染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、ANO4、AVPR1A、BCL2L14、CACNA2D4、CD163、CD163L1、CD27、CD4、CLEC12A、CLEC1B、CLEC2A、CLEC4C、CLEC7A、CLECL1、CLSTN3、GPR133、GPRC5D、ITGA7、ITGB7、KLRB1、KLRC2、KLRC3、KLRC4、KLRF1、KLRF2、LRP1、LRP6、MANSC1、MANSC4、OLR1、OR10AD1、OR10P1、OR2AP1、OR6C1、OR6C2、OR6C3、OR6C4、OR6C6、OR6C74、OR6C76、OR8S1、OR9K2、ORAI1、P2RX4、P2RX7、PRR4、PTPRB、PTPRQ、PTPRR、SCNN1A、SELPLG、SLC2A14、SLC38A4、SLC5A8、SLC6A15、SLC8B1、SLCO1A2、SLCO1B1、SLCO1B7、SLCO1C1、SSPN、STAB2、TAS2R10、TAS2R13、TAS2R14、TAS2R20、TAS2R30、TAS2R31、TAS2R42、TAS2R43、TAS2R46、TAS2R7、TMEM119、TMEM132B、TMEM132C、TMEM132D、TMPRSS12、TNFRSF1A、TSPAN8及びVSI G10からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0231】

[00150] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第13染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、ATP4B、ATP7B、FLT3、FREM2、HTR2A、KL、PCDH8、RXFP2、SGCG、SHISA2、SLC15A1、SLITRK6及びTNFRSF19からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0232】

[00151] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第13染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、ATP4B、ATP7B、FLT3、FREM2、HTR2A、KL、PCDH8、RXFP2、SGCG、SHISA2、SLC15A1、SLITRK6及びTNFRSF19からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0233】

[00152] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第14染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、ADAM21、BDKRB2、C14orf37、CLEC14A、DLK1、FLRT2、GPR135、GPR137C、JAG2、LTB4R2、MMP14、OR11G2、OR11H12、OR11H6、OR4K1、OR4K15、OR4K5、OR4L1、OR4N2、OR4N5、SLC24A4及びSYNDIG1Lからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0234】

[00153] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第14染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、ADAM21、BDKRB2、C14orf37、CLEC14A、DLK1、FLRT2、GPR135、GPR137C、JAG2、LTB4R2、MMP14、OR11G2、OR11H12、OR11H6、OR4K1、OR4K15、OR4K5、OR4L1、OR4N2、OR4N5、SLC24A4及びSYNDIG1Lからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

G 2、L T B 4 R 2、M M P 1 4、O R 1 1 G 2、O R 1 1 H 1 2、O R 1 1 H 6、O R 4 K 1、O R 4 K 1 5、O R 4 K 5、O R 4 L 1、O R 4 N 2、O R 4 N 5、S L C 2 4 A 4 及び S Y N D I G 1 L からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0235】

[00154] いくつかの実施形態では、a C A Rにおける使用のための認識部分は、第15染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、a C A Rにおける使用のための認識部分は、A N P E P、C D 2 7 6、C H R N A 7、C H R N B 4、C S P G 4、D U O X 1、D U O X 2、F A M 1 7 4 B、G L D N、I G D C C 4、I T G A 1 1、L C T L、L T K、L Y S M D 4、M E G F 1 1、N O X 5、N R G 4、O C A 2、O R 4 F 4、O R 4 M 2、O R 4 N 4、P R T G、R H C G、S C A M P 5、S E M A 4 B、S E M A 6 D、S L C 2 4 A 1、S L C 2 4 A 5、S L C 2 8 A 1、S P G 1 1、S T R A 6、T R P M 1 及び T Y R O 3 からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

10

【0236】

[00155] いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rにおける使用のための認識部分は、第15染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rにおける使用のための認識部分は、A N P E P、C D 2 7 6、C H R N A 7、C H R N B 4、C S P G 4、D U O X 1、D U O X 2、F A M 1 7 4 B、G L D N、I G D C C 4、I T G A 1 1、L C T L、L T K、L Y S M D 4、M E G F 1 1、N O X 5、N R G 4、O C A 2、O R 4 F 4、O R 4 M 2、O R 4 N 4、P R T G、R H C G、S C A M P 5、S E M A 4 B、S E M A 6 D、S L C 2 4 A 1、S L C 2 4 A 5、S L C 2 8 A 1、S P G 1 1、S T R A 6、T R P M 1 及び T Y R O 3 からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

20

【0237】

[00156] いくつかの実施形態では、a C A Rにおける使用のための認識部分は、第16染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、a C A Rにおける使用のための認識部分は、A T P 2 C 2、C A C N A 1 H、C D 1 9、C D H 1 1、C D H 1 5、C D H 1 6、C D H 3、C D H 5、C N G B 1、C N T N A P 4、G D P D 3、G P R 5 6、G P R 9 7、I F T 1 4 0、I L 4 R、I T F G 3、I T G A L、I T G A M、I T G A X、K C N G 4、M M P 1 5、M S L N L、N O M O 1、N O M O 3、O R 2 C 1、P I E Z O 1、P K D 1、P K D 1 L 2、Q P R T、S C N N 1 B、S E Z 6 L 2、S L C 2 2 A 3 1、S L C 5 A 1 1、S L C 7 A 6、S P N、T M C 5、T M C 7、T M E M 2 0 4、T M E M 2 1 9 及び T M E M 8 A からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

30

【0238】

[00157] いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rにおける使用のための認識部分は、第16染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rにおける使用のための認識部分は、A T P 2 C 2、C A C N A 1 H、C D 1 9、C D H 1 1、C D H 1 5、C D H 1 6、C D H 3、C D H 5、C N G B 1、C N T N A P 4、G D P D 3、G P R 5 6、G P R 9 7、I F T 1 4 0、I L 4 R、I T F G 3、I T G A L、I T G A M、I T G A X、K C N G 4、M M P 1 5、M S L N L、N O M O 1、N O M O 3、O R 2 C 1、P I E Z O 1、P K D 1、P K D 1 L 2、Q P R T、S C N N 1 B、S E Z 6 L 2、S L C 2 2 A 3 1、S L C 5 A 1 1、S L C 7 A 6、S P N、T M C 5、T M C 7、T M E M 2 0 4、T M E M 2 1 9 及び T M E M 8 A からなる群から選

40

50

択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0239】

[00158] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第17染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、ABCC3、ACE、AOC3、ARL17B、ASGR2、C17orf80、CD300A、CD300C、CD300E、CD300LF、CD300LG、CHRN1、CLEC10A、CNTNAP1、CPD、CXCL16、ERBB2、FAM171A2、GCGR、GLP2R、GP1BA、GPR142、GUCY2D、ITGA2B、ITGA3、ITGAE、ITGB3、KCNJ12、LRRC37A2、LRRC37A3、LRRC37A、LRRC37B、MRC2、NGFR、OR1A2、OR1D2、OR1G1、OR3A1、OR3A2、OR4D1、OR4D2、RNF43、SCARF1、SCN4A、SDK2、SECTM1、SEZ6、SHPK、SLC26A11、SLC5A10、SPACA3、TMEM102、TMEM132E、TNFSF12、TRPV3、TTYH2及びTUSC5からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

10

【0240】

[00159] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第17染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、ABCC3、ACE、AOC3、ARL17B、ASGR2、C17orf80、CD300A、CD300C、CD300E、CD300LF、CD300LG、CHRN1、CLEC10A、CNTNAP1、CPD、CXCL16、ERBB2、FAM171A2、GCGR、GLP2R、GP1BA、GPR142、GUCY2D、ITGA2B、ITGA3、ITGAE、ITGB3、KCNJ12、LRRC37A2、LRRC37A3、LRRC37A、LRRC37B、MRC2、NGFR、OR1A2、OR1D2、OR1G1、OR3A1、OR3A2、OR4D1、OR4D2、RNF43、SCARF1、SCN4A、SDK2、SECTM1、SEZ6、SHPK、SLC26A11、SLC5A10、SPACA3、TMEM102、TMEM132E、TNFSF12、TRPV3、TTYH2及びTUSC5からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

20

30

【0241】

[00160] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第18染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、APCDD1、CDH19、CDH20、CDH7、COLEC12、DCC、DSC1、DSG1、DSG3、DYNAP、MEP1B、PTPRM、SIGLEC15及びTNFRSF11Aからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

40

【0242】

[00161] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第18染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、APCDD1、CDH19、CDH20、CDH7、COLEC12、DCC、DSC1、DSG1、DSG3、DYNAP、MEP1B、PTPRM、SIGLEC15及びTNFRSF11Aからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異

50

性を提供する。

【0243】

[00162] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第19染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、ABCA7、ACPT、BCAM、C19orf38、C19orf59、C5AR1、CATSPERD、CATSPERG、CD22、CD320、CD33、CD97、CEACAM19、CEACAM1、CEACAM21、CEACAM3、CEACAM4、CLEC4M、DLL3、EMR1、EMR2、EMR3、ERVV-1、ERVV-2、FAM187B、FCAR、FFAR3、FPR1、FXVD5、GFY、GP6、GPR42、GRIN3B、ICAM3、IGFLR1、IL12RB1、IL27RA、KIR2DL1、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3、KIRREL2、KISS1R、LAIR1、LDLR、LILRA1、LILRA2、LILRA4、LILRA6、LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5、LINGO3、LPHN1、LRP3、MADCAM1、MAG、MEGF8、MUC16、NCR1、NOTCH3、NPHS1、OR10H1、OR10H2、OR10H3、OR10H4、OR1I1、OR2Z1、OR7A10、OR7C1、OR7D4、OR7E24、OR7G1、OR7G2、OR7G3、PLVAP、PTGIR、PTPRH、PTPRS、PVR、SCN1B、SHISA7、SIGLEC10、SIGLEC11、SIGLEC12、SIGLEC5、SIGLEC6、SIGLEC8、SIGLEC9、SLC44A2、SLC5A5、SLC7A9、SPINT2、TARM1、TGFB3L、TMC4、TMEM91、TMEM161A、TMPRSS9、TNFSF14、TNFSF9、TRPM4、VN1R2、VSI10L、VSTM2B及びZNF4からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

10

20

【0244】

[00163] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第19染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、ABCA7、ACPT、BCAM、C19orf38、C19orf59、C5AR1、CATSPERD、CATSPERG、CD22、CD320、CD33、CD97、CEACAM19、CEACAM1、CEACAM21、CEACAM3、CEACAM4、CLEC4M、DLL3、EMR1、EMR2、EMR3、ERVV-1、ERVV-2、FAM187B、FCAR、FFAR3、FPR1、FXVD5、GFY、GP6、GPR42、GRIN3B、ICAM3、IGFLR1、IL12RB1、IL27RA、KIR2DL1、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3、KIRREL2、KISS1R、LAIR1、LDLR、LILRA1、LILRA2、LILRA4、LILRA6、LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5、LINGO3、LPHN1、LRP3、MADCAM1、MAG、MEGF8、MUC16、NCR1、NOTCH3、NPHS1、OR10H1、OR10H2、OR10H3、OR10H4、OR1I1、OR2Z1、OR7A10、OR7C1、OR7D4、OR7E24、OR7G1、OR7G2、OR7G3、PLVAP、PTGIR、PTPRH、PTPRS、PVR、SCN1B、SHISA7、SIGLEC10、SIGLEC11、SIGLEC12、SIGLEC5、SIGLEC6、SIGLEC8、SIGLEC9、SLC44A2、SLC5A5、SLC7A9、SPINT2、TARM1、TGFB3L、TMC4、TMEM91、TMEM161A、TMPRSS9、TNFSF14、TNFSF9、TRPM4、VN1R2、VSI10L、VSTM2B及びZNF4からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの

30

40

50

細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0245】

[00164] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第20染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、ABHD12、ADAM33、ADRA1D、APMAP、ATRNL、CD40、CD93、CDH22、CDH26、CDH4、FLRT3、GCNT7、GGT7、JAG1、LRRN4、NPBWR2、OCSTAMP、PTPRA、PTPRT、SEL1L2、SIGLEC1、SIRPA、SIRPB1、SIRPG、SLC24A3、SLC2A10、SLC4A11、SSTR4及びTHBDからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0246】

[00165] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第20染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、ABHD12、ADAM33、ADRA1D、APMAP、ATRNL、CD40、CD93、CDH22、CDH26、CDH4、FLRT3、GCNT7、GGT7、JAG1、LRRN4、NPBWR2、OCSTAMP、PTPRA、PTPRT、SEL1L2、SIGLEC1、SIRPA、SIRPB1、SIRPG、SLC24A3、SLC2A10、SLC4A11、SSTR4及びTHBDからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0247】

[00166] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第21染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、CLDN8、DSCAM、ICOSLG、IFNAR1、IFNGR2、IGSF5、ITGB2、KCNJ15、NCAM2、SLC19A1、TMPRSS15、TMPRSS2、TMPRSS3、TRPM2及びUMODL1からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0248】

[00167] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第21染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、CLDN8、DSCAM、ICOSLG、IFNAR1、IFNGR2、IGSF5、ITGB2、KCNJ15、NCAM2、SLC19A1、TMPRSS15、TMPRSS2、TMPRSS3、TRPM2及びUMODL1からなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0249】

[00168] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、第22染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、CACNA1I、CELSR1、COMT、CSF2RB、GGT1、GGT5、IL2RB、KREMEN1、MCHR1、OR11H1、P2RX6、PKDREJ、PLXNB2、SCARF2、SEZ6L、SSTR3、SUSD2、TMPRSS6及びTNFRSF13Cからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

## 【0250】

[00169] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、第22染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、CACNA1I、CELSR1、COMT、CSF2RB、GGT1、GGT5、IL2RB、KREMEN1、MCHR1、OR11H1、P2RX6、PKDREJ、PLXNB2、SCARF2、SEZ6L、SSTR3、SUSD2、TMPRSS6及びTNFRSF13Cからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

10

## 【0251】

[00170] いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、X染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、aCARにおける使用のための認識部分は、ATP6AP2、ATP7A、CNGA2、EDA2R、FMR1NB、GLRA4、GPR112、GUCY2F、HEPH、P2RY10、P2RY4、PLXNA3、PLXNB3、TLR8、VSI4及びXGからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

20

## 【0252】

[00171] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、X染色体から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARにおける使用のための認識部分は、ATP6AP2、ATP7A、CNGA2、EDA2R、FMR1NB、GLRA4、GPR112、GUCY2F、HEPH、P2RY10、P2RY4、PLXNA3、PLXNB3、TLR8、VSI4及びXGからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

30

## 【0253】

[00172] これらの抗体の可変領域をコードする配列は、関連するハイブリドーマから簡単にクローニングすることができ、例えば特定のHLAクラスI対立遺伝子エピトープバリエーションのscFvを含む、任意の所望の標的のscFvをコードする遺伝子の構築に使用することができ、例えばMolecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition) Green and Sambrook, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Antibodies: A Laboratory Manual (Second Edition), Edited by Edward A. Greenfield, 2012 CSH laboratory press; Using Antibodies, A laboratory manual by Ed Harlow and David Lane, 1999 CSH laboratory pressに開示の広く利用可能なツールを使用して、CAR構築物に組み込むのに好適であろう。

40

## 【0254】

[00173] 本発明は、LOHに起因して腫瘍細胞で喪失され、細胞表面生成物をコードする多型バリエーションのDNA配列を含むデータベースを提供し、DNA配列の多様性が、コードされるタンパク質の細胞外ドメインのアミノ酸配列の多様性を生じる。この情報は、とりわけ、多様な腫瘍型における遺伝子の相対コピー数を推定するために使用することができるデータを提供する、国立保健研究所のTCGAデータポータル(<https://gdc.cancer.gov/>)で入手可能なTCGAなどの一般公開されているいくつかのデータベース及び<http://www.cbioportal.org>のTCGAデータのためのcbioポータル(Cerami et al., 2012、Gao et al., 2013)、とりわけ、様々な集団におけるSNPバリエーションの対立遺伝子頻度を提供するExome Aggregation Consortium (ExAC) データベース ([exac.broadinstitute.org](http://exac.broadinstitute.org)、Lek et al., 2016)、遺伝子の組織発現データを含むGenotype-Tissue Expression (GTEx) データベース v6 p (d

50

b G a P 受託番号 p h s 0 0 0 4 2 4 . v 6 . p 1 ) ( <https://gtexportal.org/home>、 Consortium GT.Human genomics, 2015 ) 及び Human Protein Atlas ( U h l e n e t a l . , 2015 ) などのタンパク質の構造情報を提供するデータベース、細胞表面タンパク質アトラス ( B a u s c h - F l u c k e t a l . , 2015 )、 N - グリコシル化細胞表面タンパク質の質量分析に基づくデータベース及び UniProt データベース ( [www.uniprot.org/downloads](http://www.uniprot.org/downloads) ) から取得された。

【 0 2 5 5 】

[00174] 本発明は、 L O H を受ける発現する細胞表面タンパク質をコードする遺伝子の、ゲノム全体の同定のための方法をさらに提供する。同定された遺伝子は、次の基準：  
 1 ) 遺伝子は、膜貫通タンパク質をコードする - したがって細胞表面上に発現した、 i C A R 又は p C A R に結合することを可能にする部分を有する、 2 ) 遺伝子は、少なくとも 2 つの ( チェックした少なくとも 1 つの民族集団における ) 発現対立遺伝子を有する、 3 ) その遺伝子に見られる対立遺伝子多様性は、タンパク質の細胞外領域の参照配列と比較して、アミノ酸の変化を引き起こす、 4 ) 遺伝子は、癌で L O H を受ける染色体領域に位置する、 5 ) 遺伝子は、対応する領域が L O H を受けることが見出された腫瘍型の原発組織で発現することを満たさなければならない。

【 0 2 5 6 】

[00175] 原則的に、 i C A R 又は p C A R 結合の標的をコードするのに好適な上記の遺伝子は、データベースマイニングだけでなく、当技術分野で既知の任意の方法によって同定することができる。例えば、 L O H の概念は新しいものではなく、特定の腫瘍の特定の遺伝子、染色体又はゲノム / 染色体領域に関する L O H 情報はすでに文献に公開されており、したがって、候補遺伝子は、利用可能な刊行物から導出することができる。代わりに、かかる情報は、マイクロサテライトプローブなどの染色体マーカーとの全ゲノムハイブリダイゼーション ( Medintz e t a l . , 2000, Genome Res. 2000 Aug; 10(8): 1211-1218 ) 又は任意の他の好適な方法 ( Ramos and Amorim, 2015, J. Bras. Patol. Med. Lab. 51(3): 198-196 ) によって見出すことができる。

【 0 2 5 7 】

[00176] 同様に、対立遺伝子バリエーションに関する情報は、様々なデータベースで一般的に利用可能であり、疑わしい領域のゲノムシーケンシングにより、個別化された症例についても簡単に得ることができる。また、タンパク質構造及び発現パターンに関する情報は、一般的に利用可能であり、上記のように簡単にアクセス可能である。

【 0 2 5 8 】

[00177] したがって、多くの遺伝子及び S N P の様々な基準に関する情報は一般的に利用可能であり、それを取得する技法は一般に既知であるため、本明細書の主要な新規性は、 i C A R 又は p C A R 認識の標的を選択するための基準として L O H を使用すること及び特定の患者で喪失した特定の対立遺伝子に基づいて処置を個別化するという概念である。

【 0 2 5 9 】

[00178] 非限定的な例として、本発明によれば、異なる頻度の非古典的 H L A - I 及び H L A - I I 遺伝子 ( 例えば、 H L A - A、 H L A - B、 H L A - C、 H L A - E、 H L A - F、 H L A - G、 H L A - D M、 H L A - D O、 H L A - D P、 H L A - D Q、 H L A - D R、 H L A - K 及び又は H L A - L ) を含む H L A 遺伝子 L O H は、多くの腫瘍型において比較的頻繁な事象であり ( 図 1 0 A ~ C を参照されたい )、本発明の目的では、これらの遺伝子は、 i C A R / p C A R 認識用の標的として使用するのに良好な候補となるであろうことが見出された。

【 0 2 6 0 】

[00179] p C A R 又は i C A R 標的が存在しない場合、任意の健康な必須組織の正常細胞上で a C A R 標的を認識することは有害であり、厳密に禁止されている。この点で、本明細書で提案されているように、 p C A R - a C A R 又は i C A R - a C A R ペアの概念は、 i ) 選択された遺伝子を発現しない細胞 ( a C A R 及び p C A R 又は i C A R が同

じ遺伝子の異なる生成物を標的とする場合)、aCAR標的抗原が存在しないことに起因して標的とされないであろう、ii)この同じ遺伝子を発現する正常細胞は、両方の対立遺伝子を共発現し、pCAR又はiCARの優位性のために標的とされないであろう、iii)pCAR又はiCARが多型ハウスキーピング遺伝子生成物を標的とする場合、体内の全ての細胞が保護されるであろう、iv)aCAR標的を発現するがpCAR又はiCAR標的を発現しない腫瘍細胞のみが攻撃されるであろうような、フェイルセーフ活性化スイッチを構成する。いくつかの実施形態では、pCAR又はiCAR標的が存在しない場合、任意の健康な必須組織の正常細胞上でaCAR標的を認識することは有害であろう。いくつかの実施形態では、(aCAR及びpCAR又はiCARが同じ遺伝子の異なる生成物を標的とする場合)選択された遺伝子を発現しない細胞は、aCAR標的抗原が存在しないことに起因して標的とされないであろう。いくつかの実施形態では、この同じ遺伝子を発現する正常細胞は、両方の対立遺伝子を共発現し、pCAR又はiCARの優位性のために標的とされないであろう。いくつかの実施形態では、pCAR又はiCARが多型ハウスキーピング遺伝子生成物を標的とするとき、体内の全ての細胞が保護されるであろう。いくつかの実施形態では、aCAR標的を発現するが、pCAR又はiCAR標的を発現しない腫瘍細胞のみが攻撃されるであろう。いくつかの実施形態では、aCAR/iCARペアの両方の標的を発現する細胞又はaCAR/pCARペアの両方の標的が保護されるであろう。

10

## 【0261】

[00180] 上で強調されているように、本発明によれば、活性化シグナルを上回る、阻害性シグナルの永続的な優位性がなければならない。したがって、iCARパートナーが存在しない場合には常に、所与のキラー細胞でaCAR遺伝子が発現しないことを確認する必要がある。これは、一本鎖生成物としてこれらのiCAR-aCAR遺伝子ペアの縦一列のアセンブリを通して又は例えば内部リボソーム進入部位若しくはいくつかのウイルス自己開裂型2Aペプチドの1つに基づく好適なバイシストロニックなモダリティを介して実施することができる。バイシストロニックな発現について報告されている膨大なデータによって示唆されているように、iCAR遺伝子は、常にaCARパートナーの上流に位置して、好ましい化学量論性を保証するであろう。別の選択肢は、各構築物がaCAR又はiCAR/pCARのいずれかをコードする2つの独立した構築物で、キラー細胞をトランスフェクト又は形質導入することにより、aCAR及びiCAR又はpCARの両方を発現するようにキラー細胞を操作することであろう。当然のことながら、pCAR-aCAR遺伝子ペアを使用するときには、これは問題ではない。いくつかの実施形態では、阻害性シグナルは、活性化シグナルを上回って優位である。いくつかの実施形態では、aCAR及びiCAR又はpCARは、同じ細胞で同時に発現する。

20

30

## 【0262】

[00181] iCARの優位性を確実にするための別の魅力的な選択肢は、aCAR認識部分をその活性化/共刺激部分から切り離すことであり、これにより、ヘテロ二量体化小分子の存在下でのみ、両方の要素を1つの機能的受容体に組み立てることができる。正確なタイミング、投与量及び位置によってかかる分割受容体の作動状態を確実に制御する能力は、抗腫瘍CARに関連して最近実証された(Wu et al., 2015)。

40

## 【0263】

[00182] 加えて、予想される優位性は、選択されるaCARプラットフォームのシグナル伝達強度と「競合する」であろう、選択されるiCAR設計の細胞内部分に組み込まれたiCARシグナル伝達要素の特定の構成に固有である可能性も高い。この能力は、(上で取り扱った)それぞれの標的エピトープに対する2つの認識部分の相対的な親和性及びそれらの相互作用の全体的なアビディティによっても影響されるであろう。後者に関して、提案されている戦略は、好ましいiCAR/aCARの化学量論性及び正常細胞上のそれぞれの標的エピトープのバランスのよい分布の両方を確保する。重ねて、pCAR-aCAR遺伝子ペアを使用するとき、これは、問題ではない。

## 【0264】

50

[00183] 安全性をさらに確実にするために、自殺遺伝子の使用又は一過性の発現のための mRNA エレクトロポレーションの使用など、CAR 及び TCR 免疫療法の分野で現在実施されている他の従来的手段を採用することができる。

【0265】

[00184] 多くの場合、LOH は、細胞に所与の遺伝子の 1 つのみの対立遺伝子を残すが、残りの染色体又は染色体部分の重複を頻繁に伴い、「コピー数に変化のない」- LOH を生じる (Lo et al., 2008 ; O'Keefe et al., 2010 ; Sathirapongsasuti et al., 2011)。これらの状況下では、エピトープ喪失バリエーションの出現には、2 つの独立した事象を必要とし、したがって可能性は低い。遺伝子改変細胞の異なる部分でいくつかの pCAR - aCAR 又は iCAR - aCAR ペアが発現すると、標的の対立遺伝子の単一コピーのみが保持されている「コピー数喪失」LOH の場合でも、変異から逃れた遺伝子の出現が防止されるであろう。さらに、単一コピー遺伝子が必須になり得るため、それらの機能の喪失の可能性は、はるかに少ないであろう。

10

【0266】

[00185] 上の観点では、一態様では、本発明は、エフェクター免疫細胞の望ましくない活性化を防止又は減弱することができる阻害性キメラ抗原受容体 (iCAR) をコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子であって、iCAR が、ヘテロ接合性の喪失 (LOH) に起因して哺乳類の腫瘍細胞上に存在しないが、少なくとも関連する哺乳類の正常組織の全ての細胞上又は aCAR を発現する重要な臓器上に存在する多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する細胞外ドメインと、エフェクター免疫細胞を阻害する少なくとも 1 つのシグナル伝達要素を含む細胞内ドメインとを含む、核酸分子を提供する。

20

【0267】

[00186] いくつかの実施形態では、腫瘍抑制遺伝子又は腫瘍抑制遺伝子に遺伝子的に連結された遺伝子は、腫瘍における LOH に起因して喪失されている可能性が高いため、多型細胞表面エピトープは、かかる遺伝子によってコードされる抗原の一部である。加えて、多型細胞表面エピトープは、多くの場合、限定されないが、染色体腕 3 p、6 p、9 p、10 q、17 p、17 q 若しくは 18 q 又は染色体 19 などの癌細胞で LOH を受ける染色体又は染色体腕上に通常ある遺伝子によってコードされる抗原の一部であり得る。これらのエピトープは、本明細書に記載の関連するデータベースで容易に同定することができる。

30

【0268】

[00187] いくつかの実施形態では、多型細胞表面エピトープは、未分類の AP2S1、CD81、GPAA1、LGALS9、MGAT2、MGAT4B、VAMP3；細胞接着タンパク質 CTNNA1 NM\_001903、CTNNB1、CTNNBIP1 NM\_020248、CTNNBL1 NM\_030877、CTNND1 NM\_001085458 デルタカテニン；チャンネル及びトランスポーター ABCB10 NM\_012089、ABCB7 NM\_004299、ABCD3 NM\_002857、ABCE1 NM\_002939、ABCF1 NM\_001090、ABCF2 NM\_005692、ABCF3 NM\_018358、CALM1 [1] [7] カルシウムイオン捕捉カルモジュリン、MSFD10 (別名 TETRAN 又は テトラサイクリン トランスポーター様タンパク質 [1]) と同様の MFSD11 NM\_024311、MFSD12 NM\_174983、MFSD3 NM\_138431、MFSD5 NM\_032889、SLC15A4 NM\_145648、SLC20A1 NM\_005415、SLC25A11 [1] ミトコンドリアオキソグルタル酸 / マレイン酸担体、SLC25A26 NM\_173471、SLC25A28 NM\_031212、SLC25A3 NM\_002635、SLC25A32 NM\_030780、SLC25A38 NM\_017875、SLC25A39 NM\_016016、SLC25A44 NM\_014655、SLC25A46 NM\_138773、SLC25A5 NM\_001152、SLC27A4 NM\_005094、SLC30A1 NM\_021194、S

40

50

LC30A5 NM\_\_022902、SLC30A9 NM\_\_006345、SLC35A2 NM\_\_005660、SLC35A4 NM\_\_080670、SLC35B1 NM\_\_005827、SLC35B2 NM\_\_178148、SLC35C2 NM\_\_015945、SLC35E1 NM\_\_024881、SLC35E3 NM\_\_018656、SLC35F5 NM\_\_025181、SLC38A2 NM\_\_018976、SLC39A1 NM\_\_014437、SLC39A3 NM\_\_144564、SLC39A7 NM\_\_006979、SLC41A3 NM\_\_017836、SLC46A3 NM\_\_181785、SLC48A1 NM\_\_017842、ランデュー - オスラー - ウェーバー症候群のACVRL1 TGFベータ受容体ファミリーと同様の受容体ACVR1 NM\_\_001105、ACVR1B NM\_\_004302、CD23 [1] FCER2 低親和性IgE受容体(レクチン)；並びにRNAスプライシング、BSGベシジン免疫グロブリンスーパーファミリー、細胞外メタロプロテナーゼ、MIFマクロファージ遊走阻害因子及び/又はTAPBP [ウィキペディア]に關与するHLA/免疫グロブリン/細胞認識群BAT1(別名DDX39B)、などのハウスキーピング遺伝子生成物のものである。いくつかの実施形態では、ハウスキーピング遺伝子は、HLA I型、Gタンパク質共役受容体(GPCR)、イオンチャネル又は受容体チロシナーゼ、好ましくはHLA-A、HLA-B、HLA-Cである。いくつかの実施形態では、ハウスキーピング遺伝子は、HLA-Aである。いくつかの実施形態では、ハウスキーピング遺伝子は、HLA-Bである。いくつかの実施形態では、ハウスキーピング遺伝子は、HLA-Cである。

10

20

## 【0269】

[00188] 任意の關連する技術を使用して、aCAR及びpCAR又はiCARにそれらの標的への特異的結合を与える認識部分を操作することができる。いくつかの実施形態では、細胞外ドメインは、(i)ヒト化抗体；ヒト抗体；抗体の機能的断片；ナノボディなどの単ドメイン抗体；組換え抗体；一本鎖可変断片(ScFv)などの抗体、その誘導体若しくは断片、(ii)アフィボディ分子；アフィリン；アフィマー；アフィチン；アルファボディ；アンチカリン；アビマー；DARPin；ファイノマー；Kunitzドメインペプチド；及びモノボディなどの抗体模倣物；又は(iii)アプタマーを含む。好ましくは、細胞外ドメインは、ScFvを含む。

## 【0270】

[00189] いくつかの実施形態では、抗原の非多型細胞表面エピトープ又は多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する、細胞外ドメインを含む、aCAR。いくつかの実施形態では、aCAR細胞外ドメインは、腫瘍關連抗原エピトープであるエピトープに結合する。いくつかの実施形態では、aCAR細胞外ドメインは、腫瘍關連抗原であるエピトープに結合し、少なくとも關連する腫瘍と正常組織の細胞とによって共有され、細胞内ドメインは、エフェクター免疫細胞を活性化及び/又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素を含む。いくつかの実施形態では、癌を処置するために使用されるaCARは、標的aCARタンパク質が発現する全ての正常組織上でiCAR標的が發現する限り、腫瘍組織上に發現する任意の膜タンパク質に向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、aCARは、限定されないが、次のリストの抗原：CD19、CD20、CD22、CD10、CD7、CD49f、CD56、CD74、CAIX Ig、ROR1、ROR2、CD30、ルイスY、CD33、CD34、CD38、CD123、CD28、CD44v6、CD44、CD41、CD133、CD138、NKG2D-L、CD139、BCMA、GD2、GD3、hTERT、FBP、EGP-2、EGP-40、FR-、L1-CAM、Erbb2、3、4、EGFRvIII、VEGFR-2、IL-13R 2、FAP、メソテリン、c-MET、PSMA、CEA、KRAS、MAGE-A1、MUC1MUC16、PDL1、PSCA、EpCAM、FSHR、AFP、AXL、CD80、CD89、CDH17、CLD18、GPC3、TEM8、TGFB1、NY-ESO-1 WT-1及びEGFRから選ばれる非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する。いくつ

30

40

50

かの実施形態では、aCARは、CD19に結合する。いくつかの実施形態では、aCARは、CD19の非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する。

【0271】

[00190] いくつかの実施形態では、aCARは、以下の抗原リストから選択されるがこれに限定されない、非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する：5T4、AFP、AXL、B7H6、CD133、CD19、CD20、CD22、CD30、CD44v6、CD5、CD7、CD70、CD80、CD89、CDH17、CEA、CLD18、CLEC14a、CLL-1、cMet、CS1、EGFR、EGFRvIII、EpCAM、NY-ESO-1、FAP、FHSR、GP100、GPC3、HER2、IL-13R<sub>α1</sub>、IL-13R<sub>α2</sub>、K-Ras、メソテリン、MUC1、MUC-CD、NKG2Dリガンド、NKG2D<sub>1</sub>リガンド、PDL1、PSCA、PSMA、ROR1、ROR-2、サバイピン、TEM8、TGF、VEGFR2及びALK。

10

【0272】

[00191] いくつかの実施形態では、iCARは、エフリン受容体（例えば、EPHA7）及びクローデインを含まない抗原の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、iCARは、HLA遺伝子（HLA-A遺伝子、HLA-B遺伝子又はHLA-C遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションによってコードされるエピトープに向けられるか又は特異的に結合する。

【0273】

i i i . 細胞内ドメイン：aCAR、iCAR及びpCAR

[00192] 本発明は、aCAR、iCAR及び/又はpCARの一部として細胞内ドメインも提供する。いくつかの実施形態では、細胞内ドメインは、少なくとも1つのシグナル伝達要素を含む。いくつかの実施形態では、細胞内ドメインは、エフェクター免疫細胞を阻害する少なくとも1つのシグナル伝達要素を含む。

20

【0274】

[00193] 一般に、任意の関連技術を使用して、aCAR及びpCAR又はiCARに、例えばエフェクター免疫細胞を阻害する能力又はエフェクター免疫細胞を活性化若しくは共刺激する能力を含む細胞機能を誘導する能力を与えるシグナル伝達要素を操作することができる。

30

【0275】

[00194] いくつかの実施形態では、少なくとも1つのシグナル伝達要素は、エフェクター免疫細胞を阻害可能である。いくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を阻害可能な少なくとも1つのシグナル伝達要素は、免疫チェックポイントタンパク質のシグナル伝達要素と相同である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイントタンパク質は、PD1、CTLA4、BTLA、2B4、CD160、CEACAM（例えば、CEACAM1を含む）、KIR（例えば、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR2DL5A、KIR2DL5B、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3、LIR1、LIR2、LIR3、LIR5、LIR8及びCD94を含む）、NKG2A；LAG3；TIM3；T細胞活性化のVドメインIg抑制因子（VISTA）；インターフェロン遺伝子の刺激因子（STING）；免疫受容阻害チロシンモチーフ（ITIM）含有タンパク質、T細胞免疫グロブリン及びITIMドメイン（TIGIT）並びにアデノシン受容体（例えば、A2aR）からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイントタンパク質は、負の免疫調節因子である。いくつかの実施形態では、負の免疫調節因子は、2B4、LAG-3及びBTLA-4からなる群から選択される。

40

【0276】

[00195] いくつかの実施形態では、シグナル伝達要素は、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激可能である。いくつかの実施形態では、シグナル伝達要素は、活性化ドメインである。いくつかの実施形態では、シグナル伝達要素は、共刺激ドメインである。い

50

くつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激するシグナル伝達要素は、免疫受容体チロシン活性化モチーフ (ITAM)、活性化キラー細胞免疫グロブリン様受容体又はアダプター分子及び/又は共刺激シグナル伝達要素と相同である。いくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激するシグナル伝達要素は、免疫受容体チロシン活性化モチーフ (ITAM) と相同である。いくつかの実施形態では、ITAMは、限定されないが、CD3 又はFcR 鎖を含むがタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激するシグナル伝達要素は、活性化キラー細胞免疫グロブリン様受容体 (KIR) と相同である。いくつかの実施形態では、KIRには、例えば、限定されないが、KIR2DS及びKIR3DSが含まれる。いくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激するシグナル伝達要素は、アダプター分子と相同である。いくつかの実施形態では、アダプター分子には、例えば、限定されないが、DAP12が含まれる。いくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激するシグナル伝達要素は、共刺激シグナル伝達要素と相同である。いくつかの実施形態では、共刺激シグナル伝達要素は、限定されないが、CD27、CD28、ICOS、CD137(4-1BB)、CD134(OX40)及び/又はGITRを含むタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、aCARは、シグナル伝達要素を含む。

10

## 【0277】

[00196] いくつかの実施形態では、細胞外ドメインは、柔軟なヒンジ及び膜貫通型の標準的なモチーフを通して、前記細胞内ドメインに融合されている。

20

## 【0278】

[00197] いくつかの実施形態では、pCARの使用により、認識ユニット及び共刺激要素(例えば、CD28、4-1BB)から、aCARの活性化部分(FcR / CD3 - )を脱共役するための脱共役を可能にする。いくつかの実施形態では、配列番号38の4-1BB配列(1024-1149)を配列番号37のCD28シグナル伝達ドメイン(1021-1677)に置き換えることができる。いくつかの実施形態では、これらの要素は、2つの異なるポリペプチド生成物に遺伝子的に配置される。いくつかの実施形態では、これらの要素の再結合はaCAR機能に必須であり、ポリペプチドの各々に別個に組み込まれたそれぞれの結合部位を架橋することができるヘテロ二量体化薬物の添加によってのみ行われるであろう。

30

## 【0279】

[00198] iCARは、活性化ドメイン(FcRy又はCD3 - など)の代わりに、T細胞活性化に拮抗することができる阻害性受容体に由来するシグナル伝達ドメインを有する。いくつかの実施形態では、iCARは、T細胞活性化に拮抗することができる阻害性受容体に由来するシグナル伝達ドメインを有する。いくつかの実施形態では、iCARシグナル伝達ドメインは、例えば、限定されないが、CTLA-4、PD-1又はNK阻害性受容体を含む阻害性受容体に由来する。

## 【0280】

IV. CAR-Tベクター構築(aCAR; iCAR; pCAR)

[00199] いくつかの実施形態では、aCARは第1の核酸ベクターによってコードされ、iCAR又はpCARは第2の核酸ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、aCARは第1の核酸ベクターによってコードされ、iCAR又はpCARは第2の核酸ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、aCARは第1の核酸ベクターによってコードされ、iCAR又はpCARは第2の核酸ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARをコードするヌクレオチド配列は、第2のベクター上にある。

40

## 【0281】

[00200] いくつかの実施形態では、本発明は、上の実施形態のいずれか1つに定義される本発明の核酸分子と、核酸分子に作動可能に連結されたプロモーターなどの少なくとも1つの制御要素とを含む、ベクターを提供する。

50

## 【0282】

[00201] いくつかの実施形態では、ベクターは、レンチウイルス(LV)ベクターである。いくつかの実施形態では、LVベクターは、市販のLVベクターである。いくつかの実施形態では、LVベクターには、限定されないが、pLVX-Puro、pLVX-IRES-Puro/Neo/Hygro、pLVX-EF1a-IRES(TAKARA)及び/又はpCLV-EF1a(Sirion)が含まれる。いくつかの態様では、LVベクターは、pLVX-Puroである。いくつかの態様では、LVベクターは、pLVX-IRES-Puro/Neo/Hygroである。いくつかの実施形態では、LVベクターは、pLVX-EF1a-IRES(TAKARA)である。いくつかの実施形態では、LVベクターは、pCLV-EF1a(Sirion)である。

10

## 【0283】

[00202] いくつかの実施形態では、ベクターは、EF1プロモーターを含む。いくつかの実施形態では、ベクターは、CMVプロモーターを含む。いくつかの実施形態では、ベクターは、PGKプロモーターを含む。いくつかの実施形態では、ベクターは、CD8ヒンジを含む。いくつかの実施形態では、ベクターは、CD28 TM及び41BB共刺激ドメインを含む。

## 【0284】

[00203] いくつかの実施形態では、ベクターは、抗原の非多型細胞表面エピトープ又は多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する細胞外ドメインであって、前記エピトープが、腫瘍関連抗原であるか、又は少なくとも関連する腫瘍の細胞と正常組織の細胞とによって共有される、細胞外ドメインと、エフェクター免疫細胞を活性化及び/又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素を含む細胞内ドメインとを含むaCARをコードする、ヌクレオチド配列を含む核酸分子をさらに含む。

20

## 【0285】

[00204] いくつかの実施形態では、ベクターに含まれる核酸によってコードされるaCARの細胞外ドメインは、抗原の非多型細胞表面エピトープに特異的に結合し、iCARの細胞外ドメインは、前記aCARの細胞外ドメインに結合するものと異なる抗原の多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する。

## 【0286】

[00205] いくつかの実施形態では、ベクターに含まれる核酸によってコードされるiCARの細胞外ドメインは、例えば、HLA-A遺伝子、HLA-B遺伝子若しくはHLA-C遺伝子を含むHLA遺伝子の単一对立遺伝子バリエーション又は表8に列挙されている遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

30

## 【0287】

[00206] いくつかの実施形態では、ベクターに含まれる核酸によってコードされるaCARの細胞外ドメインは、CD19などの表1に列挙されている抗原から選択される非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、aCAR標的は、細胞外ドメインを有する任意の標的である。

## 【0288】

[00207] いくつかの実施形態では、ベクターに含まれる核酸によってコードされるiCARの細胞外ドメインは、例えば、HLA-A遺伝子、HLA-B遺伝子若しくはHLA-C遺伝子を含むHLA遺伝子の単一对立遺伝子バリエーション又は表8に列挙されている遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合し、ベクターに含まれる核酸によってコードされるaCARの細胞外ドメインは、CD19などの表1に列挙されている抗原から選択される非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、aCAR標的は、細胞外ドメインを有する任意の標的である。

40

## 【0289】

[00208] いくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激するaCARの少なくとも1つのシグナル伝達要素は、例えば、CD3若しくはFcR鎖の

50

免疫受容体チロシン活性化モチーフ (ITAM) ; 正に帯電したアミノ酸残基若しくは正に帯電した側鎖を含む、活性化キラー細胞免疫グロブリン様受容体 (KIR) の膜貫通ドメイン若しくは例えば KIR2DS 及び KIR3DS などの活性化 KIR 膜貫通ドメイン若しくは DAP12 などのアダプター分子 ; 又は例えば CD27、CD28、ICOS、CD137 (4-1BB) 若しくは CD134 (OX40) の共刺激シグナル伝達要素と相同である。いくつかの実施形態では、配列番号 38 の 4-1BB 配列 (1024-1149) を配列番号 37 の CD28 シグナル伝達ドメイン (1021-1677) に置き換えることができる。

【0290】

[00209] いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は第 1 のベクターによって 10  
発現され、aCAR は第 2 のベクターによって発現される。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR 及び aCAR は、両方とも同じベクターによって発現される。

【0291】

[00210] いくつかの実施形態では、ベクターのヌクレオチド配列は、aCAR をコードするヌクレオチド配列と、iCAR をコードするヌクレオチド配列との間に内部リボソーム進入部位 (IRES) を含む。一般に、aCAR をコードするヌクレオチド配列及び iCAR をコードするヌクレオチド配列は、任意の順序であり得るが、特定の態様では、aCAR をコードするヌクレオチド配列は、iCAR をコードするヌクレオチド配列の下流にある。

【0292】

[00211] いくつかの実施形態では、aCAR 及び iCAR をコードするヌクレオチド配列は、単一ベクター上でコードされる。いくつかの実施形態では、ベクターは、aCAR をコードするヌクレオチド配列と iCAR をコードするヌクレオチド配列との間に内部リボソーム進入部位 (IRES) を含む。いくつかの実施形態では、aCAR をコードするヌクレオチド配列は、iCAR をコードするヌクレオチド配列の下流にある。いくつかの実施形態では、ヌクレオチド配列は、aCAR をコードするヌクレオチド配列と iCAR をコードするヌクレオチド配列との間に位置するウイルス自己開裂型 2A ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ベクターのヌクレオチド配列は、aCAR をコードするヌクレオチド配列と iCAR をコードするヌクレオチド配列との間にウイルス自己開裂型 2A ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ウイルス自己開裂型 2A ペプチドには、限定されないが、ゾセア・アシグナ (Thosea asigna) ウイルス (TaV) 由来の T2A、口蹄疫ウイルス (FMDV) 由来の F2A、ウマ鼻炎 A ウイルス (ERAV) 由来の E2A 及び / 又はプタテッシュウウイルス - 1 (PTV1) 由来の P2A が含まれる。いくつかの実施形態では、ウイルス自己開裂型 2A ペプチドは、ゾセア・アシグナ (Thosea asigna) ウイルス (TaV) 由来の T2A である。いくつかの実施形態では、ウイルス自己開裂型 2A ペプチドは、口蹄疫ウイルス (FMDV) 由来の F2A である。いくつかの実施形態では、ウイルス自己開裂型 2A ペプチドは、ウマ鼻炎 A ウイルス (ERAV) 由来の E2A である。いくつかの実施形態では、ウイルス自己開裂型 2A ペプチドは、プタテッシュウウイルス - 1 (PTV1) 由来の P2A である。

【0293】

[00212] いくつかの実施形態では、ベクターは、柔軟なリンカーを介して前記 iCAR に連結された構成的 aCAR をコードするヌクレオチド配列を含む。

【0294】

[00213] 免疫細胞は、例えば、RNA トランスフェクション又は真核細胞若しくはウイルスベクターでの複製及び / 又は転写に適合したプラスミドへの組み込みにより、本明細書に記載の適切な核酸分子でトランスフェクトすることができる。いくつかの実施形態では、ベクターは、レトロウイルス又はレンチウイルスベクターから選択される。

【0295】

[00214] カプシドタンパク質がヒト細胞を感染させるために機能するであろう場合、レトロウイルスベクターと適切なパッケージングラインとの組み合わせも使用することが 50

できる。P A 1 2 ( Miller, et al. (1985) Mol. Cell. Biol. 5:431-437 )、P A 3 1 7 ( Miller, et al. (1986) Mol. Cell. Biol. 6:2895-2902 ) 及び C R I P ( Danos, et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:6460-6464 ) を含む、いくつかの両種指向性ウイルス生成細胞株が知られている。代わりに、V S V G、R D 1 1 4 又は G A L V エンベロープでシュードタイプ化された粒子などの非両種指向性粒子を使用し得る。細胞は、例えば、Bregni, et al. (1992) Blood 80: 1418- 1422 の方法によるプロデューサー細胞との直接共培養又は例えば Xu, et al. (1994) Exp. Hematol. 22:223-230 ; 及び Hughes, et al. (1992) J Clin. Invest. 89: 1817 の方法によるウイルス上清単独若しくは濃縮ベクター株との培養により、さらに形質導入することができる。

10

## 【 0 2 9 6 】

[00215] 別の態様では、本発明は、上に定義される本発明に従って、エフェクター免疫細胞の望ましくない活性化を防止又は減弱することができる阻害性キメラ抗原受容体 ( i C A R ) を調製する方法であって、( i ) 既知のバリエーションの少なくとも1つのデータベースからの、タンパク質をコードする遺伝子のヒトゲノムバリエーションのリストを取得することと、( i i ) ( a ) バリエーションを選択し、その対応する参照対立遺伝子と比較して、それぞれの遺伝子によってコードされるタンパク質にアミノ酸配列の多様性を生じること、( b ) アミノ酸配列の多様性が、コードされるタンパク質の細胞外ドメインにある、遺伝子のバリエーションを選択すること、( c ) 少なくとも1つの腫瘍においてヘテロ接合性の喪失 ( L O H ) を受ける遺伝子のバリエーションを選択すること、並びに ( d ) ( c ) に従って L O H を受ける少なくとも1つの腫瘍の少なくとも原発組織で発現する遺伝子のバリエーションを選択し、それにより、L O H に起因して少なくとも1つの腫瘍において喪失した遺伝子及び少なくとも1つの腫瘍の少なくとも原発組織で発現する遺伝子のそれぞれによってコードされるタンパク質の細胞外ドメインに、アミノ酸配列の多様性を有するバリエーションのリストを得ることにより、( i ) によって取得したバリエーションのリストをフィルタリングすることと、( i i i ) ( i i ) で得たリストから少なくとも1つの単一バリエーションを含む配列領域を定義し、少なくとも1つの単一バリエーションを含む配列領域及び対応する参照対立遺伝子を含む配列領域をサブクローニング及び発現し、それによりそれぞれのエピトープペプチドを得ることと、( i v ) クローニングされた配列領域によってコードされるエピトープペプチド、又は ( i i i ) で得た対応する参照対立遺伝子によってコードされるエピトープペプチドのいずれかに特異的に結合する i C A R 結合ドメインを選択することと、( v i i ) 各々が ( i v ) で定義される i C A R 結合ドメインを含む、本明細書で上に定義される i C A R を調製することを含む方法を提供する。

20

30

## 【 0 2 9 7 】

[00216] いくつかの実施形態では、選択された遺伝子の候補バリエーションは、ある特定の腫瘍型で、少なくとも2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又は100%で、L O H を受ける。

## 【 0 2 9 8 】

[00217] いくつかの実施形態では、選択された各バリエーションのマイナー対立遺伝子頻度は、少なくとも1つの集団において1、2、3、4又は5%以上である。

40

## 【 0 2 9 9 】

[00218] 別の態様では、本発明は、2つ以上の核酸分子の組み合わせであって、各1つが、前記核酸分子が単一の連続核酸分子の一部であるか若しくはそれを形成する、制御されたエフェクター免疫細胞活性化系の異なるメンバーをコードするヌクレオチド配列を含むか又は2つ以上の別個の核酸分子を含み、制御されたエフェクター免疫細胞がエフェクター免疫細胞に向けられて、ヘテロ接合性の喪失 ( L O H ) に起因して1つ以上の染色体又はそれらの断片を喪失した腫瘍細胞を殺傷し、関連正常組織の細胞を生かし、( a ) 第1のメンバーが、抗原の非多型細胞表面エピトープ又は異なる多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する第1の細胞外ドメインを含む活性化キメラ抗原受容体 ( a C A R ) ポリペプチドを含み、前記非多型又は多型細胞表面エピト

50

ープが、腫瘍関連抗原であるか、又は関連する異常な哺乳類組織の細胞と正常な哺乳類組織の細胞とによって共有され、(b)第2のメンバーが、LOHに起因して異常な哺乳類組織によって発現されないが、関連する哺乳類の正常組織の全ての細胞上に存在する多型細胞表面エプーの単一对立遺伝子バリエントに特異的に結合する第2の細胞外ドメインを含む調節ポリペプチドを含む、核酸分子の組み合わせに関する。

【0300】

[00219] いくつかの実施形態では、第1のメンバーは、(a)エフェクター免疫細胞を活性化及び/又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素を含む細胞内ドメインをさらに含む構成的aCAR、並びに(b)ヘテロ二量体化小分子の結合部位の第1のメンバーを含む細胞内ドメイン及び任意選択的に少なくとも1つの共刺激シグナル伝達要素をさらに含むが、活性化シグナル伝達要素が欠如した条件付きaCARから選択され、第2のメンバーは、(c)エフェクター免疫細胞を阻害する少なくとも1つのシグナル伝達要素を含む細胞内ドメインをさらに含む阻害性キメラ抗原受容体(iCAR)、又は(d)シェダーゼの基質を含む細胞外調節領域；膜内開裂プロテアーゼの基質を含む膜貫通型の標準的なモチーフ；並びに細胞内ドメインであって、前記細胞内ドメインが、エフェクター免疫細胞を活性化及び/又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素及びヘテロ二量体化小分子の結合部位の第2のメンバーを含む細胞内ドメインをさらに含む、保護キメラ抗原受容体(pCAR)である。

10

【0301】

[00220] いくつかの実施形態では、(i)iCAR若しくはpCARの細胞外ドメインは、aCARの細胞外ドメインに結合するものと異なる抗原である、抗原の多型細胞表面エプーの単一对立遺伝子バリエントに特異的に結合するか、(ii)前記pCAR若しくはiCARの細胞外ドメインは、前記aCARの細胞外ドメインに結合する同じ抗原の異なる多型細胞表面エプーの単一对立遺伝子バリエントに特異的に結合するか、又は(iii)前記pCAR若しくはiCARの細胞外ドメインは、前記aCARの細胞外ドメインに結合する同じ多型細胞表面エプーの異なる単一对立遺伝子バリエントに特異的に結合する。

20

【0302】

[00221] いくつかのpCARの実施形態では、シェダーゼの基質は、ディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ(ADAM)又はベータ-セクレターゼ1(BACE1)の基質である。いくつかの実施形態では、基質は、細胞外ドメインの一部を形成し、Lin12/Notchリピート及びADAMプロテアーゼ開裂部位を含む。

30

【0303】

[00222] ADAM開裂を予測する一貫した配列モチーフはないことが一般に認められているが、Caescu et al. (Caescu et al., 2009)は、多数のADAM10及び/又はADAM17基質配列を、本明細書に完全に開示されているかのように参照によって本明細書に援用される表3に開示しており、これは本発明のpCARにおけるADAMの基質として機能し得る。いくつかの実施形態では、ADAM基質配列は、アミロイド前駆体タンパク質、BTC、CD23、コラーゲン、DII-1、エボラ糖タンパク質、E-カドヘリン、EGF、エプレグリン、Fasリガンド、成長ホルモン受容体、HB-EGF、II型インターロイキン-1受容体、IL-6受容体、L-セレクチン、N-カドヘリン、Notch、p55TNF受容体、p75TNF受容体、Pmel17、プリオンタンパク質、受容体型タンパク質チロシンホスファターゼZ、TGF-、TNF又はTR (Caescu et al., 2009)のものである。

40

【0304】

[00223] ADAM10は、例えば、リンパ球上に比較的高いレベルで構成的に存在するため、本発明のpCARにおいてADAM10開裂配列を使用することは有利であり得る。ADAM10とは対照的に、近縁種のTACE/ADAM17は、非刺激細胞上で低いレベルでのみ検出される。T細胞芽細胞上でのADAM17の表面発現は、刺激によって迅速に誘導される(Ebsen et al., 2013)。

50

## 【0305】

[00224] Hemming et al. (Hemming et al., 2009) は、BACE1の開裂を予測する一貫した配列モチーフは、非基質に対して基質において同定されていないが、BAC1の開裂配列を有する多数のBACE1基質を、本明細書に完全に開示されているかのように参照によって本明細書に援用される表1に開示しており、これは本発明のpCARにおけるBACE1の基質として機能し得ることを報告している。

## 【0306】

[00225] いくつかのpCAR実施形態では、膜内開裂プロテアーゼの基質は、SP2、 $\alpha$ -セクレターゼ、シグナルペプチドペプチダーゼ (spp)、spp様プロテアーゼ又はロンボイドプロテアーゼの基質である。

## 【0307】

[00226] Rawson et al. (Rawson, 2013) は、SP2基質が、少なくとも1つの種類の2膜貫通ヘリックスを有し、SP2基質にAsp-Proモチーフなどのヘリックス不安定化モチーフを含むことを開示している。この論文は、SP2開裂配列を有する多数のSP2基質を、本明細書に完全に開示されているかのように参照によって本明細書に援用される表1に開示しており、これは本発明のpCARにおけるSP2の基質として機能し得る。

## 【0308】

[00227] Haapasalo及びKovacs (Haapasalo and Kovacs, 2011) は、アミロイド-タンパク質前駆体 (APP) が、プレセニリン (PS) 依存性 $\alpha$ -セクレターゼ (PS/ $\alpha$ -セクレターゼ) の基質であり、少なくとも90個の追加のタンパク質が、この酵素複合体によって同様のタンパク質分解を受けることが見出されたことを教示している。 $\alpha$ -セクレターゼ基質は、ほとんどの基質タンパク質は、I型膜貫通タンパク質である、(AICDを放出するAPPの $\alpha$ 開裂に対応する) PS/ $\alpha$ -セクレターゼが媒介する $\alpha$ 様開裂は、膜貫通ドメインと細胞質ドメインとの境界又はその付近で発生するといういくつかの共通の特色を有する。 $\alpha$ 様開裂部位は、リジン及び/又はアルギニン残基に富む一連の疎水性アミノ酸配列に隣接している。PS/ $\alpha$ -セクレターゼ開裂は、開裂部位又は隣接する特定のアミノ酸標的配列ではなく、おそらく膜貫通ドメインの立体構造状態に依存するように思われる。Haapasalo及びKovacsは $\alpha$ -セクレターゼ基質のリストを表1に開示しており、この開裂配列は、本明細書に完全に開示されているかのように参照によって本明細書に援用され、これは本発明のpCARにおける $\alpha$ -セクレターゼの基質として機能し得る。

## 【0309】

[00228] Voss et al. (Voss et al., 2013) は、GxGDアスパルチルプロテアーゼ (spps) の基質内の一次配列要素に基づく共通の開裂部位について、これまで記載されていなかったことを教示している。膜タンパク質の膜貫通ドメインは、それらのペプチド結合がプロテアーゼにほとんどアクセスできない $\alpha$ -ヘリックス確認を優先的に採用する。したがって、膜貫通ドメインを膜内タンパク質分解の影響を受けやすくするために、それらの $\alpha$ -ヘリックス含有量は、ヘリックス不安定化アミノ酸によって低減される必要があると仮定した。この仮説と一致して、様々なシグナルペプチドがh領域内にヘリックス不安定化アミノ酸を含有し、SPPによるタンパク質分解処理に重要な影響を与えることが示されている。加えて、例えば、様々なHCV株のシグナルペプチド内のセリン及びシステイン残基は、SPP開裂に重要であるため、シグナルペプチドのh-領域内の極性残基は、SPPによる開裂に影響を与え得る。これらの極性残基はまた、単にシグナルペプチドのヘリックス含有量に影響を与えるか、又は特にヒドロキシル基若しくはスルフヒドリル基がSPPによる開裂を誘発するのに必要かどうかは依然として完全に理解されていない。同様に、Bri2膜貫通ドメインの $\alpha$ -ヘリックス含有量が低減すると、SPPによるBri2膜貫通ドメインの開裂が有意に増加する。興味深いことに、推定ヘリックス不安定化効力を有する4つの残基の1つのみのアミノ酸残基が、リン脂質系環境において、Bri2膜貫通ドメインの $\alpha$ -ヘリックス含有量を有意に低減した。これは

10

20

30

40

50

、 -ヘリックス膜貫通ドメインの不安定化が、ある特定のアミノ酸残基によって単に引き起こされるのではないが、これらのアミノ酸の背景及び位置が、ヘリックス不安定化の能力、したがって膜貫通ドメインの、S P P / S P P Lによる膜内タンパク質分解へのアクセス能力を決定することを示唆している。Voss et al.は、s p p及びs p p様基質のリストを表1にさらに開示しており、これらの開裂配列は、本明細書に完全に開示されているかのように参照によって本明細書に援用され、これは本発明のp C A Rにおけるs p pの基質として機能し得る。

【0310】

[00229] Bergbold et al. (Bergbold and Lemberg, 2013) は、ロンボイドプロテアーゼについて、基質認識のための2つの異なるモデルが提案されていることを教示している。第1のモデルでは、ロンボイド活性部位の近くで膜を貫通することと組み合わせた基質ペプチド骨格の立体構造的な柔軟性は、特異性を提供するのに十分である。特徴がはっきりしたDrosophila基質Spitzの場合、グリシン - アラニンモチーフは、膜貫通ドメインをロンボイド活性部位に広げることが可能にするヘリックス展開 (helix break) として機能することが示されている。第2のモデルは、ロンボイドプロテアーゼが、最初に開裂部位の周囲の特定の配列を認識すること及び膜貫通ヘリックス不安定化残基が一部の基質のみに必要な二次的特色であることを示唆している。特定の配列は、依然として同定されていない。Bergbold et al.は、ロンボイドプロテアーゼ基質のリストを表3に開示しており、この開裂配列は、本明細書に完全に開示されているかのように参照によって本明細書に援用され、これは、本発明のp C A Rにおけるロンボイドプロテアーゼの基質として機能し得る。

10

20

【0311】

[00230] 上を考慮して、ほとんどの場合、膜内開裂プロテアーゼのコンセンサスモチーフは、依然として確立されていないため、且つ膜内開裂プロテアーゼ基質を同定するためのアッセイは、上で本明細書に引用した文献に記載されるように当技術分野で周知であるため、p C A Rは、そのように同定されたアミノ酸配列を含み得、膜貫通ヘリックス不安定化残基をさらに含み得る。

【0312】

[00231] いくつかの実施形態では、基質は、膜貫通型の標準的なモチーフの一部を形成し、Notch、Erbb4、E-カドヘリン、N-カドヘリン、エフリン-B2、アミロイド前駆体タンパク質又はCD44の膜貫通ドメインに相同である/これらに由来する。

30

【0313】

[00232] いくつかの実施形態では、それは、別個のタンパク質として、前記条件付きa C A Rの細胞外ドメイン及び細胞内ドメインをコードするヌクレオチド配列を含み、各ドメインが、膜貫通型の標準的なモチーフに独立して融合され、ヘテロ二量体化小分子の結合部位の異なるメンバーを含む。

【0314】

[00233] いくつかの実施形態では、ヘテロ二量体化小分子の結合部位の第1及び第2のメンバーのそれぞれ1つは、(i) タクロリムス (FK506) 結合タンパク質 (FKBP) 及びFKBP、(ii) FKBP及びカルシニューリン触媒サブユニットA (CnA)、(iii) FKBP及びシクロフィリン、(iv) FKBP及びFKBP-ラパマイシン関連タンパク質 (FRB)、(v) ジャイレースB (GyrB) 及びGyrB、(vi) ジヒドロ葉酸還元酵素 (DHFR) 及びDHFR、(vii) DmrBホモ二量体化ドメイン (DmrB) 及びDmrB、(viii) P Y Lタンパク質 (別名アブシジン酸受容体及びRCAR) 及びABI、並びに(ix) GAIシロイヌナズナ (Arabidopsis thaliana) タンパク質 (別名ジベレリン酸非感受性及びDELLAタンパク質GAI、GAI) 及びGID1シロイヌナズナ (Arabidopsis thaliana) タンパク質 (ジベレリン受容体GID1としても知られている、GID1) から選択されるタンパク質に由来する。

40

50

## 【0315】

V . i C A R 又は p C A R と a C A R との標的ペア

[00234] いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R 及び a C A R 標的ペアは、安全なエフェクター免疫細胞において発現される。いくつかの実施形態では、核酸配列によってコードされる、i C A R 又は p C A R 及び a C A R 標的ペアは、安全なエフェクター免疫細胞において発現される。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は、a C A R と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は第1の発現ベクターによってコードされ、a C A R は第2の発現ベクターによってコードされる。

## 【0316】

[00235] いくつかの実施形態では、E G F R、H E R 2、メソテリン又は C E A は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的である。いくつかの実施形態では、E G F R 2 は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的である。いくつかの実施形態では、H E R 2 は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的である。いくつかの実施形態では、メソテリンは、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的である。いくつかの実施形態では、C E A は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的である。

## 【0317】

[00236] いくつかの実施形態では、E G F R、H E R 2、メソテリン又は C E A は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌又は肺癌（又は膵臓癌若しくは肺癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、E G F R 2 は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌又は肺癌（又は膵臓癌若しくは肺癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、H E R 2 は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌又は肺癌（又は膵臓癌若しくは肺癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、メソテリンは、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌又は肺癌（又は膵臓癌若しくは肺癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、C E A は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌又は肺癌（又は膵臓癌若しくは肺癌に由来する細胞）である。

## 【0318】

[00237] いくつかの実施形態では、E G F R、H E R 2、メソテリン又は C E A は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌（又は膵臓癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、E G F R 2 は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌（又は膵臓癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、H E R 2 は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌（又は膵臓癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、メソテリンは、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌（又は膵臓癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、C E A は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌（又は膵臓癌に由来する細胞）である。

## 【0319】

[00238] いくつかの実施形態では、E G F R、H E R 2、メソテリン又は C E A は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、肺癌（又は肺癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、E G F R 2 は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、肺癌（又は肺癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、H E R 2 は、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、肺癌（又は肺癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、メソテリンは、a C A R 標的であり、H L A は、i C A R 標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、肺癌（又は肺癌に由来する細胞）である。

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、CEAは、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、肺癌（又は肺癌に由来する細胞）である。

【0320】

[00239] いくつかの実施形態では、iCAR若しくはpCAR又はその一部は、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される核酸配列によってコードされる。

【0321】

[00240] いくつかの実施形態では、iCAR若しくはpCAR又はその一部は、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする核酸配列によってコードされる。

【0322】

[00241] いくつかの実施形態において、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列は、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む。

【0323】

[00242] いくつかの実施形態において、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列は、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。

【0324】

[00243] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される配列を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

【0325】

[00244] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号1を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

【0326】

[00245] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36から

10

20

30

40

50

なる群から選択される配列を含む、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号37を含む、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

【0327】

[00246] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号38を含む、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

10

【0328】

[00247] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

20

【0329】

[00248] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号2を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

30

【0330】

[00249] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号39を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

40

【0331】

[00250] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号40を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

【0332】

50

[00251] いくつかの実施形態では、本発明は、1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号41を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

【0333】

[00252] いくつかの実施形態では、本発明は、1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号42を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

10

【0334】

[00253] いくつかの実施形態では、本発明は、1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号43を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

20

【0335】

[00254] いくつかの実施形態では、本発明は、1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号44を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

30

【0336】

[00255] いくつかの実施形態では、本発明は、1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号45を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

40

【0337】

[00256] いくつかの実施形態では、本発明は、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ酸配列

50

をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

【0338】

[00257] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号2を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

【0339】

[00258] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号39を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

10

【0340】

[00259] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号40を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

【0341】

[00260] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号41を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

20

【0342】

[00261] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号42を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

30

【0343】

[00262] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号43を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

【0344】

[00263] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号44を含むアミノ酸をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

40

【0345】

[00264] いくつかの実施形態では、本発明は、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号45を含むアミノ酸をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

【0346】

50

[00265] いくつかの実施形態では、本発明は、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される配列を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

【0347】

[00266] いくつかの実施形態では、本発明は、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号1を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

10

【0348】

[00267] いくつかの実施形態では、本発明は、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号37を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

【0349】

[00268] いくつかの実施形態では、本発明は、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号38を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

20

【0350】

[00269] いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される核酸を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号1を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号37を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号38を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号2を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号39を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号40を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号41を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号42を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号43を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号44を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号45を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

30

40

【0351】

50

[00270] いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号31、配列番号32及び配列番号33からなる群から選択される配列を含む、iCAR及びaCARをコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCAR及びaCARは、核酸配列が、iCAR又はpCAR及びaCARをコードする、配列番号31、配列番号32及び配列番号33からなる群から選択される核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCAR及びaCARは、核酸配列が、iCAR又はpCAR及びaCARをコードする、配列番号31を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCAR及びaCARは、核酸配列が、iCAR又はpCAR及びaCARをコードする、配列番号32を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCAR及びaCARは、核酸配列が、iCAR又はpCAR及びaCARをコードする、配列番号33を含む核酸配列によってコードされる。

10

#### 【0352】

##### 1. 発現ベクター

[00271] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される核酸配列である、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

20

#### 【0353】

[00272] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

30

#### 【0354】

[00273] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される配列を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベク

40

50

ーは、核酸配列が、配列番号 1、配列番号 37 及び配列番号 38 からなる群から選択される配列を含む、a C A R 又はその一部を含む。

【0355】

[00274] いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は、a C A R と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は第 1 の発現ベクターによってコードされ、a C A R は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 1 を含む、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 1 を含む、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

20

【0356】

[00275] いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は、a C A R と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は第 1 の発現ベクターによってコードされ、a C A R は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 37 を含む、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 37 を含む、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

30

40

【0357】

[00276] いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は、a C A R と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は第 1 の発現ベクターによってコードされ、a C A R は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部；並びに 2) 核酸

50

配列が、配列番号 38 を含む、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 38 を含む、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0358】

10

[00277] いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は、a C A R と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は第 1 の発現ベクターによってコードされ、a C A R は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 2、配列番号 39、配列番号 40、配列番号 41、配列番号 42、配列番号 43、配列番号 44 及び配列番号 45 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 2、配列番号 39、配列番号 40、配列番号 41、配列番号 42、配列番号 43、配列番号 44 及び配列番号 45 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

20

30

【0359】

[00278] いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は、a C A R と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は第 1 の発現ベクターによってコードされ、a C A R は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 2 を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、

40

50





発現ベクターによってコードされ、a C A Rは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号44を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号44を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

【0366】

[00285] いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは、a C A Rと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは第1の発現ベクターによってコードされ、a C A Rは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号45を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号45を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。

20

30

【0367】

[00286] いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは、a C A Rと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは第1の発現ベクターによってコードされ、a C A Rは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択される

40

50



ドする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号41を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

#### 【0372】

[00291] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号42を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号42を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

20

#### 【0373】

[00292] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号43を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号43を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

30

#### 【0374】

[00293] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号44を含むアミノ酸をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号44を含むアミノ酸をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

40

#### 【0375】

[00294] いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の

50

発現ベクターによってコードされ、a C A Rは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号45を含むアミノ酸をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号45を含むアミノ酸をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

【0376】

[00295] いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは、a C A Rと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは第1の発現ベクターによってコードされ、a C A Rは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される配列を含む、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される配列を含む、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。

20

【0377】

[00296] いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは、a C A Rと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは第1の発現ベクターによってコードされ、a C A Rは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号1を含む、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号1を含む、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。

30

【0378】

[00297] いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは、a C A Rと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは第1の発現ベクターによってコードされ、a C A Rは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号37を含む、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号45、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号37を含む、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。

40

50

## 【 0 3 7 9 】

[00298] いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは、a C A Rと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは第1の発現ベクターによってコードされ、a C A Rは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号38を含む、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号38を含む、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

## 【 0 3 8 0 】

[00299] いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは、a C A Rと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは第1の発現ベクターによってコードされ、a C A Rは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、核酸配列が、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される配列である、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、a C A R又はその一部をコードする核酸配列は、配列番号1を含む。いくつかの実施形態において、a C A R又はその一部をコードする核酸配列は、配列番号37を含む。いくつかの実施形態において、a C A R又はその一部をコードする核酸配列は、配列番号38を含む。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、核酸配列が、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。a C A R又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号2を含むアミノ酸配列をコードする。a C A R又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号39を含むアミノ酸配列をコードする。a C A R又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号40を含むアミノ酸配列をコードする。a C A R又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号41を含むアミノ酸配列をコードする。a C A R又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号42を含むアミノ酸配列をコードする。a C A R又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号43を含むアミノ酸配列をコードする。a C A R又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号44を含むアミノ酸配列をコードする。a C A R又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号45を含むアミノ酸配列をコードする。

20

30

## 【 0 3 8 1 】

40

## V I . エフェクター細胞の構築

[00300] なお別の態様では、本発明は、安全なエフェクター免疫細胞を調製するための方法であって、(i) 腫瘍関連抗原に向けられたT C R操作エフェクター免疫細胞を、本明細書で上に定義されるi C A R若しくはp C A Rをコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子でトランスフェクトするか若しくはベクターで細胞を形質導入すること、又は(ii) ナイーブエフェクター免疫細胞を、本明細書で上に定義されるi C A R若しくはp C A Rをコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子及び本明細書で上に定義されるa C A Rをコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子でトランスフェクトするか若しくはエフェクター免疫細胞を、本明細書で上に定義されるベクターで形質導入することを含む、方法を提供する。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは、a C A Rと同じ

50

発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは第1の発現ベクターによってコードされ、a C A Rは第2の発現ベクターによってコードされる。

【0382】

[00301] いくつかの実施形態では、操作における使用のための免疫細胞には、限定されないが、T細胞、ナチュラルキラー細胞又はサイトカイン誘導キラー細胞が含まれる。いくつかの実施形態では、操作における使用のための免疫細胞には、限定されないが、Jurkat T細胞、Jurkat - N F A T T細胞及び/又は末梢血単核細胞(P B M C)が含まれる。

【0383】

[00302] さらに別の態様では、本発明は、上記の本発明の方法によって得られる安全なエフェクター免疫細胞を提供する。安全なエフェクター免疫細胞は、外因性T C Rが、抗原の非多型細胞表面エピトープ若しくは多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに向けられ、前記エピトープが、腫瘍関連抗原であるか、若しくは少なくとも関連する腫瘍の細胞と正常組織の細胞とによって共有され、i C A R若しくはp C A Rが、上に定義されるとおりである、外因性T細胞受容体(T C R)及びi C A R若しくはp C A Rを発現する向け直されたT細胞であり得るか、又は安全なエフェクター免疫細胞は、ナチュラルキラー細胞若しくは上に定義されるi C A R若しくはp C A R及びa C A Rを発現するT細胞などの向け直されたエフェクター免疫細胞である。

【0384】

[00303] いくつかの実施形態では、安全なエフェクター免疫細胞は、その表面上に、抗原の非多型細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含むa C A Rと、前記a C A Rの細胞外ドメインに結合する異なる抗原の多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する細胞外ドメインを含むi C A R又はp C A Rとを発現する。いくつかの実施形態では、i C A R若しくはp C A Rの細胞外ドメインは、前記a C A Rの細胞外ドメインに結合する同じ抗原の異なる多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合するか、又はi C A R若しくはp C A Rの細胞外ドメインは、前記a C A Rの細胞外ドメインに結合する同じ多型細胞表面エピトープ領域の異なる単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する。

【0385】

[00304] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するa C A Rの細胞外ドメインは、C D 1 9などの表1に列挙されている抗原から選択される非多型細胞表面エピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、標的は、細胞外ドメインを有する任意の標的である。

【0386】

[00305] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するi C A R及び又はp C A Rの細胞外ドメインは、H L A - A、H L A - B、H L A - C、H L A - G、H L A - E、H L A - F、H L A - K、H L A - L、H L A - D M、H L A - D O、H L A - D P、H L A \_ \_ D Q若しくはH L A - D R遺伝子の単一对立遺伝子バリエーション又は表8に列挙されている遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

【0387】

[00306] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するi C A R及び又はp C A Rの細胞外ドメインは、H L A - A遺伝子、H L A - B遺伝子若しくはH L A - C遺伝子の単一对立遺伝子バリエーション又は表8に列挙されている遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合し、細胞表面上に発現するa C A Rの細胞外ドメインは、例えば、限定されないが、C D 1 9などの、表1に列挙されている抗原から選択される非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するi C A R及び/又はp C A Rの細胞外ドメインは、H L A - A遺伝子、H L A - B遺伝子若しくはH L A - C遺伝子の単一对立遺伝子バリエーション又は表8に列挙されている遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合

10

20

30

40

50

し、細胞表面上に発現する a C A R の細胞外ドメインは、例えば、限定されないが、E G F R などの、表 1 に列挙されている抗原から選択される非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現する i C A R 及び / 又は p C A R の細胞外ドメインは、H L A - A 遺伝子、H L A - B 遺伝子若しくは H L A - C 遺伝子の単一对立遺伝子バリエーション又は表 8 に列挙されている遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合し、細胞表面上に発現する a C A R の細胞外ドメインは、例えば、限定されないが、H E R 2 などの、表 1 に列挙されている抗原から選択される非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、a C A R 標的は、細胞外ドメインを有する任意の標的である。

【0388】

[00307] いくつかの実施形態では、a C A R 及び i C A R は、別個のタンパク質として細胞表面上に存在する。

【0389】

[00308] いくつかの実施形態では、i C A R をコードするヌクレオチド配列の細胞表面上の発現レベルは、a C A R をコードするヌクレオチド配列の発現レベル以上である。

【0390】

[00309] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現する i C A R 及び / 又は p C A R の細胞外ドメインは、少なくとも 1 つの細胞外多型エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

【0391】

[00310] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現する i C A R 及び / 又は p C A R の細胞外ドメインは、A B C A 4、A D A M 3 0、A Q P 1 0、A S T N 1、C 1 o r f 1 0 1、C A C N A 1 S、C A T S P E R 4、C D 1 0 1、C D 1 6 4 L 2、C D 1 A、C D 1 C、C D 2 4 4、C D 3 4、C D 4 6、C E L S R 2、C H R N B 2、C L C A 2、C L D N 1 9、C L S T N 1、C R 1、C R 2、C R B 1、C S F 3 R、C S M D 2、E C E 1、E L T D 1、E M C 1、E P H A 1 0、E P H A 2、E P H A 8、E R M A P、F C A M R、F C E R 1 A、F C G R 1 B、F C G R 2 A、F C G R 2 B、F C G R 3 A、F C R L 1、F C R L 3、F C R L 4、F C R L 5、F C R L 6、G J B 4、G P A 3 3、G P R 1 5 7、G P R 3 7 L 1、G P R 8 8、H C R T R 1、I G S F 3、I G S F 9、I L 2 2 R A 1、I L 2 3 R、I T G A 1 0、K I A A 1 3 2 4、K I A A 2 0 1 3、L D L R A D 2、L E P R、L G R 6、L R I G 2、L R P 8、L R R C 5 2、L R R C 8 B、L R R N 2、L Y 9、M I A 3、M R 1、M U C 1、M X R A 8、N C S T N、N F A S C、N O T C H 2、N P R 1、N T R K 1、O P N 3、O R 1 0 J 1、O R 1 0 J 4、O R 1 0 K 1、O R 1 0 R 2、O R 1 0 T 2、O R 1 0 X 1、O R 1 1 L 1、O R 1 4 A 1 6、O R 1 4 I 1、O R 1 4 K 1、O R 2 A K 2、O R 2 C 3、O R 2 G 2、O R 2 G 3、O R 2 L 2、O R 2 M 7、O R 2 T 1 2、O R 2 T 2 7、O R 2 T 1、O R 2 T 3、O R 2 T 2 9、O R 2 T 3 3、O R 2 T 3 4、O R 2 T 3 5、O R 2 T 3、O R 2 T 4、O R 2 T 5、O R 2 T 6、O R 2 T 7、O R 2 T 8、O R 2 W 3、O R 6 F 1、O R 6 K 2、O R 6 K 3、O R 6 K 6、O R 6 N 1、O R 6 P 1、O R 6 Y 1、P D P N、P E A R 1、P I G R、P L X N A 2、P T C H 2、P T C H D 2、P T G F R N、P T P R C、P T P R F、P T G F R N、P V R L 4、R H B G、R X F P 4、S 1 P R 1、S C N N 1 D、S D C 3、S E L E、S E L L、S E L P、S E M A 4 A、S E M A 6 C、S L A M F 7、S L A M F 9、S L C 2 A 7、S L C 5 A 9、T A C S T D 2、T A S 1 R 2、T I E 1、T L R 5、T M E M 8 1、T N F R S F 1 4、T N F R S F 1 B、T R A B D 2 B、U S H 2 A、V C A M 1 及び Z P 4 からなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

【0392】

[00311] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現する i C A R 及び / 又は p C A R の細胞外ドメインは、A B C G 5、A L K、A S P R V 1、A T R A I D、C D 2 0 7、C D 8 B、C H R N G、C L E C 4 F、C N T N A P 5、C R I M 1、C X C R 1、D

10

20

30

40

50

NER、DPP10、EDAR、EPCAM、GPR113、GPR148、GPR35、GPR39、GYPC、IL1RL1、ITGA4、ITGA6、ITGAV、LCT、LHCGR、LRP1B、LRP2、LY75、MARCO、MERTK、NRP2、OR6B2、PLA2R1、PLB1、PROKR1、PROM2、SCN7A、SDC1、SLC23A3、SLC5A6、TGOLN2、THSD7B、TM4SF20、TMEFF2、TMEM178A、TPO及びTRABD2Aからなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子パリアントに向けられるか又は特異的に結合する。

## 【0393】

[00312] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、ACKR2、ALCAM、ANO10、ATP13A4、BTLA、CACNA1D、CACNA2D2、CACNA2D3、CASR、CCRL2、CD200、CD200R1、CD86、CD96、CDCP1、CDHR4、CELSR3、CHL1、CLDN11、CLDN18、CLSTN2、CSPG5、CX3CR1、CXCR6、CYP8B1、DCBLD2、DRD3、EPHA6、EPHB3、GABRR3、GP5、GPR128、GPR15、GPR27、GRM2、GRM7、HEG1、HTR3C、HTR3D、HTR3E、IGSF11、IL17RC、IL17RD、IL17RE、IL5RA、IMPG2、ITGA9、ITGB5、KCNMB3、LRIG1、LRRC15、LRRN1、MST1R、NAALADL2、NRROS、OR5AC1、OR5H1、OR5H14、OR5H15、OR5H6、OR5K2、OR5K3、OR5K4、PIGX、PLXNB1、PLXND1、PRRT3、PTPRG、ROBO2、RYK、SEMA5B、SIDT1、SLC22A14、SLC33A1、SLC4A7、SLITRK3、STAB1、SUSD5、TFRC、TLR9、TMEM108、TMEM44、TMPRSS7、TNFSF10、UPK1B、VIPR1及びZPLD1からなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子パリアントに向けられるか又は特異的に結合する。

## 【0394】

[00313] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、ANTXR2、BTC、CNGA1、CORIN、EGF、EMCN、ENPEP、EPHA5、ERVMER34-1、EVC2、FAT1、FAT4、FGFRL1、FRAS1、GPR125、GRID2、GYPA、GYPB、KDR、KIAA0922、KLB、MFSD8、PARM1、PDGFRA、RNF150、TENM3、TLR10、TLR1、TLR6、TMEM156、TMPRSS11A、TMPRSS11B、TMPRSS11E、TMPRSS11F、UGT2A1及びUNC5Cからなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子パリアントに向けられるか又は特異的に結合する。

## 【0395】

[00314] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、ADAM19、ADRB2、BTNL3、BTNL8、BTNL9、C5orf15、CATSPER3、CD180、CDH12、CDHR2、COL23A1、CSF1R、F2RL2、FAM174A、FAT2、FGFR4、FLT4、GABRA6、GABRG2、GPR151、GPR98、GRM6、HAVCR1、HAVCR2、IL31RA、IL6ST、IL7R、IQGAP2、ITGA1、ITGA2、KCNMB1、LIFR、LNPEP、MEGF10、NIPAL4、NPR3、NRG2、OR2V1、OR2Y1、OSMR、PCDH12、PCDH1、PCDHA1、PCDHA2、PCDHA4、PCDHA8、PCDHA9、PCDHB10、PCDHB11、PCDHB13、PCDHB14、PCDHB15、PCDHB16、PCDHB2、PCDHB3、PCDHB4、PCDHB5、PCDHB6、PCDHGA1、PCDHGA4、PDGFRB、PRLR、SEMA5A、SEMA6A、SGCD、SLC1A3、SLC22A4、SLC22A5、SLC23A1、SLC36A3、SLC45A2、SLC6A18、SLC6A19、SLCO6A1、SV2C、TEN

M2、TIMD4及びUGT3A1からなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

【0396】

[00315] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、BAI3、BTN1A1、BTN2A1、BTN2A2、BTN3A1、BTN3A2、BTNL2、CD83、DCBLD1、DLL1、DPCR1、ENPP1、ENPP3、ENPP4、EPHA7、GABBR1、GABRR1、GCNT6、GFRAL、GJB7、GLP1R、GPR110、GPR111、GPR116、GPR126、GPR63、GPRC6A、HFE、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DOA、HLA-DPA1、HLA-DPB1、HLA-DQA1、HLA-DQA2、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1、HLA-DRB5、HLA-E、HLA-F、HLA-G、IL20RA、ITPR3、KIAA0319、LMBRD1、LRFN2、LRP11、MAS1L、MEP1A、MICA、MICB、MOG、MUC21、MUC22、NCR2、NOTCH4、OPRM1、OR10C1、OR12D2、OR12D3、OR14J1、OR2B2、OR2B6、OR2J1、OR2W1、OR5V1、PDE10A、PI16、PKHD1、PTCRA、PTK7、RAET1E、RAET1G、ROS1、SDIM1、SLC16A10、SLC22A1、SLC44A4、TAAR2、TREM1、TREM1及びTREM2からなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

10

20

【0397】

[00316] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、AQP1、C7orf50、CD36、CDHR3、CNTNAP2、DPP6、EGFR、EPHA1、EPHB6、ERVW-1、GHRHR、GJC3、GPNMB、GRM8、HUS1、HYAL4、KIAA1324L、LRRN3、MET、MUC12、MUC17、NPC1L1、NPSR1、OR2A12、OR2A14、OR2A25、OR2A42、OR2A7、OR2A2、OR2AE1、OR2F2、OR6V1、PILRA、PILRB、PKD1L1、PLXNA4、PODXL、PTPRN2、PTPRZ1、RAMP3、SLC29A4、SMO、TAS2R16、TAS2R40、TAS2R4、TFR2、THSD7A、TMEM213、TTYH3、ZAN及びZP3からなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

30

【0398】

[00317] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、ADAM18、ADAM28、ADAM32、ADAM7、ADAM9、ADRA1A、CDH17、CHRNA2、CSMD1、CSMD3、DCSTAMP、FZD6、GPR124、NRG1、OR4F21、PKHD1L1、PRSS55、SCARA3、SCARA5、SDC2、SLC10A5、SLC39A14、SLC39A4、SLCO5A1、TNFRSF10A及びTNFRSF10Bからなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

40

【0399】

[00318] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、ABCA1、AQP7、ASTN2、C9orf135、CA9、CD72、CNTNAP3B、CNTNAP3、CRB2、ENTPD8、GPR144、GRIN3A、IZUMO3、KIAA1161、MAMDC4、MEGF9、MUSK、NOTCH1、OR13C2、OR13C3、OR13C5、OR13C8、OR13C9、OR13D1、OR13F1、OR1B1、OR1J2、OR1K1、OR1L1、OR1L3、OR1L6、OR1L8、OR1N1、OR1N2、OR1Q1、OR2S2、PCSK5、PDCD1LG2、PLGRKT、PTPRD、ROR2、SE

50

MA4D、SLC31A1、TEK、TLR4、TMEM2及びVLDLRからなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

【0400】

[00319] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、ABCC2、ADAM8、ADRB1、ANTXR1、ATRNL1、C10orf54、CDH23、CDHR1、CNNM2、COL13A1、COL17A1、ENTPD1、FZD8、FGFR2、GPR158、GRID1、IL15RA、IL2RA、ITGA8、ITGB1、MRC1、NRG3、NPFFR1、NRP1、OPN4、PCDH15、PKD2L1、PLXDC2、PRLHR、RET、RGR、SLC16A9、SLC29A3、SLC39A12、TACR2、TCTN3、TSPAN15、UNC5B及びVSTM4からなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

10

【0401】

[00320] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、AMICA1、ANO1、ANO3、APLP2、C11orf24、CCKBR、CD248、CD44、CD5、CD6、CD82、CDON、CLMP、CRTAM、DCHS1、DSCAML1、FAT3、FOLH1、GDPD4、GDPD5、GRIK4、HEPHL1、HTR3B、IFITM10、IL10RA、KIRREL3、LGR4、LRP4、LRP5、LRRC32、MCAM、MFRP、MMP26、MPEG1、MRGPRE、MRGPRF、MRGPRX2、MRGPRX3、MRGPRX4、MS4A4A、MS4A6A、MTNR1B、MUC15、NAALAD2、NAALADL1、NCAM1、NRXN2、OR10A2、OR10A5、OR10A6、OR10D3、OR10G4、OR10G7、OR10G8、OR10G9、OR10Q1、OR10S1、OR1S1、OR2AG1、OR2AG2、OR2D2、OR4A47、OR4A15、OR4A5、OR4C11、OR4C13、OR4C15、OR4C16、OR4C3、OR4C46、OR4C5、OR4D6、OR4A8P、OR4D9、OR4S2、OR4X1、OR51E1、OR51L1、OR52A1、OR52E1、OR52E2、OR52E4、OR52E6、OR52I1、OR52I2、OR52J3、OR52L1、OR52N1、OR52N2、OR52N4、OR52W1、OR56B1、OR56B4、OR5A1、OR5A2、OR5AK2、OR5AR1、OR5B17、OR5B3、OR5D14、OR5D16、OR5D18、OR5F1、OR5I1、OR5L2、OR5M11、OR5M3、OR5P2、OR5R1、OR5T2、OR5T3、OR5W2、OR6A2、OR6T1、OR6X1、OR8A1、OR8B12、OR8B2、OR8B3、OR8B4、OR8D1、OR8D2、OR8H1、OR8H2、OR8H3、OR8I2、OR8J1、OR8J2、OR8J3、OR8K1、OR8K3、OR8K5、OR8U1、OR9G1、OR9G4、OR9Q2、P2RX3、PTPRJ、ROBO3、SIGIRR、SLC22A10、SLC3A2、SLC5A12、SLCO2B1、SORL1、ST14、SYT8、TENM4、TMEM123、TMEM225、TMPRSS4、TMPRSS5、TRPM5、TSPAN18及びZP1からなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

20

30

40

【0402】

[00321] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、ANO4、AVPR1A、BCL2L14、CACNA2D4、CD163、CD163L1、CD27、CD4、CLEC12A、CLEC1B、CLEC2A、CLEC4C、CLEC7A、CLECL1、CLSTN3、GPR133、GPRC5D、ITGA7、ITGB7、KLRB1、KLRC2、KLRC3、KLRC4、KLRF1、KLRF2、LRP1、LRP6、MANS C1、MANS C4、OLR1、OR10AD1、OR10P1、OR2AP1、OR6C1、OR6C2、OR6C3、OR6C4、OR6C6、OR6C74、OR6C76、OR8S1、OR9K

50

2、ORAI1、P2RX4、P2RX7、PRR4、PTPRB、PTPRQ、PTPRR、SCNN1A、SELPLG、SLC2A14、SLC38A4、SLC5A8、SLC6A15、SLC8B1、SLCO1A2、SLCO1B1、SLCO1B7、SLCO1C1、SSPN、STAB2、TAS2R10、TAS2R13、TAS2R14、TAS2R20、TAS2R30、TAS2R31、TAS2R42、TAS2R43、TAS2R46、TAS2R7、TMEM119、TMEM132B、TMEM132C、TMEM132D、TMPRSS12、TNFRSF1A、TSPAN8及びVSI G10からなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

【0403】

[00322] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、ATP4B、ATP7B、FLT3、FREM2、HTR2A、KL、PCDH8、RXFP2、SGCG、SHISA2、SLC15A1、SLITRK6及びTNFRSF19からなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

【0404】

[00323] いくつかの実施形態では、aCAR、iCAR及び/又はpCARにおける使用のための認識部分は、ADAM21、BDKRB2、C14orf37、CLEC14A、DLK1、FLRT2、GPR135、GPR137C、JAG2、LTBR2、MMP14、OR11G2、OR11H12、OR11H6、OR4K1、OR4K15、OR4K5、OR4L1、OR4N2、OR4N5、SLC24A4及びSYNDIG1Lからなる群から選択される遺伝子からの遺伝子生成物における、少なくとも1つの細胞外多型エピトープへの特異性を提供する。

【0405】

[00324] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、ANPEP、CD276、CHRNA7、CHRN B4、CSPG4、DUOX1、DUOX2、FAM174B、GLDN、IGDCC4、ITGA11、LCTL、LTK、LYSMD4、MEGF11、NOX5、NRG4、OCA2、OR4F4、OR4M2、OR4N4、PRTG、RHCG、SCAMP5、SEMA4B、SEMA6D、SLC24A1、SLC24A5、SLC28A1、SPG11、STRA6、TRPM1及びTYRO3からなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

【0406】

[00325] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、ATP2C2、CACNA1H、CD19、CDH11、CDH15、CDH16、CDH3、CDH5、CNGB1、CNTNAP4、GDPD3、GPR56、GPR97、IFT140、IL4R、ITFG3、ITGAL、ITGAM、ITGAX、KCNG4、MMP15、MSLN、NOMO1、NOMO3、OR2C1、PIEZO1、PKD1、PKD1L2、QPRT、SCNN1B、SEZ6L2、SLC22A31、SLC5A11、SLC7A6、SPN、TMC5、TMC7、TMEM204、TMEM219及びTMEM8Aからなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

【0407】

[00326] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、ABCC3、ACE、AOC3、ARL17B、ASGR2、C17orf80、CD300A、CD300C、CD300E、CD300LF、CD300LG、CHRN B1、CLEC10A、CNTNAP1、CPD、CXCL16、ERBB2、FAM171A2、GCGR、GLP2R、GP1BA、GPR142、GUCY2D、ITGA2B、ITGA3、ITGAE、ITGB3、KCNJ12、LRR C37A2、LRR C37A3、LRR C37A、LRR C37B、MRC2、NGFR

10

20

30

40

50

、OR1A2、OR1D2、OR1G1、OR3A1、OR3A2、OR4D1、OR4D2、RNF43、SCARF1、SCN4A、SDK2、SECTM1、SEZ6、SHPK、SLC26A11、SLC5A10、SPACA3、TMEM102、TMEM132E、TNFSF12、TRPV3、TTYH2及びTUSC5からなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

【0408】

[00327] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、APCDD1、CDH19、CDH20、CDH7、COLEC12、DCC、DSC1、DSG1、DSG3、DYNAP、MEP1B、PTPRM、SIGLEC15及びTNFRSF11Aからなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

10

【0409】

[00328] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、ABCA7、ACPT、BCAM、C19orf38、C19orf59、C5AR1、CATSPERD、CATSPERG、CD22、CD320、CD33、CD97、CEACAM19、CEACAM1、CEACAM21、CEACAM3、CEACAM4、CLEC4M、DLL3、EMR1、EMR2、EMR3、ERVV-1、ERVV-2、FAM187B、FCAR、FFAR3、FPR1、FXFD5、GFY、GP6、GPR42、GRIN3B、ICAM3、IGFLR1、IL12RB1、IL27RA、KIR2DL1、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3、KIRREL2、KISS1R、LAIR1、LDLR、LILRA1、LILRA2、LILRA4、LILRA6、LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5、LINGO3、LPHN1、LRP3、MADCAM1、MAG、MEGF8、MUC16、NCR1、NOTCH3、NPHS1、OR10H1、OR10H2、OR10H3、OR10H4、OR1I1、OR2Z1、OR7A10、OR7C1、OR7D4、OR7E24、OR7G1、OR7G2、OR7G3、PLVAP、PTGIR、PTPRH、PTPRS、PVR、SCN1B、SHISA7、SIGLEC10、SIGLEC11、SIGLEC12、SIGLEC5、SIGLEC6、SIGLEC8、SIGLEC9、SLC44A2、SLC5A5、SLC7A9、SPINT2、TARM1、TGFB3L、TMC4、TMEM91、TMEM161A、TMPRSS9、TNFSF14、TNFSF9、TRPM4、VN1R2、VSIG10L、VSTM2B及びZNRF4からなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

20

30

【0410】

[00329] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、ABHD12、ADAM33、ADRA1D、APMAP、ATRN、CD40、CD93、CDH22、CDH26、CDH4、FLRT3、GCNT7、GGT7、JAG1、LRRN4、NPBWR2、OCSTAMP、PTPRA、PTPRT、SEL1L2、SIGLEC1、SIRPA、SIRPB1、SIRPG、SLC24A3、SLC2A10、SLC4A11、SSTR4及びTHBDからなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

40

【0411】

[00330] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、CLDN8、DSCAM、ICOSLG、IFNAR1、IFNGR2、IGSF5、ITGB2、KCNJ15、NCAM2、SLC19A1、TMPRSS15、TMPRSS2、TMPRSS3、TRPM2及びUMODL1からなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

【0412】

[00331] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCAR

50

Rの細胞外ドメインは、CACNA1I、CELSR1、COMT、CSF2RB、GGT1、GGT5、IL2RB、KREMEN1、MCHR1、OR11H1、P2RX6、PKDREJ、PLXNB2、SCARF2、SEZ6L、SSTR3、SUSD2、TMPRSS6及びTNFRSF13Cからなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

【0413】

[00332] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、ATP6AP2、ATP7A、CNGA2、EDA2R、FMR1NB、GLRA4、GPR112、GUCY2F、HEPH、P2RY10、P2RY4、PLXNA3、PLXNB3、TLR8、VSI4及びXGからなる群から選択される遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。

10

【0414】

[00333] いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、HLA-A2の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、細胞表面上に発現するiCAR及び/又はpCARの細胞外ドメインは、CD20の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、iCARは、HLA-A2に向けられるであろう。いくつかの実施形態では、iCARは、CD20に向けられるであろう。いくつかの実施形態では、aCARは、CD19に向けられるであろう。いくつかの実施形態では、aCARは、EGFRに向けられるであろう。いくつかの実施形態では、aCARは、HER2に向けられるであろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、それぞれHLA-A2及びCD19であろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、それぞれHLA-A2及びEGFRであろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、それぞれHLA-A2及びHER2であろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、それぞれCD20及びCD19を含むであろう。

20

【0415】

[00334] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、EGFR、HER2、メソテリン又はCEAをaCAR標的として、HLAをiCAR標的としてコードする核酸配列を含む発現ベクター。いくつかの実施形態では、EGFR2は、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的である。いくつかの実施形態では、HER2は、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的である。いくつかの実施形態では、メソテリンは、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的である。いくつかの実施形態では、CEAは、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的である。

30

【0416】

[00335] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、EGFR、HER2、メソテリン又はCEAをaCAR標的として、HLAをiCAR標的としてコードする核酸配列を含み、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌又は肺癌(又は膵臓癌若しくは肺癌に由来する細胞)である。いくつかの実施形態では、EGFR2は、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌又は肺癌(又は膵臓癌若しくは肺癌に由来する細胞)である。いくつかの実施形態では、HER2は、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌又は肺癌(又は膵臓癌若しくは肺癌に由来する細胞)である。いくつかの実施形態では、メソテリンは、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌又は肺癌(又は膵臓癌若しくは肺癌に由来する細胞)である。

40

50

いくつかの実施形態では、CEAは、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌又は肺癌（又は膵臓癌若しくは肺癌に由来する細胞）である。

【0417】

【00336】 いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、EGFR、HER2、メソテリン又はCEAをaCAR標的として、HLAをiCAR標的としてコードする核酸配列を含み、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌又は（又は膵臓癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、EGFR2は、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌（又は膵臓癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、HER2は、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌（又は膵臓癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、メソテリンは、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌（又は膵臓癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、CEAは、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、膵臓癌（又は膵臓癌に由来する細胞）である。

10

【0418】

【00337】 いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、EGFR、HER2、メソテリン又はCEAをaCAR標的として、HLAをiCAR標的としてコードし、標的とされる腫瘍/癌は、肺癌（又は肺癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、EGFR2は、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、肺癌（又は肺癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、HER2は、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、肺癌（又は肺癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、メソテリンは、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、肺癌（又は肺癌に由来する細胞）である。いくつかの実施形態では、CEAは、aCAR標的であり、HLAは、iCAR標的であり、標的とされる腫瘍/癌は、肺癌（又は肺癌に由来する細胞）である。

20

30

【0419】

【00338】 いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み、核酸配列は、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される。

40

【0420】

【00339】 いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み、核酸配列は、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする。

【0421】

【00340】 いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される

50

安全なエフェクター免疫細胞は、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み、核酸配列は、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む。

【0422】

[00341] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み、核酸配列は、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。

10

【0423】

[00342] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される配列を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

20

【0424】

[00343] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号1を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

30

【0425】

[00344] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号37を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

40

【0426】

[00345] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号38を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0427】

50

[00346] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

**【0428】**

[00347] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号2を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

20

**【0429】**

[00348] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号39を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

30

**【0430】**

[00349] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号40を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

40

**【0431】**

[00350] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号41を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

50

## 【0432】

[00351] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号42を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

## 【0433】

[00352] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号43を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

20

## 【0434】

[00353] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号44を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

30

## 【0435】

[00354] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号45を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

40

## 【0436】

[00355] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

## 【0437】

[00356] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される

50

安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号2を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0438】

[00357] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号39を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

【0439】

[00358] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号40を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

20

【0440】

[00359] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号41を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0441】

[00360] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号42を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

30

【0442】

[00361] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号43を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

40

【0443】

[00362] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号44を含むアミノ酸をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0444】

[00363] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号

50

46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号45を含むアミノ酸をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0445】

[00364] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される配列を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

【0446】

[00365] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号1を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0447】

[00366] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号37を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

20

【0448】

[00367] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号38を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0449】

[00368] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、核酸配列が、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される核酸を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号1を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号37を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号38を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号2を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号39を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号40を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号41を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号42を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核

30

40

50

酸配列が、配列番号 43 を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号 44 を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、核酸配列が、配列番号 45 を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を提供する。

【0450】

[00369] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、核酸配列が、配列番号 31、配列番号 32 及び配列番号 33 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 及び a C A R をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R 及び a C A R は、核酸配列が、i C A R 又は p C A R 及び a C A R をコードする、配列番号 31、配列番号 32 及び配列番号 33 からなる群から選択される核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R 及び a C A R は、核酸配列が、i C A R 又は p C A R 及び a C A R をコードする、配列番号 31 を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R 及び a C A R は、核酸配列が、i C A R 又は p C A R 及び a C A R をコードする、配列番号 32 を含む核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R 及び a C A R は、核酸配列が、i C A R 又は p C A R 及び a C A R をコードする、配列番号 33 を含む核酸配列によってコードされる。

10

【0451】

[00370] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、核酸配列が、配列番号 31、配列番号 32 及び配列番号 33 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 及び a C A R をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、配列番号 31、配列番号 32 及び / 又は配列番号 33 からの i C A R 又は p C A R は、第 1 の発現ベクター中の核酸によってコードされ、配列番号 31、配列番号 32 及び / 又は配列番号 33 からの a C A R は、第 2 の発現ベクター中の核酸配列によってコードされる。

20

【0452】

[00371] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は、a C A R と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は第 1 の発現ベクターによってコードされ、a C A R は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される核酸配列である、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

30

【0453】

[00372] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は、a C A R と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は第 1 の発現ベクターによってコードされ、a C A R は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

40

【0454】

[00373] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、i C A

50

R又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される配列を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号1、配列番号37及び配列番号38からなる群から選択される配列を含む、aCAR又はその一部を含む。

【0455】

10

[00374] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号1を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号1を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0456】

20

30

[00375] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号37を含む、aCAR又はそ

40

50

の一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号37を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0457】

[00376] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号38を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号38を含む、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0458】

[00377] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列

番号 43、配列番号 44 及び配列番号 45 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0459】

[00378] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は、a C A R と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は第 1 の発現ベクターによってコードされ、a C A R は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 2 を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 2 を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

20

【0460】

[00379] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は、a C A R と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は第 1 の発現ベクターによってコードされ、a C A R は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 39 を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 39 を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

30

40

【0461】

[00380] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は、a C A R と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は第 1 の発現ベクターによってコードされ、a C A R は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、

50

1) 核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 40 を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 40 を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

## 【0462】

[00381] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は、aCAR と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は第 1 の発現ベクターによってコードされ、aCAR は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 41 を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 41 を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

20

30

## 【0463】

[00382] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は、aCAR と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は第 1 の発現ベクターによってコードされ、aCAR は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 42 を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列

40

50

番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 42 を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0464】

[00383] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は、aCAR と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は第 1 の発現ベクターによってコードされ、aCAR は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 43 を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 43 を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0465】

[00384] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は、aCAR と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は第 1 の発現ベクターによってコードされ、aCAR は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 44 を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 9、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 20、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 34、配列番号 35 及び配列番号 36 からなる群から選択される配列を含む、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 44 を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0466】

[00385] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、

1) 核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号45を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号9、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号34、配列番号35及び配列番号36からなる群から選択される配列を含む、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号45を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

20

#### 【0467】

[00386] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、

1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号2、配列番号39、配列番号40、配列番号41、配列番号42、配列番号43、配列番号44及び配列番号45からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

30

#### 【0468】

[00387] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、

1) 核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2) 核酸配列が、配列番号2を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコー

40

50

ドする、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号2を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0469】

[00388] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは、a C A Rと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは第1の発現ベクターによってコードされ、a C A Rは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号39を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号39を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

【0470】

[00389] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは、a C A Rと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは第1の発現ベクターによってコードされ、a C A Rは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号40を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号40を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。

20

30

【0471】

[00390] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは、a C A Rと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R又はp C A Rは第1の発現ベクターによってコードされ、a C A Rは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号41を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R若しくはp C A R又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号41を含むアミノ酸配列をコードする、a C A R又はその一部をコードする核酸配列を含む。

40

【0472】

[00391] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される

50

安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号42を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号42を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

#### 【0473】

[00392] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号43を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号43を含むアミノ酸配列をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

20

#### 【0474】

[00393] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部；並びに2)核酸配列が、配列番号44を含むアミノ酸をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第1の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号48及び配列番号49からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR若しくはpCAR又はその一部をコードする核酸配列を含み；第2の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号44を含むアミノ酸をコードする、aCAR又はその一部をコードする核酸配列を含む。

30

40

#### 【0475】

[00394] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARと同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは第1の発現ベクターによってコードされ、aCARは第2の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1)核酸配列が、配列番号6、配列番号10、配列番号46、配列番号47、配列番号4

50

8 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 45 を含むアミノ酸をコードする、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 45 を含むアミノ酸をコードする、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0476】

[00395] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は、aCAR と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は第 1 の発現ベクターによってコードされ、aCAR は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 1、配列番号 37 及び配列番号 38 からなる群から選択される配列を含む、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 1、配列番号 37 及び配列番号 38 からなる群から選択される配列を含む、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0477】

[00396] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は、aCAR と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は第 1 の発現ベクターによってコードされ、aCAR は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 1 を含む、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 1 を含む、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【0478】

[00397] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は、aCAR と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、iCAR 又は pCAR は第 1 の発現ベクターによってコードされ、aCAR は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR 若しくは pCAR 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 37 を含む、aCAR 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、iCAR 若しく

は p C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 3 7 を含む、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

【 0 4 7 9 】

[00398] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は、a C A R と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は第 1 の発現ベクターによってコードされ、a C A R は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、1) 核酸配列が、配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部；並びに 2) 核酸配列が、配列番号 38 を含む、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態では、第 1 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 6、配列番号 10、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48 及び配列番号 49 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、i C A R 若しくは p C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含み；第 2 の発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 38 を含む、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。

10

【 0 4 8 0 】

[00399] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は、a C A R と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は第 1 の発現ベクターによってコードされ、a C A R は第 2 の発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 1、配列番号 37 及び配列番号 38 からなる群から選択される配列である、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列は、配列番号 1 を含む。いくつかの実施形態において、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列は、配列番号 37 を含む。いくつかの実施形態において、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列は、配列番号 38 を含む。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、核酸配列が、配列番号 2、配列番号 39、配列番号 40、配列番号 41、配列番号 42、配列番号 43、配列番号 44 及び配列番号 45 からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、a C A R 又はその一部をコードする核酸配列を含む。a C A R 又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号 2 を含むアミノ酸配列をコードする。a C A R 又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号 39 を含むアミノ酸配列をコードする。a C A R 又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号 40 を含むアミノ酸配列をコードする。a C A R 又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号 41 を含むアミノ酸配列をコードする。a C A R 又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号 42 を含むアミノ酸配列をコードする。a C A R 又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号 43 を含むアミノ酸配列をコードする。a C A R 又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号 44 を含むアミノ酸配列をコードする。a C A R 又はその一部をコードする核酸配列のいくつかの実施形態では、核酸配列は、配列番号 45 を含むアミノ酸配列をコードする。

20

30

40

【 0 4 8 1 】

[00400] いくつかの実施形態では、定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、i C A R 又は p C A R は、a C A R と同じ発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態において、i C A R 又は p C A R 及び a C A R は、パイシストロニックな核酸ベースの発現ベクターによってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、配列番号 31、配列番号 32 及び配列番号 33 からなる群から選択される核酸配列を含む。い

50

くつかの実施形態では、iCAR又はpCAR及びaCARは、核酸配列が、iCAR又はpCAR及びaCARをコードする、配列番号31、配列番号32及び配列番号33からなる群から選択される核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、核酸配列が、iCAR又はpCAR及びaCARをコードする、配列番号31を含む核酸を含む。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、核酸配列が、iCAR又はpCAR及びaCARをコードする、配列番号32を含む核酸を含む。いくつかの実施形態では、発現ベクターは、核酸配列が、iCAR又はpCAR及びaCARをコードする、配列番号33を含む核酸を含む。

#### 【0482】

vii. 標的細胞の調製

[00401] いくつかの実施形態では、標的細胞は調製され、インビトロの系で試験される。いくつかの実施形態では、オフターゲット細胞に対するaCARの活性を阻害する際のiCAR及び/又はpCAR構築物の機能性を試験するための、インビトロ組換え系が確立されるであろう。いくつかの実施形態では、aCARエピトープ、iCARエピトープ又はその両方を発現する標的細胞が生成されるであろう。いくつかの実施形態では、aCARエピトープ、pCARエピトープ又はその両方を発現する標的細胞が生成されるであろう。いくつかの実施形態では、aCARエピトープを発現する組換え細胞は、オンターゲットの「腫瘍上の」細胞を表し、aCAR及びiCARエピトープの両方を発現する細胞は、オンターゲットの「腫瘍外」の健康な細胞を表すであろう。

#### 【0483】

[00402] いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、HLA（例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む）及びCD19であろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、それぞれHLA（例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む）及びCD19であり、HLA（例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む）、CD19又はその両方を発現する組換え細胞は、これらの遺伝子をコードする発現ベクターで細胞株（例えば、HeLa、HeLa-ルシフェラーゼ又はRaji）をトランスフェクトすることにより生成されるであろう。組換えCD19及びHLA（例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む）発現を検出するために、両方の遺伝子はタンパク質タグ（例えば、HA、又はFlag、又はMycなど）に融合されるであろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、HLA（例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む）であり、組換え細胞は、HLA（例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む）、CD19又はその両方を発現するであろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、HLA-A2及びCD19であろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、それぞれHLA-A2及びCD19であり、HLA-A2、CD19又はその両方を発現する組換え細胞は、これらの遺伝子をコードする発現ベクターで細胞株（例えば、HeLa、HeLa-ルシフェラーゼ又はRaji）をトランスフェクトすることにより生成さ

10

20

30

40

50

れるであろう。組換えCD19及びHLA-A2発現を検出するために、両方の遺伝子はタンパク質タグ（例えば、HA、又はFlag、又はMycなど）に融合されるであろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、HLA-A2であり、組換え細胞は、HLA（例えば、HLA-A2、CD19又はその両方を含む）を発現するであろう。

【0484】

[00403] いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、HLA（例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む）及びEGFRであろう。10  
いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、それぞれHLA（例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む）及びEGFRであり、HLA（例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む）、EGFR又はその両方を発現する組換え細胞は、これらの遺伝子をコードする発現ベクターで細胞株（例えば、HeLa、HeLa-ルシフェラーゼ又はA549又はA431又はU-87又はFadu又はSK-OV-3又はNCI-H460又はMCF7MDA-MB-231）をトランスフェクトすることにより生成されるであろう。組換えEGFR及びHLA（例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む）発現を検出するために、両方の遺伝子はタンパク質タグ（例えば、HA、又はFlag、又はMycなど）に融合されるであろう。組換えEGFR及びHLA（例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む）発現を検出するために、両方の遺伝子はタンパク質タグ（例えば、HA、又はFlag、又はMycなど）に融合されるであろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、HLA-A2であり、組換え細胞は、EGFR、HLA（例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む）又はその両方を発現するであろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A及びEGFRであろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、それぞれHLA-A2及びEGFRであり、HLA-A2、EGFR又はその両方を発現する組換え細胞は、これらの遺伝子をコードする発現ベクターで細胞株（例えば、HeLa、HeLa-ルシフェラーゼ又はA549又はA431又はU-87又はFadu又はSK-OV-3又はNCI-H460又はMCF7MDA-MB-231）をトランスフェクトすることにより生成されるであろう。組換えEGFR及びHLA-A2発現を検出するために、両方の遺伝子はタンパク質タグ（例えば、HA、又はFlag、又はMycなど）に融合されるであろう。組換えEGFR及びHLA-A2発現を検出するために、両方の遺伝子はタンパク質タグ（例えば、HA、又はFlag、又はMycなど）に融合されるであろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットはHLA-A2であり、組換え細胞は、EGFR、HLA-A2又はその両方を発現するであろう。30  
40

【0485】

[00404] いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、HLA（例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、H 50

HLA - E、HLA - F、HLA - DPA1、HLA - DQA1、HLA - DQB1、HLA - DQB2、HLA - DRB1又はHLA - DRB5を含む)及びHER2であろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、それぞれHLA(例えば、HLA - A2、HLA - A3、HLA - A、HLA - B、HLA - C、HLA - G、HLA - E、HLA - F、HLA - DPA1、HLA - DQA1、HLA - DQB1、HLA - DQB2、HLA - DRB1又はHLA - DRB5を含む)及びHER2であり、HLA(例えば、HLA - A2、HLA - A3、HLA - A、HLA - B、HLA - C、HLA - G、HLA - E、HLA - F、HLA - DPA1、HLA - DQA1、HLA - DQB1、HLA - DQB2、HLA - DRB1又はHLA - DRB5を含む)、HER2又はその両方を発現する組換え細胞は、これらの遺伝子をコードする発現ベクターで細胞株(例えば、HeLa、HeLa-ルシフェラーゼ又はA549又はA431又はU-87又はFadu又はSK-OV-3又はNCI-H460又はMCF7MDA-MB-231)をトランスフェクトすることにより生成されるであろう。組換えHER2及びHLA(例えば、HLA - A2、HLA - A3、HLA - A、HLA - B、HLA - C、HLA - G、HLA - E、HLA - F、HLA - DPA1、HLA - DQA1、HLA - DQB1、HLA - DQB2、HLA - DRB1又はHLA - DRB5を含む)発現を検出するために、両方の遺伝子はタンパク質タグ(例えば、HA、又はFlag、又はMycなど)に融合されるであろう。組換えHER2及びHLA(例えば、HLA - A2、HLA - A3、HLA - A、HLA - B、HLA - C、HLA - G、HLA - E、HLA - F、HLA - DPA1、HLA - DQA1、HLA - DQB1、HLA - DQB2、HLA - DRB1又はHLA - DRB5を含む)発現を検出するために、両方の遺伝子はタンパク質タグ(例えば、HA、又はFlag、又はMycなど)に融合されるであろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、HLA(例えば、HLA - A2、HLA - A3、HLA - A、HLA - B、HLA - C、HLA - G、HLA - E、HLA - F、HLA - DPA1、HLA - DQA1、HLA - DQB1、HLA - DQB2、HLA - DRB1又はHLA - DRB5を含む)であり、組換え細胞は、HER2、HLA(例えば、HLA - A2、HLA - A3、HLA - A、HLA - B、HLA - C、HLA - G、HLA - E、HLA - F、HLA - DPA1、HLA - DQA1、HLA - DQB1、HLA - DQB2、HLA - DRB1又はHLA - DRB5を含む)又はその両方を発現するであろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、HLA - A2及びHER2であろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットは、それぞれHLA - A2及びHER2であり、HLA - A2、HER2又はその両方を発現する組換え細胞は、これらの遺伝子をコードする発現ベクターで細胞株(例えば、HeLa、HeLa-ルシフェラーゼ又はA549又はA431又はU-87又はFadu又はSK-OV-3又はNCI-H460又はMCF7MDA-MB-231)をトランスフェクトすることにより生成されるであろう。組換えHER2及びHLA - A2発現を検出するために、両方の遺伝子はタンパク質タグ(例えば、HA、又はFlag、又はMycなど)に融合されるであろう。組換えHER2及びHLA - A2発現を検出するために、両方の遺伝子はタンパク質タグ(例えば、HA、又はFlag、又はMycなど)に融合されるであろう。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットはHLA - A2であり、組換え細胞は、HER2、HLA - A2又はその両方を発現するであろう。

【0486】

[00405] いくつかの実施形態では、iCARは、図22に列挙される標的遺伝子に向けられる。いくつかの実施形態では、aCARは、以下の抗原リストから選択されるがこれに限定されない、非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する：5T4、AFP、AXL、B7H6、CD133、CD19、CD20、CD22、CD30、CD44v6、CD5、CD7、CD70、CD80、CD89、CDH17、CEA、CLD18、CLEC14a、CLL-1、cMet、CS1、EGFR、EGFRvIII、EpCAM、NY-ESO-1、FAP、FHSR、GP100、GPC3、HER2、IL-13R<sub>α1</sub>、IL-13R<sub>α2</sub>、K-Ras、メソテリン、MUC1、M

UC - CD、NKG2Dリガンド、NKG2D\_\_リガンド、PDL1、PSCA、PSMA、ROR1、ROR-2、サバイピン、TEM8、TGF、VEGFR2及びALK。いくつかの実施形態では、iCARは、図22に列挙される標的遺伝子に向けられ、aCARは、以下の抗原リストから選択されるがこれに限定されない、非多型細胞表面エpiteープに向けられるか又は特異的に結合する：5T4、AFP、AXL、B7H6、CD133、CD19、CD20、CD22、CD30、CD44v6、CD5、CD7、CD70、CD80、CD89、CDH17、CEA、CLD18、CLEC14a、CLL-1、cMet、CS1、EGFR、EGFRvIII、EPCAM、NY-ESO-1、FAP、FHSR、GP100、GPC3、HER2、IL-13R\_\_、IL-13R\_\_2、K-Ras、メソテリン、MUC1、MUC-CD、NKG2Dリガンド、NKG2D\_\_リガンド、PDL1、PSCA、PSMA、ROR1、ROR-2、サバイピン、TEM8、TGF、VEGFR2及びALK。

10

## 【0487】

[00406] いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのセットを含む発現ベクターを、細胞にトランスフェクトする。いくつかの実施形態では、発現ベクターを細胞にトランスフェクトして、標的及び腫瘍外効果を生じる。

## 【0488】

[00407] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ABCA4、ADAM30、AQP10、ASTN1、C1orf101、CACNA1S、CATSPER4、CD101、CD164L2、CD1A、CD1C、CD244、CD34、CD46、CELSR2、CHRN2、CLCA2、CLDN19、CLSTN1、CR1、CR2、CRB1、CSF3R、CSMD2、ECE1、ELTD1、EMC1、EPHA10、EPHA2、EPHA8、ERMAP、FCAMR、FCER1A、FCGR1B、FCGR2A、FCGR2B、FCGR3A、FCRL1、FCRL3、FCRL4、FCRL5、FCRL6、GJB4、GPA33、GPR157、GPR37L1、GPR88、HCRTR1、IGSF3、IGSF9、IL22RA1、IL23R、ITGA10、KIAA1324、KIAA2013、LDLRAD2、LEPR、LGR6、LRIG2、LRP8、LRRRC52、LRRRC8B、LRRN2、LY9、MIA3、MR1、MUC1、MXRA8、NCSTN、NFASC、NOTCH2、NPR1、NTRK1、OPN3、OR10J1、OR10J4、OR10K1、OR10R2、OR10T2、OR10X1、OR11L1、OR14A16、OR14I1、OR14K1、OR2AK2、OR2C3、OR2G2、OR2G3、OR2L2、OR2M7、OR2T12、OR2T27、OR2T1、OR2T3、OR2T29、OR2T33、OR2T34、OR2T35、OR2T3、OR2T4、OR2T5、OR2T6、OR2T7、OR2T8、OR2W3、OR6F1、OR6K2、OR6K3、OR6K6、OR6N1、OR6P1、OR6Y1、PDPN、PEAR1、PIGR、PLXNA2、PTCH2、PTCHD2、PTGFRN、PTPRC、PTPRF、PTGFRN、PVRL4、RHBG、RXFP4、S1PR1、SCNN1D、SDC3、SELE、SELL、SELP、SEMA4A、SEMA6C、SLAMF7、SLAMF9、SLC2A7、SLC5A9、TACSTD2、TAS1R2、TIE1、TLR5、TMEM81、TNFRSF14、TNFRSF1B、TRABD2B、USH2A、VCAM1及びZP4からなる群から選択される遺伝子をコードする。

20

30

40

## 【0489】

[00408] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ABCG5、ALK、ASPRV1、ATRAID、CD207、CD8B、CHRN2、CLEC4F、CNTNAP5、CRIM1、CXCR1、DNER、DPP10、EDAR、EPCAM、GPR113、GPR148、GPR35、GPR39、GYPC、IL1RL1、ITGA4、ITGA6、ITGAV、LCT、LHCGR、LRP1B、LRP2、LY75、MARCO、MERTK、NRP2、OR6B2、PLA2R1、PLB1、PROKR1、PROM2、SCN7A、SDC1、SLC23A3、SLC5A6、TGOLN2、T

50

HSD7B、TM4SF20、TMEFF2、TMEM178A、TPO及びTRABD2AD2Aからなる群から選択される遺伝子をコードする。

【0490】

【00409】いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ACKR2、ALCAM、ANO10、ATP13A4、BTLA、CACNA1D、CACNA2D2、CACNA2D3、CASR、CCRL2、CD200、CD200R1、CD86、CD96、CDCP1、CDHR4、CELSR3、CHL1、CLDN11、CLDN18、CLSTN2、CSPG5、CX3CR1、CXCR6、CYP8B1、DCBLD2、DRD3、EPHA6、EPHB3、GABRR3、GP5、GPR128、GPR15、GPR27、GRM2、GRM7、HEG1、HTR3C、HTR3D、HTR3E、IGSF11、IL17RC、IL17RD、IL17RE、IL5RA、IMPG2、ITGA9、ITGB5、KCNMB3、LRIG1、LRRC15、LRRN1、MST1R、NAALADL2、NRROS、OR5AC1、OR5H1、OR5H14、OR5H15、OR5H6、OR5K2、OR5K3、OR5K4、PIGX、PLXNB1、PLXND1、PRRT3、PTPRG、ROBO2、RYK、SEMA5B、SIDT1、SLC22A14、SLC33A1、SLC4A7、SLITRK3、STAB1、SUSD5、TFRC、TLR9、TMEM108、TMEM44、TMPRSS7、TNFSF10、UPK1B、VIPR1及びZPLD1からなる群から選択される遺伝子をコードする。

10

【0491】

【00410】いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ANTXR2、BTC、CNGA1、CORIN、EGF、EMCN、ENPEP、EPHA5、ERVMER34-1、EVC2、FAT1、FAT4、FGFRL1、FRAS1、GPR125、GRID2、GYPA、GYPB、KDR、KIAA0922、KLB、MFSD8、PARM1、PDGFRA、RNF150、TENM3、TLR10、TLR1、TLR6、TMEM156、TMPRSS11A、TMPRSS11B、TMPRSS11E、TMPRSS11F、UGT2A1及びUNC5Cからなる群から選択される遺伝子をコードする。

20

【0492】

【00411】いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ADAM19、ADRB2、BTNL3、BTNL8、BTNL9、C5orf15、CATSPER3、CD180、CDH12、CDHR2、COL23A1、CSF1R、F2RL2、FAM174A、FAT2、FGFR4、FLT4、GABRA6、GABRG2、GPR151、GPR98、GRM6、HAVCR1、HAVCR2、IL31RA、IL6ST、IL7R、IQGAP2、ITGA1、ITGA2、KCNMB1、LIFR、LNPEP、MEGF10、NIPAL4、NPR3、NRG2、OR2V1、OR2Y1、OSMR、PCDH12、PCDH1、PCDHA1、PCDHA2、PCDHA4、PCDHA8、PCDHA9、PCDHB10、PCDHB11、PCDHB13、PCDHB14、PCDHB15、PCDHB16、PCDHB2、PCDHB3、PCDHB4、PCDHB5、PCDHB6、PCDHGA1、PCDHGA4、PDGFRB、PRLR、SEMA5A、SEMA6A、SGCD、SLC1A3、SLC22A4、SLC22A5、SLC23A1、SLC36A3、SLC45A2、SLC6A18、SLC6A19、SLCO6A1、SV2C、TENM2、TIMD4及びUGT3A1からなる群から選択される遺伝子をコードする。

30

40

【0493】

【00412】いくつかの実施形態では、発現ベクターは、BAI3、BTN1A1、BTN2A1、BTN2A2、BTN3A1、BTN3A2、BTNL2、CD83、DCBLD1、DLL1、DPCR1、ENPP1、ENPP3、ENPP4、EPHA7、GABBR1、GABRR1、GCNT6、GFRAL、GJB7、GLP1R、GPR110、GPR111、GPR116、GPR126、GPR63、GPCRC6A、HFE、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DOA、HLA-DPA1、HLA-

50

DPB1、HLA-DQA1、HLA-DQA2、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1、HLA-DRB5、HLA-E、HLA-F、HLA-G、IL20RA、ITPR3、KIAA0319、LMBRD1、LRFN2、LRP11、MA51L、MEP1A、MICA、MICB、MOG、MUC21、MUC22、NCR2、NOTCH4、OPRM1、OR10C1、OR12D2、OR12D3、OR14J1、OR2B2、OR2B6、OR2J1、OR2W1、OR5V1、PDE10A、PI16、PKHD1、PTCRA、PTK7、RAET1E、RAET1G、ROS1、SDIM1、SLC16A10、SLC22A1、SLC44A4、TAAR2、TREM1、TREM1及びTREM2からなる群から選択される遺伝子をコードする。

【0494】

10

[00413] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、AQP1、C7orf50、CD36、CDHR3、CNTNAP2、DPP6、EGFR、EPHA1、EPHB6、ERVW-1、GHRHR、GJC3、GPNMB、GRM8、HUS1、HYAL4、KIAA1324L、LRRN3、MET、MUC12、MUC17、NPC1L1、NPSR1、OR2A12、OR2A14、OR2A25、OR2A42、OR2A7、OR2A2、OR2AE1、OR2F2、OR6V1、PILRA、PILRB、PKD1L1、PLXNA4、PODXL、PTPRN2、PTPRZ1、RAMP3、SLC29A4、SMO、TAS2R16、TAS2R40、TAS2R4、TFR2、THSD7A、TMEM213、TTYH3、ZAN及びZP3からなる群から選択される遺伝子をコードする。

20

【0495】

[00414] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ADAM18、ADAM28、ADAM32、ADAM7、ADAM9、ADRA1A、CDH17、CHRNA2、CSMD1、CSMD3、DCSTAMP、FZD6、GPR124、NRG1、OR4F21、PKHD1L1、PRSS55、SCARA3、SCARA5、SDC2、SLC10A5、SLC39A14、SLC39A4、SLCO5A1、TNFRSF10A及びTNFRSF10Bからなる群から選択される遺伝子をコードする。

【0496】

[00415] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ABCA1、AQP7、ASTN2、C9orf135、CA9、CD72、CNTNAP3B、CNTNAP3、CRB2、ENTPD8、GPR144、GRIN3A、IZUMO3、KIAA1161、MAMDC4、MEGF9、MUSK、NOTCH1、OR13C2、OR13C3、OR13C5、OR13C8、OR13C9、OR13D1、OR13F1、OR1B1、OR1J2、OR1K1、OR1L1、OR1L3、OR1L6、OR1L8、OR1N1、OR1N2、OR1Q1、OR2S2、PCSK5、PDCD1LG2、PLGRKT、PTPRD、ROR2、SEMA4D、SLC31A1、TEK、TLR4、TMEM2及びVLDLRからなる群から選択される遺伝子をコードする。

30

【0497】

[00416] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ABCC2、ADAM8、ADRB1、ANTXR1、ATRNL1、C10orf54、CDH23、CDHR1、CNNM2、COL13A1、COL17A1、ENTPD1、FZD8、FGFR2、GPR158、GRID1、IL15RA、IL2RA、ITGA8、ITGB1、MRC1、NRG3、NPF1R1、NRP1、OPN4、PCDH15、PKD2L1、PLXDC2、PRLHR、RET、RGR、SLC16A9、SLC29A3、SLC39A12、TACR2、TCTN3、TSPAN15、UNC5B及びVSTM4からなる群から選択される遺伝子をコードする。

40

【0498】

[00417] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、AMICA1、ANO1、ANO3、APLP2、C11orf24、CCKBR、CD248、CD44、CD5、CD6、CD82、CDON、CLMP、CRTAM、DCHS1、DSCAML1、FA

50

T 3、F O L H 1、G D P D 4、G D P D 5、G R I K 4、H E P H L 1、H T R 3 B、  
 I F I T M 1 0、I L 1 0 R A、K I R R E L 3、L G R 4、L R P 4、L R P 5、L R  
 R C 3 2、M C A M、M F R P、M M P 2 6、M P E G 1、M R G P R E、M R G P R F  
 、M R G P R X 2、M R G P R X 3、M R G P R X 4、M S 4 A 4 A、M S 4 A 6 A、M  
 T N R 1 B、M U C 1 5、N A A L A D 2、N A A L A D L 1、N C A M 1、N R X N 2  
 、O R 1 0 A 2、O R 1 0 A 5、O R 1 0 A 6、O R 1 0 D 3、O R 1 0 G 4、O R 1 0  
 G 7、O R 1 0 G 8、O R 1 0 G 9、O R 1 0 Q 1、O R 1 0 S 1、O R 1 S 1、O R 2  
 A G 1、O R 2 A G 2、O R 2 D 2、O R 4 A 4 7、O R 4 A 1 5、O R 4 A 5、O R 4  
 C 1 1、O R 4 C 1 3、O R 4 C 1 5、O R 4 C 1 6、O R 4 C 3、O R 4 C 4 6、O R  
 4 C 5、O R 4 D 6、O R 4 A 8 P、O R 4 D 9、O R 4 S 2、O R 4 X 1、O R 5 1 E 10  
 1、O R 5 1 L 1、O R 5 2 A 1、O R 5 2 E 1、O R 5 2 E 2、O R 5 2 E 4、O R 5  
 2 E 6、O R 5 2 I 1、O R 5 2 I 2、O R 5 2 J 3、O R 5 2 L 1、O R 5 2 N 1、O  
 R 5 2 N 2、O R 5 2 N 4、O R 5 2 W 1、O R 5 6 B 1、O R 5 6 B 4、O R 5 A 1、  
 O R 5 A 2、O R 5 A K 2、O R 5 A R 1、O R 5 B 1 7、O R 5 B 3、O R 5 D 1 4、  
 O R 5 D 1 6、O R 5 D 1 8、O R 5 F 1、O R 5 I 1、O R 5 L 2、O R 5 M 1 1、O  
 R 5 M 3、O R 5 P 2、O R 5 R 1、O R 5 T 2、O R 5 T 3、O R 5 W 2、O R 6 A 2  
 、O R 6 T 1、O R 6 X 1、O R 8 A 1、O R 8 B 1 2、O R 8 B 2、O R 8 B 3、O R  
 8 B 4、O R 8 D 1、O R 8 D 2、O R 8 H 1、O R 8 H 2、O R 8 H 3、O R 8 I 2、  
 O R 8 J 1、O R 8 J 2、O R 8 J 3、O R 8 K 1、O R 8 K 3、O R 8 K 5、O R 8 U  
 1、O R 9 G 1、O R 9 G 4、O R 9 Q 2、P 2 R X 3、P T P R J、R O B O 3、S I 20  
 G I R R、S L C 2 2 A 1 0、S L C 3 A 2、S L C 5 A 1 2、S L C O 2 B 1、S O R  
 L 1、S T 1 4、S Y T 8、T E N M 4、T M E M 1 2 3、T M E M 2 2 5、T M P R S  
 S 4、T M P R S S 5、T R I M 5、T R P M 5、T S P A N 1 8 及び Z P 1 からなる群  
 から選択される遺伝子をコードする。

【0499】

[00418] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、A N O 4、A V P R 1 A、B C  
 L 2 L 1 4、C A C N A 2 D 4、C D 1 6 3、C D 1 6 3 L 1、C D 2 7、C D 4、C L  
 E C 1 2 A、C L E C 1 B、C L E C 2 A、C L E C 4 C、C L E C 7 A、C L E C L 1  
 、C L S T N 3、G P R 1 3 3、G P R C 5 D、I T G A 7、I T G B 7、K L R B 1、  
 K L R C 2、K L R C 3、K L R C 4、K L R F 1、K L R F 2、L R P 1、L R P 6、 30  
 M A N S C 1、M A N S C 4、O L R 1、O R 1 0 A D 1、O R 1 0 P 1、O R 2 A P 1  
 、O R 6 C 1、O R 6 C 2、O R 6 C 3、O R 6 C 4、O R 6 C 6、O R 6 C 7 4、O R  
 6 C 7 6、O R 8 S 1、O R 9 K 2、O R A I 1、P 2 R X 4、P 2 R X 7、P R R 4、  
 P T P R B、P T P R Q、P T P R R、S C N N 1 A、S E L P L G、S L C 2 A 1 4、  
 S L C 3 8 A 4、S L C 5 A 8、S L C 6 A 1 5、S L C 8 B 1、S L C O 1 A 2、S L  
 C O 1 B 1、S L C O 1 B 7、S L C O 1 C 1、S S P N、S T A B 2、T A S 2 R 1 0  
 、T A S 2 R 1 3、T A S 2 R 1 4、T A S 2 R 2 0、T A S 2 R 3 0、T A S 2 R 3 1  
 、T A S 2 R 4 2、T A S 2 R 4 3、T A S 2 R 4 6、T A S 2 R 7、T M E M 1 1 9、  
 T M E M 1 3 2 B、T M E M 1 3 2 C、T M E M 1 3 2 D、T M P R S S 1 2、T N F R  
 S F 1 A、T S P A N 8 及び V S I G 1 0 からなる群から選択される遺伝子をコードする 40  
 。

【0500】

[00419] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、A T P 4 B、A T P 7 B、F L  
 T 3、F R E M 2、H T R 2 A、K L、P C D H 8、R X F P 2、S G C G、S H I S A  
 2、S L C 1 5 A 1、S L I T R K 6 及び T N F R S F 1 9 からなる群から選択される遺  
 伝子をコードする。

【0501】

[00420] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、A D A M 2 1、B D K R B 2、  
 C 1 4 o r f 3 7、C L E C 1 4 A、D L K 1、F L R T 2、G P R 1 3 5、G P R 1 3  
 7 C、J A G 2、L T B 4 R 2、M M P 1 4、O R 1 1 G 2、O R 1 1 H 1 2、O R 1 1 50

H 6、OR 4 K 1、OR 4 K 1 5、OR 4 K 5、OR 4 L 1、OR 4 N 2、OR 4 N 5、SLC 2 4 A 4 及びSYNDIG 1 L からなる群から選択される遺伝子をコードする。

【0502】

[00421] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ANPEP、CD 2 7 6、CHRNA 7、CHRNA 4、CSPG 4、DUOX 1、DUOX 2、FAM 1 7 4 B、GLDN、IGDCC 4、ITGA 1 1、LCTL、LTK、LYSMD 4、MEGF 1 1、NOX 5、NRG 4、OCA 2、OR 4 F 4、OR 4 M 2、OR 4 N 4、PRTG、RHCG、SCAMP 5、SEMA 4 B、SEMA 6 D、SLC 2 4 A 1、SLC 2 4 A 5、SLC 2 8 A 1、SPG 1 1、STRA 6、TRPM 1 及びTYRO 3 からなる群から選択される遺伝子をコードする。

10

【0503】

[00422] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ATP 2 C 2、CACNA 1 H、CD 1 9、CDH 1 1、CDH 1 5、CDH 1 6、CDH 3、CDH 5、CNGB 1、CNTNAP 4、GDPD 3、GPR 5 6、GPR 9 7、IFT 1 4 0、IL 4 R、ITFG 3、ITGAL、ITGAM、ITGAX、KCNG 4、MMP 1 5、MSLN 1、NOMO 1、NOMO 3、OR 2 C 1、PIEZO 1、PKD 1、PKD 1 L 2、QPR T、SCNN 1 B、SEZ 6 L 2、SLC 2 2 A 3 1、SLC 5 A 1 1、SLC 7 A 6、SPN、TMC 5、TMC 7、TMEM 2 0 4、TMEM 2 1 9 及びTMEM 8 A からなる群から選択される遺伝子をコードする。

20

【0504】

[00423] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ABCC 3、ACE、AOC 3、ARL 1 7 B、ASGR 2、C 1 7 or f 8 0、CD 3 0 0 A、CD 3 0 0 C、CD 3 0 0 E、CD 3 0 0 L F、CD 3 0 0 L G、CHRNA 1、CLEC 1 0 A、CNTNAP 1、CPD、CXCL 1 6、ERBB 2、FAM 1 7 1 A 2、GCGR、GLP 2 R、GP 1 BA、GPR 1 4 2、GUCY 2 D、ITGA 2 B、ITGA 3、ITGAE、ITGB 3、KCNJ 1 2、LRRC 3 7 A 2、LRRC 3 7 A 3、LRRC 3 7 A、LRRC 3 7 B、MRC 2、NGFR、OR 1 A 2、OR 1 D 2、OR 1 G 1、OR 3 A 1、OR 3 A 2、OR 4 D 1、OR 4 D 2、RNF 4 3、SCARF 1、SCN 4 A、SDK 2、SECTM 1、SEZ 6、SHPK、SLC 2 6 A 1 1、SLC 5 A 1 0、SPACA 3、TMEM 1 0 2、TMEM 1 3 2 E、TNFSF 1 2、TRPV 3、TTYH 2 及びTUSC 5 からなる群から選択される遺伝子をコードする。

30

【0505】

[00424] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、APCDD 1、CDH 1 9、CDH 2 0、CDH 7、COLEC 1 2、DCC、DSC 1、DSG 1、DSG 3、DYNA P、MEP 1 B、PTPRM、SIGLEC 1 5 及びTNFRSF 1 1 A からなる群から選択される遺伝子をコードする。

【0506】

[00425] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ABCA 7、ACPT、BCAM、C 1 9 or f 3 8、C 1 9 or f 5 9、C 5 AR 1、CATSPERD、CATSPERG、CD 2 2、CD 3 2 0、CD 3 3、CD 9 7、CEACAM 1 9、CEACAM 1、CEACAM 2 1、CEACAM 3、CEACAM 4、CLEC 4 M、DLL 3、EMR 1、EMR 2、EMR 3、ERVV - 1、ERVV - 2、FAM 1 8 7 B、FCAR、FFAR 3、FPR 1、FX Y D 5、GFY、GP 6、GPR 4 2、GRIN 3 B、ICAM 3、IGFLR 1、IL 1 2 RB 1、IL 2 7 RA、KIR 2 DL 1、KIR 2 DL 3、KIR 2 DL 4、KIR 3 DL 1、KIR 3 DL 2、KIR 3 DL 3、KIRREL 2、KISS 1 R、LAIR 1、LDLR、LILRA 1、LILRA 2、LILRA 4、LILRA 6、LILRB 1、LILRB 2、LILRB 3、LILRB 4、LILRB 5、LINGO 3、LPHN 1、LRP 3、MADCAM 1、MAG、MEGF 8、MUC 1 6、NCR 1、NOTCH 3、NPHS 1、OR 1 0 H 1、OR 1 0 H 2、OR 1 0 H 3、OR 1 0 H 4、OR 1 I 1、OR 2 Z 1、OR 7 A 1 0、OR 7 C 1、OR 7

40

50

D4、OR7E24、OR7G1、OR7G2、OR7G3、PLVAP、PTGIR、PTPRH、PTPRS、PVR、SCN1B、SHISA7、SIGLEC10、SIGLEC11、SIGLEC12、SIGLEC5、SIGLEC6、SIGLEC8、SIGLEC9、SLC44A2、SLC5A5、SLC7A9、SPINT2、TARM1、TGFBR3L、TMC4、TMEM91、TMEM161A、TMPRSS9、TNFSF14、TNFSF9、TRPM4、VN1R2、VSIG10L、VSTM2B及びZNF4からなる群から選択される遺伝子をコードする。

【0507】

[00426] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ABHD12、ADAM33、ADRA1D、APMAP、ATRN、CD40、CD93、CDH22、CDH26、CDH4、FLRT3、GCNT7、GGT7、JAG1、LRRN4、NPBWR2、OCSTAMP、PTPRA、PTPRT、SEL1L2、SIGLEC1、SIRPA、SIRPB1、SIRPG、SLC24A3、SLC2A10、SLC4A11、STR4及びTHBDからなる群から選択される遺伝子をコードする。

10

【0508】

[00427] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、CLDN8、DSCAM、ICOSLG、IFNAR1、IFNGR2、IGSF5、ITGB2、KCNJ15、NCAM2、SLC19A1、TMPRSS15、TMPRSS2、TMPRSS3、TRPM2及びUMODL1からなる群から選択される遺伝子をコードする。

20

【0509】

[00428] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、CACNA1I、CELSR1、COMT、CSF2RB、GGT1、GGT5、IL2RB、KREMEN1、MCHR1、OR11H1、P2RX6、PKDREJ、PLXNB2、SCARF2、SEZ6L、SSTR3、SUSD2、TMPRSS6及びTNFRSF13Cからなる群から選択される遺伝子をコードする。

【0510】

[00429] いくつかの実施形態では、発現ベクターは、ATP6AP2、ATP7A、CNGA2、EDA2R、FMR1NB、GLRA4、GPR112、GUCY2F、HEPH、P2RY10、P2RY4、PLXNA3、PLXNB3、TLR8、VSIG4及びXGからなる群から選択される遺伝子をコードする。

30

【0511】

[00430] いくつかの実施形態では、上に定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、それらの表面上に、腫瘍関連抗原又は抗原の細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含むaCARと、上に列挙されるもののいずれかなどの、前記aCARの細胞外ドメインに結合するものと異なる抗原である、腫瘍の少なくとも原発組織で発現する抗原の、多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する細胞外ドメインを含むiCARとを発現する。いくつかの実施形態では、iCARは、aCARが発現するのと同じ組織で発現する。いくつかの実施形態では、aCAR及びiCARは、同じ遺伝子の異なる対立遺伝子である。いくつかの実施形態では、aCAR及びiCARは、異なるタンパク質であり、したがって異なる対立遺伝子である。

40

【0512】

A. インビトロアッセイ

[00431] いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARは、多様なアッセイを使用して、有効性及び阻害する能力を含む、効果における活性について試験されるであろう。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARの阻害効果は、インビトロ及び/又はインビボで試験されるであろう。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARの阻害効果は、インビトロで試験されるであろう。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARの阻害効果は、インビボで試験されるであろう。いくつかの実施形態では、インビトロアッセイは、サイトカイン分泌及び/又は細胞傷害性効果を測

50

定する。いくつかの実施形態では、インビボアッセイは、iCAR及び/又はpCARの阻害並びにオンターゲットの腫瘍外の異種移植片の保護を評価するであろう。いくつかの実施形態では、インビボアッセイは、iCAR及び/又はpCARの阻害並びにオンターゲットの腫瘍外の組織及び/又は重要な臓器の保護を評価するであろう。

【0513】

i. ルシフェラーゼ細胞傷害性アッセイ

[00432] いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARは、ルシフェラーゼ細胞傷害性アッセイを使用して評価される。一般に、ルシフェラーゼ細胞傷害性アッセイでは、組換え標的細胞(「T」と称され得る)は、ホタルルシフェラーゼを発現するように操作されている。いくつかの実施形態では、市販のHela-Luc細胞は、標的タンパク質をコードするDNAでトランスフェクトされ得る。インビトロルシフェラーゼアッセイは、Bright-Gloルシフェラーゼアッセイ(Promega若しくはBPS Biosciences又は他の販売者から市販されている)に従って実施することができる。形質導入されたエフェクター(E)T細胞(iCAR若しくはpCARとaCARとの両方、又はaCAR、又はモックCARで形質導入されている)は、HLA-A2、CD19又はCD19とHLA-A2との両方、又はCD20、又はCD20とCD19との両方を発現する組換え標的細胞と、24~48時間インキュベートして、異なるエフェクター対標的の比で試験することができる。いくつかの実施形態では、iCAR/aCAR又はpCAR/aCARのペアは、上記の構成要素とともに、aCAR、pCAR及び/又はiCARのいずれかを含む。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのペアは、HLA-A2標的化iCAR及びCD19標的化aCARを含む。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのペアは、CD20標的化iCAR及びCD19標的化aCARを含む。細胞殺傷は、Bright-Gloルシフェラーゼ系を用いて生細胞数を推定することによって間接的に定量化されるであろう。

10

20

【0514】

[00433] いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARは、ルシフェラーゼ細胞傷害性アッセイを使用して評価される。一般に、ルシフェラーゼ細胞傷害性アッセイでは、組換え標的細胞(「T」と称され得る)は、ホタルルシフェラーゼを発現するように操作されている。いくつかの実施形態では、市販のHela-Luc細胞は、標的タンパク質をコードするDNAでトランスフェクトされ得る。インビトロルシフェラーゼアッセイは、Bright-Gloルシフェラーゼアッセイ(Promega若しくはBPS Biosciences又は他の販売者から市販されている)に従って実施することができる。形質導入されたエフェクター(E)T細胞(iCAR若しくはpCARとaCARとの両方、又はaCAR、又はモックCARで形質導入されている)は、HLA-A2、EGFR又はEGFRとHLA-A2との両方、又はCD20、又はCD20とEGFRとの両方を発現する組換え標的細胞と、24~48時間インキュベートして、異なるエフェクター対標的の比で試験することができる。いくつかの実施形態では、iCAR/aCAR又はpCAR/aCARのペアは、上記の構成要素とともに、aCAR、pCAR及び/又はiCARのいずれかを含む。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのペアは、HLA-A2標的化iCAR及びEGFR標的化aCARを含む。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのペアは、CD20標的化iCAR及びEGFR標的化aCARを含む。細胞殺傷は、Bright-Gloルシフェラーゼ系を用いて生細胞数を推定することによって間接的に定量化されるであろう。

30

40

【0515】

[00434] いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARは、ルシフェラーゼ細胞傷害性アッセイを使用して評価される。一般に、ルシフェラーゼ細胞傷害性アッセイでは、組換え標的細胞(「T」と称され得る)は、ホタルルシフェラーゼを発現するように操作されている。いくつかの実施形態では、市販のHela-Luc細胞は、標的タンパク質をコードするDNAでトランスフェクトされ得る。インビトロルシフェラーゼアッセイは、Bright-Gloルシフェラーゼアッセイ(Promega若しくはBPS Biosciences

50

又は他の販売者から市販されている)に従って実施することができる。形質導入されたエフェクター(E)T細胞(iCAR若しくはpCARとaCARとの両方、又はaCAR、又はモックCARで形質導入されている)は、HLA-A2、HER2又はHER2とHLA-A2との両方を発現する組換え標的細胞と、24~48時間インキュベートして、異なるエフェクター対標的の比で試験することができる。いくつかの実施形態では、iCAR/aCAR又はpCAR/aCARのペアは、上記の構成要素とともに、aCAR、pCAR及び/又はiCARのいずれかを含む。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのペアは、HLA-A2標的化iCAR及びHER2標的化aCARを含む。いくつかの実施形態では、iCAR/aCARのペアは、CD20標的化iCAR及びHER2標的化aCARを含む。細胞殺傷は、Bright-Gloルシフェラーゼ系を用いて生細胞数を推定することによって間接的に定量化されるであろう。

10

## 【0516】

[00435] いくつかの実施形態では、「腫瘍外」細胞傷害性は、iCAR/aCAR発現レベルに従って、形質導入T細胞集団を選別するか、又は例えば少なくとも1つの細胞外多型エピトープをコードする遺伝子生成物の発現を含む、それらの標的発現に従って組換え標的細胞のサブ集団を選択することによって最適化することができる。いくつかの実施形態では、aCAR、iCAR及び/又はpCAR標的は、細胞外ドメインを有する任意の標的である。いくつかの実施形態では、選別は、CD19、EGFR、HER2又はHLA-A2発現レベルに基づく。

## 【0517】

[00436] いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARは、iCAR形質導入T細胞が「腫瘍上」細胞(例えば、腫瘍細胞)と「腫瘍外」細胞(例えば、非腫瘍細胞)とを区別することができるかどうかを決定するためにインビトロで検査される。一般に、これは、1:1の比の「腫瘍上」細胞と「腫瘍外」細胞との混合物とインキュベートして、形質導入T細胞の殺傷効果を検査することによって試験される。いくつかの実施形態では、比は、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7又は1:8である。腫瘍上組換え細胞は、一度に1つの細胞集団のみがルシフェラーゼ遺伝子を発現するように操作されるであろう実施形態では、ルシフェラーゼ発現によって「腫瘍外」組換え細胞と区別することができる)。殺傷は、Bright-Gloルシフェラーゼアッセイ(Promega)を使用して24~48時間のコインキュベーション後に定量化することができる。

20

30

## 【0518】

[00437] いくつかの実施形態では、iCAR/aCAR及び/又はpCAR/aCAR形質導入T細胞は、aCARで形質導入されているがiCAR及び/又はpCARで形質導入されていないT細胞と比較して、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%及び/又は約95%少ない腫瘍外細胞殺傷を呈する。いくつかの実施形態では、iCAR/aCAR及び/又はpCAR/aCAR形質導入T細胞は、aCARで形質導入されているがiCAR及び/又はpCARで形質導入されていないT細胞と比較して、約1分の1、約2分の1、約3分の1、約4分の1、約5分の1又は約10分の1の腫瘍外細胞殺傷を呈する。

## 【0519】

ii. カスパーゼ3

[00438] いくつかの実施形態では、カスパーゼ3検出アッセイを採用して、iCAR及び/又はpCARを検査して、「腫瘍上」細胞(例えば、腫瘍細胞)及び「腫瘍外」細胞(例えば、非腫瘍細胞)のアポトーシスのレベルをインビトロで決定する。いくつかの実施形態では、活性化開裂カスパーゼ3に対する抗体による細胞傷害性リンパ球(CTL)誘導アポトーシスのカスパーゼ3検出を検査する。

40

## 【0520】

[00439] 一般に、CTLが標的細胞を殺傷する経路の1つは、Fasリガンドを通してアポトーシスを誘導することによる。CASP3タンパク質は、システイン-アスパラギン酸プロテアーゼ(カスパーゼ)ファミリーのメンバーである。典型的には、カスパー

50

ゼの連続的な活性化は、細胞アポトーシスの実行段階で重要な役割を果たし、そのため、プロカスパーゼ3からカスパーゼ3への開裂は、立体構造的変化及び触媒活性の発現を生じる。開裂した活性化形態のカスパーゼ3は、モノクローナル抗体によって特異的に認識されることができる。

#### 【0521】

[00440] いくつかの実施形態では、形質導入T細胞は、「腫瘍上」（例えば、腫瘍を模倣する）及び「腫瘍外」細胞（例えば、非腫瘍を模倣する）組換え細胞のいずれかとインキュベートされ得る。いくつかの実施形態では、「腫瘍上」（例えば、腫瘍）及び「腫瘍外」細胞（例えば、非腫瘍）組換え細胞は、CFSE（（5（6）-カルボキシフルオレセインN-ヒドロキシスクシンイミジルエステル））又は他の細胞トレーサー色素（例えば、CellTrace Violet）で事前に標識されている。いくつかの実施形態では、標的細胞とエフェクター細胞とのコインキュベーションは、約1時間～約6時間、約2時間～約5時間又は約2～約4時間行われる。いくつかの実施形態では、標的細胞アポトーシスは、フローサイトメトリーによって定量化される。細胞を透過処理し、内部染色キット（Miltenyi又はBD bioscience）によって固定し、活性化カスパーゼ3（BD bioscience）の抗体で染色し得る。

10

#### 【0522】

[00441] いくつかの実施形態では、iCAR/aCAR及び/又はpCAR/aCAR形質導入T細胞は、aCARで形質導入されているがiCAR及び/又はpCARで形質導入されていないT細胞と比較して、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%及び/又は約95%少ない腫瘍外細胞アポトーシスを誘導する。いくつかの実施形態では、aCAR/iCAR及び/又はaCAR/pCAR形質導入T細胞は、aCARで形質導入されているがiCAR及び/又はpCARで形質導入されていないT細胞と比較して、約1分の1、約2分の1、約3分の1、約4分の1、約5分の1又は約10分の1の腫瘍外細胞アポトーシスを誘導する。

20

#### 【0523】

i i i . タイムラプス顕微鏡  
経時的マイクロCTL -

[00442] 標的結合を識別するために、iCAR及び/又はpCAR形質導入T細胞のタイムラプス顕微鏡法を採用することができる。いくつかの実施形態では、標的細胞は、レポーター遺伝子（例えば、限定されないが、mCherryなどの蛍光タンパク質）で標識されるであろう。いくつかの実施形態では、形質導入T細胞は、「腫瘍上」又は「腫瘍外」細胞のいずれかと最大5日間インキュベートされる。いくつかの実施形態では、タイムラプス顕微鏡法を使用して、殺傷を視覚化することができる。いくつかの実施形態では、エンドポイント時点での標的細胞数を決定するために、生存細胞数染色及びCountBrightビーズ（Invitrogen）を使用するフローサイトメトリー分析が行われるであろう。

30

#### 【0524】

[00443] いくつかの実施形態では、aCAR/iCAR又はaCAR/pCAR形質導入T細胞がインビトロで標的を識別することができるかどうかを決定するために、各組換え標的細胞（「腫瘍上」又は「腫瘍外」）は、異なるレポータータンパク質（例えば、GFP及びmCherry）で標識される。いくつかの実施形態では、容易に区別可能な2つのレポーターをレポーターペアが含有する限り、任意のレポータータンパク質ペアが機能するであろう。いくつかの実施形態では、形質導入T細胞（エフェクター細胞）は、1：1のE/Tの比で、組換え細胞（標的細胞）とコインキュベートされるであろう。いくつかの実施形態では、エフェクター対標的の比率（E/T）には、限定されないが、16：1、12：1、10：1、8：1、6：1、4：1、2：1又は1：1が含まれる。いくつかの実施形態では、次いで顕微鏡画像化によって細胞運命が検査される。

40

#### 【0525】

i v . サイトカイン放出

[00444] T細胞の活性化を決定するために、サイトカインの放出を検査し得る。いく

50

つかの実施形態では、iCAR/aCAR及び/又はpCAR/aCAR形質導入T細胞を組換え標的細胞とインキュベートし、例えばBioLegendのELISA MAX(商標)デラックスセットキットに従って細胞培養上清中のサイトカイン分泌を測定すること又はサイトカインを生成するT細胞の割合のフローサイトメトリー分析のいずれかにより、1つ以上のサイトカインのサイトカイン生成を定量化する。フローサイトメトリー分析では、一般に、サイトカインの分泌を防止するためにゴルジストップが採用されている。いくつかの実施形態では、6時間及び18時間~24時間の形質導入T細胞の標的細胞とのインキュベーションに続き、T細胞を透過処理し、内部染色キット(Miltenyi)によって固定し、T細胞マーカー(CD3及びCD8)及び1つ以上のサイトカインの抗体で染色するであろう。いくつかの実施形態では、サイトカインには、限定されないが、IL-2、INF及び/又はTNFが含まれる。

10

#### 【0526】

##### v. CD107a染色

[00445] 形質導入T細胞の細胞溶解活性を決定するために、CD107aの染色も検査し得る。一般に、T細胞の脱顆粒は、リソソーム関連膜タンパク質(LAMP-1)であるCD107aの表面発現によって同定することができ、LAMP-1の表面発現は、CD8 T細胞の細胞傷害性と相関することが示されている。さらに、この分子は、リソソームの管腔側に位置する。典型的には、CD107aは、活性化すると、活性化したリンパ球の細胞膜表面に移動する。さらに、CD107aは、細胞表面上に一過性に発現し、エンドサイトーシス経路を介して迅速に再内部化される。したがって、理論に縛られるわけではないが、CD107aの検出は、細胞刺激中の抗体染色及びモネンシンの添加(例えば、エンドサイトーシスされたCD107a抗体複合体の酸性化及びその後の分解を防止するため)によって最大化される。

20

#### 【0527】

[00446] いくつかの実施形態では、aCAR/iCAR及び/又はaCAR/pCAR形質導入T細胞を、標的細胞と約6時間~約24時間インキュベートし、CD8 T細胞上のCD107aの発現を検査する。いくつかの実施形態では、標的細胞は、(腫瘍細胞におけるように)aCARによって認識される1つの標的タンパク質のみ又は(正常細胞におけるように)aCAR及びiCARによって認識される両方の標的タンパク質を発現する標的細胞を発現する。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCAR形質導入T細胞を、モネンシンの存在下で標的細胞と約6時間~約24時間インキュベートし、CD8 T細胞上でのCD107a発現後、T細胞表面マーカー(例えば、CD3及びCD8)の共役抗体及びCD107aの共役抗体を使用するフローサイトメトリーが続く。

30

#### 【0528】

##### v i . ELISAによる分泌サイトカインの定量化

[00447] いくつかの実施形態では、iCAR若しくはaCAR又はaCAR及びiCARの両方を発現する形質導入T細胞(Jurkat又は一次T細胞)の改変標的細胞との共培養に続き、iCAR若しくはaCAR又はaCAR及びiCARの両方の抗原をそれらの細胞表面上に発現する条件培地が収集され、サイトカインELISAによってサイトカインの濃度が測定される。いくつかの実施形態では、サイトカインは、IL-2、INF及び/又はTNFからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、サイトカインは、IL-2からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、サイトカインは、INFからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、サイトカインは、TNFからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%又は約99%の減少が、二重CAR(aCAR/iCAR)形質導入細胞で実証される。

40

#### 【0529】

v i i . サイトメトリービーズアレイ(CBA)アッセイによって測定されるサイトカイ

50

## ン分泌

[00448] サイトメトリーピースアレイ (CBA) を使用して、サイトカイン、ケモカイン及び成長因子を含む多様な可溶性及び細胞内タンパク質を測定する。いくつかの実施形態では、aCAR又はaCAR及びiCARの両方の構築物で形質導入されたT細胞 (一次T細胞又はJurkat細胞) (エフェクター細胞) は、細胞表面上にiCAR及びaCARの両方又はaCAR若しくはiCAR標的抗原を発現する改変標的細胞で刺激される。いくつかの実施形態では、エフェクター対標的比は、20:1~最大1:1の範囲である。いくつかの実施形態では、エフェクター対標的比は、20:1、19:1、18:1、17:1、16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、9:1、8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1又は1:1の範囲である。いくつかの実施形態では、数時間のコインキュベーションに続き、エフェクター細胞は、サイトカインを生成及び分泌し、これはそれらのエフェクター状態を示す。いくつかの実施形態では、反応の上清を収集し、分泌されたIL-2を測定し、マルチプレックスCBAアッセイによって定量化した。

## 【0530】

[00449] いくつかの実施形態では、同じエフェクター細胞の、1つのみの標的を発現する標的細胞とのコインキュベーションから生じるIL-2分泌と比較して、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%又は約99%の減少が、両方の標的抗原を発現する標的細胞とコインキュベーションされた二重CAR (aCAR/iCAR) 形質導入細胞で実証される。いくつかの実施形態では、二重CAR (aCAR/iCAR) 形質導入細胞を両方の標的抗原を発現する標的細胞とコインキュベーションすると、同じエフェクター細胞の、1つのみの標的を発現する標的細胞とのコインキュベーションから生じるIL-2分泌と比較して、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%又は約99%のIL-2分泌の減少が実証された。いくつかの実施形態では、86%の減少。いくつかの実施形態では、aCARは、CD19 aCARである。いくつかの実施形態では、iCARは、HLA-A2 iCARである。いくつかの実施形態では、iCARは、CD20 iCARである。いくつかの実施形態では、aCAR/iCARペアは、CD19 aCAR及びHLA-A2 iCARである。いくつかの実施形態では、aCAR/iCARペアは、CD19 aCAR及びCD20 iCARである。いくつかの実施形態では、aCARは、EGFR aCARである。いくつかの実施形態では、iCARは、HLA-A2 iCARである。いくつかの実施形態では、aCAR/iCARペアは、EGFR aCAR及びHLA-A2 iCARである。いくつかの実施形態では、aCARは、HER2 aCARである。いくつかの実施形態では、iCARは、HLA-A2 iCARである。いくつかの実施形態では、aCAR/iCARペアは、HER2 aCAR及びHLA-A2 iCARである。いくつかの実施形態では、aCAR/iCARペアは、HER2 aCAR及びCD20 iCARである。

## 【0531】

[00450] いくつかの実施形態では、aCAR/iCARペアは、CD19 aCAR及びHLA (例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む) iCARである。いくつかの実施形態では、aCAR/iCARペアは、EGFR aCAR及びHLA (例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む) iCARである。いくつかの実施形態では、aCAR/iCARペアは、HER2 aCAR及びHLA (例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-

C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む) iCARである。

【0532】

v i i i . CD107a染色によって測定されるT細胞脱顆粒化アッセイ

[00451] いくつかの実施形態では、T細胞の脱顆粒化は、リソソーム関連膜タンパク質(LAMP-1)であるCD107aの表面発現によって同定することができる。いくつかの実施形態では、LAMP-1の表面発現は、CD8 T細胞の細胞傷害性と相関することが示されている。いくつかの実施形態では、顆粒化(CD107a)は、殺傷能力のマーカーである。

10

【0533】

B. インビボアッセイ

[00452] いくつかの実施形態では、iCAR/aCAR及び/又はiCAR/pCARのペアは、インビボでの有効性について試験される。いくつかの実施形態では、NOD/SCID/c-又は同様のマウスに、腫瘍細胞を静脈内接種する。いくつかの実施形態では、腫瘍細胞は、ホタルルシフェラーゼを発現するように操作されたCD19陽性NALM6(ATCC、ヒトB-ALL細胞株)細胞である。いくつかの実施形態では、腫瘍細胞は、ホタルルシフェラーゼ及び又はGFP又はmCherry又は他のレポーターを発現するように設計された、EGFR及びHER2陽性細胞株A549、A431、Fadu、SK-OV-3、U-87、MCF7、MDA-MB-231及び/又はNCI-H460(ATCC細胞株)細胞である。いくつかの実施形態では、「オンターゲット」細胞及び「腫瘍外」細胞の確立及び/又は分化のために、iCAR及び/又はpCARエピトープを発現するようにNALM6、A549、A431、Fadu、SK-OV-3、U-87、MCF7、MDA-MB-231及び/又はNCI-H460を操作し、それにより健康な細胞を表すことができる。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARエピトープは、少なくとも1つの細胞外多型エピトープを含む。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARエピトープは、HLA(例えば、HLA-A2、HLA-A3、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-DPA1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1又はHLA-DRB5を含む)からのものである。いくつかの実施形態では、iCAR及び/又はpCARエピトープは、HLA-A2に由来する。これらのアッセイで採用され得る他の細胞には、限定されないが、Raji又は任意の他の組換え細胞株が含まれる。いくつかの実施形態では、かかるアッセイは、PDX(患者由来異種移植片)モデルであり得る。

20

30

【0534】

[00453] アッセイでは、マウスは、1つの群にはNALM6、A549、A431、Fadu、SK-OV-3及び/又はU-87、MCF7、MDA-MB-231、NCI-H460細胞が注射され、他方にはiCARエピトープを発現するNALM-6、A549、A431、Fadu、SK-OV-3、U-87、MCF7、MDA-MB-231及び/又はNCI-H460が注射される研究群に分けられるであろう。数日後、マウスは、aCAR、aCAR/iCARで形質導入したT細胞及び非形質導入T細胞又はT細胞なしの対照群を静脈内注入されるであろう。マウスを犠牲にし、総フラックスに従って腫瘍負荷が定量化されるであろう。

40

【0535】

[00454] アッセイの一実施形態によれば、iCAR及び/又はpCAR構築物を発現するT細胞が、同じ生物内のインビボで、標的細胞とオフターゲット細胞とを区別することができるかどうかを試験するために、マウスに「腫瘍上」/「腫瘍外」NALM-6、A549、A431、Fadu、SK-OV-3、U-87、MCF7、MDA-MB-231及び/又はNCI-H460細胞の1:1混合物を注射し、続いてaCAR単独又はaCAR及びiCARの両方のいずれかを発現する形質導入T細胞を注射する。この実

50

施形態では、マウスを犠牲する際に、フローサイトメトリーにより、2つのマーカー、CD19及びiCARエピトープでの脾臓及び骨髄の「腫瘍上」及び「腫瘍外細胞の存在が分析されるであろう。別の実施形態では、マウスを犠牲する際に、フローサイトメトリーにより、2つのマーカー、EGFR及びiCARエピトープでの脾臓及び骨髄の「腫瘍上」及び「腫瘍外細胞の存在が分析されるであろう。さらなる実施形態では、マウスを犠牲する際に、フローサイトメトリーにより、2つのマーカー、HER2及びiCARエピトープでの脾臓及び骨髄の「腫瘍上」及び「腫瘍外細胞の存在が分析されるであろう。

【0536】

i . ヒト異種移植片マウスモデルにおけるインビボCTLアッセイ

[00455] いくつかの実施形態では、aCAR及びiCAR構築物の両方を発現するT細胞が、同じ生物内で、標的細胞と「オフターゲット」細胞とを区別するかどうか、並びに「オフターゲット」細胞を生かしながら標的細胞を効果的に殺傷するかどうかを試験するために、インビボCTLアッセイによって評価される。

10

【0537】

[00456] いくつかの実施形態では、iCAR若しくはaCAR又はiCAR及びaCARの両方で形質導入されたT細胞を、ナイーブNOD/SCID/c-又は同様のマウスはi.v.注射され、最大数時間後に、iCAR、aCAR又はその両方を発現する標的細胞を注射されるであろう。いくつかの実施形態では、これらの標的は、それらの間のさらなる区別を可能にするであろう、異なる濃度（高、中及び低）のCFSE/CPDE又は同様の細胞のトレース色素のいずれかで標識されるであろう。いくつかの実施形態では、実施例5に記載されるように、特定の殺傷割合が計算されるであろう。

20

【0538】

ii . ヒト異種移植片マウスモデルにおける腫瘍成長動態

[00457] いくつかの実施形態では、腫瘍細胞は、iCAR標的、aCAR標的又は両方のいずれかを発現する。いくつかの実施形態では、aCAR腫瘍細胞株は、CD19陽性NALM6（ATCC、ヒトBALL細胞株）又はEGFR又はHER2陽性細胞株A549、A431、Fadu、SK-OV-3、U-87、MCF7、MDA-MB-231及び/又はNCI-H460（ATCC細胞株）であり得る。いくつかの実施形態では、aCAR及びiCARの両方を発現する腫瘍細胞（すなわち「腫瘍外」細胞）は、iCARエピトープ（例えば、HLA-A2）を発現するように操作され、それにより健康な細胞を表すNALM6、A549、A431、Fadu、SK-OV-3、U-87、MCF7、MDA-MB-231及び/又はNCI-H460である。いくつかの実施形態では、NALM6及びNALM6-HLA-A2は、容易な検出のために、レポーター遺伝子（例えば、ホタルルシフェラーゼ、GFP、mCherry）を発現するように操作することもできる。いくつかの実施形態では、A549及びA549-HLA-A2は、容易な検出のために、レポーター遺伝子（例えば、ホタルルシフェラーゼ）を発現するように操作することもできる。いくつかの実施形態では、A431及びA431-HLA-A2は、容易な検出のために、レポーター遺伝子（例えば、ホタルルシフェラーゼ）を発現するように操作することもできる。いくつかの実施形態では、Fadu及びFadu-HLA-A2は、容易な検出のために、レポーター遺伝子（例えば、ホタルルシフェラーゼ）を発現するように操作することもできる。いくつかの実施形態では、SK-OV-3及びSK-OV-3-HLA-A2は、容易な検出のために、レポーター遺伝子（例えば、ホタルルシフェラーゼ）を発現するように操作することもできる。いくつかの実施形態では、NCI-H460及びNCI-H460-HLA-A2は、容易な検出のために、レポーター遺伝子（例えば、ホタルルシフェラーゼ）を発現するように操作することもできる。いくつかの実施形態では、U-87及びU-87-HLA-A2は、容易な検出のために、レポーター遺伝子（例えば、ホタルルシフェラーゼ）を発現するように操作することもできる。いくつかの実施形態では、MCF7及びMCF7-HLA-A2は、容易な検出のために、レポーター遺伝子（例えば、ホタルルシフェラーゼ）を発現するように操作することもできる。いくつかの実施形態では、MDA-MB-231及びMDA-MB

30

40

50

- 231 - H L A - A 2 は、容易な検出のために、レポーター遺伝子（例えば、ホタルルシフェラーゼ）を発現するように操作することもできる。いくつかの実施形態では、N C I - H 4 6 0 及び N C I - H 4 6 0 - H L A - A 2 は、容易な検出のために、レポーター遺伝子（例えば、ホタルルシフェラーゼ）を発現するように操作することもできる。

【0539】

[00458] いくつかの実施形態では、モニタリングは、機械的手段（キャリパー）によって腫瘍体積を測定し、且つインビボ画像化システム（I V I S）を使用することによっても行われるであろう。いくつかの実施形態では、腫瘍負荷を定量化し得、浸潤性 T 細胞集団を F A C S によって分析し得る。

【0540】

i i i . トランスジェニックマウスモデルにおける毒性及び腫瘍成長動態

[00459] いくつかの実施形態では、ヒト a C A R 及び i C A R 標的を発現するトランスジェニックマウスも使用して、形質導入 T 細胞の有効性が決定されるであろう。いくつかの実施形態では、系により、有効性及び毒性の問題のモニタリングが可能になるであろう。

【0541】

C . インビボ使用：処置、バイオマーカー

[00460] さらに別の態様では、本発明は、L O H によって特徴付けられる腫瘍を有する対象のための個別化されたバイオマーカーを選択する方法であって、( i ) 対象から腫瘍生検を得ることと、( i i ) 対象から正常組織の試料、例えば P B M C を得ることと、( i i i ) L O H に起因して腫瘍の細胞によって発現されないが、正常組織の細胞によって発現される多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションを同定し、それにより対象のための個別化されたバイオマーカーを同定することを含む方法を提供する。

【0542】

[00461] いくつかの実施形態では、バイオマーカーは、対象の処置をカスタマイズするために使用されるため、方法は、上に定義されるエフェクター免疫細胞を患者に投与することを含む、L O H によって特徴付けられる腫瘍を有する患者の癌を処置するステップであって、i C A R が、( i i i ) で同定された単一对立遺伝子バリエーションに向けられる、処置するステップをさらに含む。いくつかの実施形態では、本発明は、L O H によって特徴付けられる腫瘍を有する対象のための個別化されたバイオマーカーを選択する方法であって、( i ) 対象から腫瘍生検を得ることと、( i i ) 対象から正常組織の試料、例えば P B M C を得ることと、( i i i ) L O H に起因して腫瘍の細胞によって発現されないが、正常組織の細胞によって発現される多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションを、L O H 候補スコアに基づいて同定することであって、対立遺伝子バリエーションが、対象のための個別化されたバイオマーカーとして同定される、同定することを含む方法を提供する。

【0543】

[00462] さらに別の態様では、本発明は、L O H によって特徴付けられる腫瘍を有する患者の癌を処置するための方法であって、上に定義されるエフェクター免疫細胞を患者に投与することを含み、i C A R が、ヘテロ接合性の喪失（L O H）に起因して腫瘍の細胞に存在しないが、少なくとも患者の関連する哺乳類の正常組織の全ての細胞上に存在する多型細胞表面エピトープをコードする単一对立遺伝子バリエーションに向けられる、方法を提供する。

【0544】

[00463] 同様の態様では、本発明は、L O H によって特徴付けられる腫瘍を有する患者の腫瘍負荷を低減する方法であって、上に定義されるエフェクター免疫細胞を患者に投与することを含み、i C A R が、ヘテロ接合性の喪失（L O H）に起因して腫瘍の細胞に存在しないが、少なくとも患者の関連する哺乳類の正常組織の全ての細胞又は a C A R を発現する少なくとも重要組織上に存在する多型細胞表面エピトープをコードする単一对立遺伝子バリエーションに向けられる、方法を提供する。

10

20

30

40

50

## 【0545】

[00464] 別の同様の態様では、本発明は、LOHによって特徴付けられる腫瘍を有する患者の生存率を増加する方法であって、上に定義されるエフェクター免疫細胞を患者に投与することを含み、iCARが、ヘテロ接合性の喪失(LOH)に起因して腫瘍の細胞に存在しないが、少なくとも患者の関連する哺乳類の正常組織の全ての細胞上に存在する多型細胞表面エピトープをコードする単一对立遺伝子バリエーションに向けられる、方法を提供する。

## 【0546】

[00465] なおさらなる態様では、本発明は、LOHによって特徴付けられる腫瘍を有する患者の、処置、腫瘍負荷の低減又は生存率の増加における使用のための、上に定義される安全なエフェクター免疫細胞であって、iCARが、ヘテロ接合性の喪失(LOH)に起因して腫瘍の細胞に存在しないが、少なくとも患者の関連する哺乳類の正常組織の全ての細胞上に存在する多型細胞表面エピトープをコードする単一对立遺伝子バリエーションに向けられる、安全なエフェクター免疫細胞に関する。

10

## 【0547】

[00466] さらにさらなる態様では、本発明は、LOHによって特徴付けられる腫瘍を有する患者の癌を処置するための方法であって、(i) LOHに起因して腫瘍の細胞によって発現されないが、正常組織の細胞によって発現される多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションを同定する情報を同定又は受領することと、(ii) 抗原の非多型細胞表面エピトープ又は多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションを同定する情報を同定又は受領することであって、前記エピトープが、腫瘍関連抗原であるか、又は前記癌患者の少なくとも関連する腫瘍の細胞と正常組織の細胞とによって共有される、情報を同定又は受領することと、(iii) 本明細書で上に定義されるiCARを定義する少なくとも1つの核酸分子及び本明細書で上に定義されるaCARをコードするヌクレオチド配列を含む少なくとも1つの核酸分子又は本明細書で上に定義される少なくとも1つのベクターを選択又は受領することであって、iCARが、(i)の細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含み、aCARが、(ii)の細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含む、選択又は受領することと、(iv) (iii)の核酸分子でエフェクター免疫細胞をトランスフェクトすること、又は(iii)のベクターでエフェクター免疫細胞を形質導入することにより、安全な向け直されたエフェクター免疫細胞の少なくとも1つの集団を調製又は受領することと、(v) 前記癌患者に、(iv)の安全な向け直された免疫エフェクター細胞の少なくとも1つの集団を投与することを含む、方法に関する。

20

30

## 【0548】

[00467] 同様の態様では、本発明は、LOHによって特徴付けられる腫瘍を有する患者の癌を処置するための、安全な向け直された免疫エフェクター細胞の少なくとも1つの集団であって、安全な向け直された免疫細胞が、(i) LOHに起因して腫瘍の細胞によって発現されないが、正常組織の細胞によって発現される多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションを同定する情報を同定又は受領することと、(ii) 抗原の非多型細胞表面エピトープ又は多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションを同定する情報を同定又は受領することであって、前記エピトープが、腫瘍関連抗原であるか、又は前記癌患者の少なくとも関連する腫瘍の細胞と正常組織の細胞とによって共有される、情報を同定又は受領することと、(iii) 本明細書で上に定義されるiCARを定義する少なくとも1つの核酸分子及び本明細書で上に定義されるaCARをコードするヌクレオチド配列を含む少なくとも1つの核酸分子又は本明細書で上に定義される少なくとも1つのベクターを選択又は受領することであって、iCARが、(i)の細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含み、aCARが、(ii)の細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含む、選択又は受領することと、(iv) (iii)の核酸分子でエフェクター免疫細胞をトランスフェクトすること、又は(iii)のベクターでエフェクター免疫細胞を形質導入することにより、安全な向け直されたエフェク

40

50

ター免疫細胞の少なくとも1つの集団を調製又は受領することによって得られる、免疫エフェクター細胞の少なくとも1つの集団を提供する。

【0549】

[00468] 癌の処置又は癌の処置における使用のための安全な免疫エフェクター細胞に関する上の実施形態のいずれか1つを参照するいくつかの実施形態では、(i) iCARの細胞外ドメインは、aCARの細胞外ドメインに結合するものと異なる抗原である、抗原の多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合するか、(ii) 前記iCARの細胞外ドメインは、前記aCARの細胞外ドメインに結合する同じ抗原の異なる多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合するか、又は(iii) iCARの細胞外ドメインは、前記aCARの細胞外ドメインに結合する同じ多型細胞表面エピトープの異なる単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する。

10

【0550】

[00469] いくつかの実施形態では、(iii)のaCARを発現するが、(iii)のiCARが欠如している免疫エフェクター細胞の少なくとも1つの集団を癌患者に投与することを含む処置と比較して、処置は、低減されたオンターゲット腫瘍外反応性を生じる。

【0551】

[00470] いくつかの実施形態では、上に定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、それらの表面上に、腫瘍関連抗原又は抗原の非多型細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含むaCARと、前記aCARの細胞外ドメインに結合するものと異なる抗原である、腫瘍の少なくとも原発組織で発現する抗原又はハウスキーピングタンパク質の、多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する細胞外ドメインを含むiCARとを発現する。

20

【0552】

[00471] いくつかの実施形態では、上に定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、それらの表面上に、腫瘍関連抗原又は抗原の非多型細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含むaCARと、前記aCARの細胞外ドメインに結合するものと異なる抗原である、HLA遺伝子(例えば、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-G、HLA-E、HLA-F、HLA-K、HLA-L、HLA-DM、HLA-DO、HLA-DP、HLA-DQ又はHLA-DRを含む)などの、腫瘍の少なくとも原発組織で発現する抗原又はハウスキーピングタンパク質の、多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する細胞外ドメインを含むiCARとを発現する。

30

【0553】

[00472] いくつかの実施形態では、上に定義されるような癌を処置するために使用される安全なエフェクター免疫細胞は、それらの表面上に、腫瘍関連抗原又は抗原の非多型細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含むaCARと、前記aCARの細胞外ドメインに結合するものと異なる抗原である、HLA-Aなどの、腫瘍の少なくとも原発組織で発現する抗原の、多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する細胞外ドメインを含むiCARとを発現する。

40

【0554】

[00473] いくつかの実施形態では、免疫エフェクター細胞の2つ以上の集団が投与され、異なる集団は、異なる遺伝子生成物の細胞表面エピトープへの特異的結合を有するaCAR及びiCARの異なるペアを発現する。

【0555】

[00474] いくつかの実施形態では、癌を処置する方法で使用される安全なエフェクター免疫細胞は、T細胞、ナチュラルキラー細胞又はサイトカイン誘導キラー細胞から選択される。いくつかの実施形態では、安全なエフェクター免疫細胞は、自家又は普遍的(同種)エフェクター細胞である。いくつかの実施形態では、上に定義された癌を処置する方法のいずれか1つで使用されるiCARは、aCARの標的-抗原が存在する患者の全て

50

の組織に向けられ、a C A Rの標的抗原が、抗原の非多型細胞表面エピトープであるか、又は多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションが存在し、前記エピトープが、腫瘍関連抗原であるか、又は少なくとも関連する腫瘍の細胞と正常組織の細胞とによって共有される。

【0556】

[00475] いくつかの実施形態では、癌は、急性骨髄性白血病 [ L A M L ]、副腎皮質癌 [ A C C ]、膀胱尿路上皮癌 [ B L C A ]、脳低グレード神経膠腫 [ L G G ]、乳房浸潤癌 [ B R C A ]、子宮頸部扁平上皮癌及び子宮頸部腺癌 [ C E S C ]、胆管癌 [ C H O L ]、結腸腺癌 [ C O A D ]、食道癌 [ E S C A ]、多形神経膠芽腫 [ G B M ]、頭頸部扁平上皮癌 [ H N S C ]、腎臓嫌色素性 [ K I C H ]、腎臓腎淡明細胞癌 [ K I R C ]、腎臓腎乳頭状細胞癌 [ K I R P ]、肝臓肝細胞癌 [ L I H C ]、肺腺癌 [ L U A D ]、肺扁平上皮癌 [ L U S C ]、リンパ性新生物びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 [ D L B C ]、中皮腫 [ M E S O ]、卵巣漿液性嚢胞腺癌 [ O V ]、膵臓腺癌 [ P A A D ]、褐色細胞腫及び傍神経節腫 [ P C P G ]、前立腺腺癌 [ P R A D ]、直腸腺癌 [ R E A D ]、肉腫 [ S A R C ]、皮膚黒色腫 [ S K C M ]、胃腺癌 [ S T A D ]、精巣胚細胞腫瘍 [ T G C T ]、胸腺腫 [ T H Y M ]、甲状腺癌 [ T H C A ]、子宮癌肉腫 [ U C S ]、子宮体部子宮内膜癌 [ U C E C ]、ブドウ膜黒色腫 [ U V M ] から選択される。

10

【0557】

[00476] いくつかの実施形態では、癌の処置における使用のための i C A R 及び / 又は p C A R は、本明細書に記載の任意の i C A R 及び / 又は p C A R である。いくつかの実施形態では、上に記載の癌の種類の一つなどの癌を処置するために使用される i C A R 及び / 又は p C A R は、H L A 遺伝子 (例えば、H L A - A、H L A - B、H L A - C、H L A - G、H L A - E、H L A - F、H L A - K、H L A - L、H L A - D M、H L A - D O、H L A - D P、H L A - D Q 若しくは H L A - D R、H L A - B 遺伝子、又は H L A - C 遺伝子を含む単一对立遺伝子バリエーション、又は表 8 に列挙されている遺伝子の単一对立遺伝子バリエーション) に向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、上に記載の癌の種類の一つなどの癌を処置するために使用される i C A R は、H L A - A 遺伝子、H L A - B 遺伝子若しくは H L A - C 遺伝子の単一对立遺伝子バリエーション又は表 8 に列挙されている遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合し、上に列挙されている癌の種類の一つなどの癌を処置するために使用される a C A R は、C D 19 などの表 1 に列挙されている抗原から選択される非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、上に記載の癌の種類の一つなどの癌を処置するために使用される i C A R は、H L A - A 遺伝子、H L A - B 遺伝子若しくは H L A - C 遺伝子の単一对立遺伝子バリエーション又は表 8 に列挙されている遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合し、上に列挙されている癌の種類の一つなどの癌を処置するために使用される a C A R は、E G F R などの表 1 に列挙されている抗原から選択される非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する。いくつかの実施形態では、上に記載の癌の種類の一つなどの癌を処置するために使用される i C A R は、H L A - A 遺伝子、H L A - B 遺伝子若しくは H L A - C 遺伝子の単一对立遺伝子バリエーション又は表 8 に列挙されている遺伝子の単一对立遺伝子バリエーションに向けられるか又は特異的に結合し、上に列挙されている癌の種類の一つなどの癌を処置するために使用される a C A R は、H E R 2 などの表 1 に列挙されている抗原から選択される非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する。

20

30

40

【0558】

[00477] 経口投与では、医薬調製物は、液体形態、例えば溶液、シロップ若しくは懸濁液であり得るか、又は使用前に水又は他の好適なビヒクルで再構成するための薬物製品として提示され得る。かかる液体調製物は、懸濁剤 (例えば、ソルビトールシロップ、セルロース誘導体又は水素化食用脂肪)、乳化剤 (例えば、レシチン又はアカシア)、非水性ビヒクル (例えば、アーモンド油、油性エステル又は分別植物油) 及び防腐剤 (例えば

50

、メチル若しくはプロピル - p - ヒドロキシベンゾエート又はソルビン酸)などの薬学的に許容可能な添加剤を用いて従来手段によって調製することができる。医薬組成物は、例えば、結合剤(例えば、アルファ化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドン又はヒドロキシプロピルメチルセルロース)、充填剤(例えば、ラクトース、微結晶性セルロース又はリン酸水素カルシウム)、潤滑剤(例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク又はシリカ)、崩壊剤(例えば、ジャガイモデンプン又はデンプングリコール酸ナトリウム)又は湿潤剤(例えば、ラウリル硫酸ナトリウム)などの薬学的に許容可能な賦形剤を用いて従来手段によって調製された錠剤又はカプセルの形態をとり得る。錠剤は、当技術分野で周知の方法によってコーティングされ得る。

【0559】

[00478] 経口投与用の調製物は、活性化合物の制御された放出を提供するように好適に製剤化され得る。

【0560】

[00479] 口腔投与では、組成物は、従来の様式で製剤化された錠剤又はトローチの形態をとり得る。

【0561】

[00480] 組成物は、注射、例えばボラス注射又は持続注入による非経口投与用に製剤化され得る。注射用の製剤は、保存剤が添加された単位用量の形態において、例えばアンプル又は複数用量の容器内で提示され得る。組成物は、油性又は水性ビヒクル中の懸濁液、溶液又は乳濁液などの形態をとり得、懸濁剤、安定剤及び/又は分散剤などの処方剤を含有し得る。代わりに、活性成分は、使用前に、好適なビヒクル、例えば無菌の発熱性物質を含まない水で構成するための粉末形態であり得る。

【0562】

[00481] 組成物は、例えば、カカオバター又は他のグリセリドなどの従来の坐剤基剤を含有する坐剤又は停留浣腸などの直腸組成物にも製剤化され得る。

【0563】

[00482] 吸入による投与では、本発明に従って使用するための組成物は、好適な噴射剤、例えばジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素又は他の適切な気体を使用して、加圧パック又は噴霧器からエアロゾルスプレーを提供する形態で利便性良く送達される。加圧エアロゾルの場合、投薬量単位は、計量された量を送達するためのバルブを提供することによって決定することができる。吸入器又は注入器における使用のための、例えばゼラチンのカプセル及びカートリッジは、化合物とラクトース又はデンプンなどの好適な粉末基剤との粉末混合物を含有して製剤化され得る。

【0564】

[00483] 明確にする目的で、且つ教示の範囲を決して限定することなく、特に明記しない限り、本明細書に記載の量、割合又は比率及び他の数値を表す全ての数は、全ての場合に「約」という用語が前にあるものとして解釈されるべきである。したがって、本明細書に記載の数値パラメータは、所望の結果に応じて変動し得る近似値である。例えば、各数値パラメータは、報告された有効数字の数を考慮して且つ通常の数値処理を適用することによると解釈することができる。

【0565】

[00484] 本明細書で使用される「約」という用語は、示された値の上下10%未満の値も含まれることを意味する。

【0566】

例示的な実施形態のセット1

[00485] いくつかの実施形態では、本発明の方法は、次の例示的な実施形態を提供する。

1. エフェクター免疫細胞の望ましくない活性化を防止又は減弱することができる阻害性キメラ抗原受容体(iCAR)又は保護キメラ抗原受容体(pCAR)をコードするヌク

10

20

30

40

50

レオチド配列を含む核酸分子であって、iCAR又はpCARは、ヘテロ接合性の喪失(LOH)に起因して哺乳類の腫瘍細胞上に存在しないが、少なくとも関連する哺乳類の正常組織の全ての細胞上に存在する多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する細胞外ドメインと、エフェクター免疫細胞を阻害する少なくとも1つのシグナル伝達要素を含む細胞内ドメインとを含む、核酸分子。

2. 多型細胞表面エピトープは、HLA遺伝子、Gタンパク質共役受容体(GPCR)、イオンチャネル若しくは受容体チロシンキナーゼ、好ましくはHLA-A、HLA-B若しくはHLA-Cなどのハウスキーピング遺伝子生成物のもの又は表8から選択される遺伝子の多型細胞表面エピトープである、請求項1に記載の核酸分子。

3. 前記細胞外ドメインは、(i)ヒト化抗体；ヒト抗体；抗体の機能的断片；ナノボディなどの単一ドメイン抗体；組換え抗体；一本鎖可変断片(ScFv)などの抗体、その誘導体若しくは断片、(ii)アフィボディ分子；アフィリン；アフィマー；アフィチン；アルファボディ；アンチカリン；アビマー；DARPin；ファイノマー；Kunitzドメインペプチド；及びモノボディなどの抗体模倣物、又は(iii)アプタマーを含む、請求項1に記載の核酸分子。 10

4. 前記哺乳類組織は、ヒト組織であり、前記関連哺乳類正常組織は、腫瘍が発生した正常組織である、請求項1に記載の核酸分子。

5. 前記エフェクター免疫細胞は、T細胞、ナチュラルキラー細胞又はサイトカイン誘導キラー細胞である、請求項1に記載の核酸分子。

6. エフェクター免疫細胞を阻害することが可能な前記少なくとも1つのシグナル伝達要素は、免疫チェックポイントタンパク質のシグナル伝達要素と相同である、請求項1に記載の核酸分子。 20

7. 前記免疫チェックポイントタンパク質は、PD1；CTLA4；BTLA；2B4；CD160；CEACAM1などのCEACAM；KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR2DL5A、KIR2DL5B、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3、LIR1、LIR2、LIR3、LIR5、LIR8及びCD94-NKG2AなどのKIR；LAG3；TIM3；T細胞活性化のVドメインIg抑制因子(VISTA)；インターフェロン遺伝子の刺激因子(STING)；免疫受容体阻害チロシンモチーフ(ITIM)含有タンパク質、T細胞免疫グロブリン及びITIMドメイン(TIGIT)並びにアデノシン受容体(例えば、A2aR)からなる群から選択される、請求項6に記載の核酸分子。 30

8. 前記細胞外ドメインは、柔軟なヒンジ及び膜貫通型の標準的なモチーフを通して、前記細胞内ドメインに融合されている、請求項1に記載の核酸分子。

9. 請求項1～8のいずれか一項に記載の核酸分子と、核酸分子に作動可能に連結されたプロモーターなどの少なくとも1つの制御要素とを含む、ベクター。

10. 抗原の非多型細胞表面エピトープ又は多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する細胞外ドメインであって、前記エピトープは、腫瘍関連抗原であるか、又は少なくとも関連する腫瘍の細胞と正常組織の細胞とによって共有される、細胞外ドメインと、エフェクター免疫細胞を活性化及び/又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素を含む細胞内ドメインとを含むaCARをコードする、ヌクレオチド配列を含む核酸分子をさらに含む、請求項9に記載のベクター。 40

11. aCARの細胞外ドメインは、抗原の非多型細胞表面エピトープに特異的に結合し、iCARの細胞外ドメインは、前記aCARの細胞外ドメインに結合するものと異なる抗原の多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する、請求項10に記載のベクター。

12. aCARの細胞外ドメインは、CD19、EGFR又はHER2などの表1に列挙されている抗原から選択される非多型細胞表面エピトープに特異的に結合する、請求項10又は11に記載のベクター。

13. エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する前記少なくとも1つのシグナル伝達要素は、例えば、CD3若しくはFcR鎖の免疫受容体チロシン活性化モチーフ(I 50

TAM) ; KIR2DS及びKIR3DSなどの活性化キラー細胞免疫グロブリン様受容体(KIR)若しくはDAP12などのアダプター分子;又は例えばCD27、CD28、ICOS、CD137(4-1BB)若しくはCD134(OX40)の共刺激シグナル伝達要素と相同である、請求項10に記載のベクター。

14.ヌクレオチド配列は、aCARをコードするヌクレオチド配列とiCARをコードするヌクレオチド配列との間に内部リボソーム進入部位(IRES)を含む、請求項10に記載のベクター。

15. aCARをコードするヌクレオチド配列は、iCARをコードするヌクレオチド配列の下流にある、請求項14に記載のベクター。

16.ヌクレオチド配列は、aCARをコードするヌクレオチド配列とiCARをコードするヌクレオチド配列との間にウイルス自己開裂型2Aペプチドを含む、請求項10に記載のベクター。

17.ウイルス自己開裂型2Aペプチドは、ゾセア・アシグナ(Thosea asigna)ウイルス(TaV)由来のT2A、口蹄疫ウイルス(FMDV)由来のF2A、ウマ鼻炎Aウイルス(ERAV)由来のE2A及びブタテッシュウウイルス-1(PTV1)由来のP2Aからなる群から選択される、請求項16に記載のベクター。

18.柔軟なリンカーを介して前記iCARに連結された前記構成的aCARをコードするヌクレオチド配列を含む、請求項10に記載のベクター。

19.請求項1~8に定義されるエフェクター免疫細胞の望ましくない活性化を防止又は減弱することができる阻害性キメラ抗原受容体(iCAR)を調製する方法であって、

(i)既知のバリエーションの少なくとも1つのデータベースから、タンパク質をコードする遺伝子のヒトゲノムバリエーションのリストを取得することと、

(ii)

(a)バリエーションを選択し、その対応する参照対立遺伝子と比較して、それぞれの遺伝子によってコードされるタンパク質にアミノ酸配列の多様性を生じること、

(b)アミノ酸配列の多様性が、コードされるタンパク質の細胞外ドメインにある、遺伝子のバリエーションを選択すること、

(c)少なくとも1つの腫瘍においてヘテロ接合性の喪失(LOH)を受ける遺伝子のバリエーションを選択すること、及び

(d)(c)に従ってLOHを受ける少なくとも1つの腫瘍の少なくとも原発組織で発現する遺伝子のバリエーションを選択し、それにより、LOHに起因して少なくとも1つの腫瘍において喪失した遺伝子及び少なくとも1つの腫瘍の少なくとも原発組織で発現する遺伝子のそれぞれによってコードされるタンパク質の細胞外ドメインに、アミノ酸配列の多様性を有するバリエーションのリストを得ること

により、(i)によって取得したバリエーションのリストをフィルタリングすることと、

(iii)(ii)で得たリストから少なくとも1つの単一バリエーションを含む配列領域を定義し、少なくとも1つの単一バリエーションを含む配列領域及び対応する参照対立遺伝子を含む配列領域をサブクローニング及び発現し、それによりそれぞれのエピトープペプチドを得ることと、

(iv)クローニングされた配列領域によってコードされるエピトープペプチド、又は(iii)で得た対応する参照対立遺伝子によってコードされるエピトープペプチドのいずれかに特異的に結合するiCAR結合ドメインを選択することと、

(vii)各々が(iv)で定義されるiCAR結合ドメインを含む、請求項1~8のいずれか一項で定義されたiCARを調製することとを含む方法。

20.各バリエーションのマイナー対立遺伝子頻度は、1、2、3、4又は5%以上である、請求項19に記載の方法。

21.安全なエフェクター免疫細胞を調製するための方法であって、(i)腫瘍関連抗原に向けられたTCR操作エフェクター免疫細胞を、請求項1~8のいずれか一項に記載のiCARをコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子でトランスフェクトするか、若し

10

20

30

40

50

くは請求項 9 に記載のベクターで細胞を形質導入すること、又は ( i i ) ナイーブエフェクター免疫細胞を、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の i C A R をコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子及び請求項 10 ~ 13 のいずれか一項に定義されている a C A R をコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子でトランスフェクトするか、若しくはエフェクター免疫細胞を、請求項 10 ~ 18 のいずれか一項に記載のベクターで形質導入することを含む方法。

22 . 請求項 21 に記載の方法によって得られる、安全なエフェクター免疫細胞。

23 . その表面上に、抗原の非多型細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含む a C A R と、前記 a C A R の細胞外ドメインに結合する異なる抗原の多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する細胞外ドメインを含む i C A R とを発現する、請求項 22 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

24 . a C A R の細胞外ドメインは、C D 19、E G F R 又は H E R 2 などの表 1 に列挙されている抗原から選択される非多型細胞表面エピトープに特異的に結合する、請求項 22 又は 23 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

25 . a C A R 及び i C A R は、別個のタンパク質として細胞表面上に存在する、請求項 22 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

26 . i C A R をコードする前記ヌクレオチド配列の発現レベルは、a C A R をコードするヌクレオチド配列の発現レベル以上である、請求項 22 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

27 . L O H によって特徴付けられる腫瘍を有する対象のための個別化されたバイオマーカーを選択する方法であって、

( i ) 対象から腫瘍生検を得ることと、

( i i ) 対象から正常組織の試料、例えば P B M C を得ることと、

( i i i ) L O H に起因して腫瘍の細胞によって発現されないが、正常組織の細胞によって発現される多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションを同定し、それにより対象のための個別化されたバイオマーカーを同定することとを含む方法。

28 . L O H によって特徴付けられる腫瘍を有する患者の癌を処置するための方法であって、請求項 22 に記載のエフェクター免疫細胞を患者に投与することを含み、i C A R は、ヘテロ接合性の喪失 ( L O H ) に起因して腫瘍の細胞に存在しないが、少なくとも患者の関連する哺乳類の正常組織の全ての細胞上に存在する多型細胞表面エピトープをコードする単一对立遺伝子バリエーションに向けられる、方法。

29 . i C A R は、ヘテロ接合性の喪失 ( L O H ) に起因して腫瘍の細胞に存在しないが、少なくとも患者の関連する哺乳類の正常組織の全ての細胞上に存在する多型細胞表面エピトープをコードする単一对立遺伝子バリエーションに向けられる、L O H によって特徴付けられる腫瘍を有する患者の処置における使用のための、請求項 22 に記載の安全なエフェクター免疫細胞。

30 . ( i i i ) の a C A R を発現するが、( i i i ) の i C A R が欠如している免疫エフェクター細胞の少なくとも 1 つの集団を癌患者に投与することを含む処置と比較して、処置は、低減されたオンターゲット腫瘍外反応性を生じる、請求項 29 に記載の使用のための安全なエフェクター免疫細胞。

31 . それらの表面上に、腫瘍関連抗原又は抗原の非多型細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含む a C A R と、前記 a C A R の細胞外ドメインに結合するものと異なる抗原である、腫瘍の少なくとも原発組織で発現する抗原又は H L A - A などのハウスキーピングタンパク質の、多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する細胞外ドメインを含む i C A R とを発現する、請求項 29 に記載の使用のための安全なエフェクター免疫細胞。

32 . 自家又は普遍的 ( 同種 ) エフェクター細胞である、請求項 28 に記載の使用のための安全なエフェクター免疫細胞。

33 . T 細胞、ナチュラルキラー細胞又はサイトカイン誘導キラー細胞から選択される、

10

20

30

40

50

請求項 28 ~ 32 のいずれか一項に記載の使用のための安全なエフェクター免疫細胞。

34 . 各 1 つは、前記核酸分子が単一の連続核酸分子を形成する、制御されたエフェクター免疫細胞活性化系の異なるメンバーをコードするヌクレオチド配列を含むか又は 2 つ以上の別個の核酸分子を含み、制御されたエフェクター免疫細胞活性化系は、エフェクター免疫細胞に向けられて、ヘテロ接合性の喪失 (LOH) に起因して 1 つ以上の染色体又はそれらの断片を喪失した腫瘍細胞を殺傷し、関連正常組織の細胞を生かす、2 つ以上の核酸分子の組み合わせであって、

( a ) 第 1 のメンバーは、抗原の非多型細胞表面エピトープ又は異なる多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する第 1 の細胞外ドメインを含む活性化キメラ抗原受容体 ( a C A R ) ポリペプチドを含み、前記非多型又は多型細胞表面エピトープは、腫瘍関連抗原であるか、又は関連する異常な哺乳類組織の細胞と正常な哺乳類組織の細胞とによって共有され、

10

( b ) 第 2 のメンバーは、LOH に起因して異常な哺乳類組織によって発現されないが、関連する哺乳類の正常組織の全ての細胞上に存在する多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する第 2 の細胞外ドメインを含む調節ポリペプチドを含む、2 つ以上の核酸分子の組み合わせ。

35 . 第 1 のメンバーは、

( a ) エフェクター免疫細胞を活性化及び / 又は共刺激する少なくとも 1 つのシグナル伝達要素を含む細胞内ドメインをさらに含む構成的 a C A R、及び

( b ) ヘテロ二量体化小分子の結合部位の第 1 のメンバーを含む細胞内ドメイン及び任意選択的に少なくとも 1 つの共刺激シグナル伝達要素をさらに含むが、活性化シグナル伝達要素が欠如した条件付き a C A R

20

から選択され、

第 2 のメンバーは、

( c ) エフェクター免疫細胞を阻害する少なくとも 1 つのシグナル伝達要素を含む細胞内ドメインをさらに含む阻害性キメラ抗原受容体 ( i C A R )、又は

( d ) シェダーゼの基質を含む細胞外調節領域 ; 膜内開裂プロテアーゼの基質を含む膜貫通型の標準的なモチーフ ; 並びに細胞内ドメインであって、前記細胞内ドメインは、エフェクター免疫細胞を活性化及び / 又は共刺激する少なくとも 1 つのシグナル伝達要素及びヘテロ二量体化小分子の結合部位の第 2 のメンバーを含む細胞内ドメインをさらに含む、

30

保護キメラ抗原受容体 ( p C A R )

である、請求項 34 に記載の組み合わせ。

36 . ( i ) i C A R 若しくは p C A R の細胞外ドメインは、a C A R の細胞外ドメインに結合するものと異なる抗原である、抗原の多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合するか、

( i i ) 前記 p C A R 若しくは i C A R の細胞外ドメインは、前記 a C A R の細胞外ドメインに結合する同じ抗原の異なる多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合するか、又は

( i i i ) 前記 p C A R 若しくは i C A R の細胞外ドメインは、前記 a C A R の細胞外ドメインに結合する同じ多型細胞表面エピトープの異なる単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する、請求項 34 又は 35 に記載の組み合わせ。

40

37 . シェダーゼの前記基質は、ディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ ( A D A M ) 又はベータ - セクレターゼ 1 ( B A C E 1 ) の基質である、請求項 34 に記載の組み合わせ。

38 . 前記基質は、細胞外ドメインの一部を形成し、L i n 1 2 / N o t c h リポート及び A D A M プロテアーゼ開裂部位を含む、請求項 37 に記載の組み合わせ。

39 . 膜内開裂プロテアーゼの前記基質は、S P 2、 $\gamma$  - セクレターゼ、シグナルペプチドペプチダーゼ ( s p p )、s p p 様プロテアーゼ又はロンポイドプロテアーゼの基質である、請求項 34 に記載の組み合わせ。

40 . 前記基質は、膜貫通型の標準的なモチーフの一部を形成し、N o t c h、E r b B

50

4、E - カドヘリン、N - カドヘリン、エフリン - B 2、アミロイド前駆体タンパク質又はCD 4 4の膜貫通ドメインに相同である / これらに由来する、請求項 3 9に記載の組み合わせ。

4 1 . 別個のタンパク質として、前記条件付き a C A Rの細胞外ドメイン及び細胞内ドメインをコードするヌクレオチド配列を含み、各ドメインは、膜貫通型の標準的なモチーフに独立して融合され、ヘテロ二量体化小分子の結合部位の異なるメンバーを含む、請求項 3 4に記載の組み合わせ。

4 2 . ヘテロ二量体化小分子のための前記結合部位の前記第 1 及び第 2 のメンバーのそれぞれ 1 つは、

- ( i ) タクロリムス ( F K 5 0 6 ) 結合タンパク質 ( F K B P ) 及び F K B P、
  - ( i i ) F K B P 及びカルシニューリン触媒サブユニット A ( C n A )、
  - ( i i i ) F K B P 及びシクロフィリン、
  - ( i v ) F K B P 及び F K B P - ラパマイシン関連タンパク質 ( F R B )、
  - ( v ) ジャイレース B ( G y r B ) 及び G y r B、
  - ( v i ) ジヒドロ葉酸還元酵素 ( D H F R ) 及び D H F R、
  - ( v i i ) D m r B ホモ二量体化ドメイン ( D m r B ) 及び D m r B、
  - ( v i i i ) P Y L タンパク質 ( 別名アブシジン酸受容体及び R C A R ) 及び A B I、
  - ( i x ) G A I シロイヌナズナ ( *Arabidopsis thaliana* ) タンパク質 ( 別名ジベレリン酸非感受性及び D E L L A タンパク質 G A I ; G A I ) 及び G I D 1 シロイヌナズナ ( *Arabidopsis thaliana* ) タンパク質 ( ジベレリン受容体 G I D 1 としても知られている、G I D 1 )、
- から選択されるタンパク質に由来する、請求項 3 4 に記載の組み合わせ。

#### 【 0 5 6 7 】

例示的な実施形態のセット 2

[00486] いくつかの態様では、本発明は、エフェクター免疫細胞の望ましくない活性化を防止又は減弱させることが可能な阻害性キメラ抗原受容体 ( i C A R ) 又は保護キメラ抗原受容体 ( p C A R ) を調製するための標的を同定する方法を提供し、標的は、

( i ) 細胞外多型エピトープを含むタンパク質をコードする、少なくとも 2 つの発現対立遺伝子を有する遺伝子を同定することと、

( i i ) 発現対立遺伝子の少なくとも 1 つが、細胞外多型エピトープ参照配列と比較して、細胞外多型エピトープ配列においてアミノ酸配列変化を呈することを決定することと、

( i i i ) 遺伝子が、腫瘍型におけるヘテロ接合性の喪失 ( L O H ) を受ける染色体領域に位置することを決定することと、

( i v ) 染色体領域が L O H を受けていることが見出された腫瘍型の原発組織で遺伝子が発現することを決定することと

を含む方法によって同定される。

#### 【 0 5 6 8 】

[00487] いくつかの実施形態では、L O H 位置は、置換、欠失及び挿入からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、L O H 位置は、S N P である。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A 遺伝子である。

#### 【 0 5 6 9 】

[00488] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - A、H L A - B、H L A - C、H L A - G、H L A - E、H L A - F、H L A - K、H L A - L、H L A - D M、H L A - D O、H L A - D P、H L A \_ D Q 又は H L A - D R 遺伝子である。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - A 遺伝子である。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - B 遺伝子である。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - C 遺伝子である。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - G 遺伝子である。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、H L A - E 遺伝子である。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含

む遺伝子は、HLA-F遺伝子である。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、HLA-K遺伝子である。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、HLA-L遺伝子である。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、HLA-DM遺伝子である。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、HLA-DO遺伝子である。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープは、HLA-DP遺伝子である。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープは、HLA-DQ遺伝子である。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープは、HLA-DR遺伝子である。

【0570】

[00489] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第1染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ABC4、ADAM30、AQP10、ASTN1、C1orf101、CACNA1S、CATSPER4、CD101、CD164L2、CD1A、CD1C、CD244、CD34、CD46、CELSR2、CHRN2、CLCA2、CLDN19、CLSTN1、CR1、CR2、CRB1、CSF3R、CSMD2、ECE1、ELTD1、EMC1、EPHA10、EPHA2、EPHA8、ERMAP、FCAMR、FCER1A、FCGR1B、FCGR2A、FCGR2B、FCGR3A、FCRL1、FCRL3、FCRL4、FCRL5、FCRL6、GJB4、GPA33、GPR157、GPR37L1、GPR88、HCRTR1、IGSF3、IGSF9、IL22RA1、IL23R、ITGA10、KIAA1324、KIAA2013、LDLRAD2、LEPR、LGR6、LRIG2、LRP8、LRRC52、LRRC8B、LRRN2、LY9、MIA3、MR1、MUC1、MXRA8、NCSTN、NFASC、NOTCH2、NPR1、NTRK1、OPN3、OR10J1、OR10J4、OR10K1、OR10R2、OR10T2、OR10X1、OR11L1、OR14A16、OR14I1、OR14K1、OR2AK2、OR2C3、OR2G2、OR2G3、OR2L2、OR2M7、OR2T12、OR2T27、OR2T1、OR2T3、OR2T29、OR2T33、OR2T34、OR2T35、OR2T3、OR2T4、OR2T5、OR2T6、OR2T7、OR2T8、OR2W3、OR6F1、OR6K2、OR6K3、OR6K6、OR6N1、OR6P1、OR6Y1、PDPN、PEAR1、PIGR、PLXNA2、PTCH2、PTCHD2、PTGFRN、PTPRC、PTPRF、PTGFRN、PVRL4、RHBG、RXFP4、S1PR1、SCNN1D、SDC3、SELE、SELL、SELP、SEMA4A、SEMA6C、SLAMF7、SLAMF9、SLC2A7、SLC5A9、TACSTD2、TAS1R2、TIE1、TLR5、TMEM81、TNFRSF14、TNFRSF1B、TRABD2B、USH2A、VCAM1及びZP4からなる群から選択される。

【0571】

[00490] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第2染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ABC5、ALK、ASPRV1、ATRAID、CD207、CD8B、CHRN2、CLEC4F、CNTNAP5、CRIM1、CXCR1、DNER、DPP10、EDAR、EPCAM、GPR113、GPR148、GPR35、GPR39、GYPC、IL1RL1、ITGA4、ITGA6、ITGAV、LCT、LHCGR、LRP1B、LRP2、LY75、MARCO、MERTK、NRP2、OR6B2、PLA2R1、PLB1、PROKR1、PROM2、SCN7A、SDC1、SLC23A3、SLC5A6、TGOLN2、THSD7B、TM4SF20、TMEFF2、TMEM178A、TPO及びTRABD2Aからなる群から選択される。

【0572】

[00491] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第3染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ACKR2、ALCAM、ANO10、ATP13A4、BTLA、CACNA1D、CAC

NA2D2、CACNA2D3、CASR、CCRL2、CD200、CD200R1、  
 CD86、CD96、CDCP1、CDHR4、CELSR3、CHL1、CLDN11  
 、CLDN18、CLSTN2、CSPG5、CX3CR1、CXCR6、CYP8B1  
 、DCBLD2、DRD3、EPHA6、EPHB3、GABRR3、GP5、GPR1  
 28、GPR15、GPR27、GRM2、GRM7、HEG1、HTR3C、HTR3  
 D、HTR3E、IGSF11、IL17RC、IL17RD、IL17RE、IL5R  
 A、IMPG2、ITGA9、ITGB5、KCNMB3、LRIG1、LRRC15、  
 LRRN1、MST1R、NAALADL2、NRROS、OR5AC1、OR5H1、  
 OR5H14、OR5H15、OR5H6、OR5K2、OR5K3、OR5K4、PI  
 GX、PLXNB1、PLXND1、PRRT3、PTPRG、ROBO2、RYK、S  
 EMA5B、SIDT1、SLC22A14、SLC33A1、SLC4A7、SLIT  
 RK3、STAB1、SUSD5、TFRC、TLR9、TMEM108、TMEM44  
 、TMPRSS7、TNFSF10、UPK1B、VIPR1及びZPLD1からなる群  
 から選択される。

10

## 【0573】

[00492] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第4染色  
 体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、AN  
 TXR2、BTC、CNGA1、CORIN、EGF、EMCN、ENPEP、EPHA  
 5、ERVMER34-1、EVC2、FAT1、FAT4、FGFRL1、FRAS1  
 、GPR125、GRID2、GYPA、GYPB、KDR、KIAA0922、KLB  
 、MFSD8、PARM1、PDGFRA、RNF150、TENM3、TLR10、T  
 LR1、TLR6、TMEM156、TMPRSS11A、TMPRSS11B、TMP  
 RSS11E、TMPRSS11F、UGT2A1及びUNC5Cからなる群から選択さ  
 れる。

20

## 【0574】

[00493] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第5染色  
 体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、AD  
 AM19、ADRB2、BTNL3、BTNL8、BTNL9、C5orf15、CAT  
 SPER3、CD180、CDH12、CDHR2、COL23A1、CSF1R、F2  
 RL2、FAM174A、FAT2、FGFR4、FLT4、GABRA6、GABRG  
 2、GPR151、GPR98、GRM6、HAVCR1、HAVCR2、IL31RA  
 、IL6ST、IL7R、IQGAP2、ITGA1、ITGA2、KCNMB1、LI  
 FR、LNPEP、MEGF10、NIPAL4、NPR3、NRG2、OR2V1、O  
 R2Y1、OSMR、PCDH12、PCDH1、PCDHA1、PCDHA2、PCD  
 HA4、PCDHA8、PCDHA9、PCDHB10、PCDHB11、PCDHB1  
 3、PCDHB14、PCDHB15、PCDHB16、PCDHB2、PCDHB3、  
 PCDHB4、PCDHB5、PCDHB6、PCDHGA1、PCDHGA4、PDG  
 FRB、PRLR、SEMA5A、SEMA6A、SGCD、SLC1A3、SLC22  
 A4、SLC22A5、SLC23A1、SLC36A3、SLC45A2、SLC6A  
 18、SLC6A19、SLCO6A1、SV2C、TENM2、TIMD4及びUGT  
 3A1からなる群から選択される。

30

40

## 【0575】

[00494] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第6染色  
 体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、BA  
 I3、BTN1A1、BTN2A1、BTN2A2、BTN3A1、BTN3A2、BT  
 NL2、CD83、DCBLD1、DLL1、DPCR1、ENPP1、ENPP3、E  
 NPP4、EPHA7、GABBR1、GABRR1、GCNT6、GFRAL、GJB  
 7、GLP1R、GPR110、GPR111、GPR116、GPR126、GPR6  
 3、GPRC6A、HFE、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DOA、H  
 LA-DPA1、HLA-DPB1、HLA-DQA1、HLA-DQA2、HLA-D

50

QB1、HLA-DQB2、HLA-DRB1、HLA-DRB5、HLA-E、HLA-F、HLA-G、IL20RA、ITPR3、KIAA0319、LMBRD1、LRFN2、LRP11、MAS1L、MEP1A、MICA、MICB、MOG、MUC21、MUC22、NCR2、NOTCH4、OPRM1、OR10C1、OR12D2、OR12D3、OR14J1、OR2B2、OR2B6、OR2J1、OR2W1、OR5V1、PDE10A、PI16、PKHD1、PTCRA、PTK7、RAET1E、RAET1G、ROS1、SDIM1、SLC16A10、SLC22A1、SLC44A4、TAAR2、TREM1、TREM1L1及びTREM1L2からなる群から選択される。

【0576】

[00495] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第7染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、AQP1、C7orf50、CD36、CDHR3、CNTNAP2、DPP6、EGFR、EPHA1、EPHB6、ERVW-1、GHRHR、GJC3、GPNMB、GRM8、HUS1、HYAL4、KIAA1324L、LRRN3、MET、MUC12、MUC17、NPC1L1、NPSR1、OR2A12、OR2A14、OR2A25、OR2A42、OR2A7、OR2A2、OR2AE1、OR2F2、OR6V1、PILRA、PILRB、PKD1L1、PLXNA4、PODXL、PTPRN2、PTPRZ1、RAMP3、SLC29A4、SMO、TAS2R16、TAS2R40、TAS2R4、TFR2、THSD7A、TMEM213、TTYH3、ZAN及びZP3からなる群から選択される。

【0577】

[00496] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第8染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ADAM18、ADAM28、ADAM32、ADAM7、ADAM9、ADRA1A、CDH17、CHRNA2、CSMD1、CSMD3、DCSTAMP、FZD6、GPR124、NRG1、OR4F21、PKHD1L1、PRSS55、SCARA3、SCARA5、SDC2、SLC10A5、SLC39A14、SLC39A4、SLCO5A1、TNFRSF10A及びTNFRSF10Bからなる群から選択される。

【0578】

[00497] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第9染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ABCA1、AQP7、ASTN2、C9orf135、CA9、CD72、CNTNAP3B、CNTNAP3、CRB2、ENTPD8、GPR144、GRIN3A、IZUMO3、KIAA1161、MAMDC4、MEGF9、MUSK、NOTCH1、OR13C2、OR13C3、OR13C5、OR13C8、OR13C9、OR13D1、OR13F1、OR1B1、OR1J2、OR1K1、OR1L1、OR1L3、OR1L6、OR1L8、OR1N1、OR1N2、OR1Q1、OR2S2、PCSK5、PCD1LG2、PLGRKT、PTPRD、ROR2、SEMA4D、SLC31A1、TEK、TLR4、TMEM2及びVLDLRからなる群から選択される。

【0579】

[00498] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第10染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ABCC2、ADAM8、ADRB1、ANTXR1、ATRNL1、C10orf54、CDH23、CDHR1、CNNM2、COL13A1、COL17A1、ENTPD1、FZD8、FGFR2、GPR158、GRID1、IL15RA、IL2RA、ITGA8、ITGB1、MRC1、NRG3、NPF1R1、NRP1、OPN4、PCDH15、PKD2L1、PLXDC2、PRLHR、RET、RGR、SLC16A9、SLC29A3、SLC39A12、TACR2、TCTN3、TSPAN15、UNC5B及びVSTM4からなる群から選択される。

10

20

30

40

50

## 【0580】

[00499] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第11染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、AMICA1、ANO1、ANO3、APLP2、C11orf24、CCKBR、CD248、CD44、CD5、CD6、CD82、CDON、CLMP、CRTAM、DCHS1、DSCAML1、FAT3、FOLH1、GDPD4、GDPD5、GRIK4、HEPHL1、HTR3B、IFITM10、IL10RA、KIRREL3、LGR4、LRP4、LRP5、LRRC32、MCAM、MFRP、MMP26、MPEG1、MRGPRE、MRGPRF、MRGPRX2、MRGPRX3、MRGPRX4、MS4A4A、MS4A6A、MTNR1B、MUC15、NAALAD2、NAALADL1、NCAM1、NRXN2、OR10A2、OR10A5、OR10A6、OR10D3、OR10G4、OR10G7、OR10G8、OR10G9、OR10Q1、OR10S1、OR1S1、OR2AG1、OR2AG2、OR2D2、OR4A47、OR4A15、OR4A5、OR4C11、OR4C13、OR4C15、OR4C16、OR4C3、OR4C46、OR4C5、OR4D6、OR4A8P、OR4D9、OR4S2、OR4X1、OR51E1、OR51L1、OR52A1、OR52E1、OR52E2、OR52E4、OR52E6、OR52I1、OR52I2、OR52J3、OR52L1、OR52N1、OR52N2、OR52N4、OR52W1、OR56B1、OR56B4、OR5A1、OR5A2、OR5AK2、OR5AR1、OR5B17、OR5B3、OR5D14、OR5D16、OR5D18、OR5F1、OR5I1、OR5L2、OR5M11、OR5M3、OR5P2、OR5R1、OR5T2、OR5T3、OR5W2、OR6A2、OR6T1、OR6X1、OR8A1、OR8B12、OR8B2、OR8B3、OR8B4、OR8D1、OR8D2、OR8H1、OR8H2、OR8H3、OR8I2、OR8J1、OR8J2、OR8J3、OR8K1、OR8K3、OR8K5、OR8U1、OR9G1、OR9G4、OR9Q2、P2RX3、PTPRJ、ROBO3、SIGIRR、SLC22A10、SLC3A2、SLC5A12、SLCO2B1、SORL1、ST14、SYT8、TENM4、TMEM123、TMEM225、TMPRSS4、TMPRSS5、TRIM5、TRPM5、TSPAN18及びZP1からなる群から選択される。

## 【0581】

[00500] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第12染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ANO4、AVPR1A、BCL2L14、CACNA2D4、CD163、CD163L1、CD27、CD4、CLEC12A、CLEC1B、CLEC2A、CLEC4C、CLEC7A、CLECL1、CLSTN3、GPR133、GPRC5D、ITGA7、ITGB7、KLRB1、KLRC2、KLRC3、KLRC4、KLRF1、KLRF2、LRP1、LRP6、MANSC1、MANSC4、OLR1、OR10AD1、OR10P1、OR2AP1、OR6C1、OR6C2、OR6C3、OR6C4、OR6C6、OR6C74、OR6C76、OR8S1、OR9K2、ORAI1、P2RX4、P2RX7、PRR4、PTPRB、PTPRQ、PTPRR、SCNN1A、SELLPLG、SLC2A14、SLC38A4、SLC5A8、SLC6A15、SLC8B1、SLCO1A2、SLCO1B1、SLCO1B7、SLCO1C1、SSPN、STAB2、TAS2R10、TAS2R13、TAS2R14、TAS2R20、TAS2R30、TAS2R31、TAS2R42、TAS2R43、TAS2R46、TAS2R7、TMEM119、TMEM132B、TMEM132C、TMEM132D、TMPRSS12、TNFRSF1A、TSPAN8及びVSIG10からなる群から選択される。

## 【0582】

[00501] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第13染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、A

TP4B、ATP7B、FLT3、FREM2、HTR2A、KL、PCDH8、RXFP2、SGCG、SHISA2、SLC15A1、SLITRK6及びTNFRSF19からなる群から選択される。

【0583】

[00502] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第14染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ADAM21、BDKRB2、C14orf37、CLEC14A、DLK1、FLRT2、GPR135、GPR137C、JAG2、LTB4R2、MMP14、OR11G2、OR11H12、OR11H6、OR4K1、OR4K15、OR4K5、OR4L1、OR4N2、OR4N5、SLC24A4及びSYNDIG1Lからなる群から選択される。

10

【0584】

[00503] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第15染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ANPEP、CD276、CHRNA7、CHRNA4、CSPG4、DUOX1、DUOX2、FAM174B、GLDN、IGDCC4、ITGA11、LCTL、LTK、LYSMD4、MEGF11、NOX5、NRG4、OCA2、OR4F4、OR4M2、OR4N4、PRTG、RHCG、SCAMP5、SEMA4B、SEMA6D、SLC24A1、SLC24A5、SLC28A1、SPG11、STRA6、TRPM1及びTYRO3からなる群から選択される。

20

【0585】

[00504] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第16染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ATP2C2、CACNA1H、CD19、CDH11、CDH15、CDH16、CDH3、CDH5、CNGB1、CNTNAP4、GDPD3、GPR56、GPR97、IFT140、IL4R、ITFG3、ITGAL、ITGAM、ITGAX、KCNG4、MMP15、MSLN、NOMO1、NOMO3、OR2C1、PIEZO1、PKD1、PKD1L2、QPRT、SCNN1B、SEZ6L2、SLC22A31、SLC5A11、SLC7A6、SPN、TMC5、TMC7、TMEM204、TMEM219及びTMEM8Aからなる群から選択される。

30

【0586】

[00505] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第17染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ABCC3、ACE、AOC3、ARL17B、ASGR2、C17orf80、CD300A、CD300C、CD300E、CD300LF、CD300LG、CHRNA1、CLEC10A、CNTNAP1、CPD、CXCL16、ERBB2、FAM171A2、GCGR、GLP2R、GP1BA、GPR142、GUCY2D、ITGA2B、ITGA3、ITGAE、ITGB3、KCNJ12、LRRC37A2、LRRC37A3、LRRC37A、LRRC37B、MRC2、NGFR、OR1A2、OR1D2、OR1G1、OR3A1、OR3A2、OR4D1、OR4D2、RNF43、SCARF1、SCN4A、SDK2、SECTM1、SEZ6、SHPK、SLC26A11、SLC5A10、SPACA3、TMEM102、TMEM132E、TNFSF12、TRPV3、TTYH2及びTUSC5からなる群から選択される。

40

【0587】

[00506] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第18染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、PCDD1、CDH19、CDH20、CDH7、COLEC12、DCC、DSC1、DSG1、DSG3、DYNAP、MEP1B、PTPRM、SIGLEC15及びTNFRSF11Aからなる群から選択される。

【0588】

50

[00507] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第19染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ABC A7、ACPT、BCAM、C19orf38、C19orf59、C5AR1、CATSPERD、CATSPERG、CD22、CD320、CD33、CD97、CEACAM19、CEACAM1、CEACAM21、CEACAM3、CEACAM4、CLEC4M、DLL3、EMR1、EMR2、EMR3、ERVV-1、ERVV-2、FAM187B、FCAR、FFAR3、FPR1、FXVD5、GFY、GP6、GPR42、GRIN3B、ICAM3、IGFLR1、IL12RB1、IL27RA、KIR2DL1、KIR2DL3、KIR2DL4、KIR3DL1、KIR3DL2、KIR3DL3、KIRREL2、KISS1R、LAIR1、LDLR、LILRA1、LILRA2、LILRA4、LILRA6、LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5、LINGO3、LPHN1、LRP3、MADCAM1、MAG、MEGF8、MUC16、NCR1、NOTCH3、NPHS1、OR10H1、OR10H2、OR10H3、OR10H4、OR1I1、OR2Z1、OR7A10、OR7C1、OR7D4、OR7E24、OR7G1、OR7G2、OR7G3、PLVAP、PTGIR、PTPRH、PTPRS、PVR、SCN1B、SHISA7、SIGLEC10、SIGLEC11、SIGLEC12、SIGLEC5、SIGLEC6、SIGLEC8、SIGLEC9、SLC44A2、SLC5A5、SLC7A9、SPINT2、TARM1、TGFBRL3、TMC4、TMEM91、TMEM161A、TMPRSS9、TNFSF14、TNFSF9、TRPM4、VN1R2、VSIG10L、VSTM2B及びZNF4からなる群から選択される。

10

20

## 【0589】

[00508] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第20染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ABHD12、ADAM33、ADRA1D、APMAP、ATRN、CD40、CD93、CDH22、CDH26、CDH4、FLRT3、GCNT7、GGT7、JAG1、LRRN4、NPBWR2、OCSTAMP、PTPRA、PTPRT、SEL1L2、SIGLEC1、SIRPA、SIRPB1、SIRPG、SLC24A3、SLC2A10、SLC4A11、SSTR4及びTHBDからなる群から選択される。

## 【0590】

30

[00509] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第21染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、CLDN8、DSCAM、ICOSLG、IFNAR1、IFNGR2、IGSF5、ITGB2、KCNJ15、NCAM2、SLC19A1、TMPRSS15、TMPRSS2、TMPRSS3、TRPM2及びUMODL1からなる群から選択される。

## 【0591】

[00510] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、第22染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ACNA1I、CELSR1、COMT、CSF2RB、GGT1、GGT5、IL2RB、KREMEN1、MCHR1、OR11H1、P2RX6、PKDREJ、PLXNB2、SCARF2、SEZ6L、SSTR3、SUSD2、TMPRSS6及びTNFRSF13Cからなる群から選択される。

40

## 【0592】

[00511] いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、X染色体上に位置する。いくつかの実施形態では、細胞外多型エピトープを含む遺伝子は、ATP6AP2、ATP7A、CNGA2、EDA2R、FMR1NB、GLRA4、GPR112、GUCY2F、HEPH、P2RY10、P2RY4、PLXNA3、PLXNB3、TLR8、VSI4及びXGからなる群から選択される。

## 【0593】

[00512] いくつかの実施形態では、腫瘍は、乳房腫瘍、前立腺腫瘍、卵巣腫瘍、子宮

50

頸部腫瘍、皮膚腫瘍、膵臓腫瘍、結腸直腸腫瘍、腎腫瘍、肝臓腫瘍、脳腫瘍、リンパ腫、白血病、肺腫瘍及び神経膠腫からなる群から選択される。

【0594】

[00513] いくつかの実施形態では、腫瘍は、副腎腫瘍、腎臓腫瘍、黒色腫、DLBC、乳房腫瘍、肉腫、卵巣腫瘍、肺腫瘍、膀胱腫瘍及び肝臓腫瘍からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、副腎腫瘍は、副腎皮質癌である。いくつかの実施形態では、腎臓腫瘍は、嫌色素性腎細胞癌である。いくつかの実施形態では、黒色腫は、ブドウ膜黒色腫である。

【0595】

[00514] 本発明は、安全なエフェクター細胞も提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、(i)請求項1~46のいずれかに記載のiCAR又はpCARと、(ii)活性化キメラ抗原受容体(aCAR)とを発現する安全なエフェクター免疫細胞を提供する。

10

【0596】

[00515] いくつかの実施形態では、aCARが、腫瘍関連抗原又は非多型細胞表面エピトープに向けられるか又は特異的に結合する、請求項47に記載の安全なエフェクター免疫細胞である。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARの保護効果に起因して、aCARを、癌細胞上に発現する任意の表面タンパク質に向けることができる。

【0597】

[00516] いくつかの実施形態では、aCARは、腫瘍関連タンパク質、表1に列挙されているCAR標的、iCARも発現する腫瘍組織で発現する任意の細胞表面タンパク質に向けられるか又は特異的に結合する。

20

【0598】

[00517] いくつかの実施形態では、非多型細胞表面エピトープは、CD19、CD20、CD22、CD10、CD7、CD49f、CD56、CD74、CAIX、Ig、ROR1、ROR2、CD30、ルイスY、CD33、CD34、CD38、CD123、CD28、CD44v6、CD44、CD41、CD133、CD138、NKG2D-L、CD139、BCMA、GD2、GD3、hTERT、FBP、EGP-2、EGP-40、FR-、L1-CAM、Erbb2、3、4、EGFRvIII、VEGFR-2、IL-13R<sub>2</sub>、FAP、メソテリン、c-MET、PSMA、CEA、k

30

【0599】

[00518] いくつかの実施形態では、安全なエフェクター免疫細胞は、自家又は普遍的(同種)エフェクター細胞である。

【0600】

[00519] いくつかの実施形態では、安全なエフェクター免疫細胞は、T細胞、ナチュラルキラー細胞及びサイトカイン誘導キラー細胞からなる群から選択される。

40

【0601】

[00520] 安全なエフェクター免疫細胞のいくつかの実施形態では、iCAR又はpCARの発現レベルは、aCARの発現レベル以上である。

【0602】

[00521] 安全なエフェクター免疫細胞のいくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、第1のベクターによって発現され、aCARは、第2のベクターによって発現される。

【0603】

[00522] 安全なエフェクター免疫細胞のいくつかの実施形態では、iCAR又はpCAR及びaCARは、両方とも同じベクターによって発現される。

50

## 【0604】

[00523] 安全なエフェクター免疫細胞のいくつかの実施形態では、aCARをコードするヌクレオチド配列は、iCAR又はpCARをコードするヌクレオチド配列の下流にある。

## 【0605】

[00524] 安全なエフェクター免疫細胞のいくつかの実施形態では、ヌクレオチド配列は、aCARをコードするヌクレオチド配列とiCAR又はpCARをコードするヌクレオチド配列との間にウイルス自己開裂型2Aペプチドを含む。

## 【0606】

[00525] 安全なエフェクター免疫細胞のいくつかの実施形態では、ウイルス自己開裂型2Aペプチドは、ゾセア・アシグナ(Thosea asigna)ウイルス(TaV)由来のT2A、口蹄疫ウイルス(FMDV)由来のF2A、ウマ鼻炎Aウイルス(ERAV)由来のE2A及びプタテッシュウウイルス-1(PTV1)由来のP2Aからなる群から選択される。

10

## 【0607】

[00526] 安全なエフェクター免疫細胞のいくつかの実施形態では、aCARをコードするヌクレオチド配列は、柔軟なリンカーを介してiCAR又はpCARに連結されている。

## 【0608】

[00527] 安全なエフェクター免疫細胞のいくつかの実施形態では、aCARは、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素を含む。

20

## 【0609】

[00528] 安全なエフェクター免疫細胞のいくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素は、例えば、CD3又はFcR鎖の免疫受容体チロシン活性化モチーフ(ITAM)と相同である。

## 【0610】

[00529] 安全なエフェクター免疫細胞のいくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素は、KIR2DS及びKIR3DSなどの活性化キラー細胞免疫グロブリン様受容体(KIR)と相同である。

## 【0611】

[00530] 安全なエフェクター免疫細胞のいくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素は、DAP12などのアダプター分子と相同であるか又はそれである。

30

## 【0612】

[00531] 安全なエフェクター免疫細胞のいくつかの実施形態では、エフェクター免疫細胞を活性化又は共刺激する少なくとも1つのシグナル伝達要素は、CD27、CD28、ICOS、CD137(4-1BB)、CD134(OX40)若しくはGITRの共刺激シグナル伝達要素と相同であるか又はそれである。

## 【0613】

[00532] 本発明は、本明細書に記載のiCARを発現する安全なエフェクター免疫細胞を患者に投与することを含む、LOHによって特徴付けられる腫瘍を有する患者の癌を処置するための方法も提供する。

40

## 【0614】

[00533] いくつかの実施形態では、本発明は、本明細書に記載の安全なエフェクター免疫細胞を患者に投与することを含む、LOHによって特徴付けられる腫瘍を有する患者の癌を処置するための方法をさらに提供する。

## 【0615】

[00534] 一態様では、本発明は、エフェクター免疫細胞の望ましくない活性化を防止又は減弱することができる阻害性キメラ抗原受容体(iCAR)をコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子であって、iCARが、ヘテロ接合性の喪失(LOH)に起因して

50

哺乳類の腫瘍細胞上に存在しないが、少なくとも関連する哺乳類の正常組織の全ての細胞上及び重要な臓器上に存在する多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する細胞外ドメインと、エフェクター免疫細胞を阻害する少なくとも1つのシグナル伝達要素を含む細胞内ドメインとを含む、核酸分子を提供する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCAR標的は、aCAR標的が通常発現する全ての細胞上に発現する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCAR標的は、aCARが発現する重要な臓器細胞で発現する。

【0616】

[00535] さらに態様では、本発明は、本明細書で定義される本発明の核酸分子と、核酸分子に作動可能に連結されたプロモーターなどの少なくとも1つの制御要素とを含むベクターを提供する。

10

【0617】

[00536] 別の態様では、本発明は、本明細書で定義される本発明に従って、エフェクター免疫細胞の望ましくない活性化を防止又は減弱することができる阻害性キメラ抗原受容体(iCAR)を調製する方法であって、(i)既知のバリエーションの少なくとも1つのデータベースからの、タンパク質をコードする遺伝子のヒトゲノムバリエーションのリストを取得することと、(ii)(a)バリエーションを選択し、その対応する参照対立遺伝子と比較して、それぞれの遺伝子によってコードされるタンパク質にアミノ酸配列の多様性を生じること、(b)アミノ酸配列の多様性が、コードされるタンパク質の細胞外ドメインにある、遺伝子のバリエーションを選択すること、(c)少なくとも1つの腫瘍においてヘテロ接合性の喪失(LOH)を受ける遺伝子のバリエーションを選択すること、並びに(d)(c)に従ってLOHを受ける少なくとも1つの腫瘍の少なくとも原発組織で発現する遺伝子のバリエーションを選択し、それにより、LOHに起因して少なくとも1つの腫瘍において喪失した遺伝子及び少なくとも1つの腫瘍の少なくとも原発組織で発現する遺伝子のそれぞれによってコードされるタンパク質の細胞外ドメインに、アミノ酸配列の多様性を有するバリエーションのリストを得ることにより、(i)によって取得したバリエーションのリストをフィルタリングすることと、(iii)(i)で得たリストから少なくとも1つの単一バリエーションを含む配列領域を定義し、少なくとも1つの単一バリエーションを含む配列領域及び対応する参照対立遺伝子を含む配列領域をサブクローニング及び発現し、それによりそれぞれのエピトープペプチドを得ることと、(iv)クローニングされた配列領域によってコードされるエピトープペプチド、又は(iii)で得た対応する参照対立遺伝子によってコードされるエピトープペプチドのいずれかに特異的に結合するiCAR結合ドメインを選択することと、(vii)各々が(iv)で定義されるiCAR結合ドメインを含む、本明細書で定義されるiCARを調製することを含む方法を提供する。

20

30

【0618】

[00537] なお別の態様では、本発明は、安全なエフェクター免疫細胞を調製するための方法であって、(i)腫瘍関連抗原に向けられたTCR操作エフェクター免疫細胞を、本明細書で定義されるiCARをコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子でトランスフェクトするか、若しくは本明細書で定義されるベクターで細胞を形質導入すること、又は(ii)ナイーブエフェクター免疫細胞を、本明細書で定義されるiCARをコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子及び本明細書で定義されるaCARをコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子でトランスフェクトするか、若しくはエフェクター免疫細胞を本明細書で定義されるベクターで形質導入することを含む、方法を提供する。

40

【0619】

[00538] さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載の本発明の方法によって得られる安全なエフェクター免疫細胞を提供する。安全なエフェクター免疫細胞は、外因性TCRが、抗原の非多型細胞表面エピトープ若しくは多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに向けられ、前記エピトープが、腫瘍関連抗原であるか、若しくは少なくとも関連する腫瘍の細胞と正常組織の細胞とによって共有され、iCARが、本明細書で定義されるとおりである、外因性T細胞受容体(TCR)及びiCARを発現する向け

50

直されたT細胞であり得るか、又は安全なエフェクター免疫細胞は、ナチュラルキラー細胞若しくは本明細書で定義されるiCAR及びaCARを発現するT細胞などの向け直されたエフェクター免疫細胞である。

【0620】

[00539] さらに態様では、本発明は、LOHによって特徴付けられる腫瘍を有する対象のための個別化されたバイオマーカを選択する方法であって、(i)対象から腫瘍生検を得ることと、(ii)対象から正常組織の試料、例えば末梢血単核細胞(PBMC)を得ることと、(iii)LOHに起因して腫瘍の細胞によって発現されないが、正常組織の細胞によって発現される多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションを同定し、それにより対象のための個別化されたバイオマーカを同定することを含む方法を提供する。

10

【0621】

[00540] さらに態様では、本発明は、LOHによって特徴付けられる腫瘍を有する患者の癌を処置するための方法であって、本明細書で定義されるエフェクター免疫細胞を患者に投与することを含み、iCARが、ヘテロ接合性の喪失(LOH)に起因して腫瘍の細胞に存在しないが、少なくとも患者の関連する哺乳類の正常組織の全ての細胞上に存在する多型細胞表面エピトープをコードする単一对立遺伝子バリエーションに向けられる、方法を提供する。

【0622】

[00541] なおさらに態様では、本発明は、LOHによって特徴付けられる腫瘍を有する患者の処置における使用のための、本明細書で定義される安全なエフェクター免疫細胞であって、iCARが、ヘテロ接合性の喪失(LOH)に起因して腫瘍の細胞に存在しないが、患者の重要な臓器を含む、少なくとも患者の関連する哺乳類の正常組織の全ての細胞上に存在する多型細胞表面エピトープをコードする単一对立遺伝子バリエーションに向けられる、安全なエフェクター免疫細胞に関する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCAR標的が通常発現する全ての細胞上に発現する。いくつかの実施形態では、iCAR又はpCARは、aCARが発現する重要な臓器細胞で発現する。

20

【0623】

[00542] さらにさらに態様では、本発明は、LOHによって特徴付けられる腫瘍を有する患者の癌を処置するための方法であって、(i)LOHに起因して腫瘍の細胞によって発現されないが、正常組織の細胞によって発現される多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションを同定する情報を同定又は受領することと、(ii)抗原の非多型細胞表面エピトープ又は多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションを同定する情報を同定又は受領することであって、前記エピトープが、腫瘍関連抗原であるか、又は前記癌患者の少なくとも関連する腫瘍の細胞と正常組織の細胞とによって共有される、情報を同定又は受領することと、(iii)本明細書で定義されるiCARを定義する少なくとも1つの核酸分子及び本明細書で定義されるaCARをコードするヌクレオチド配列を含む少なくとも1つの核酸分子又は本明細書で定義される少なくとも1つのベクターを選択又は受領することであって、iCARが、(i)の細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含み、aCARが、(ii)の細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含む、選択又は受領することと、(iv)(iii)の核酸分子でエフェクター免疫細胞をトランスフェクトすること、又は(iii)のベクターでエフェクター免疫細胞を形質導入することにより、安全な向け直されたエフェクター免疫細胞の少なくとも1つの集団を調製又は受領することと、(v)前記癌患者に、(iv)の安全な向け直された免疫エフェクター細胞の少なくとも1つの集団を投与することを含む、方法に関する。

30

40

【0624】

[00543] 同様の態様では、本発明は、LOHによって特徴付けられる腫瘍を有する患者の癌を処置するための、安全な向け直された免疫エフェクター細胞の少なくとも1つの集団であって、安全な向け直された免疫細胞が、(i)LOHに起因して腫瘍の細胞によ

50

って発現されないが、正常組織の細胞によって発現される多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションを同定する情報を同定又は受領することと、(ii) 抗原の非多型細胞表面エピトープ又は多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションを同定する情報を同定又は受領することと、前記エピトープが、腫瘍関連抗原であるか、又は前記癌患者の少なくとも関連する腫瘍の細胞と正常組織の細胞とによって共有される、情報を同定又は受領することと、(iii) 本明細書で定義される iCAR を定義する少なくとも1つの核酸分子及び本明細書で定義される aCAR をコードするヌクレオチド配列を含む少なくとも1つの核酸分子又は本明細書で定義される少なくとも1つのベクターを選択又は受領することと、iCAR が、(i) の細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含み、aCAR が、(ii) の細胞表面エピトープに特異的に結合する細胞外ドメインを含む、選択又は受領することと、(iv) (iii) の核酸分子でエフェクター免疫細胞をトランスフェクトすること、又は (iii) のベクターでエフェクター免疫細胞を形質導入することにより、安全な向け直されたエフェクター免疫細胞の少なくとも1つの集団を調製又は受領することとによって得られる、免疫エフェクター細胞の少なくとも1つの集団を提供する。

10

#### 【0625】

[00544] 別の態様では、本発明は、2つ以上の核酸分子の組み合わせであって、各1つが、前記核酸分子が単一の連続核酸分子の一部であるか若しくはそれを形成する、制御されたエフェクター免疫細胞活性化系の異なるメンバーをコードするヌクレオチド配列を含むか又は2つ以上の別個の核酸分子を含み、制御されたエフェクター免疫活性化系がエフェクター免疫細胞に向けられて、ヘテロ接合性の喪失 (LOH) に起因して1つ以上の染色体又はそれらの断片を喪失した腫瘍細胞を殺傷し、関連正常組織の細胞を生かし、(a) 第1のメンバーが、抗原の非多型細胞表面エピトープ又は異なる多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する第1の細胞外ドメインを含む活性化キメラ抗原受容体 (aCAR) ポリペプチドを含み、前記非多型又は多型細胞表面エピトープが、腫瘍関連抗原であるか、又は関連する異常な哺乳類組織の細胞と正常な哺乳類組織の細胞とによって共有され、(b) 第2のメンバーが、LOH に起因して異常な哺乳類組織によって発現されないが、関連する哺乳類の正常組織の全ての細胞上に存在する多型細胞表面エピトープの単一对立遺伝子バリエーションに特異的に結合する第2の細胞外ドメインを含む調節ポリペプチドを含む、核酸分子の組み合わせに関する。

20

30

#### 【0626】

長い表

[00545] 特許出願は、長い表セクションを含む。表の写しは、2019年9月27日に出願された対応する米国出願及び本件が優先権を主張する仮出願と同時に提出された。

#### 【実施例】

#### 【0627】

実施例

[00546] 実施例に関して、次の用語が採用される。

#### 【0628】

[00547] 染色体という用語が使用されるとき、これは一般に、SNPが存在する染色体を指す。SNP分析では、位置は、SNPのゲノム位置 (アセンブリ GRCh37.p13) を指す。snp\_idは、使用されるときに、存在する場合の dbSNP rs ID を指す。

40

#### 【0629】

[00548] 「ref」という用語は、参照ヌクレオチド対立遺伝子を指す。「alt」という用語は、代替ヌクレオチド対立遺伝子を指す。

#### 【0630】

[00549] 「品質」という用語は、Exome Aggregation Consortium (ExAC) からの品質スコアを指す。「filter\_status」という用語は、ExACからのフィルター情報を指す。

#### 【0631】

50

[00550] 「allele\_frequency」という用語は、E x A Cからの包括的な対立遺伝子頻度を指す。「max\_allele\_frequency」という用語は、最も一般的な代替対立遺伝子の包括的な対立遺伝子頻度を指す（これは、一般に、SNPが同じ部位に3つ以上の代替対立遺伝子を有し、これが多くの場合いずれかのシーケンシングエラーを意味することのできる時にのみ関連する）。

【0632】

[00551] 「het\_allele\_count」という用語は、ヘテロ接合体であったE x A Cの関与数を指す。「AFR\_AF」という用語は、アフリカ系のゲノムからのマイナー対立遺伝子頻度を指す。「AMR\_AF」という用語は、ラテン系ゲノムにおけるマイナー対立遺伝子頻度を指す。「EAS\_AF」という用語は、東アジア系のゲノムにおけるマイナー対立遺伝子頻度を指す。「FIN\_AF」という用語は、フィンランド系のゲノムにおけるマイナー対立遺伝子頻度を指す。「NFE\_AF」という用語は、フィンランド系ではない欧州系のゲノムにおけるマイナー対立遺伝子頻度を指す。「OTH\_AF」という用語は、他のゲノムにおけるマイナー対立遺伝子頻度を指す。「SAS\_AF」という用語は、南アジア系のゲノムにおけるマイナー対立遺伝子頻度を指す。

10

【0633】

[00552] 「max\_AF」という用語は、E x A Cで分類された集団の中での最大のマイナー対立遺伝子頻度を指す（0.5は最大許容可能なアレル頻度である）。

【0634】

[00553] 「遺伝子」という用語は、SNPが含まれる遺伝子のHUGO記号を指す。

20

【0635】

[00554] 「hgnc\_ID」という用語は、SNPが含まれる遺伝子のHUGOゲノム命名法委員会数値IDを指す。

【0636】

[00555] 「結果」という用語は、翻訳されたタンパク質生成物に対するSNPの影響を指す。missense\_variant、frameshift\_variant、inframe\_deletion、stop\_gainedを含むいくつかのうちの1つであり得る。

【0637】

[00556] 「protein\_consequence」という用語は、参照タンパク質転写物（例えば、pArg482Gln）上のアミノ酸置換及びその位置を報告する。

30

【0638】

[00557] 「aa\_affected」という用語は、コンセンサスタンパク質転写物上の影響を受けるアミノ酸の数値的な位置を指す。

【0639】

[00558] 「allele\_1」という用語は、参照対立遺伝子によってコードされるアミノ酸を指す。

【0640】

[00559] 「allele\_2」という用語は、代替対立遺伝子によってコードされるアミノ酸を指す。

【0641】

40

[00560] 「sift\_score」という用語は、SIFTアルゴリズムによるアミノ酸置換の予測される機能的効果のスコア及び解釈を指す。バージョンsift5.2.2を使用する。スコアの範囲は0～1である。低いスコアは、アミノ酸置換が許容される可能性がより高いことを意味する。

【0642】

[00561] 「polyphen\_score」という用語は、ポリフェンアルゴリズムによるアミノ酸置換の予測される機能的効果のスコア及び解釈を指す。PolyPhen(v2.2.2)を使用する。スコアの範囲は0～1である。低いスコアは、アミノ酸置換が有害である可能性がより高いことを意味する。

【0643】

50

[00562] 「polyphen\_numeric」という用語は、ポリフェンアルゴリズムから抽出された数値のみのスコアを指す。

【0644】

[00563] 「protein\_domains\_affected」という用語は、次のアルゴリズム：Gene 3D、hmmpanther、Prositesに基づいて予測されるタンパク質ドメインを指す。

【0645】

[00564] 「BLOSUM\_score」という用語は、[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/IEB/ToolBox/C\\_DOC/lxr/source/data/BLOSUM62](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/IEB/ToolBox/C_DOC/lxr/source/data/BLOSUM62)からのBLOSUM62マトリックスに基づくアミノ酸置換のスコアを指す。負のスコアは、時間の経過とともに進化の頻度の低下を生じた（タンパク質機能に影響する可能性がより高い）アミノ酸置換を示す。

10

【0646】

[00565] 「allele\_1\_one\_letter」という用語は、参照アミノ酸対立遺伝子の1文字のアミノ酸コードを指す。

【0647】

[00566] 「allele\_2\_one\_letter」という用語は、代替アミノ酸対立遺伝子の1文字のアミノ酸コードを指す。

【0648】

[00567] 「mono\_allelic\_expression」という用語は、SNPが含まれる遺伝子が、ヒトの単一对立遺伝子発現を受けるかどうかを指す。このアノテーション<sup>7</sup>には、Savova et al.によって確立されたデータベースを使用した。この列のA1は、遺伝子が単一对立遺伝子発現を示すことを示す。この列のA0は、Savovaらのデータベースで遺伝子が単一对立遺伝子発現を示さなかったことを示す。この列のNAは、Savovaらの論文で遺伝子がアノテーションされなかったことを意味する。

20

【0649】

[00568] 「細胞外」という用語は、影響を受けるタンパク質の細胞外ドメインにSNPが含まれるかどうかを指す。この列のA1は、SNPが細胞外ドメインにあることを示し、0はそうでないことを示す。タンパク質ドメインのアノテーションに、UniProtを使用した。

【0650】

30

[00569] 「Pdb\_id」という用語は、影響を受けるタンパク質が存在する場合、そのタンパク質データバンクIDを指す。1つのタンパク質に対して多くのタンパク質データバンクエントリが存在する場合、最初のIDのみが含まれる。

【0651】

[00570] 「aa\_context\_21aa\_allele\_1」という用語は、コンセンサスタンパク質配列上のSNPアミノ酸の周囲のA21アミノ酸ウィンドウを指す。配列は、コンセンサスタンパク質配列の前の部分から10個のアミノ酸からなる。参照アミノ酸が、影響を受けた位置でコンセンサスタンパク質配列と一致することを確実にするためにチェックを行った。これら2つのアミノ酸が同じでない場合、エントリは、「コンセンサスイソフォームに基づくuniprot fastaとの不一致」と表示される。

40

【0652】

[00571] 用語「aa\_context\_21aa\_allele\_2：上と同じアミノ酸ウィンドウであるが、中央へのアミノ酸対立遺伝子2の挿入。

【0653】

[00572] 用語「gtex\_mean：組織全体の平均遺伝子発現（RPKM）。これは、GTEXからの組織全体の中央RPKM値の平均値からなる。例えば、所与の遺伝子の値が肺（中央値）= 3、乳房（中央値）= 2、膵臓（中央値）= 5の場合、このエントリで報告される値は、3.33であろう。

【0654】

[00573] 用語「gtex\_min：全ての組織全体の組織の最も低い遺伝子発現。この値は

50

、全ての組織全体の遺伝子発現の中央値のリストから導出される。例えば、所与の遺伝子の値が肺（中央値）= 3、乳房（中央値）= 2、膵臓（中央値）= 5の場合、このエントリで報告される値は、2であろう。

【0655】

[00574] 用語「gtex\_max」：全ての組織全体の組織の最も高い遺伝子発現。この値は、全ての組織全体の遺伝子発現の中央値のリストから導出される。例えば、所与の遺伝子の値が肺（中央値）= 3、乳房（中央値）= 2、膵臓（中央値）= 5の場合、このエントリで報告される値は、5であろう。

【0656】

[00575] 用語「gtex\_std\_dev」：所与の遺伝子の組織全体の遺伝子発現値の標準偏差。例えば、所与の遺伝子の値が肺（中央値）= 3、乳房（中央値）= 2、膵臓（中央値）= 5の場合、このエントリで報告される値は、1.5であろう。

10

【0657】

[00576] 用語「cell\_surface\_protein\_atlas」：タンパク質が、細胞表面タンパク質アトラス ([wlab.ethz.ch/cspa/](http://wlab.ethz.ch/cspa/)) で膜タンパク質としてアノテーションされたかどうかのバイナリマーカー。A 1は、このデータベースで、遺伝子が膜タンパク質としてアノテーションされたことを示す。

【0658】

[00577] 用語「human\_protein\_atlas\_membrane\_proteins」：タンパク質が、ヒトタンパク質アトラス (<https://www.proteinatlas.org/>) で膜タンパク質としてアノテーションされたかどうかのバイナリマーカー。A 1は、このデータベースで、遺伝子が膜タンパク質としてアノテーションされたことを示す。

20

【0659】

[00578] 用語「subcellular\_map\_proteome\_membrane\_proteins」：タンパク質が、プロテオームのサブ細胞マップ (<http://science.sciencemag.org/content/early/2017/05/10/science.aal3321/>) で、膜タンパク質としてアノテーションされたかどうかのバイナリマーカー。A 1は、このデータベースで、遺伝子が膜タンパク質としてアノテーションされたことを示す。

【0660】

[00579] 用語「n\_membrane\_databases\_w\_gene」：細胞膜上に発現する遺伝子としてアノテーションされた遺伝子を含む、データベース総数。最大 = 3、最小 = 0。

30

【0661】

[00580] 用語「membrane\_protein\_call」：遺伝子が含まれる膜データベース数のテキストによる解釈。遺伝子が1つのデータベースに含まれる場合、呼び出しは「低い信頼性」の膜タンパク質である。遺伝子が2つのデータベースに含まれる場合、呼び出しは「中程度の信頼性」の膜タンパク質である。遺伝子が3つのデータベースに含まれる場合、呼び出しは「高い信頼性」の膜タンパク質である。

【0662】

[00581] 用語「ratio\_gtex\_std\_dev\_to\_mean」：組織全体の平均遺伝子発現を上回る組織全体の遺伝子発現の標準偏差の比である。例えば、所与の遺伝子の値が肺（中央値）= 3、乳房（中央値）= 2、膵臓（中央値）= 5の場合、このエントリで報告される値は、 $1.5 / 3.33 = 0.45$ であろう。これは、組織全体の発現の均一性の尺度であることを意味する。低い値は、遺伝子が均一に発現することを示す。高い値は、遺伝子が一部の組織で発現し、他の組織では発現しない傾向があることを示唆する。

40

【0663】

[00582] 用語「universally\_expressed」：遺伝子が普遍的に発現すると思われるかどうかのバイナリマーカー。gtex\_meanが > 10の、gtex\_minである場合、遺伝子は普遍的に発現すると言われる。用語「> 1及びratio\_gtex\_std\_dev\_to\_mean < 1」。この列のA 1は、問題の遺伝子がこれらの基準を満たしていることを示す。

【0664】

50

[00583] 用語「疾患：スプレッドシートのこの行のLOHデータについて分析された疾患のTCGAバーコード。

【0665】

[00584] 用語「mean\_expression\_in\_tissue：分析された組織における平均遺伝子発現。いくつかの組織分類は、単一TCGA腫瘍型にマッピングされる場合がある。GTExの組織からTCGA腫瘍型へのマッピングは、ファイル「tcga\_disease\_tissue\_lookup.txt」に提供されている。代表的な試料を以下に提供する。

【0666】

【表6】

| tcga_disease | gtex_tissues               |
|--------------|----------------------------|
| Acc          | 副腎                         |
| blca         | 膀胱                         |
| brca         | 乳房...乳腺組織                  |
| cesc         | 子宮頸部...子宮頸内膜, 子宮頸部...子宮頸腔部 |

10

【0667】

[00585] 用語「mean\_expression\_in\_other\_tissues：分析した組織を除く他の全ての組織における平均遺伝子発現。例えば、分析された遺伝子がPSMA（前立腺特異的遺伝子）であった場合、分析された腫瘍型がPRAD（前立腺腺癌）のときに、この値は非常に低くなるであろう。

20

【0668】

[00586] 用語「cohens\_d：他の全ての組織に対する分析される組織での発現の分離のCohen's dの尺度。これは、分析された組織において、この遺伝子がいかに一意的に発現するかを尺度を意味する。高いCohen's dは、分析された組織において、この遺伝子が一意的に発現し、したがってACARの良好な標的であり得ることを示唆するのである。

【0669】

[00587] 用語「proportion\_w\_LOH\_relative：LOHの根拠を示す、分析された腫瘍型における腫瘍の割合。LOHを示唆するゲノムセグメントを呼び出すための閾値は、-0.1（相対コピー数単位）であった。セグメントの相対コピー数は、腫瘍のコピー数シグナルを、一致する正常細胞のコピー数シグナルによって除算したものの対数である。これらのデータは、cbioポータルから得られ、技法はパート1で検証された。

30

【0670】

[00588] 用語「CI\_95\_low\_relative：この遺伝子座でLOHを受けている腫瘍の割合に対する95%信頼区間の下限。この計算には、Rのprop.test関数を使用した。この関数は、イエーツの連続修正を用いて二項信頼区間を計算する。

【0671】

[00589] 用語「CI\_95\_high\_relative：この遺伝子座でLOHを受けている腫瘍の割合に対する95%信頼区間の上限。この計算には、Rのprop.test関数を使用した。この関数は、イエーツの連続修正を用いて二項信頼区間を計算する。

40

【0672】

[00590] 用語「mutsig\_hits\_on\_chr：癌のドライバーであることの統計的有意性（q値<0.25）を満たす、SNPと同じ染色体上の遺伝子。Mutsig 2.0アルゴリズムを使用した。フォーマットは、「Gene symbol, q=q-value; Gene symbol 2, ...」である。

【0673】

[00591] 用語「tsg\_on\_chr\_mutated\_in\_disease:mutsigからの統計的に有意性

50

を満たす遺伝子の1つが腫瘍抑制遺伝子であるかどうかのバイナリインジケータ変数。このアノテーションに使用された腫瘍抑制遺伝子のリストは、Vogelsteinら<sup>9</sup>によって公開された表からのリストであった。この列のA1は、遺伝子が腫瘍抑制遺伝子としてアノテーションされていることを示す。

【0674】

[00592] 用語「hallmark\_tsg\_on\_chr\_mutated\_in\_disease: 分析された腫瘍型で有意に変異していると同定され、SNPと同じ染色体上の遺伝子のいずれかが「ホールマーク」腫瘍抑制遺伝子であるかどうかのバイナリインジケータ変数。「ホールマーク」腫瘍抑制遺伝子は、腫瘍発生の初期に変異する可能性がより高い、十分に検証された腫瘍抑制遺伝子の小リストである。これらの遺伝子は、TP53、PTEN、APC、MLL3、MLL2、VHL、CDKN2A及びRB1であった。この列のA1は、これらのホールマークTSGの1つが問題のSNPと同じ染色体上に存在し、分析された腫瘍型で有意に変異していることを示す。

10

【0675】

[00593] 用語「gistic\_deletion\_n\_peaks: SNPが含まれる染色体上のGISTIC I Cピークの数。より高い数は、この染色体上の遺伝物質の喪失を推進する、より強い選択力があることを(大まかに)示唆する。

【0676】

[00594] 用語「gistic\_deletion\_best\_q\_value: SNPが含まれる染色体上のゲノム喪失の最も低いGISTIC q値。非常に低いq値は、染色体上のどこかにゲノム物質を喪失する、有意な選択圧があることを示唆する。

20

【0677】

[00595] 用語「proportion\_of\_patients\_eligible: i) SNPの生殖系列ヘテロ接合性、及びii) 腫瘍におけるSNPのLOHを有するであろう患者の推定される割合。SNPの生殖系列ヘテロ接合性を有する患者の割合の推定は、ヘテロ接合割合 =  $2pq$  の等式を使用して、ハーディ-ワインベルグ平衡を推定する。式中、pは、SNPの全体的な対立遺伝子の割合であり、 $q = 1 - p$ である。

【0678】

[00596] 用語「proportion\_of\_patients\_eligible\_max\_ethnicity\_targeted: i) SNPの生殖系列ヘテロ接合性、及びii) 腫瘍におけるSNPのLOHを有するであろう患者の推定される割合。SNPの生殖系列ヘテロ接合性を有する患者の割合の推定は、ヘテロ接合割合 =  $2pq$  の等式を使用して、ハーディ-ワインベルグ平衡を推定する。式中、pはSNPの最大集団制限対立遺伝子の割合であり、 $q = 1 - p$ である。例えば、いくつかの場合、使用される集団は、アフリカ系であり得、場合により南アジア系であり得る。

30

【0679】

[00597] 用語「cumulative\_score: SNPがiCAR標的の良好な候補である度合いを定量化するスコア。スコアの範囲は、0~理論上の1である。このスコアの計算のさらなる情報については、「候補SNPをランク付けするための累積スコア」と題されたセクションを参照されたい。

40

【0680】

実施例1. 癌全体のHLA遺伝子のLOHの比率の評価  
序論:

[00598] 癌細胞のゲノム喪失によって引き起こされる脆弱性に対処するための療法的戦略を提案する。提案される戦略は、活性化CAR T細胞(aCAR)と阻害性CAR T細胞(iCAR)との組み合わせを使用して、母方及び父方の対立遺伝子でヘテロ接合性の(すなわち多型タンパク質のコード変化を伴う)細胞膜タンパク質をコードするゲノムセグメントを喪失した腫瘍をより安全に標的とする。

【0681】

[00599] iCARの標的が非腫瘍組織によってのみ発現される場合、iCARは、抗

50

腫瘍有効性を減少させることなく、CAR-T療法の腫瘍外毒性を減少させることができる。iCAR標的が非腫瘍細胞によってのみ発現される、1つのかかるシナリオは、腫瘍細胞で欠失したゲノムの一部分によってiCAR抗原がコードされていると発生する。多型が高く、全ての細胞上に発現することが知られている1つの遺伝子ファミリーが、HLAである。

#### 【0682】

[00600] HLAタンパク質は、哺乳類細胞によってほぼ普遍的に発現され、免疫系の細胞への非自己抗原の提示を可能にする。HLA遺伝子は、量的に高度に発現される傾向があることにより、療法的標的化もより受け入れやすい。HLA遺伝子のRNA発現は、ゲノムにおいて、他のタンパク質コード遺伝子の99.3%超である(図4)。HLA遺伝子の平均組織発現及びそれらのゲノム位置は、表3並びにCD-ROMで本明細書とともに提供される長い表に含まれている。

10

#### 【0683】

[00601] このセクションの目的は、HLA遺伝子が頻繁に欠失を受ける癌の種類を同定することである。二次分析は、HLA遺伝子座でのゲノム喪失のドライバーを同定する試みを含む。

#### 【0684】

[00602] HLA遺伝子の頻繁なコピー喪失を推進する選択圧を用いて、癌を同定するための詳細な計画を実行した(図5)。

#### 【0685】

ABSOLUTEデータを使用した腫瘍型全体でのHLA喪失の頻度：

20

[00603] ABSOLUTEアルゴリズムによって処理したTCGAからのコピー数プロファイルを使用して、HLA-Aの対立遺伝子喪失比率の実際のデータに基づいた推定値を評価した。一般的に利用可能なABSOLUTEセグメント化コピー数データは、(<https://www.synapse.org/#!/Synapse:syn1710464.2>)<sup>1</sup>からダウンロードした。ABSOLUTEアルゴリズムは、単一癌ゲノム内の各対立遺伝子セグメントの整数コピーレベルをアウトプットする。染色体6(HLA遺伝子座に存在する)の単一コピーが喪失している場合、対立遺伝子のコピー数は、保持されたセグメントでは1、喪失したセグメントでは0であろう。コピー数に変化のないヘテロ接合性の喪失の場合、保持されたセグメントはコピー数2を有し、喪失したセグメントはコピー数0を有するであろう。ABSOLUTEによって処理した一般的に入手可能なコピー数データは、12の腫瘍型で利用可能であった(表4)。肺扁平上皮癌(LUSC)は、他の腫瘍型と比較して、最も高いHLA-A LOHの頻度を有した(図6)。子宮/子宮内膜癌(UCEC)は、評価可能な全ての腫瘍のうち、最も低いHLA-A LOHの頻度を有した(ABSOLUTEデータが入手不可能であることに起因して、AML試料は含まなかった)。HLA-A遺伝子の588個の欠失のうち、遺伝子内切断点は1つもなかった(図7)。HLA-A遺伝子のほとんどの欠失は、染色体の大部分を包含した(図8)。ABSOLUTEコピー数データはAML試料では入手不可能であったが、これらの試料の相対コピー数データを手動で検査したところ、欠失はないことが明らかになった(図11)。

30

#### 【0686】

ABSOLUTEコピー数データと比較した相対コピー数データの検証：

40

[00604] 一般的に入手可能な、できる限り多くの腫瘍型のLOHの頻度を得ようと努めた。しかしながら、これらのデータは、ABSOLUTEによって処理されておらず、ABSOLUTEによって処理する生データは一般的に入手不可能である。代わりに、TCGAからの32の腫瘍型の相対コピー数データを使用した(図13)。これらのデータは、cbioportal([cbioportal.org/data\\_sets.jsp](http://cbioportal.org/data_sets.jsp))からダウンロードした。相対コピー数データは、腫瘍試料のAffymetrix SNP 6.0アレイから得た。

#### 【0687】

[00605] LOHの正確な推定値を相対コピー数データから得ることができるかどうかを決定するために、ABSOLUTEからのLOHデータをすでに有していた腫瘍の相対デー

50

タを用いてLOHの比率を算出した。これらのデータは、セグメント化されたコピー数ファイルからなった。各セグメントには、相対コピー比が割り当てられている。コピー比は、(Affymetrixアレイで)一致した正常と比較した腫瘍のシグナル密度の比の対数として定義される。(通常、末梢血からの)一致する対照への正規化は、コピー数バリエーションの生殖系列を体細胞として誤って解釈されないように除去するのに役立つ。ゲノムセグメントの相対コピー数が所与の閾値を下回っている場合、そのセグメントはゲノム喪失を受けたと言われる。例えば、セグメント321の相対コピー数が-0.4であり、コピー喪失の閾値が-0.3である場合、セグメント321はコピー喪失を受けたと言われ、直接の対立遺伝子情報が欠如しているため、セグメント321は同様にLOHを受けたと言われる。

10

#### 【0688】

[00606] まず、相対コピー数セグメントを、LOHを受けたものとして標識付けするための最適なコピー数カットオフを決定しようと試みた。相対コピー数のカットオフが-0.1で、ABSOLUTEコピー数及びLOHの相対コピー数の推定値の一致率は最も高かった(表5及び図9)。この閾値は、偶然にも、TCGAコピー数群により、TCGA Tumorscapeポータル(<http://portals.broadinstitute.org/tcga/home>)でコピー喪失を定義するために使用する閾値でもある。ABSOLUTEデータに対する相対データでのHLA-A LOHを有する個人間の割合の相関は、0.55であった。このかなり高い相関関係により、利用可能な相対コピー数データを用いて、全ての腫瘍型の分析を進めることが可能になった。

20

#### 【0689】

相対コピー数データを使用した、32の腫瘍型全体のHLA-LOHを有する患者の割合

[00607] TCGAから入手可能な32の腫瘍全てに対する、HLA-AのLOHを有した患者の一部を算出した(図10A; COAD及びREADは一緒に分析した)。HLA-A LOHの最も高い比率を有する腫瘍は、腎臓嫌色素性癌であった。HLA-A LOHの最も低い比率を有する腫瘍は、ブドウ膜黒色腫であった(表6)。これらの分析で導出したLOHの比率がゲノム位置の小さい摂動に対して強固であることを確実にするために、HLA-Aの上流及び下流遺伝子のLOHの比率を分析して、HLA-LOHの比率がHLA-Aと同様であるかどうかを調べた。予想通り、上流及び下流遺伝子、HLA-G及びZNRD1のLOHの比率は、それぞれHLA-Aと全く同じであった(図3

30

#### 【0690】

HLA-A LOH比率への選択圧の追加

[00608] 腫瘍内のゲノムの不均一性は、これまでに分析されたほぼ全てのヒトの癌で、最近高く評価されている特色である2、3。腫瘍細胞の一部にのみ存在する遺伝子的変更を標的とする療法は、前記変化がある腫瘍細胞にのみ影響を与え得る。腫瘍細胞上に存在しない抗原を標的とするiCAR戦略は、抗原がクローン的に欠失していない場合、一部の腫瘍細胞をaCAR攻撃から保護する場合がある。したがって、HLA遺伝子がクローンLOHを受ける可能性が高い腫瘍を同定しようと努めた。進化の初期に発生するLOHは、腫瘍の開始及び/又は維持における選択力によって推進される可能性が高い。したがって、3つの方式で第6染色体(HLA遺伝子座に存在する)の腫瘍抑制因子を探した。第1に、評価された各腫瘍型の、第6染色体上で有意に変異している遺伝子を探した4。スプレッドシートでは、「chr6\_mutsig\_sig\_genes」列の下に第6染色体上に有意な変異を有する遺伝子が報告されている。

40

50

## 【0691】

[00609] 第2に、欠失した可能性の高い腫瘍抑制因子を示す、有意に欠失した遺伝子の領域を探した。これらのデータに、GISTIC2.0を実行した結果を使用した。スプレッドシートでは、第6染色体のGISTIC欠失ピークの数 ( $q < 0.25$ ) 及びこれらの欠失ピークの最も低いq値が報告されている。一般に、GISTIC欠失ピークが多く、q値が低いほど、選択圧は強い。しかしながら、1つの非常に強いGISTICピークが優位であり、ピーク数は少ないというシナリオを有することも可能であるが、ドライバーの重要性は確かである。一般に、最も低いq値は、所与の染色体上での腫瘍抑制因子ドライバーの存在と最も強く相関するはずである。

## 【0692】

[00610] 第3に、各腫瘍において有意に変異した遺伝子のセットを、既知の腫瘍抑制遺伝子のリストと重ねて、変異遺伝子のいずれかが第6染色体の喪失を推進した可能性が高かったかを決定した<sup>5</sup>。可能性がある変異ドライバーを有する2つの腫瘍型を同定することができた。副腎皮質癌では、DAXX遺伝子が有意に変異し ( $q = 0.0571$ )、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫では、TNFAIP3遺伝子が有意に変異していた ( $q = 0.00278$ )。DAXXはヒストンシャペロンをコードし、その変異は副腎皮質癌のより長いテロメアに関連している<sup>6</sup>。TNFAIP3は、NF- $\kappa$ Bシグナル伝達の負のレギュレーターをコードする。したがって、DLBCLで発生するこの遺伝子の変異は、NF- $\kappa$ Bシグナル伝達を増加させることが示されている<sup>7</sup>。

## 【0693】

## 【表7】

表3. LOHを分析したゲノム遺伝子座。ゲノム座標はhg19ヒトゲノムアセンブリにある。

| 遺伝子   | タンパク質 | 染色体 | 開始位置     | 終了位置     | RNA 発現 (RPKM) |
|-------|-------|-----|----------|----------|---------------|
| HLA-A | HLA-A | 6   | 29941260 | 29945884 | 226.6         |
| HLA-B | HLA-B | 6   | 31353872 | 31357188 | 422.4         |
| HLA-C | HLA-C | 6   | 31268749 | 31272130 | 193.4         |

## 【0694】

10

20

30

40

50

## 【表 8】

表 4. ABSOLUTE データによる腫瘍型

| 疾患名       | TCGA 略称 | 試料数 | ABSOLUTE を完了した試料数 |
|-----------|---------|-----|-------------------|
| 膀胱尿路上皮癌   | BLCA    | 138 | 90                |
| 乳房浸潤癌     | BRCA    | 880 | 750               |
| 結腸腺癌      | COAD    | 422 | 349               |
| 多形神経膠芽腫   | GBM     | 580 | 485               |
| 頭頸部扁平上皮癌  | HNSC    | 310 | 270               |
| 腎臓腎明細胞癌   | KIRC    | 497 | 373               |
| 急性骨髄性白血病  | LAML    | 200 | 0                 |
| 肺腺癌       | LUAD    | 357 | 292               |
| 肺扁平上皮癌    | LUSC    | 344 | 261               |
| 卵巣漿液性嚢胞腺癌 | OV      | 567 | 457               |
| 直腸腺癌      | READ    | 164 | 147               |
| 子宮体部子宮内膜癌 | UCEC    | 498 | 378               |

10

20

## 【0695】

## 【表 9】

表 5. ABSOLUTE コピー数データに対する相対的コピー数データによる LOH 比の相関 (ピアソン)。閾値-0.1 の相関ピーク。

| 欠失閾値  | 相関( $r^2$ ) |
|-------|-------------|
| 0     | 0.01        |
| -0.05 | 0.49        |
| -0.1  | 0.55        |
| -0.15 | 0.53        |
| -0.2  | 0.46        |
| -0.25 | 0.44        |
| -0.3  | 0.21        |
| -0.35 | 0.10        |
| -0.4  | 0.07        |
| -0.45 | 0.09        |
| -0.5  | 0.08        |

40

## 【0696】

50

## 【表 10】

表 6. TCGA データセットにおける 32 の全ての癌の LOH の数及び比率。

| TCGA 略称  | 全試料(n) | LOH を有する数(n) | LOH を有する割合  |    |
|----------|--------|--------------|-------------|----|
| KICH     | 66     | 57           | 0.863636364 |    |
| ACC      | 90     | 46           | 0.511111111 |    |
| PAAD     | 184    | 51           | 0.277173913 |    |
| KIRP     | 288    | 73           | 0.253472222 |    |
| LUSC     | 501    | 124          | 0.24750499  |    |
| SARC     | 257    | 63           | 0.245136187 | 10 |
| ESCA     | 184    | 45           | 0.244565217 |    |
| KIRC     | 528    | 98           | 0.185606061 |    |
| BLCA     | 408    | 73           | 0.178921569 |    |
| OV       | 579    | 96           | 0.165803109 |    |
| THYM     | 123    | 20           | 0.162601626 |    |
| HNSC     | 522    | 81           | 0.155172414 |    |
| CESC     | 295    | 45           | 0.152542373 |    |
| STAD     | 441    | 66           | 0.149659864 |    |
| BRCA     | 1080   | 159          | 0.147222222 | 20 |
| DLBC     | 48     | 7            | 0.145833333 | 20 |
| LUAD     | 516    | 65           | 0.125968992 |    |
| COADREAD | 616    | 77           | 0.125       |    |
| GBM      | 577    | 72           | 0.124783362 |    |
| TGCT     | 150    | 18           | 0.12        |    |
| CHOL     | 36     | 4            | 0.111111111 |    |
| MESO     | 87     | 9            | 0.103448276 |    |
| UCS      | 56     | 5            | 0.089285714 |    |
| UCEC     | 539    | 31           | 0.057513915 |    |
| LGG      | 513    | 24           | 0.046783626 | 30 |
| PRAD     | 492    | 19           | 0.038617886 |    |
| SKCM     | 104    | 4            | 0.038461538 |    |
| LIHC     | 370    | 14           | 0.037837838 |    |
| PCPG     | 162    | 3            | 0.018518519 |    |
| THCA     | 499    | 9            | 0.018036072 |    |
| UVM      | 80     | 0            | 0           |    |
| LAML     | 0      | 0            | NA          |    |

## 【0697】

40

[00612] 上に基づいて、HLA 領域 LOH は多くの腫瘍で一般的な事象であると結論付けたが、しかしながら、LOH の割合は腫瘍型間で変動する。したがって、HLA 遺伝子は、iCAR 標的の良好な候補である。

## 【0698】

実施例 1 の参考文献：

1. Zack TI, Schumacher SE, Carter SL, Cherniack AD, Saksena G, Tabak B, Lawrence MS, Zhsng CZ, Wala J, Mermel CH, Sougnez C, Gabriel SB, Hernandez B, Shen H, Laird PW, Getz G, Meyerson M, Beroukhim R. Pan-cancer patterns of somatic copy number alteration. Nature genetics. 2013; 45:1134-1140

2. Gibson WJ, Hoivik EA, Halle MK, Taylor-Weiner A, Cherniack AD, Berg A, H

50

olst F, Zack TI, Werner HM, Staby KM, Rosenberg M, Stefansson IM, Kusonmano K, Chevalier A, Mauland KK, Trovik J, Krakstad C, Giannakis M, Hodis E, Woie K, Bjorge L, Vintermyr OK, Wala JA, Lawrence MS, Getz G, Carter SL, Beroukhim R, Salvesen HB. The genomic landscape and evolution of endometrial carcinoma progression and abdominopelvic metastasis. *Nature genetics*. 2016; 48:848-855

3. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Math M, Larkin J, Endesfelder D, Gronroos E, Martinez P, Matthews N, Stewart A, Tarpey P, Varela I, Phillimore B, Begum S, McDonald NQ, Butler A, Jones D, Raine K, Latimer C, Santos CR, Nohadani M, Eklund AC, Spencer-Dene B, Clark G, Pickering L, Stamp G, Gore M, Szallasi Z, Downward J, Futreal PA, Swanton C. Intratumor Heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *The New England journal of medicine*. 2012; 366:883-892

4. Lawrence MS, Stojanov P, Mermel CH, Robinson JT, Garraway LA, Golub TR, Meyerson M, Gabriel SB, Lander ES, Getz G. Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumour types. *Nature*. 2014; 505:495-501

5. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Jr., Kinzler KW. Cancer genome landscapes. *Science*. 2013; 339:1546-1558

6. Zheng S, Cherniack AD, Dewal N, Moffitt RA, Danilova L, Murray BA, Lerario AM, Else T, Knijnenburg TA, Ciriello G, Kim S, Assie G, Morozova O, Akbani R, Shih J, Hoadley KA, Choueiri TK, Waldmann J, Mete O, Robertson AG, Wu H T, Raphael BJ, Shao L, Meyerson M, Demeure MJ, Beuschlein F, Gill AJ, Sidhu SB, Almeida MQ, Fragoso M, Cope LM, Kebebew E, Habra MA, Whitsett TG, Busssey KJ, Rainey WE, Asa SL, Bertherat J, Fassnacht M, Wheeler DA, Cancer Genome Atlas Research N, Hammer GD, Giordano TJ, Verhaak RGW. Comprehensive pan-genomic characterization of adrenocortical carcinoma. *Cancer cell*. 2016; 29:723-736

7. Compagno M, Lim WK, Grunn A, Nandula SV, Brahmachary M, Shen Q, Bertoni F, Ponzoni M, Scandurra M, Califano A, Bhagat G, Chadburn A, Dalla-Favera R, Pasqualucci L. Mutations of multiple genes cause deregulation of n f-kappab in diffuse large b-cell lymphoma. *Nature*. 2009; 459:717-721

【 0 6 9 9 】

実施例 2 . ゲノム - ヘテロ接合性の喪失を受ける、発現した細胞表面タンパク質をコードする生殖系列対立遺伝子の広義な同定

序論 :

[00613] iCAR の標的が非腫瘍組織によってのみ発現される場合、阻害性 CAR T 細胞は、抗腫瘍有効性を減少させることなく、CAR - T 療法の腫瘍外毒性を減少させることができる。iCAR 標的が非腫瘍細胞によってのみ発現されるであろう、1 つのかかるシナリオは、腫瘍細胞で欠失したゲノムの一部分によって iCAR 抗原がコードされている場合である。ワークフローのこのセクションの目的は、かかる対立遺伝子を同定することである。

【 0 7 0 0 】

対立遺伝子の同定 :

[00614] Exome Aggregation Consortium ( ExAC ) データベースを分析の入力値として使用した ( exac.broadinstitute.org ) 。 ExAC データベースは、合計 60 , 706 のエクソームの様々な集団レベルのシーケンシング研究からのエクソームをまとめたものである<sup>1</sup>。ExAC は、代替対立遺伝子と比較した参照対立遺伝子の数 ( 対立遺伝子頻度 ) を含む、各バリエーションに関する情報を含む。対立遺伝子頻度情報は、表 7 で詳述されるように、データベース内のサブ集団に拡張される。

【 0 7 0 1 】

10

20

30

40

50

【表 1 1】

| 表 7. ExAC データベース内のサブ集団。<br>注: この表の全ての個体を表すように、<br>ゲノムの全ての位置がエクソームで十分に<br>カバーされているわけではない。出典:<br><a href="http://exac.broadinstitute.org/faq">http://exac.broadinstitute.org/faq</a> 集団の<br>系統 | 集団の略称 | 個体数    |
|--|-------|--------|
| アフリカ系  | AFR   | 5,203  |
| ラテン系   | AMR   | 5,789  |
| 東アジア系  | EAS   | 4,327  |
| フィンランド系  | FIN   | 3,307  |
| フィンランド系以外の欧州系  | NFE   | 33,370 |
| 南アジア系  | SAS   | 8,256  |
| 他  | OTH   | 454    |

10

## 【0702】

[00615] ExAC データベースからのバリエーションに次のフィルターを適用した: i) バリエーションはコードされたタンパク質のアミノ酸組成に影響を与えなければならない、ii) バリエーションは、表 6 の集団の少なくとも 1 つで 0.05 (5%) 超のマイナー対立遺伝子頻度を有さなければならない。マイナー対立遺伝子が 0.5 (50%) 超の対立遺伝子割合を有するシナリオでは、分析を修正した。1 つの部位で 4 つ以上の対立遺伝子が観察された場合、最も一般的な置換を使用した (これらの部位は、多くの場合、シーケンシングエラーの部位であり、注意して解釈する必要がある)。

20

## 【0703】

[00616] SNP のいずれかが次のバリエーションクラスの内いずれかを生成した場合、SNP はタンパク質の組成に影響を有するものとして数えた: 「missense\_variant」、「inframe\_deletion」、「start\_lost」、「stop\_gained」、「inframe\_insertion」、「stop\_retained\_variant」、「frameshift\_variant」、「stop\_lost」、「coding\_sequence\_variant」、「protein\_altering\_variant」。

9,362,319 個のバリエーションで分析を開始し、29,904 個のバリエーションはこれらの 2 つのフィルターを満たした。これらのバリエーションは、10,302 個の遺伝子に含まれた。これらの 2 つのフィルターに一致する全ての対立遺伝子を分析に含めた。

30

## 【0704】

発現した遺伝子の同定:

[00617] 様々な組織の種類で発現する遺伝子の同定に、Genotype-Tissue Expression (GTEx) データベース v6p (dbGaP 受託番号 phs000424.v6.p1) (<https://gtexportal.org/home/>)<sup>2</sup> を使用した。GTEx データベースは、多様な健康な組織の種類からの 8,555 個のヒト試料の RNA シーケンシングからなる。このデータベースから、いくつかのアノテーションを得た。まず、全ての組織全体の各遺伝子の平均発現を決定した。各遺伝子の平均発現は、組織ごとの中央値の発現データを取得し、組織全体のこれらの値の平均を算出することによって計算した。これらのデータは、<https://gtexportal.org/home/datasets> から入手可能な GTEx\_Analysis\_v6p\_RNA-seq\_RNA-SeQCv1.1.8\_gene\_median\_rpk.m.gct ファイルから得た。

40

## 【0705】

[00618] 各腫瘍型に対応する各遺伝子の平均発現も含めた。これらのデータを得るために、対応する正常組織に対して腫瘍型のマッピングを作成した。例えば、膵臓癌の TCGA データは、GTEx から膵臓組織のアノテーションが付けられるであろう。場合により、マッピングは、より大まかであった。例えば、神経膠芽腫の発現データは、GTEx

50

Xで脳としてアノテーションが付けられた全ての組織からマッピングした。これらのマッピングを含む表（表題tcga\_disease\_tissue\_lookup.txt）は、各組織/腫瘍型の各遺伝子の均質性又は過剰発現を評価するために算出されたいくつかの測定値が添付されている。各腫瘍型について、遺伝子の過剰発現の可能性を確立するためにcohen's-Dスコアを算出した。特定の組織で過剰発現した遺伝子は、良好なiCAR標的となる可能性が高い。逆に、組織全体の遺伝子発現の標準偏差を測定し、これを全ての組織全体の平均発現と比較した。この比が低いと、遺伝子は、全ての組織全体で均一に発現する。全ての組織全体に均一に発現する遺伝子は、より良好なiCAR標的になる可能性が高い。

#### 【0706】

[00619] 次の基準を満たしている場合、遺伝子は「普遍的に発現する」と呼ばれる：  
 (i) 組織全体の平均発現が10RPKM超であった。(ii) 発現が最も少ない組織は、1超のRPKMを有した。(iii) 平均RPKMと比較して、組織全体の中央RPKMでの標準偏差の比は1未満であった。普遍的に発現されるとアノテーションされた遺伝子は、1,092個のみであった。

10

#### 【0707】

[00620] 候補は、UniProtアノテーションのみに基づいて選択した。膜貫通タンパク質では、通常、細胞外にあるタンパク質のセグメントが明確に予測される。

#### 【0708】

[00621] 表8は、上の方法によって同定された、染色体位置に従って選別された細胞外多型エピトープを有する1167個の良好な候補遺伝子のリストを提供する。対立遺伝子頻度(AF)10%超、且つLOH20%超のフィルターも適用すると、598個の遺伝子がある。図22を参照されたい。

20

#### 【0709】

対立遺伝子のアノテーション

タンパク質機能への対立遺伝子の影響：

[00622] iCARが膜タンパク質の1つの対立遺伝子を喪失した癌細胞のみを効果的に認識するために、タンパク質の構造は、どの対立遺伝子がコードされているかに基づいて十分に異なる。得られたタンパク質への各SNPの効果を定量化するために、いくつかの測定を行った。まず、報告されたSNPバリエーションクラス（例えば、ミスセンス、ナンセンス）を、「結果」の列に報告した。コンセンサスタンパク質翻訳への影響は、「protein\_consequence」（例、p.Arg482Gln）の列に含んだ。SIFTアルゴリズムにより、タンパク質バリエーションがタンパク質の構造及びしたがって機能への影響を有するかどうかを予測しようと試みる<sup>6</sup>。スコアは、0（有害）～1（良性）の範囲であり得る。SIFTスコア（バージョンsift5.2.2）は、スコアが利用可能な全てのSNPに含まれた。例えば、フレームシフト変異のスコアは利用不可能である。PolyPhen(v2.2.2)も、バリエーションがタンパク質の構造及び機能に影響を与え得る可能性を予測するために使用した。Polyphenアルゴリズムは、スコア0は良性に対応し、スコア1は有害に対応する、SIFTとは反対の様式でスコアを報告する。

30

#### 【0710】

[00623] 構造変化を誘導するアミノ酸置換確率の1つの古典的な尺度は、BLOSUM62置換マトリックスを使用することである。BLOSUM62マトリックスを[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/IEB/ToolBox/C\\_DOC/lxr/source/data/BLOSUM62](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/IEB/ToolBox/C_DOC/lxr/source/data/BLOSUM62)からダウンロードした。各SNPに、その置換に対応するBLOSUM62スコアでアノテーションした。

40

#### 【0711】

タンパク質の細胞外部分に含まれる対立遺伝子の分類：

[00624] iCARが対立遺伝子を認識するためには、対立遺伝子がタンパク質の細胞外部分に含まれなければならない。各SNPについて、コンセンサス翻訳で影響を受けるアミノ酸の位置を抽出し、これをUniprotデータベースから細胞外としてアノテーションしたドメインと比較した。Uniprotデータベースは、[www.uniprot.org/download](http://www.uniprot.org/download)

50

sからダウンロードした。全てのタンパク質のドメインの特徴付けの欠如に起因して、多くの偽陰性が発生する可能性がある。1167個の遺伝子で、合計3288個のSNPが細胞外としてアノテーションされた(表8)。AF及びLOHフィルターを適用すると、598個の遺伝子中に1306個のSNPがある(表13)。

#### 【0712】

SNPのペプチドの状況のアノテーション:

[00625] 分析された対立遺伝子のペプチドの状況は、これらの配列を認識する抗体を生成しようとするときにおそらく問題になるであろう。参考までに、SNPによってコードされるアミノ酸の前後にある10アミノ酸(合計21アミノ酸配列)を含める。コンセンサスアミノ酸配列には、uniprotデータベースを使用した。uniprotデータベース配列が、予測された位置でいずれかのSNPによってコードされるアミノ酸と一致しなかった場合の矛盾にアノテーションして、誤った配列を含めない。これらの21個のアミノ酸配列は、BepipredなどのB細胞エピトープ予測プログラムへの入力として有用であり得る。

10

#### 【0713】

癌特異的アノテーション:

LOHを受けている腫瘍の割合

[00626] 提案された療法が有益であり得る腫瘍を有する患者を見つけるには、腫瘍の大部分でヘテロ接合性の喪失(LOH)を受けるSNPであろう、iCARの標的が必要であろう。セグメントのコピー数ファイルは、cbio癌ゲノムクスポータル<http://www.cbioportal.org/>からダウンロードした<sup>8</sup>。一例として、全てのSNPについてLOHを受けているブドウ膜黒色腫瘍腫瘍の割合を、図12に示す。

20

#### 【0714】

候補SNPが存在する染色体上の可能性のあるドライバーの変更

[00627] 抵抗性ゲノム標的化療法の可能なメカニズムの1つは、意図したゲノム変更の1つが、癌細胞の一部にのみ存在する場合である。腫瘍発生のもっと初期の段階に存在する可能性が高い標的を同定しようと試みる1つのメカニズムは、各腫瘍のドライバー事象を同定することである。腫瘍抑制遺伝子の不活性化の最も頻繁なメカニズムは、変異及びその後の非変異染色体のLOHである。ドライバー遺伝子、特に各腫瘍型におけるこのプロセスを受ける可能性の高い腫瘍抑制遺伝子(TSG)を見出そうと試みた。この分析では、全ての腫瘍に対してMUTSIG 2.0を実行した結果を使用して、各腫瘍型で有意に変異した遺伝子を同定した。有意に変異した遺伝子の1つが、TP53、PTEN、APC、MLL3、MLL2、VHL、CDKN2A、RB1を含む「ホールマーク」腫瘍抑制遺伝子のリストに含まれているかどうかで、アノテーションした。最後に、SNPと同じ染色体上に含まれる場合、ドライバー遺伝子、TSG及び「ホールマーク」TSGのリストでは、SNPにアノテーションした。

30

#### 【0715】

[00628] その後、LOHを受けるドライバー遺伝子の変異は、腫瘍の進化の初期に発生する可能性が高い事象を示し得るメカニズムの1つであるが、腫瘍抑制遺伝子を含有するゲノムセグメントの局所的な欠失は別である。GISTICアルゴリズムを使用して、平均よりも高い比率でゲノム欠失を受けるDNAの領域を同定した。GISTICアルゴリズムは、これらの領域に対する負の選択圧を示唆している、染色体腕に沿った統計的有意性の「ピーク」を同定する。各SNPについて、SNPが含まれる染色体上の欠失ピークの数記録した。これらのピークのいずれかの最も低いq値も記録した。q値が低いほど、選択圧が強いことを示唆する。

40

#### 【0716】

候補SNPをランク付けするための累積スコア:

[00629] 候補のSNPに継続的な「スコア」を提供するために、より良好なSNP候補に関連するはずのいくつかの異なる測定基準を組み合わせた。スコアは、次の各々のパーセンタイルランクの成果からなる。

50

1. その SNP に LOH を有する腫瘍の割合 (高いほど良好である)、2. 対立遺伝子の有病率 (高いほど良好である)、3. 組織全体の発現値の標準偏差対中央値の比 (低いほど良好であり、より一貫性がある)、4. 染色体上に腫瘍抑制遺伝子があるかどうか (有さないものよりも有するものがより良好である)

【0717】

[00630] 実証するために、理論的な SNP のスコアを計算する。SNP の 32% のみが染色体上に腫瘍抑制遺伝子を有する場合、腫瘍抑制遺伝子を有するパーセントイルランクは、0.68 であろう。対立遺伝子が、0.49 (0.5 が最も高い可能性である場合) のマイナー対立遺伝子の割合を有する場合、パーセントイルランクは 0.99 であろう。LOH の比率が 0.10 であり、SNP の 75% がそれを超える LOH を有する場合、パーセントイルランクは 0.25 であろう。組織全体の発現値の標準偏差対この SNP が存在する遺伝子の中央値の比が 1.3 であり、それが他の遺伝子の 90% より良好である場合、パーセントイルランクは 0.9 である。この SNP の合計スコアは、 $0.68 * 0.99 * 0.25 * 0.9 = 0.15$  であろう。

10

【0718】

[00631] 0.4 超のスコアを有する SNP は全て、「トップヒット」と見なした。

【0719】

表 8. 例示的な iCAR 標的

染色体番号 遺伝子

- 1 ABCA4
- 1 ADAM30
- 1 ASTN1
- 1 C1orf101
- 1 CACNA1S
- 1 CATSPER4
- 1 CD101
- 1 CD164L2
- 1 CD1A
- 1 CD1C
- 1 CD244
- 1 CD34
- 1 CELSR2
- 1 CHRNB2
- 1 CLCA2
- 1 CLSTN1
- 1 CR1
- 1 CR2
- 1 CRB1
- 1 CSF3R
- 1 CSMD2
- 1 ECE1
- 1 ELTD1
- 1 EMC1
- 1 EPHA10
- 1 EPHA2
- 1 ERMAP
- 1 FCAMR
- 1 FCER1A
- 1 FCGR1B
- 1 FCGR2A

20

30

40

50

|   |                 |    |
|---|-----------------|----|
| 1 | F C G R 2 B     |    |
| 1 | F C G R 3 A     |    |
| 1 | F C R L 1       |    |
| 1 | F C R L 3       |    |
| 1 | F C R L 4       |    |
| 1 | F C R L 5       |    |
| 1 | F C R L 6       |    |
| 1 | G J B 4         |    |
| 1 | G P A 3 3       |    |
| 1 | G P R 1 5 7     | 10 |
| 1 | G P R 3 7 L 1   |    |
| 1 | G P R 8 8       |    |
| 1 | H C R T R 1     |    |
| 1 | I G S F 3       |    |
| 1 | I G S F 9       |    |
| 1 | I L 2 2 R A 1   |    |
| 1 | I T G A 1 0     |    |
| 1 | K I A A 1 3 2 4 |    |
| 1 | K I A A 2 0 1 3 |    |
| 1 | L D L R A D 2   | 20 |
| 1 | L E P R         |    |
| 1 | L R I G 2       |    |
| 1 | L R P 8         |    |
| 1 | L R R C 5 2     |    |
| 1 | L R R C 8 B     |    |
| 1 | L R R N 2       |    |
| 1 | L Y 9           |    |
| 1 | M R 1           |    |
| 1 | M U C 1         |    |
| 1 | M X R A 8       | 30 |
| 1 | N C S T N       |    |
| 1 | N F A S C       |    |
| 1 | N O T C H 2     |    |
| 1 | N P R 1         |    |
| 1 | N T R K 1       |    |
| 1 | O P N 3         |    |
| 1 | O R 1 0 J 1     |    |
| 1 | O R 1 0 J 4     |    |
| 1 | O R 1 0 K 1     |    |
| 1 | O R 1 0 R 2     | 40 |
| 1 | O R 1 0 T 2     |    |
| 1 | O R 1 0 X 1     |    |
| 1 | O R 1 1 L 1     |    |
| 1 | O R 1 4 A 1 6   |    |
| 1 | O R 1 4 I 1     |    |
| 1 | O R 1 4 K 1     |    |
| 1 | O R 2 A K 2     |    |
| 1 | O R 2 C 3       |    |
| 1 | O R 2 G 2       |    |
| 1 | O R 2 G 3       | 50 |

|   |            |    |
|---|------------|----|
| 1 | OR 2 L 2   |    |
| 1 | OR 2 M 7   |    |
| 1 | OR 2 T 1   |    |
| 1 | OR 2 T 1 2 |    |
| 1 | OR 2 T 2 7 |    |
| 1 | OR 2 T 2 9 |    |
| 1 | OR 2 T 3   |    |
| 1 | OR 2 T 3 3 |    |
| 1 | OR 2 T 3 4 |    |
| 1 | OR 2 T 3 5 | 10 |
| 1 | OR 2 T 4   |    |
| 1 | OR 2 T 5   |    |
| 1 | OR 2 T 6   |    |
| 1 | OR 2 T 7   |    |
| 1 | OR 2 T 8   |    |
| 1 | OR 2 W 3   |    |
| 1 | OR 6 F 1   |    |
| 1 | OR 6 K 2   |    |
| 1 | OR 6 K 3   |    |
| 1 | OR 6 K 6   | 20 |
| 1 | OR 6 N 1   |    |
| 1 | OR 6 P 1   |    |
| 1 | OR 6 Y 1   |    |
| 1 | PEAR 1     |    |
| 1 | PIGR       |    |
| 1 | PLXNA 2    |    |
| 1 | PTCH 2     |    |
| 1 | PTCHD 2    |    |
| 1 | PTGFRN     |    |
| 1 | PTPRC      | 30 |
| 1 | PTPRF      |    |
| 1 | PVRL 4     |    |
| 1 | RXFP 4     |    |
| 1 | S 1 PR 1   |    |
| 1 | SCNN 1 D   |    |
| 1 | SDC 3      |    |
| 1 | SELE       |    |
| 1 | SELL       |    |
| 1 | SELP       |    |
| 1 | SEMA 4 A   | 40 |
| 1 | SEMA 6 C   |    |
| 1 | SLAMF 7    |    |
| 1 | SLAMF 9    |    |
| 1 | SLC 2 A 7  |    |
| 1 | SLC 5 A 9  |    |
| 1 | TACSTD 2   |    |
| 1 | TAS 1 R 2  |    |
| 1 | TIE 1      |    |
| 1 | TLR 5      |    |
| 1 | TMEM 8 1   | 50 |

|   |                 |    |
|---|-----------------|----|
| 1 | T N F R S F 1 4 |    |
| 1 | T N F R S F 1 B |    |
| 1 | T R A B D 2 B   |    |
| 1 | U S H 2 A       |    |
| 1 | V C A M 1       |    |
| 1 | Z P 4           |    |
| 2 | A B C G 5       |    |
| 2 | A L K           |    |
| 2 | A S P R V 1     |    |
| 2 | A T R A I D     | 10 |
| 2 | C D 2 0 7       |    |
| 2 | C H R N G       |    |
| 2 | C L E C 4 F     |    |
| 2 | C N T N A P 5   |    |
| 2 | C R I M 1       |    |
| 2 | C X C R 1       |    |
| 2 | D N E R         |    |
| 2 | D P P 1 0       |    |
| 2 | E D A R         |    |
| 2 | E P C A M       | 20 |
| 2 | G P R 1 1 3     |    |
| 2 | G P R 1 4 8     |    |
| 2 | G P R 3 5       |    |
| 2 | G P R 3 9       |    |
| 2 | I L 1 R L 1     |    |
| 2 | I T G A 4       |    |
| 2 | I T G A 6       |    |
| 2 | I T G A V       |    |
| 2 | L C T           |    |
| 2 | L H C G R       | 30 |
| 2 | L R P 1 B       |    |
| 2 | L R P 2         |    |
| 2 | L Y 7 5         |    |
| 2 | M A R C O       |    |
| 2 | M E R T K       |    |
| 2 | N R P 2         |    |
| 2 | O R 6 B 2       |    |
| 2 | P L A 2 R 1     |    |
| 2 | P L B 1         |    |
| 2 | P R O K R 1     | 40 |
| 2 | P R O M 2       |    |
| 2 | S C N 7 A       |    |
| 2 | S D C 1         |    |
| 2 | T G O L N 2     |    |
| 2 | T H S D 7 B     |    |
| 2 | T M E F F 2     |    |
| 2 | T M E M 1 7 8 A |    |
| 2 | T P O           |    |
| 2 | T R A B D 2 A   |    |
| 3 | A C K R 2       | 50 |

|   |                 |    |
|---|-----------------|----|
| 3 | A L C A M       |    |
| 3 | A N O 1 0       |    |
| 3 | A T P 1 3 A 4   |    |
| 3 | C A C N A 1 D   |    |
| 3 | C A C N A 2 D 2 |    |
| 3 | C A C N A 2 D 3 |    |
| 3 | C A S R         |    |
| 3 | C C R L 2       |    |
| 3 | C D 2 0 0       |    |
| 3 | C D 2 0 0 R 1   | 10 |
| 3 | C D 8 6         |    |
| 3 | C D 9 6         |    |
| 3 | C D C P 1       |    |
| 3 | C D H R 4       |    |
| 3 | C E L S R 3     |    |
| 3 | C H L 1         |    |
| 3 | C L D N 1 1     |    |
| 3 | C L D N 1 8     |    |
| 3 | C L S T N 2     |    |
| 3 | C S P G 5       | 20 |
| 3 | C X 3 C R 1     |    |
| 3 | C X C R 6       |    |
| 3 | D C B L D 2     |    |
| 3 | D R D 3         |    |
| 3 | E P H B 3       |    |
| 3 | G A B R R 3     |    |
| 3 | G P 5           |    |
| 3 | G P R 1 2 8     |    |
| 3 | G P R 1 5       |    |
| 3 | G P R 2 7       | 30 |
| 3 | G R M 2         |    |
| 3 | G R M 7         |    |
| 3 | H E G 1         |    |
| 3 | H T R 3 C       |    |
| 3 | H T R 3 D       |    |
| 3 | H T R 3 E       |    |
| 3 | I G S F 1 1     |    |
| 3 | I L 1 7 R C     |    |
| 3 | I L 1 7 R D     |    |
| 3 | I L 1 7 R E     | 40 |
| 3 | I L 5 R A       |    |
| 3 | I M P G 2       |    |
| 3 | I T G A 9       |    |
| 3 | I T G B 5       |    |
| 3 | K C N M B 3     |    |
| 3 | L R I G 1       |    |
| 3 | L R R C 1 5     |    |
| 3 | L R R N 1       |    |
| 3 | M S T 1 R       |    |
| 3 | N A A L A D L 2 | 50 |

|   |                     |    |
|---|---------------------|----|
| 3 | N R R O S           |    |
| 3 | O R 5 A C 1         |    |
| 3 | O R 5 H 1           |    |
| 3 | O R 5 H 1 4         |    |
| 3 | O R 5 H 1 5         |    |
| 3 | O R 5 H 6           |    |
| 3 | O R 5 K 2           |    |
| 3 | O R 5 K 3           |    |
| 3 | O R 5 K 4           |    |
| 3 | P L X N B 1         | 10 |
| 3 | P L X N D 1         |    |
| 3 | P R R T 3           |    |
| 3 | P T P R G           |    |
| 3 | R O B O 2           |    |
| 3 | R Y K               |    |
| 3 | S E M A 5 B         |    |
| 3 | S I D T 1           |    |
| 3 | S L C 2 2 A 1 4     |    |
| 3 | S L C 3 3 A 1       |    |
| 3 | S L C 4 A 7         | 20 |
| 3 | S L I T R K 3       |    |
| 3 | S T A B 1           |    |
| 3 | S U S D 5           |    |
| 3 | T F R C             |    |
| 3 | T L R 9             |    |
| 3 | T M E M 4 4         |    |
| 3 | T M P R S S 7       |    |
| 3 | T N F S F 1 0       |    |
| 3 | U P K 1 B           |    |
| 3 | V I P R 1           | 30 |
| 3 | Z P L D 1           |    |
| 4 | A N T X R 2         |    |
| 4 | B T C               |    |
| 4 | C N G A 1           |    |
| 4 | C O R I N           |    |
| 4 | E G F               |    |
| 4 | E M C N             |    |
| 4 | E N P E P           |    |
| 4 | E P H A 5           |    |
| 4 | E R V M E R 3 4 - 1 | 40 |
| 4 | E V C 2             |    |
| 4 | F A T 1             |    |
| 4 | F A T 4             |    |
| 4 | F G F R L 1         |    |
| 4 | F R A S 1           |    |
| 4 | G P R 1 2 5         |    |
| 4 | G R I D 2           |    |
| 4 | G Y P A             |    |
| 4 | G Y P B             |    |
| 4 | K D R               | 50 |

|   |                   |    |
|---|-------------------|----|
| 4 | K I A A 0 9 2 2   |    |
| 4 | K L B             |    |
| 4 | M F S D 8         |    |
| 4 | P A R M 1         |    |
| 4 | P D G F R A       |    |
| 4 | R N F 1 5 0       |    |
| 4 | T E N M 3         |    |
| 4 | T L R 1           |    |
| 4 | T L R 1 0         |    |
| 4 | T L R 6           | 10 |
| 4 | T M E M 1 5 6     |    |
| 4 | T M P R S S 1 1 A |    |
| 4 | T M P R S S 1 1 B |    |
| 4 | T M P R S S 1 1 E |    |
| 4 | T M P R S S 1 1 F |    |
| 4 | U N C 5 C         |    |
| 5 | A D A M 1 9       |    |
| 5 | A D R B 2         |    |
| 5 | B T N L 3         |    |
| 5 | B T N L 8         | 20 |
| 5 | B T N L 9         |    |
| 5 | C 5 o r f 1 5     |    |
| 5 | C A T S P E R 3   |    |
| 5 | C D 1 8 0         |    |
| 5 | C D H 1 2         |    |
| 5 | C D H R 2         |    |
| 5 | C O L 2 3 A 1     |    |
| 5 | C S F 1 R         |    |
| 5 | F 2 R L 2         |    |
| 5 | F A M 1 7 4 A     | 30 |
| 5 | F A T 2           |    |
| 5 | F G F R 4         |    |
| 5 | F L T 4           |    |
| 5 | G A B R A 6       |    |
| 5 | G A B R G 2       |    |
| 5 | G P R 1 5 1       |    |
| 5 | G P R 9 8         |    |
| 5 | G R M 6           |    |
| 5 | H A V C R 1       |    |
| 5 | H A V C R 2       | 40 |
| 5 | I L 3 1 R A       |    |
| 5 | I L 6 S T         |    |
| 5 | I L 7 R           |    |
| 5 | I T G A 1         |    |
| 5 | I T G A 2         |    |
| 5 | K C N M B 1       |    |
| 5 | L I F R           |    |
| 5 | L N P E P         |    |
| 5 | M E G F 1 0       |    |
| 5 | N I P A L 4       | 50 |

|   |               |    |
|---|---------------|----|
| 5 | O R 2 V 1     |    |
| 5 | O R 2 Y 1     |    |
| 5 | O S M R       |    |
| 5 | P C D H 1     |    |
| 5 | P C D H 1 2   |    |
| 5 | P C D H A 1   |    |
| 5 | P C D H A 2   |    |
| 5 | P C D H A 4   |    |
| 5 | P C D H A 8   |    |
| 5 | P C D H A 9   | 10 |
| 5 | P C D H B 1 0 |    |
| 5 | P C D H B 1 1 |    |
| 5 | P C D H B 1 3 |    |
| 5 | P C D H B 1 4 |    |
| 5 | P C D H B 1 5 |    |
| 5 | P C D H B 1 6 |    |
| 5 | P C D H B 2   |    |
| 5 | P C D H B 3   |    |
| 5 | P C D H B 4   |    |
| 5 | P C D H B 5   | 20 |
| 5 | P C D H B 6   |    |
| 5 | P C D H G A 1 |    |
| 5 | P C D H G A 4 |    |
| 5 | P D G F R B   |    |
| 5 | P R L R       |    |
| 5 | S E M A 5 A   |    |
| 5 | S E M A 6 A   |    |
| 5 | S G C D       |    |
| 5 | S L C 1 A 3   |    |
| 5 | S L C 2 2 A 4 | 30 |
| 5 | S L C 2 2 A 5 |    |
| 5 | S L C 3 6 A 3 |    |
| 5 | S L C 6 A 1 8 |    |
| 5 | S L C 6 A 1 9 |    |
| 5 | S L C O 6 A 1 |    |
| 5 | S V 2 C       |    |
| 5 | T E N M 2     |    |
| 5 | T I M D 4     |    |
| 5 | U G T 3 A 1   |    |
| 6 | B A I 3       | 40 |
| 6 | B T N 1 A 1   |    |
| 6 | B T N 2 A 1   |    |
| 6 | B T N 2 A 2   |    |
| 6 | B T N 3 A 2   |    |
| 6 | B T N L 2     |    |
| 6 | C D 8 3       |    |
| 6 | D C B L D 1   |    |
| 6 | D L L 1       |    |
| 6 | D P C R 1     |    |
| 6 | E N P P 1     | 50 |

|   |                 |    |
|---|-----------------|----|
| 6 | E N P P 3       |    |
| 6 | E N P P 4       |    |
| 6 | E P H A 7       |    |
| 6 | G A B B R 1     |    |
| 6 | G A B R R 1     |    |
| 6 | G C N T 6       |    |
| 6 | G F R A L       |    |
| 6 | G J B 7         |    |
| 6 | G L P 1 R       |    |
| 6 | G P R 1 1 0     | 10 |
| 6 | G P R 1 1 1     |    |
| 6 | G P R 1 1 6     |    |
| 6 | G P R 1 2 6     |    |
| 6 | G P R 6 3       |    |
| 6 | G P R C 6 A     |    |
| 6 | H F E           |    |
| 6 | H L A - A       |    |
| 6 | H L A - B       |    |
| 6 | H L A - C       |    |
| 6 | H L A - D P A 1 | 20 |
| 6 | H L A - D P B 1 |    |
| 6 | H L A - D Q A 1 |    |
| 6 | H L A - D Q A 2 |    |
| 6 | H L A - D Q B 1 |    |
| 6 | H L A - D Q B 2 |    |
| 6 | H L A - D R B 1 |    |
| 6 | H L A - D R B 5 |    |
| 6 | H L A - E       |    |
| 6 | H L A - F       |    |
| 6 | H L A - G       | 30 |
| 6 | I L 2 0 R A     |    |
| 6 | I T P R 3       |    |
| 6 | K I A A 0 3 1 9 |    |
| 6 | L M B R D 1     |    |
| 6 | L R F N 2       |    |
| 6 | L R P 1 1       |    |
| 6 | M A S 1 L       |    |
| 6 | M E P 1 A       |    |
| 6 | M I C A         |    |
| 6 | M I C B         | 40 |
| 6 | M U C 2 1       |    |
| 6 | M U C 2 2       |    |
| 6 | N C R 2         |    |
| 6 | N O T C H 4     |    |
| 6 | O P R M 1       |    |
| 6 | O R 1 0 C 1     |    |
| 6 | O R 1 2 D 2     |    |
| 6 | O R 1 2 D 3     |    |
| 6 | O R 1 4 J 1     |    |
| 6 | O R 2 B 2       | 50 |

|   |                |    |
|---|----------------|----|
| 6 | OR 2 B 6       |    |
| 6 | OR 2 J 1       |    |
| 6 | OR 2 W 1       |    |
| 6 | OR 5 V 1       |    |
| 6 | PKHD 1         |    |
| 6 | PTCRA          |    |
| 6 | RAET 1 E       |    |
| 6 | RAET 1 G       |    |
| 6 | ROS 1          |    |
| 6 | SDIM 1         | 10 |
| 6 | SLC 2 2 A 1    |    |
| 6 | SLC 4 4 A 4    |    |
| 6 | TAA R 2        |    |
| 6 | TREM 1         |    |
| 6 | TREML 1        |    |
| 6 | TREML 2        |    |
| 7 | AQP 1          |    |
| 7 | CD 3 6         |    |
| 7 | CDHR 3         |    |
| 7 | CNTNA P 2      | 20 |
| 7 | DPP 6          |    |
| 7 | EGFR           |    |
| 7 | EPHA 1         |    |
| 7 | EPHB 6         |    |
| 7 | ERVW - 1       |    |
| 7 | GHRHR          |    |
| 7 | GJC 3          |    |
| 7 | GP NMB         |    |
| 7 | GRM 8          |    |
| 7 | HYAL 4         | 30 |
| 7 | KIAA 1 3 2 4 L |    |
| 7 | LRRN 3         |    |
| 7 | MET            |    |
| 7 | MUC 1 2        |    |
| 7 | MUC 1 7        |    |
| 7 | NPC 1 L 1      |    |
| 7 | NPSR 1         |    |
| 7 | OR 2 A 1 2     |    |
| 7 | OR 2 A 1 4     |    |
| 7 | OR 2 A 2       | 40 |
| 7 | OR 2 A 2 5     |    |
| 7 | OR 2 A 4 2     |    |
| 7 | OR 2 A 7       |    |
| 7 | OR 2 AE 1      |    |
| 7 | OR 2 F 2       |    |
| 7 | OR 6 V 1       |    |
| 7 | PILRA          |    |
| 7 | PKD 1 L 1      |    |
| 7 | PLXNA 4        |    |
| 7 | PODXL          | 50 |

|   |                   |    |
|---|-------------------|----|
| 7 | P T P R N 2       |    |
| 7 | P T P R Z 1       |    |
| 7 | R A M P 3         |    |
| 7 | S L C 2 9 A 4     |    |
| 7 | S M O             |    |
| 7 | T A S 2 R 1 6     |    |
| 7 | T A S 2 R 4       |    |
| 7 | T A S 2 R 4 0     |    |
| 7 | T F R 2           |    |
| 7 | T H S D 7 A       | 10 |
| 7 | T M E M 2 1 3     |    |
| 7 | T T Y H 3         |    |
| 7 | Z A N             |    |
| 7 | Z P 3             |    |
| 8 | A D A M 1 8       |    |
| 8 | A D A M 2 8       |    |
| 8 | A D A M 3 2       |    |
| 8 | A D A M 7         |    |
| 8 | A D A M 9         |    |
| 8 | C D H 1 7         | 20 |
| 8 | C H R N A 2       |    |
| 8 | C S M D 1         |    |
| 8 | C S M D 3         |    |
| 8 | D C S T A M P     |    |
| 8 | F Z D 6           |    |
| 8 | G P R 1 2 4       |    |
| 8 | N R G 1           |    |
| 8 | O R 4 F 2 1       |    |
| 8 | P K H D 1 L 1     |    |
| 8 | P R S S 5 5       | 30 |
| 8 | S C A R A 3       |    |
| 8 | S C A R A 5       |    |
| 8 | S D C 2           |    |
| 8 | S L C 1 0 A 5     |    |
| 8 | S L C 3 9 A 1 4   |    |
| 8 | S L C 3 9 A 4     |    |
| 8 | S L C O 5 A 1     |    |
| 8 | T N F R S F 1 0 A |    |
| 8 | T N F R S F 1 0 B |    |
| 9 | A B C A 1         | 40 |
| 9 | A Q P 7           |    |
| 9 | C 9 o r f 1 3 5   |    |
| 9 | C A 9             |    |
| 9 | C D 7 2           |    |
| 9 | C N T N A P 3     |    |
| 9 | C N T N A P 3 B   |    |
| 9 | E N T P D 8       |    |
| 9 | G P R 1 4 4       |    |
| 9 | G R I N 3 A       |    |
| 9 | I Z U M O 3       | 50 |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 9   | K I A A 1 1 6 1 |    |
| 9   | M A M D C 4     |    |
| 9   | M E G F 9       |    |
| 9   | M U S K         |    |
| 9   | N O T C H 1     |    |
| 9   | O R 1 3 C 2     |    |
| 9   | O R 1 3 C 3     |    |
| 9   | O R 1 3 C 5     |    |
| 9   | O R 1 3 C 8     |    |
| 9   | O R 1 3 C 9     | 10 |
| 9   | O R 1 3 D 1     |    |
| 9   | O R 1 3 F 1     |    |
| 9   | O R 1 B 1       |    |
| 9   | O R 1 J 2       |    |
| 9   | O R 1 K 1       |    |
| 9   | O R 1 L 1       |    |
| 9   | O R 1 L 3       |    |
| 9   | O R 1 L 6       |    |
| 9   | O R 1 L 8       |    |
| 9   | O R 1 N 1       | 20 |
| 9   | O R 1 N 2       |    |
| 9   | O R 1 Q 1       |    |
| 9   | O R 2 S 2       |    |
| 9   | P C S K 5       |    |
| 9   | P L G R K T     |    |
| 9   | P T P R D       |    |
| 9   | R O R 2         |    |
| 9   | S E M A 4 D     |    |
| 9   | S L C 3 1 A 1   |    |
| 9   | T E K           | 30 |
| 9   | T L R 4         |    |
| 9   | T M E M 2       |    |
| 9   | V L D L R       |    |
| 1 0 | A B C C 2       |    |
| 1 0 | A D A M 8       |    |
| 1 0 | A D R B 1       |    |
| 1 0 | A N T X R L     |    |
| 1 0 | A T R N L 1     |    |
| 1 0 | C 1 0 o r f 5 4 |    |
| 1 0 | C D H 2 3       | 40 |
| 1 0 | C D H R 1       |    |
| 1 0 | C N N M 2       |    |
| 1 0 | C O L 1 3 A 1   |    |
| 1 0 | C O L 1 7 A 1   |    |
| 1 0 | E N T P D 1     |    |
| 1 0 | F G F R 2       |    |
| 1 0 | F Z D 8         |    |
| 1 0 | G P R 1 5 8     |    |
| 1 0 | G R I D 1       |    |
| 1 0 | I L 1 5 R A     | 50 |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 1 0 | I L 2 R A       |    |
| 1 0 | I T G A 8       |    |
| 1 0 | I T G B 1       |    |
| 1 0 | M R C 1         |    |
| 1 0 | N P F F R 1     |    |
| 1 0 | N R P 1         |    |
| 1 0 | O P N 4         |    |
| 1 0 | P C D H 1 5     |    |
| 1 0 | P K D 2 L 1     |    |
| 1 0 | P L X D C 2     | 10 |
| 1 0 | P R L H R       |    |
| 1 0 | R G R           |    |
| 1 0 | S L C 2 9 A 3   |    |
| 1 0 | S L C 3 9 A 1 2 |    |
| 1 0 | T A C R 2       |    |
| 1 0 | T C T N 3       |    |
| 1 0 | T S P A N 1 5   |    |
| 1 0 | U N C 5 B       |    |
| 1 0 | V S T M 4       |    |
| 1 1 | A M I C A 1     | 20 |
| 1 1 | A N O 3         |    |
| 1 1 | A P L P 2       |    |
| 1 1 | C 1 1 o r f 2 4 |    |
| 1 1 | C C K B R       |    |
| 1 1 | C D 2 4 8       |    |
| 1 1 | C D 4 4         |    |
| 1 1 | C D 5           |    |
| 1 1 | C D 6           |    |
| 1 1 | C D O N         |    |
| 1 1 | C L M P         | 30 |
| 1 1 | C R T A M       |    |
| 1 1 | D C H S 1       |    |
| 1 1 | D S C A M L 1   |    |
| 1 1 | F A T 3         |    |
| 1 1 | F O L H 1       |    |
| 1 1 | G D P D 4       |    |
| 1 1 | G D P D 5       |    |
| 1 1 | G R I K 4       |    |
| 1 1 | H E P H L 1     |    |
| 1 1 | H T R 3 B       | 40 |
| 1 1 | I F I T M 1 0   |    |
| 1 1 | I L 1 0 R A     |    |
| 1 1 | K I R R E L 3   |    |
| 1 1 | L G R 4         |    |
| 1 1 | L R P 4         |    |
| 1 1 | L R P 5         |    |
| 1 1 | L R R C 3 2     |    |
| 1 1 | M C A M         |    |
| 1 1 | M F R P         |    |
| 1 1 | M P E G 1       | 50 |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 1 1 | M R G P R E     |    |
| 1 1 | M R G P R F     |    |
| 1 1 | M R G P R G     |    |
| 1 1 | M R G P R X 2   |    |
| 1 1 | M R G P R X 3   |    |
| 1 1 | M R G P R X 4   |    |
| 1 1 | M S 4 A 4 A     |    |
| 1 1 | M T N R 1 B     |    |
| 1 1 | M U C 1 5       |    |
| 1 1 | N A A L A D 2   | 10 |
| 1 1 | N A A L A D L 1 |    |
| 1 1 | N C A M 1       |    |
| 1 1 | N R X N 2       |    |
| 1 1 | O R 1 0 A 2     |    |
| 1 1 | O R 1 0 A 5     |    |
| 1 1 | O R 1 0 A 6     |    |
| 1 1 | O R 1 0 D 3     |    |
| 1 1 | O R 1 0 G 4     |    |
| 1 1 | O R 1 0 G 7     |    |
| 1 1 | O R 1 0 G 8     | 20 |
| 1 1 | O R 1 0 G 9     |    |
| 1 1 | O R 1 0 Q 1     |    |
| 1 1 | O R 1 0 S 1     |    |
| 1 1 | O R 1 S 1       |    |
| 1 1 | O R 2 A G 1     |    |
| 1 1 | O R 2 A G 2     |    |
| 1 1 | O R 2 D 2       |    |
| 1 1 | O R 4 A 1 5     |    |
| 1 1 | O R 4 A 4 7     |    |
| 1 1 | O R 4 A 5       | 30 |
| 1 1 | O R 4 A 8 P     |    |
| 1 1 | O R 4 C 1 1     |    |
| 1 1 | O R 4 C 1 3     |    |
| 1 1 | O R 4 C 1 5     |    |
| 1 1 | O R 4 C 1 6     |    |
| 1 1 | O R 4 C 3       |    |
| 1 1 | O R 4 C 4 6     |    |
| 1 1 | O R 4 C 5       |    |
| 1 1 | O R 4 D 6       |    |
| 1 1 | O R 4 D 9       | 40 |
| 1 1 | O R 4 S 2       |    |
| 1 1 | O R 4 X 1       |    |
| 1 1 | O R 5 1 E 1     |    |
| 1 1 | O R 5 1 L 1     |    |
| 1 1 | O R 5 2 A 1     |    |
| 1 1 | O R 5 2 E 1     |    |
| 1 1 | O R 5 2 E 2     |    |
| 1 1 | O R 5 2 E 4     |    |
| 1 1 | O R 5 2 E 6     |    |
| 1 1 | O R 5 2 I 1     | 50 |

|     |             |    |
|-----|-------------|----|
| 1 1 | O R 5 2 I 2 |    |
| 1 1 | O R 5 2 J 3 |    |
| 1 1 | O R 5 2 L 1 |    |
| 1 1 | O R 5 2 N 1 |    |
| 1 1 | O R 5 2 N 2 |    |
| 1 1 | O R 5 2 N 4 |    |
| 1 1 | O R 5 2 W 1 |    |
| 1 1 | O R 5 6 B 1 |    |
| 1 1 | O R 5 6 B 4 |    |
| 1 1 | O R 5 A 1   | 10 |
| 1 1 | O R 5 A 2   |    |
| 1 1 | O R 5 A K 2 |    |
| 1 1 | O R 5 A R 1 |    |
| 1 1 | O R 5 B 1 7 |    |
| 1 1 | O R 5 B 3   |    |
| 1 1 | O R 5 D 1 4 |    |
| 1 1 | O R 5 D 1 6 |    |
| 1 1 | O R 5 D 1 8 |    |
| 1 1 | O R 5 F 1   |    |
| 1 1 | O R 5 I 1   | 20 |
| 1 1 | O R 5 L 2   |    |
| 1 1 | O R 5 M 1 1 |    |
| 1 1 | O R 5 M 3   |    |
| 1 1 | O R 5 P 2   |    |
| 1 1 | O R 5 R 1   |    |
| 1 1 | O R 5 T 2   |    |
| 1 1 | O R 5 T 3   |    |
| 1 1 | O R 5 W 2   |    |
| 1 1 | O R 6 A 2   |    |
| 1 1 | O R 6 T 1   | 30 |
| 1 1 | O R 6 X 1   |    |
| 1 1 | O R 8 A 1   |    |
| 1 1 | O R 8 B 1 2 |    |
| 1 1 | O R 8 B 2   |    |
| 1 1 | O R 8 B 3   |    |
| 1 1 | O R 8 B 4   |    |
| 1 1 | O R 8 D 1   |    |
| 1 1 | O R 8 D 2   |    |
| 1 1 | O R 8 H 1   |    |
| 1 1 | O R 8 H 2   | 40 |
| 1 1 | O R 8 H 3   |    |
| 1 1 | O R 8 I 2   |    |
| 1 1 | O R 8 J 1   |    |
| 1 1 | O R 8 J 2   |    |
| 1 1 | O R 8 J 3   |    |
| 1 1 | O R 8 K 1   |    |
| 1 1 | O R 8 K 3   |    |
| 1 1 | O R 8 K 5   |    |
| 1 1 | O R 8 U 1   |    |
| 1 1 | O R 9 G 1   | 50 |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 1 1 | OR 9 G 4        |    |
| 1 1 | OR 9 Q 2        |    |
| 1 1 | P 2 R X 3       |    |
| 1 1 | P T P R J       |    |
| 1 1 | RO BO 3         |    |
| 1 1 | S I G I R R     |    |
| 1 1 | S L C 2 2 A 1 0 |    |
| 1 1 | S L C 3 A 2     |    |
| 1 1 | S L C 5 A 1 2   |    |
| 1 1 | S L C O 2 B 1   | 10 |
| 1 1 | S O R L 1       |    |
| 1 1 | S T 1 4         |    |
| 1 1 | S Y T 8         |    |
| 1 1 | T E N M 4       |    |
| 1 1 | T M E M 1 2 3   |    |
| 1 1 | T M P R S S 4   |    |
| 1 1 | T M P R S S 5   |    |
| 1 1 | T R P M 5       |    |
| 1 1 | T S P A N 1 8   |    |
| 1 1 | Z P 1           | 20 |
| 1 2 | A N O 4         |    |
| 1 2 | A V P R 1 A     |    |
| 1 2 | C A C N A 2 D 4 |    |
| 1 2 | C D 1 6 3       |    |
| 1 2 | C D 1 6 3 L 1   |    |
| 1 2 | C D 2 7         |    |
| 1 2 | C D 4           |    |
| 1 2 | C L E C 1 2 A   |    |
| 1 2 | C L E C 2 A     |    |
| 1 2 | C L E C 4 C     | 30 |
| 1 2 | C L E C 7 A     |    |
| 1 2 | C L E C L 1     |    |
| 1 2 | C L S T N 3     |    |
| 1 2 | G P R 1 3 3     |    |
| 1 2 | G P R C 5 D     |    |
| 1 2 | I T G A 7       |    |
| 1 2 | I T G B 7       |    |
| 1 2 | K L R B 1       |    |
| 1 2 | K L R C 2       |    |
| 1 2 | K L R C 3       | 40 |
| 1 2 | K L R C 4       |    |
| 1 2 | K L R F 1       |    |
| 1 2 | K L R F 2       |    |
| 1 2 | L R P 1         |    |
| 1 2 | L R P 6         |    |
| 1 2 | M A N S C 1     |    |
| 1 2 | M A N S C 4     |    |
| 1 2 | O L R 1         |    |
| 1 2 | O R 1 0 A D 1   |    |
| 1 2 | O R 1 0 P 1     | 50 |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 1 2 | O R 2 A P 1     |    |
| 1 2 | O R 6 C 1       |    |
| 1 2 | O R 6 C 2       |    |
| 1 2 | O R 6 C 3       |    |
| 1 2 | O R 6 C 4       |    |
| 1 2 | O R 6 C 6       |    |
| 1 2 | O R 6 C 7 4     |    |
| 1 2 | O R 6 C 7 6     |    |
| 1 2 | O R 8 S 1       |    |
| 1 2 | O R 9 K 2       | 10 |
| 1 2 | O R A I 1       |    |
| 1 2 | P 2 R X 4       |    |
| 1 2 | P 2 R X 7       |    |
| 1 2 | P T P R B       |    |
| 1 2 | P T P R Q       |    |
| 1 2 | S C N N 1 A     |    |
| 1 2 | S E L P L G     |    |
| 1 2 | S L C 3 8 A 4   |    |
| 1 2 | S L C 5 A 8     |    |
| 1 2 | S L C 6 A 1 5   | 20 |
| 1 2 | S L C 8 B 1     |    |
| 1 2 | S L C O 1 B 1   |    |
| 1 2 | S L C O 1 B 7   |    |
| 1 2 | S S P N         |    |
| 1 2 | S T A B 2       |    |
| 1 2 | T A S 2 R 1 0   |    |
| 1 2 | T A S 2 R 1 3   |    |
| 1 2 | T A S 2 R 2 0   |    |
| 1 2 | T A S 2 R 3 0   |    |
| 1 2 | T A S 2 R 3 1   | 30 |
| 1 2 | T A S 2 R 4 2   |    |
| 1 2 | T A S 2 R 4 3   |    |
| 1 2 | T A S 2 R 4 6   |    |
| 1 2 | T A S 2 R 7     |    |
| 1 2 | T M E M 1 1 9   |    |
| 1 2 | T M E M 1 3 2 B |    |
| 1 2 | T M E M 1 3 2 C |    |
| 1 2 | T M E M 1 3 2 D |    |
| 1 2 | T M P R S S 1 2 |    |
| 1 2 | T N F R S F 1 A | 40 |
| 1 2 | T S P A N 8     |    |
| 1 2 | V S I G 1 0     |    |
| 1 3 | A T P 4 B       |    |
| 1 3 | A T P 7 B       |    |
| 1 3 | F L T 3         |    |
| 1 3 | F R E M 2       |    |
| 1 3 | K L             |    |
| 1 3 | P C D H 8       |    |
| 1 3 | S G C G         |    |
| 1 3 | S H I S A 2     | 50 |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 1 3 | S L C 1 5 A 1   |    |
| 1 3 | S L I T R K 6   |    |
| 1 3 | T N F R S F 1 9 |    |
| 1 4 | A D A M 2 1     |    |
| 1 4 | B D K R B 2     |    |
| 1 4 | C 1 4 o r f 3 7 |    |
| 1 4 | C L E C 1 4 A   |    |
| 1 4 | D L K 1         |    |
| 1 4 | F L R T 2       |    |
| 1 4 | G P R 1 3 5     | 10 |
| 1 4 | G P R 1 3 7 C   |    |
| 1 4 | J A G 2         |    |
| 1 4 | L T B 4 R 2     |    |
| 1 4 | M M P 1 4       |    |
| 1 4 | O R 1 1 G 2     |    |
| 1 4 | O R 1 1 H 1 2   |    |
| 1 4 | O R 1 1 H 6     |    |
| 1 4 | O R 4 K 1       |    |
| 1 4 | O R 4 K 1 5     |    |
| 1 4 | O R 4 K 5       | 20 |
| 1 4 | O R 4 L 1       |    |
| 1 4 | O R 4 N 2       |    |
| 1 4 | O R 4 N 5       |    |
| 1 4 | O R 4 Q 2       |    |
| 1 4 | S L C 2 4 A 4   |    |
| 1 4 | S Y N D I G 1 L |    |
| 1 5 | A N P E P       |    |
| 1 5 | C D 2 7 6       |    |
| 1 5 | C H R N A 7     |    |
| 1 5 | C H R N B 4     | 30 |
| 1 5 | C S P G 4       |    |
| 1 5 | D U O X 1       |    |
| 1 5 | D U O X 2       |    |
| 1 5 | F A M 1 7 4 B   |    |
| 1 5 | G L D N         |    |
| 1 5 | I G D C C 4     |    |
| 1 5 | I T G A 1 1     |    |
| 1 5 | L C T L         |    |
| 1 5 | L T K           |    |
| 1 5 | L Y S M D 4     | 40 |
| 1 5 | M E G F 1 1     |    |
| 1 5 | N R G 4         |    |
| 1 5 | O C A 2         |    |
| 1 5 | O R 4 F 4       |    |
| 1 5 | O R 4 M 2       |    |
| 1 5 | O R 4 N 4       |    |
| 1 5 | P R T G         |    |
| 1 5 | R H C G         |    |
| 1 5 | S C A M P 5     |    |
| 1 5 | S E M A 4 B     | 50 |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 1 5 | S E M A 6 D     |    |
| 1 5 | S L C 2 4 A 1   |    |
| 1 5 | S L C 2 8 A 1   |    |
| 1 5 | T R P M 1       |    |
| 1 5 | T Y R O 3       |    |
| 1 6 | A T P 2 C 2     |    |
| 1 6 | C A C N A 1 H   |    |
| 1 6 | C D 1 9         |    |
| 1 6 | C D H 1 1       |    |
| 1 6 | C D H 1 6       | 10 |
| 1 6 | C D H 3         |    |
| 1 6 | C D H 5         |    |
| 1 6 | C N G B 1       |    |
| 1 6 | C N T N A P 4   |    |
| 1 6 | G D P D 3       |    |
| 1 6 | G P R 5 6       |    |
| 1 6 | G P R 9 7       |    |
| 1 6 | I L 4 R         |    |
| 1 6 | I T F G 3       |    |
| 1 6 | I T G A L       | 20 |
| 1 6 | I T G A M       |    |
| 1 6 | I T G A X       |    |
| 1 6 | K C N G 4       |    |
| 1 6 | M M P 1 5       |    |
| 1 6 | M S L N L       |    |
| 1 6 | N O M O 1       |    |
| 1 6 | N O M O 3       |    |
| 1 6 | O R 2 C 1       |    |
| 1 6 | P K D 1         |    |
| 1 6 | P K D 1 L 2     | 30 |
| 1 6 | S C N N 1 B     |    |
| 1 6 | S E Z 6 L 2     |    |
| 1 6 | S L C 2 2 A 3 1 |    |
| 1 6 | S L C 5 A 1 1   |    |
| 1 6 | S L C 7 A 6     |    |
| 1 6 | S P N           |    |
| 1 6 | T M C 5         |    |
| 1 6 | T M C 7         |    |
| 1 6 | T M E M 2 0 4   |    |
| 1 6 | T M E M 2 1 9   | 40 |
| 1 6 | T M E M 8 A     |    |
| 1 7 | A B C C 3       |    |
| 1 7 | A C E           |    |
| 1 7 | A O C 3         |    |
| 1 7 | A S G R 2       |    |
| 1 7 | C 1 7 o r f 8 0 |    |
| 1 7 | C D 3 0 0 A     |    |
| 1 7 | C D 3 0 0 C     |    |
| 1 7 | C D 3 0 0 E     |    |
| 1 7 | C D 3 0 0 L G   | 50 |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 1 7 | C H R N B 1     |    |
| 1 7 | C L E C 1 0 A   |    |
| 1 7 | C N T N A P 1   |    |
| 1 7 | C P D           |    |
| 1 7 | C X C L 1 6     |    |
| 1 7 | F A M 1 7 1 A 2 |    |
| 1 7 | G C G R         |    |
| 1 7 | G L P 2 R       |    |
| 1 7 | G P 1 B A       |    |
| 1 7 | G P R 1 4 2     | 10 |
| 1 7 | G U C Y 2 D     |    |
| 1 7 | I T G A 2 B     |    |
| 1 7 | I T G A 3       |    |
| 1 7 | I T G A E       |    |
| 1 7 | I T G B 3       |    |
| 1 7 | K C N J 1 2     |    |
| 1 7 | L R R C 3 7 A   |    |
| 1 7 | L R R C 3 7 A 2 |    |
| 1 7 | L R R C 3 7 A 3 |    |
| 1 7 | L R R C 3 7 B   | 20 |
| 1 7 | M R C 2         |    |
| 1 7 | N G F R         |    |
| 1 7 | O R 1 A 2       |    |
| 1 7 | O R 1 D 2       |    |
| 1 7 | O R 1 G 1       |    |
| 1 7 | O R 3 A 1       |    |
| 1 7 | O R 3 A 2       |    |
| 1 7 | O R 4 D 1       |    |
| 1 7 | O R 4 D 2       |    |
| 1 7 | R N F 4 3       | 30 |
| 1 7 | S C N 4 A       |    |
| 1 7 | S D K 2         |    |
| 1 7 | S E C T M 1     |    |
| 1 7 | S E Z 6         |    |
| 1 7 | S L C 2 6 A 1 1 |    |
| 1 7 | S P A C A 3     |    |
| 1 7 | T M E M 1 0 2   |    |
| 1 7 | T M E M 1 3 2 E |    |
| 1 7 | T N F S F 1 2   |    |
| 1 7 | T R P V 3       | 40 |
| 1 7 | T T Y H 2       |    |
| 1 7 | T U S C 5       |    |
| 1 8 | A P C D D 1     |    |
| 1 8 | C D H 1 9       |    |
| 1 8 | C D H 2 0       |    |
| 1 8 | C D H 7         |    |
| 1 8 | C O L E C 1 2   |    |
| 1 8 | D C C           |    |
| 1 8 | D S C 1         |    |
| 1 8 | D S G 1         | 50 |

|     |                   |    |
|-----|-------------------|----|
| 1 8 | D S G 3           |    |
| 1 8 | D Y N A P         |    |
| 1 8 | M E P 1 B         |    |
| 1 8 | P T P R M         |    |
| 1 8 | S I G L E C 1 5   |    |
| 1 8 | T N F R S F 1 1 A |    |
| 1 9 | A B C A 7         |    |
| 1 9 | A C P T           |    |
| 1 9 | B C A M           |    |
| 1 9 | C 1 9 o r f 3 8   | 10 |
| 1 9 | C 1 9 o r f 5 9   |    |
| 1 9 | C 5 A R 1         |    |
| 1 9 | C A T S P E R D   |    |
| 1 9 | C A T S P E R G   |    |
| 1 9 | C D 3 2 0         |    |
| 1 9 | C D 3 3           |    |
| 1 9 | C D 9 7           |    |
| 1 9 | C E A C A M 1     |    |
| 1 9 | C E A C A M 1 9   |    |
| 1 9 | C E A C A M 2 1   | 20 |
| 1 9 | C E A C A M 3     |    |
| 1 9 | C E A C A M 4     |    |
| 1 9 | C L E C 4 M       |    |
| 1 9 | D L L 3           |    |
| 1 9 | E M R 1           |    |
| 1 9 | E M R 2           |    |
| 1 9 | E M R 3           |    |
| 1 9 | E R V V - 1       |    |
| 1 9 | E R V V - 2       |    |
| 1 9 | F A M 1 8 7 B     | 30 |
| 1 9 | F C A R           |    |
| 1 9 | F F A R 3         |    |
| 1 9 | F P R 1           |    |
| 1 9 | G F Y             |    |
| 1 9 | G P 6             |    |
| 1 9 | G P R 4 2         |    |
| 1 9 | G R I N 3 B       |    |
| 1 9 | I C A M 3         |    |
| 1 9 | I G F L R 1       |    |
| 1 9 | I L 1 2 R B 1     | 40 |
| 1 9 | I L 2 7 R A       |    |
| 1 9 | K I R 2 D L 1     |    |
| 1 9 | K I R 2 D L 3     |    |
| 1 9 | K I R 2 D L 4     |    |
| 1 9 | K I R 3 D L 1     |    |
| 1 9 | K I R 3 D L 2     |    |
| 1 9 | K I R 3 D L 3     |    |
| 1 9 | K I R R E L 2     |    |
| 1 9 | K I S S 1 R       |    |
| 1 9 | L A I R 1         | 50 |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 1 9 | L D L R         |    |
| 1 9 | L I L R A 1     |    |
| 1 9 | L I L R A 2     |    |
| 1 9 | L I L R A 4     |    |
| 1 9 | L I L R A 6     |    |
| 1 9 | L I L R B 1     |    |
| 1 9 | L I L R B 2     |    |
| 1 9 | L I L R B 3     |    |
| 1 9 | L I L R B 4     |    |
| 1 9 | L I L R B 5     | 10 |
| 1 9 | L I N G O 3     |    |
| 1 9 | L P H N 1       |    |
| 1 9 | L R P 3         |    |
| 1 9 | M A D C A M 1   |    |
| 1 9 | M A G           |    |
| 1 9 | M E G F 8       |    |
| 1 9 | M U C 1 6       |    |
| 1 9 | N C R 1         |    |
| 1 9 | N O T C H 3     |    |
| 1 9 | N P H S 1       | 20 |
| 1 9 | O R 1 0 H 1     |    |
| 1 9 | O R 1 0 H 2     |    |
| 1 9 | O R 1 0 H 3     |    |
| 1 9 | O R 1 0 H 4     |    |
| 1 9 | O R 1 I 1       |    |
| 1 9 | O R 2 Z 1       |    |
| 1 9 | O R 7 A 1 0     |    |
| 1 9 | O R 7 C 1       |    |
| 1 9 | O R 7 D 4       |    |
| 1 9 | O R 7 E 2 4     | 30 |
| 1 9 | O R 7 G 1       |    |
| 1 9 | O R 7 G 2       |    |
| 1 9 | O R 7 G 3       |    |
| 1 9 | P L V A P       |    |
| 1 9 | P T G I R       |    |
| 1 9 | P T P R H       |    |
| 1 9 | P T P R S       |    |
| 1 9 | P V R           |    |
| 1 9 | S C N 1 B       |    |
| 1 9 | S H I S A 7     | 40 |
| 1 9 | S I G L E C 1 0 |    |
| 1 9 | S I G L E C 1 1 |    |
| 1 9 | S I G L E C 1 2 |    |
| 1 9 | S I G L E C 5   |    |
| 1 9 | S I G L E C 6   |    |
| 1 9 | S I G L E C 8   |    |
| 1 9 | S I G L E C 9   |    |
| 1 9 | S L C 4 4 A 2   |    |
| 1 9 | S L C 5 A 5     |    |
| 1 9 | S L C 7 A 9     | 50 |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 1 9 | T A R M 1       |    |
| 1 9 | T G F B R 3 L   |    |
| 1 9 | T M C 4         |    |
| 1 9 | T M E M 9 1     |    |
| 1 9 | T M P R S S 9   |    |
| 1 9 | T N F S F 1 4   |    |
| 1 9 | T N F S F 9     |    |
| 1 9 | T R P M 4       |    |
| 1 9 | V N 1 R 2       |    |
| 1 9 | V S I G 1 0 L   | 10 |
| 1 9 | V S T M 2 B     |    |
| 2 0 | A B H D 1 2     |    |
| 2 0 | A D A M 3 3     |    |
| 2 0 | A D R A 1 D     |    |
| 2 0 | A P M A P       |    |
| 2 0 | A T R N         |    |
| 2 0 | C D 4 0         |    |
| 2 0 | C D 9 3         |    |
| 2 0 | C D H 2 2       |    |
| 2 0 | C D H 2 6       | 20 |
| 2 0 | C D H 4         |    |
| 2 0 | F L R T 3       |    |
| 2 0 | G C N T 7       |    |
| 2 0 | G G T 7         |    |
| 2 0 | J A G 1         |    |
| 2 0 | L R R N 4       |    |
| 2 0 | N P B W R 2     |    |
| 2 0 | O C S T A M P   |    |
| 2 0 | P T P R A       |    |
| 2 0 | P T P R T       | 30 |
| 2 0 | S E L 1 L 2     |    |
| 2 0 | S I G L E C 1   |    |
| 2 0 | S I R P A       |    |
| 2 0 | S I R P B 1     |    |
| 2 0 | S I R P G       |    |
| 2 0 | S L C 2 4 A 3   |    |
| 2 0 | S L C 2 A 1 0   |    |
| 2 0 | S S T R 4       |    |
| 2 0 | T H B D         |    |
| 2 1 | C L D N 8       | 40 |
| 2 1 | D S C A M       |    |
| 2 1 | I C O S L G     |    |
| 2 1 | I F N A R 1     |    |
| 2 1 | I F N G R 2     |    |
| 2 1 | I G S F 5       |    |
| 2 1 | I T G B 2       |    |
| 2 1 | K C N J 1 5     |    |
| 2 1 | N C A M 2       |    |
| 2 1 | T M P R S S 1 5 |    |
| 2 1 | T M P R S S 2   | 50 |

|  |                   |    |
|--|-------------------|----|
| 2 1                                    | T M P R S S 3     |    |
| 2 1                                    | T R P M 2         |    |
| 2 1                                    | U M O D L 1       |    |
| 2 2                                    | C A C N A 1 I     |    |
| 2 2                                    | C E L S R 1       |    |
| 2 2                                    | C O M T           |    |
| 2 2                                    | C S F 2 R B       |    |
| 2 2                                    | G G T 1           |    |
| 2 2                                    | G G T 5           |    |
| 2 2                                    | I L 2 R B         | 10 |
| 2 2                                    | K R E M E N 1     |    |
| 2 2                                    | M C H R 1         |    |
| 2 2                                    | O R 1 1 H 1       |    |
| 2 2                                    | P 2 R X 6         |    |
| 2 2                                    | P K D R E J       |    |
| 2 2                                    | P L X N B 2       |    |
| 2 2                                    | S C A R F 2       |    |
| 2 2                                    | S E Z 6 L         |    |
| 2 2                                    | S S T R 3         |    |
| 2 2                                    | S U S D 2         | 20 |
| 2 2                                    | T M P R S S 6     |    |
| 2 2                                    | T N F R S F 1 3 C |    |
| X                                      | A T P 6 A P 2     |    |
| X                                      | A T P 7 A         |    |
| X                                      | E D A 2 R         |    |
| X                                      | F M R 1 N B       |    |
| X                                      | G L R A 4         |    |
| X                                      | G P R 1 1 2       |    |
| X                                      | G U C Y 2 F       |    |
| X                                      | H E P H           | 30 |
| X                                      | P 2 R Y 1 0       |    |
| X                                      | P 2 R Y 4         |    |
| X                                      | P L X N A 3       |    |
| X                                      | P L X N B 3       |    |
| X                                      | V S I G 4         |    |
| X                                      | X G               |    |
| <b>【 0 7 2 0 】</b>                     |                   |    |
| 表 9 - A F 及び L O H フィルター適用後の 5 9 8 遺伝子 |                   |    |
| 染色体番号 遺伝子                              |                   |    |
| 1                                      | A B C A 4         | 40 |
| 1                                      | A D A M 3 0       |    |
| 1                                      | C A C N A 1 S     |    |
| 1                                      | C D 1 0 1         |    |
| 1                                      | C D 1 6 4 L 2     |    |
| 1                                      | C D 1 A           |    |
| 1                                      | C L C A 2         |    |
| 1                                      | C L S T N 1       |    |
| 1                                      | C R 1             |    |
| 1                                      | C R 2             |    |
| 1                                      | C S M D 2         | 50 |

|   |                 |    |
|---|-----------------|----|
| 1 | E L T D 1       |    |
| 1 | E M C 1         |    |
| 1 | E P H A 1 0     |    |
| 1 | F C G R 2 A     |    |
| 1 | F C G R 2 B     |    |
| 1 | F C G R 3 A     |    |
| 1 | F C R L 3       |    |
| 1 | F C R L 4       |    |
| 1 | F C R L 5       |    |
| 1 | G P R 3 7 L 1   | 10 |
| 1 | G P R 8 8       |    |
| 1 | I G S F 3       |    |
| 1 | I L 2 2 R A 1   |    |
| 1 | I T G A 1 0     |    |
| 1 | L D L R A D 2   |    |
| 1 | L E P R         |    |
| 1 | L R P 8         |    |
| 1 | M R 1           |    |
| 1 | N F A S C       |    |
| 1 | N O T C H 2     | 20 |
| 1 | O R 1 0 J 1     |    |
| 1 | O R 1 0 R 2     |    |
| 1 | O R 1 0 T 2     |    |
| 1 | O R 2 G 2       |    |
| 1 | O R 6 K 3       |    |
| 1 | O R 6 N 1       |    |
| 1 | P I G R         |    |
| 1 | P L X N A 2     |    |
| 1 | P T C H D 2     |    |
| 1 | S D C 3         | 30 |
| 1 | S E L E         |    |
| 1 | S E L L         |    |
| 1 | S E L P         |    |
| 1 | S E M A 6 C     |    |
| 1 | T A S 1 R 2     |    |
| 1 | T L R 5         |    |
| 1 | T M E M 8 1     |    |
| 1 | T N F R S F 1 B |    |
| 1 | U S H 2 A       |    |
| 2 | D P P 1 0       | 40 |
| 2 | G P R 3 5       |    |
| 2 | I T G A 4       |    |
| 2 | I T G A 6       |    |
| 2 | L C T           |    |
| 2 | L R P 1 B       |    |
| 2 | L R P 2         |    |
| 2 | L Y 7 5         |    |
| 2 | O R 6 B 2       |    |
| 2 | P L A 2 R 1     |    |
| 2 | S C N 7 A       | 50 |

|   |                 |    |
|---|-----------------|----|
| 2 | T H S D 7 B     |    |
| 3 | A L C A M       |    |
| 3 | A N O 1 0       |    |
| 3 | A T P 1 3 A 4   |    |
| 3 | C C R L 2       |    |
| 3 | C D 2 0 0       |    |
| 3 | C D 2 0 0 R 1   |    |
| 3 | C D C P 1       |    |
| 3 | C D H R 4       |    |
| 3 | C E L S R 3     | 10 |
| 3 | C L D N 1 8     |    |
| 3 | C L S T N 2     |    |
| 3 | C S P G 5       |    |
| 3 | C X 3 C R 1     |    |
| 3 | D R D 3         |    |
| 3 | E P H B 3       |    |
| 3 | G A B R R 3     |    |
| 3 | G P R 1 2 8     |    |
| 3 | G R M 7         |    |
| 3 | H E G 1         | 20 |
| 3 | H T R 3 C       |    |
| 3 | H T R 3 D       |    |
| 3 | I G S F 1 1     |    |
| 3 | I L 1 7 R C     |    |
| 3 | I L 1 7 R D     |    |
| 3 | I L 5 R A       |    |
| 3 | I M P G 2       |    |
| 3 | I T G A 9       |    |
| 3 | L R I G 1       |    |
| 3 | L R R C 1 5     | 30 |
| 3 | M S T 1 R       |    |
| 3 | N A A L A D L 2 |    |
| 3 | O R 5 A C 1     |    |
| 3 | O R 5 H 1       |    |
| 3 | O R 5 H 1 4     |    |
| 3 | O R 5 H 1 5     |    |
| 3 | O R 5 H 6       |    |
| 3 | P L X N D 1     |    |
| 3 | P R R T 3       |    |
| 3 | P T P R G       | 40 |
| 3 | R O B O 2       |    |
| 3 | R Y K           |    |
| 3 | S E M A 5 B     |    |
| 3 | S L C 2 2 A 1 4 |    |
| 3 | S L C 4 A 7     |    |
| 3 | S U S D 5       |    |
| 3 | T F R C         |    |
| 3 | T M E M 4 4     |    |
| 3 | Z P L D 1       |    |
| 4 | C N G A 1       | 50 |

|   |                   |    |
|---|-------------------|----|
| 4 | C O R I N         |    |
| 4 | E G F             |    |
| 4 | E M C N           |    |
| 4 | E N P E P         |    |
| 4 | E P H A 5         |    |
| 4 | E V C 2           |    |
| 4 | F A T 1           |    |
| 4 | F A T 4           |    |
| 4 | F R A S 1         |    |
| 4 | G Y P A           | 10 |
| 4 | G Y P B           |    |
| 4 | K D R             |    |
| 4 | K I A A 0 9 2 2   |    |
| 4 | K L B             |    |
| 4 | P A R M 1         |    |
| 4 | P D G F R A       |    |
| 4 | T L R 1           |    |
| 4 | T L R 1 0         |    |
| 4 | T L R 6           |    |
| 4 | T M E M 1 5 6     | 20 |
| 4 | T M P R S S 1 1 A |    |
| 4 | T M P R S S 1 1 B |    |
| 4 | T M P R S S 1 1 E |    |
| 5 | A D A M 1 9       |    |
| 5 | A D R B 2         |    |
| 5 | C D H 1 2         |    |
| 5 | C D H R 2         |    |
| 5 | C O L 2 3 A 1     |    |
| 5 | F A T 2           |    |
| 5 | F G F R 4         | 30 |
| 5 | G A B R G 2       |    |
| 5 | G P R 9 8         |    |
| 5 | G R M 6           |    |
| 5 | H A V C R 1       |    |
| 5 | H A V C R 2       |    |
| 5 | I L 6 S T         |    |
| 5 | L N P E P         |    |
| 5 | M E G F 1 0       |    |
| 5 | P C D H 1 2       |    |
| 5 | P C D H A 2       | 40 |
| 5 | P C D H A 4       |    |
| 5 | P C D H A 8       |    |
| 5 | P C D H A 9       |    |
| 5 | P C D H B 1 0     |    |
| 5 | P C D H B 1 1     |    |
| 5 | P C D H B 1 3     |    |
| 5 | P C D H B 1 5     |    |
| 5 | P C D H B 1 6     |    |
| 5 | P C D H B 3       |    |
| 5 | P C D H B 4       | 50 |

|   |                 |    |
|---|-----------------|----|
| 5 | P C D H B 6     |    |
| 5 | S L C O 6 A 1   |    |
| 5 | S V 2 C         |    |
| 6 | B A I 3         |    |
| 6 | B T N 1 A 1     |    |
| 6 | B T N 3 A 2     |    |
| 6 | B T N L 2       |    |
| 6 | E N P P 1       |    |
| 6 | E N P P 3       |    |
| 6 | G A B R R 1     | 10 |
| 6 | G F R A L       |    |
| 6 | G P R 1 1 1     |    |
| 6 | G P R 1 1 6     |    |
| 6 | G P R 1 2 6     |    |
| 6 | G P R C 6 A     |    |
| 6 | H F E           |    |
| 6 | H L A - A       |    |
| 6 | H L A - B       |    |
| 6 | H L A - C       |    |
| 6 | H L A - D P A 1 | 20 |
| 6 | H L A - D Q A 1 |    |
| 6 | H L A - D Q B 1 |    |
| 6 | H L A - D Q B 2 |    |
| 6 | H L A - D R B 1 |    |
| 6 | H L A - D R B 5 |    |
| 6 | H L A - E       |    |
| 6 | H L A - F       |    |
| 6 | H L A - G       |    |
| 6 | I T P R 3       |    |
| 6 | L M B R D 1     | 30 |
| 6 | L R F N 2       |    |
| 6 | L R P 1 1       |    |
| 6 | M E P 1 A       |    |
| 6 | M I C A         |    |
| 6 | M I C B         |    |
| 6 | M U C 2 1       |    |
| 6 | M U C 2 2       |    |
| 6 | N C R 2         |    |
| 6 | N O T C H 4     |    |
| 6 | O P R M 1       | 40 |
| 6 | O R 1 0 C 1     |    |
| 6 | O R 1 2 D 2     |    |
| 6 | O R 1 4 J 1     |    |
| 6 | O R 2 J 1       |    |
| 6 | O R 5 V 1       |    |
| 6 | P K H D 1       |    |
| 6 | P T C R A       |    |
| 6 | R A E T 1 E     |    |
| 6 | R A E T 1 G     |    |
| 6 | R O S 1         | 50 |

|   |                   |    |
|---|-------------------|----|
| 6 | S D I M 1         |    |
| 6 | S L C 4 4 A 4     |    |
| 6 | T R E M 1         |    |
| 6 | T R E M L 2       |    |
| 7 | A Q P 1           |    |
| 7 | C D H R 3         |    |
| 7 | C N T N A P 2     |    |
| 7 | D P P 6           |    |
| 7 | E G F R           |    |
| 7 | E R V W - 1       | 10 |
| 7 | G R M 8           |    |
| 7 | H Y A L 4         |    |
| 7 | M U C 1 2         |    |
| 7 | M U C 1 7         |    |
| 7 | N P S R 1         |    |
| 7 | O R 2 A 1 2       |    |
| 7 | O R 2 A 1 4       |    |
| 7 | O R 2 A 2         |    |
| 7 | O R 2 A 2 5       |    |
| 7 | O R 2 F 2         | 20 |
| 7 | P K D 1 L 1       |    |
| 7 | P O D X L         |    |
| 7 | P T P R N 2       |    |
| 7 | P T P R Z 1       |    |
| 7 | T A S 2 R 4       |    |
| 7 | T H S D 7 A       |    |
| 7 | T M E M 2 1 3     |    |
| 7 | Z A N             |    |
| 7 | Z P 3             |    |
| 8 | A D A M 7         | 30 |
| 8 | C H R N A 2       |    |
| 8 | C S M D 1         |    |
| 8 | C S M D 3         |    |
| 8 | N R G 1           |    |
| 8 | P R S S 5 5       |    |
| 8 | S L C 3 9 A 1 4   |    |
| 8 | T N F R S F 1 0 A |    |
| 8 | T N F R S F 1 0 B |    |
| 9 | A B C A 1         |    |
| 9 | A Q P 7           | 40 |
| 9 | C N T N A P 3     |    |
| 9 | C N T N A P 3 B   |    |
| 9 | G P R 1 4 4       |    |
| 9 | G R I N 3 A       |    |
| 9 | K I A A 1 1 6 1   |    |
| 9 | M U S K           |    |
| 9 | O R 1 3 C 2       |    |
| 9 | O R 1 3 C 5       |    |
| 9 | O R 1 3 C 8       |    |
| 9 | O R 1 3 C 9       | 50 |

|    |                 |    |
|----|-----------------|----|
| 9  | OR 1 3 D 1      |    |
| 9  | OR 1 3 F 1      |    |
| 9  | OR 1 B 1        |    |
| 9  | OR 1 L 6        |    |
| 9  | OR 1 N 1        |    |
| 9  | OR 1 N 2        |    |
| 9  | OR 1 Q 1        |    |
| 9  | OR 2 S 2        |    |
| 9  | PCSK 5          |    |
| 9  | ROR 2           | 10 |
| 9  | SEMA 4 D        |    |
| 9  | TMEM 2          |    |
| 10 | ADRB 1          |    |
| 10 | ANTXRL          |    |
| 10 | ATRNL 1         |    |
| 10 | C 1 0 o r f 5 4 |    |
| 10 | CDH 2 3         |    |
| 10 | COL 1 7 A 1     |    |
| 10 | IL 1 5 R A      |    |
| 10 | MRC 1           | 20 |
| 10 | NRP 1           |    |
| 10 | OPN 4           |    |
| 10 | PCDH 1 5        |    |
| 10 | PKD 2 L 1       |    |
| 10 | PLXDC 2         |    |
| 10 | SLC 2 9 A 3     |    |
| 10 | SLC 3 9 A 1 2   |    |
| 10 | TACR 2          |    |
| 10 | VSTM 4          |    |
| 11 | AMICA 1         | 30 |
| 11 | C 1 1 o r f 2 4 |    |
| 11 | CD 2 4 8        |    |
| 11 | CD 4 4          |    |
| 11 | CD 5            |    |
| 11 | CD 6            |    |
| 11 | CDON            |    |
| 11 | DCHS 1          |    |
| 11 | DSCAML 1        |    |
| 11 | FAT 3           |    |
| 11 | FOLH 1          | 40 |
| 11 | GDPD 4          |    |
| 11 | GDPD 5          |    |
| 11 | HTR 3 B         |    |
| 11 | IL 1 0 R A      |    |
| 11 | LRP 4           |    |
| 11 | LRP 5           |    |
| 11 | MFRP            |    |
| 11 | MPEG 1          |    |
| 11 | MRGPRE          |    |
| 11 | MRGPRF          | 50 |

|     |               |    |
|-----|---------------|----|
| 1 1 | M R G P R X 3 |    |
| 1 1 | M R G P R X 4 |    |
| 1 1 | M S 4 A 4 A   |    |
| 1 1 | M U C 1 5     |    |
| 1 1 | N A A L A D 2 |    |
| 1 1 | O R 1 0 A 2   |    |
| 1 1 | O R 1 0 D 3   |    |
| 1 1 | O R 1 0 G 4   |    |
| 1 1 | O R 1 0 G 7   |    |
| 1 1 | O R 1 0 G 9   | 10 |
| 1 1 | O R 1 0 Q 1   |    |
| 1 1 | O R 1 0 S 1   |    |
| 1 1 | O R 1 S 1     |    |
| 1 1 | O R 2 A G 1   |    |
| 1 1 | O R 2 A G 2   |    |
| 1 1 | O R 2 D 2     |    |
| 1 1 | O R 4 A 1 5   |    |
| 1 1 | O R 4 A 5     |    |
| 1 1 | O R 4 C 1 1   |    |
| 1 1 | O R 4 C 1 6   | 20 |
| 1 1 | O R 4 C 3     |    |
| 1 1 | O R 4 C 5     |    |
| 1 1 | O R 4 D 6     |    |
| 1 1 | O R 4 X 1     |    |
| 1 1 | O R 5 1 L 1   |    |
| 1 1 | O R 5 2 A 1   |    |
| 1 1 | O R 5 2 E 1   |    |
| 1 1 | O R 5 2 E 2   |    |
| 1 1 | O R 5 2 E 4   |    |
| 1 1 | O R 5 2 E 6   | 30 |
| 1 1 | O R 5 2 J 3   |    |
| 1 1 | O R 5 2 L 1   |    |
| 1 1 | O R 5 2 N 1   |    |
| 1 1 | O R 5 2 N 2   |    |
| 1 1 | O R 5 6 B 4   |    |
| 1 1 | O R 5 A 1     |    |
| 1 1 | O R 5 A 2     |    |
| 1 1 | O R 5 A K 2   |    |
| 1 1 | O R 5 A R 1   |    |
| 1 1 | O R 5 B 1 7   | 40 |
| 1 1 | O R 5 B 3     |    |
| 1 1 | O R 5 D 1 8   |    |
| 1 1 | O R 5 M 1 1   |    |
| 1 1 | O R 5 R 1     |    |
| 1 1 | O R 5 T 2     |    |
| 1 1 | O R 6 A 2     |    |
| 1 1 | O R 6 X 1     |    |
| 1 1 | O R 8 A 1     |    |
| 1 1 | O R 8 B 2     |    |
| 1 1 | O R 8 B 3     | 50 |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 1 1 | O R 8 B 4       |    |
| 1 1 | O R 8 D 1       |    |
| 1 1 | O R 8 D 2       |    |
| 1 1 | O R 8 H 1       |    |
| 1 1 | O R 8 H 3       |    |
| 1 1 | O R 8 J 3       |    |
| 1 1 | O R 8 K 1       |    |
| 1 1 | O R 8 U 1       |    |
| 1 1 | O R 9 G 1       |    |
| 1 1 | O R 9 G 4       | 10 |
| 1 1 | O R 9 Q 2       |    |
| 1 1 | P T P R J       |    |
| 1 1 | R O B O 3       |    |
| 1 1 | S L C 2 2 A 1 0 |    |
| 1 1 | T M P R S S 5   |    |
| 1 1 | T S P A N 1 8   |    |
| 1 1 | Z P 1           |    |
| 1 2 | C D 1 6 3       |    |
| 1 2 | C D 2 7         |    |
| 1 2 | C L E C 1 2 A   | 20 |
| 1 2 | C L E C 2 A     |    |
| 1 2 | C L E C 4 C     |    |
| 1 2 | I T G A 7       |    |
| 1 2 | K L R B 1       |    |
| 1 2 | K L R C 2       |    |
| 1 2 | K L R C 4       |    |
| 1 2 | K L R F 2       |    |
| 1 2 | L R P 6         |    |
| 1 2 | M A N S C 4     |    |
| 1 2 | O L R 1         | 30 |
| 1 2 | O R 1 0 A D 1   |    |
| 1 2 | O R 1 0 P 1     |    |
| 1 2 | O R 6 C 1       |    |
| 1 2 | O R 6 C 7 4     |    |
| 1 2 | O R 8 S 1       |    |
| 1 2 | O R 9 K 2       |    |
| 1 2 | P 2 R X 4       |    |
| 1 2 | P 2 R X 7       |    |
| 1 2 | P T P R B       |    |
| 1 2 | P T P R Q       | 40 |
| 1 2 | S E L P L G     |    |
| 1 2 | S L C 3 8 A 4   |    |
| 1 2 | S L C 5 A 8     |    |
| 1 2 | S L C O 1 B 1   |    |
| 1 2 | S L C O 1 B 7   |    |
| 1 2 | S T A B 2       |    |
| 1 2 | T A S 2 R 1 3   |    |
| 1 2 | T A S 2 R 2 0   |    |
| 1 2 | T A S 2 R 3 0   |    |
| 1 2 | T A S 2 R 3 1   | 50 |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 1 2 | T A S 2 R 4 2   |    |
| 1 2 | T A S 2 R 4 3   |    |
| 1 2 | T A S 2 R 4 6   |    |
| 1 2 | T M E M 1 1 9   |    |
| 1 2 | T M E M 1 3 2 B |    |
| 1 2 | T M E M 1 3 2 C |    |
| 1 2 | T M P R S S 1 2 |    |
| 1 3 | A T P 7 B       |    |
| 1 3 | F L T 3         |    |
| 1 3 | F R E M 2       | 10 |
| 1 3 | K L             |    |
| 1 3 | S G C G         |    |
| 1 3 | S H I S A 2     |    |
| 1 3 | S L C 1 5 A 1   |    |
| 1 3 | T N F R S F 1 9 |    |
| 1 4 | A D A M 2 1     |    |
| 1 4 | C 1 4 o r f 3 7 |    |
| 1 4 | F L R T 2       |    |
| 1 4 | G P R 1 3 5     |    |
| 1 4 | G P R 1 3 7 C   | 20 |
| 1 4 | J A G 2         |    |
| 1 4 | M M P 1 4       |    |
| 1 4 | S Y N D I G 1 L |    |
| 1 5 | A N P E P       |    |
| 1 5 | C D 2 7 6       |    |
| 1 5 | C S P G 4       |    |
| 1 5 | D U O X 2       |    |
| 1 5 | I G D C C 4     |    |
| 1 5 | I T G A 1 1     |    |
| 1 5 | L Y S M D 4     | 30 |
| 1 5 | M E G F 1 1     |    |
| 1 5 | P R T G         |    |
| 1 5 | S E M A 4 B     |    |
| 1 5 | S E M A 6 D     |    |
| 1 5 | S L C 2 4 A 1   |    |
| 1 5 | S L C 2 8 A 1   |    |
| 1 5 | T R P M 1       |    |
| 1 5 | T Y R O 3       |    |
| 1 6 | A T P 2 C 2     |    |
| 1 6 | C A C N A 1 H   | 40 |
| 1 6 | C D 1 9         |    |
| 1 6 | C D H 1 1       |    |
| 1 6 | C D H 3         |    |
| 1 6 | C D H 5         |    |
| 1 6 | C N G B 1       |    |
| 1 6 | C N T N A P 4   |    |
| 1 6 | G P R 5 6       |    |
| 1 6 | I L 4 R         |    |
| 1 6 | I T G A L       |    |
| 1 6 | I T G A M       | 50 |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 1 6 | I T G A X       |    |
| 1 6 | K C N G 4       |    |
| 1 6 | M M P 1 5       |    |
| 1 6 | N O M O 1       |    |
| 1 6 | O R 2 C 1       |    |
| 1 6 | P K D 1         |    |
| 1 6 | P K D 1 L 2     |    |
| 1 6 | T M C 7         |    |
| 1 7 | A C E           |    |
| 1 7 | A S G R 2       | 10 |
| 1 7 | C 1 7 o r f 8 0 |    |
| 1 7 | C D 3 0 0 A     |    |
| 1 7 | C D 3 0 0 E     |    |
| 1 7 | C D 3 0 0 L G   |    |
| 1 7 | C H R N B 1     |    |
| 1 7 | C X C L 1 6     |    |
| 1 7 | G P 1 B A       |    |
| 1 7 | G U C Y 2 D     |    |
| 1 7 | I T G A 2 B     |    |
| 1 7 | I T G A 3       | 20 |
| 1 7 | I T G A E       |    |
| 1 7 | I T G B 3       |    |
| 1 7 | K C N J 1 2     |    |
| 1 7 | L R R C 3 7 A   |    |
| 1 7 | L R R C 3 7 A 2 |    |
| 1 7 | L R R C 3 7 A 3 |    |
| 1 7 | L R R C 3 7 B   |    |
| 1 7 | M R C 2         |    |
| 1 7 | O R 1 A 2       |    |
| 1 7 | O R 3 A 2       | 30 |
| 1 7 | O R 4 D 1       |    |
| 1 7 | O R 4 D 2       |    |
| 1 7 | R N F 4 3       |    |
| 1 7 | S C N 4 A       |    |
| 1 7 | S D K 2         |    |
| 1 7 | S E Z 6         |    |
| 1 7 | T M E M 1 3 2 E |    |
| 1 7 | T N F S F 1 2   |    |
| 1 7 | T T Y H 2       |    |
| 1 7 | T U S C 5       | 40 |
| 1 8 | A P C D D 1     |    |
| 1 8 | C D H 1 9       |    |
| 1 8 | C D H 2 0       |    |
| 1 8 | C D H 7         |    |
| 1 8 | C O L E C 1 2   |    |
| 1 8 | D C C           |    |
| 1 8 | D S C 1         |    |
| 1 8 | D S G 1         |    |
| 1 8 | D Y N A P       |    |
| 1 8 | M E P 1 B       | 50 |

|     |                   |    |
|-----|-------------------|----|
| 1 8 | T N F R S F 1 1 A |    |
| 1 9 | A B C A 7         |    |
| 1 9 | B C A M           |    |
| 1 9 | C A T S P E R D   |    |
| 1 9 | C A T S P E R G   |    |
| 1 9 | C D 3 3           |    |
| 1 9 | C D 9 7           |    |
| 1 9 | C E A C A M 2 1   |    |
| 1 9 | C L E C 4 M       |    |
| 1 9 | D L L 3           | 10 |
| 1 9 | E M R 1           |    |
| 1 9 | E M R 2           |    |
| 1 9 | E M R 3           |    |
| 1 9 | E R V V - 2       |    |
| 1 9 | F A M 1 8 7 B     |    |
| 1 9 | F F A R 3         |    |
| 1 9 | F P R 1           |    |
| 1 9 | G F Y             |    |
| 1 9 | G R I N 3 B       |    |
| 1 9 | I C A M 3         | 20 |
| 1 9 | I L 1 2 R B 1     |    |
| 1 9 | I L 2 7 R A       |    |
| 1 9 | K I R 2 D L 3     |    |
| 1 9 | K I R 2 D L 4     |    |
| 1 9 | K I R 3 D L 1     |    |
| 1 9 | K I R 3 D L 2     |    |
| 1 9 | K I R 3 D L 3     |    |
| 1 9 | L A I R 1         |    |
| 1 9 | L I L R A 2       |    |
| 1 9 | L I L R B 3       | 30 |
| 1 9 | L I L R B 4       |    |
| 1 9 | L I L R B 5       |    |
| 1 9 | M A D C A M 1     |    |
| 1 9 | M U C 1 6         |    |
| 1 9 | O R 1 0 H 1       |    |
| 1 9 | O R 1 0 H 2       |    |
| 1 9 | O R 1 0 H 3       |    |
| 1 9 | O R 7 C 1         |    |
| 1 9 | O R 7 D 4         |    |
| 1 9 | O R 7 G 1         | 40 |
| 1 9 | P T P R H         |    |
| 1 9 | S I G L E C 1 0   |    |
| 1 9 | S I G L E C 1 1   |    |
| 1 9 | S I G L E C 1 2   |    |
| 1 9 | S I G L E C 5     |    |
| 1 9 | S I G L E C 6     |    |
| 1 9 | S I G L E C 8     |    |
| 1 9 | S I G L E C 9     |    |
| 1 9 | S L C 4 4 A 2     |    |
| 1 9 | S L C 7 A 9       | 50 |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 1 9 | T M P R S S 9   |    |
| 1 9 | V N 1 R 2       |    |
| 1 9 | V S I G 1 0 L   |    |
| 1 9 | V S T M 2 B     |    |
| 2 0 | J A G 1         |    |
| 2 0 | L R R N 4       |    |
| 2 0 | P T P R A       |    |
| 2 0 | S E L 1 L 2     |    |
| 2 0 | S I G L E C 1   |    |
| 2 0 | S I R P A       | 10 |
| 2 0 | S I R P B 1     |    |
| 2 0 | S I R P G       |    |
| 2 0 | S L C 2 4 A 3   |    |
| 2 1 | C L D N 8       |    |
| 2 1 | D S C A M       |    |
| 2 1 | I C O S L G     |    |
| 2 1 | I F N A R 1     |    |
| 2 1 | I F N G R 2     |    |
| 2 1 | I G S F 5       |    |
| 2 1 | K C N J 1 5     | 20 |
| 2 1 | N C A M 2       |    |
| 2 1 | T M P R S S 1 5 |    |
| 2 1 | T M P R S S 2   |    |
| 2 1 | T M P R S S 3   |    |
| 2 1 | U M O D L 1     |    |
| 2 2 | C E L S R 1     |    |
| 2 2 | C O M T         |    |
| 2 2 | C S F 2 R B     |    |
| 2 2 | G G T 1         |    |
| 2 2 | G G T 5         | 30 |
| 2 2 | K R E M E N 1   |    |
| 2 2 | M C H R 1       |    |
| 2 2 | P 2 R X 6       |    |
| 2 2 | P K D R E J     |    |
| 2 2 | S C A R F 2     |    |
| 2 2 | S E Z 6 L       |    |
| 2 2 | T M P R S S 6   |    |

## 【 0 7 2 1 】

## 実施例 2 の参考文献：

1. Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, Samocha KE, Banks E, Fennell T, O' Donnell-Luria AH, Ware JS, Hill AJ, Cummings BB, Tukiainen T, Birnbaum DP, Kosmicki JA, Duncan LE, Estrada K, Zhao F, Zou J, Pierce-Hoffman E, Berghout J, Cooper DN, DeFlaux N, DePristo M, Do R, Flannick J, Fromer M, Gauthier L, Goldstein J, Gupta N, Howrigan D, Kiezun A, Kurki MI, Moonshine AL, Natarajan P, Orozco L, Peloso GM, Poplin R, Rivas MA, Ruano-Rubio V, Rose SA, Ruderfer DM, Shakir K, Stenson PD, Stevens C, Thomas BP, Tiao G, Tusie-Luna MT, Weisburd B, Won HH, Yu D, Altshuler DM, Ardissino D, Boehnke M, Danesh J, Donnelly S, Elosua R, Florez JC, Gabriel SB, Getz G, Glatt SJ, Hultman CM, Kathiresan S, Laakso M, McCarroll S, McCarthy MI, McGovern D, McPherson R, Neale BM, Palotie A, Purcell SM, Saleheen D, Scharf JM, Sklar P, Sullivan 40

50

PF, Tuomilehto J, Tsuang MT, Watkins HC, Wilson JG, Daly MJ, MacArthur DG, Exome Aggregation C. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 Humans. Nature. 2016; 536: 285-291

2. Consortium GT. Human genomics. The genotype-tissue expression (gtex) pilot analysis: Multitissue gene regulation in Humans. Science. 2015; 348: 648-660

3.

6. Ng PC, Henikoff S. Sift: Predicting amino acid changes that affect protein function. Nucleic acids research. 2003; 31: 3812-3814

7.

8. Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, Gross BE, Sumer SO, Aksoy BA, Jacobsen A, Byrne CJ, Heuer ML, Larsson E, Antipin Y, Reva B, Goldberg AP, Sander C, Schultz N. The cbio cancer genomics portal: An open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. Cancer discovery. 2012; 2: 401-404  
【0722】

実施例3 . K I C H 試料における H L A L O H の検証のための D N A シーケンシング分析ライブラリーの準備及びシーケンシング

[00632] 目的 - インシリコ分析に基づいて、H L A L O H 予測の湿式検証のための最初の腫瘍型として、K I C H 癌を選択した。目的は、正常組織に由来する D N A に基づいて、各患者の H L A 遺伝子型を同定し、次いで H L A 対立遺伝子の 1 つの喪失の同定を試みて、癌組織の H L A アロタイプを分析することであった。

【0723】

[00633] さらに言及すると、一致する 6 つの凍結 K I C H 試料 ( 正常及び癌 ) R C - 0 0 1 - R C 0 0 3、T N E A B A 1 1、T N E A B N W E、2 r D F R A U B、2 R D F R N Q G、I O W T 5 A V J、I O W T 5 N 7 4 に由来する D N A で、H L A アロタイプを決定した。加えて、一致する 2 つの D N A 試料 O G - 0 0 1 - O G - 0 0 2 ( 正常及び癌 ) も分析した。試料の H L A タイピングを同定するために、D N A ライブラリーを準備し、配列分析を行った。一致する 6 つの凍結 K I C H 試料 ( 正常及び腫瘍 ) から D N A を抽出し、ライブラリーを以下に記載のように準備した。

【0724】

[00634] Genotypic Technology Pvt. Ltd., ( Bangalore, India ) で TruSight ( 登録商標 ) H L A v 2 シーケンシングパネル ( Illumina ( San Diego, California, U . S . A . ) ) を使用して、TruSight H L A シーケンシングライブラリーを準備した。

【0725】

[00635] 手短に言えば、H L A アンプリコンは、TruSight H L A シーケンシングキットに提供されるプライマーを使用して生成した。アガロースゲル上でアンプリコンを確認後、続いてキットに提供される A a m p l e 精製ビーズを使用してアンプリコンをクリーンアップした。アンプリコンは、断片化 ( Tagmentation ) 反応によって正規化及び断片化した。断片化後、各個々の試料の異なるアンプリコンをプールし、増幅 P C R に進めた。試料のバーコーディングは、Nextera X T インデックスキット v 2 ( Illumina ) を使用して、増幅 P C R 中に行った。最終的な P C R 生成物は、試料精製ビーズを使用して精製後、続いてライブラリーの品質管理チェックを行った。ライブラリーを Q u i b i t 蛍光光度計 ( Thermo Fisher Scientific ( MA, USA ) ) によって定量化し、その断片サイズ分布を Agilent Bioanalyzer で分析した。

【0726】

Illumina アダプター配列 :

5 ' - A A T G A T A C G G C G A C C A C C G A G A T C T A C A C [ i 5 ] T C G T C G G C A G C G T C

5 ' - C A A G C A G A A G A C G G C A T A C G A G A T [ i 7 ] G T C T C G T G G G C T C G G

10

20

30

40

50

[ i 5 , i 7 ] - 試料特有のシーケンシングデータを同定するための独特なデュアルインデックス配列

【 0 7 2 7 】

[00636] 以下の表は、上の試料のHLA遺伝子型を示す。

【 0 7 2 8 】

[00637] 以下に見られるように、喪失した対立遺伝子を分析から推定することができ、例えば、患者#RC001は、腫瘍試料でHLA-A30対立遺伝子の喪失を呈し、HLA-32に対してヘミ接合になり、患者#RC003は、腫瘍試料でHLA-1を喪失し、HLA-30に対してヘミ接合になる。同定された喪失した対立遺伝子は、各患者の関連するiCARを決定する。腫瘍試料が正常細胞で汚染されている場合、この方法ではHLA対立遺伝子の明確な喪失を呈する場合がある。

10

20

30

40

50

## 【表 1 2】

表 10: 一致した KICH 試料の HLA 遺伝子型

| 試料 ID                | HLA-A       | HLA-B       | HLA-C       |
|----------------------|-------------|-------------|-------------|
| OG_001_NAT_NORMAL    | 02:06:01:-- | 7:02:01     | 03:04:01:-- |
|                      | 24:02:01:-- | 15:01:01:-- | 07:02:01:-- |
|                      |             |             |             |
| OG_001_TUM_TUMOR     | 02:06:01:-- | 7:02:01     | 03:04:01:-- |
|                      | 24:02:01:-- | 15:01:01:-- | 07:02:01:-- |
| OG_002_NAT_NORMAL    | 02:01:01:-- | 15:01:01:-- | 3:03:01     |
|                      | 24:02:01:-- | 55:01:01    | X           |
| OG_002_TUM_TUMOR     | 02:01:01:-- | 15:01:01:-- | 3:03:01     |
|                      | 24:02:01:-- | 55:01:01    | X           |
| RC_002_NAT_A_NORMAL  | 03:01:01:-- | 7:02:01     | 06:02:01:-- |
|                      | 68:02:01:-- | 58:02:01    | 7:18:00     |
|                      |             |             |             |
| RC_002_TUM_A_TUMOR   | 03:01:01:-- | 7:02:01     | 06:02:01:-- |
|                      | 68:02:01:-- | 58:02:01    | 7:18:00     |
|                      |             |             |             |
| RCR_003_NAT_A_NORMAL | 01:01:01:01 | 7:02:01     | 07:01:01:-- |
|                      | 30:04:01    | 49:01:01    | 07:02:01:-- |
|                      |             |             |             |
| RC_003_TUM_A_TUMOR   | 30:04:01    | 7:02:01     | 07:01:01:-- |
|                      | X           | 49:01:01    | 07:02:01:-- |
|                      |             |             |             |
| RCR-001_NAT_B_NORMAL | 30:04:01    | 53:01:01    | 04:01:01:-- |
|                      | 32:01:01    | 58:02:01    | 06:02:01:-- |
|                      |             |             |             |
| RC_001_TUM_B_TUMOR   | 32:01:01    | 53:01:01    | 04:01:01:-- |
|                      | X           | 58:02:01    | 06:02:01:-- |
|                      |             |             |             |
| 2RDFRAUB_Tumor       | 03:01:01:-- | 7:02:01     | 07:02:01:-- |
|                      | 32:01:01    | 38:01:01    | 12:03:01:-- |
|                      |             |             |             |

10

20

30

40

【 0 7 3 0 】

50

【表 1 3】

|                              |             |             |             |
|------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| SO_7534_SET3_2RDFRNQG_Normal | 03:01:01:-- | 7:02:01     | 07:02:01:-- |
|                              |             |             |             |
|                              | 32:01:01    | 38:01:01    | 12:03:01:-- |
| IOWT5AVJ_Tumor               | 34:02:01    | 15:03:01:-- | 02:10:01:-- |
|                              |             |             |             |
|                              | 68:01:01:-- | 81:01:00    | 8:04:01     |
| IOWT5N74_Normal              | 34:02:01    | 15:03:01:-- | 02:10:01:-- |
|                              |             |             |             |
|                              | 68:01:01:-- | 81:01:00    | 8:04:01     |
| TNEAB1L_Tumor                | 02:01:01:-- | 8:01:01     | 03:04:01:-- |
|                              |             |             |             |
|                              | 03:01:01:-- | 40:01:02    | 07:01:01:-- |
| TNEABNWE_Normal              | 02:01:01:-- | 8:01:01     | 03:04:01:-- |
|                              |             |             |             |
|                              | 03:01:01:-- | 40:01:02    | 07:01:01:-- |

10

20

x- バリアント読み取りなし

## 【0731】

## エクソームシーケンシング

[00638] HLAシーケンシングに加えて、HLA-LOHを確認し、ゲノム全体の追加のLOH事象を同定するために、エクソームシーケンシングも実施した

30

## 【0732】

[00639] Illuminaのペアエンド生読み取り(150X2, HiSeq)は、FastQCを使用して品質チェックした。Illuminaの生読み取りは、最小読み取り長50bp及び最小ベース品質30のパラメーターを使用して、アダプタークリッピング及び低品質ベアストリミング用にTrim Galoreソフトウェアによって処理した。処理した読み取りは、Bowtie2を使用して参照ヒトゲノム(hg19)にアライメントした。次いで、試料の各々の整列させた.bamファイル进行处理して、.bamファイルを除去した最終PCR複製を得、Qualimapを使用してアライメントの品質をチェックした。

## 【0733】

[00640] SAMtools及びBCFtoolsを使用して、バリアントを同定した。この場合、試料の各ペア(各正常及び腫瘍ペア)のバリアントを同定するために、ジョイントジェノタイピングを行う。したがって、各ペアについて、統合した.vcfが生成される。読み取り深度閾値>20及びマッピング品質>30を使用して、可能性のあるバリアントを、これらの統合された.vcfファイルの各々から同定する。フィルター処理し統合した.vcfの各ペアから、試料ごとの.vcfファイルを生成した。フィルター処理したバリアントは、Variant Studioを使用して、遺伝子、タンパク質の変化及び多様性の影響についてさらにアノテーションした。

40

## 【0734】

[00641] 以下の表は、上の試料の染色体喪失の程度を記載している。RC001、RC002及びRC003は、HLA遺伝子をコードする第6染色体を含む広範な染色体喪

50

失を呈し、したがってこれらの試料では、iCAR標的、加えて、第1、第2、第3、第4(RC002では)、第5、第6、第8(RC003では)、第9(RC001、RC002)、第10(RC001、RC003)、第11(RC003)、第13(RC001、RC003)、第14(RC002)、第17(RC001、RC003)、第19(RC001)、第21(RC001、RC003)、第22(RC001、RC002)染色体上のコードされた多くの他の標的として、HLAを使用することができる。

【0735】

【表14】

表 11: 染色体消失

| 染色体 | RC001 | RC002 | RC003 | OG001 | OG002 | 2RD | IOW | TNE |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-----|-----|-----|
| 1   | ++    | ++    | ++    |       |       |     |     |     |
| 2   | ++    | +     | ++    |       |       | +   |     |     |
| 3   | ++    | ++    |       |       |       | +   |     |     |
| 4   |       | ++    |       |       |       |     |     |     |
| 5   | ++    | ++    |       |       |       |     |     |     |
| 6   | ++    | +     | ++    |       |       |     | +   |     |
| 7   |       |       |       |       |       |     |     |     |
| 8   |       |       | ++    |       |       |     |     |     |
| 9   | ++    | ++    |       |       |       |     | ++  |     |
| 10  | ++    |       | ++    |       |       |     |     |     |
| 11  |       |       | ++    |       |       |     |     |     |
| 12  |       |       |       |       |       |     | +   |     |
| 13  | ++    |       | ++    |       |       |     |     |     |
| 14  |       | +     |       |       |       | +   |     |     |
| 15  |       |       |       |       |       | +   |     |     |
| 16  |       |       |       |       |       |     |     |     |
| 17  | ++    |       | ++    |       |       |     |     |     |
| 18  |       |       |       |       |       |     |     |     |
| 19  | ++    |       |       |       |       |     |     |     |
| 20  |       |       |       |       |       |     |     |     |
| 21  | ++    |       | ++    |       |       |     |     |     |
| 22  | ++    | ++    |       |       |       |     | ++  |     |

+ 細胞の約 50%で LOH(染色体消失)

++ 細胞のほぼ 100%で LOH(染色体消失)

【0736】

【00642】 RC001について、図14は、第17染色体上にコードされる腫瘍抑制タンパク質TP53に隣接する染色体領域の喪失を示す。iCAR標的として同定された、第17染色体上にコードされている遺伝子は、患者RC001の処置に使用することができる。

【0737】

【00643】 略称：ADP、アデノシン二リン酸；ALL、急性リンパ芽球性白血病；AML、急性骨髄性白血病；APRIL、増殖誘導リガンド；BAFF、TNFファミリーのB細胞活性化因子；BCMA、B細胞成熟抗原；BCR、B細胞受容体；BM、骨髄；CAIX、炭酸脱水酵素IX；CAR、キメラ抗原受容体；CEA、癌胎児性抗原；CLL、慢性リンパ性白血病；CNS、中枢神経系；CSPG4、コンドロイチン硫酸プロテオグリカン4；DC、樹状細胞；ECM、細胞外マトリックス；EGFR、上皮成長因子

10

20

30

40

50

受容体；EGFRvIII、EGFRのバリエーションIII；EphA2、エリスロポエチン生成肝細胞癌A2；FAP、線維芽細胞活性化タンパク質；FR-、葉酸受容体-アルファ；GBM、多形神経膠芽腫；GPI、グリコホスファチジルイノシトール；H&N、頭頸部；HL、ホジキンリンパ腫；Ig、免疫グロブリン；L1-CAM、L1細胞接着分子；MM、多発性骨髄腫；NB、神経芽細胞腫；NF-KB、核因子-KB；NHL、非ホジキンリンパ腫；NK、ナチュラルキラー；NKGD-L、NKGDリガンド；PBMc、末梢血単核細胞；PC、形質細胞；PLL、前リンパ性白血病；PSCA、前立腺幹細胞抗原；PSMA、前立腺特異的膜抗原；RCC、腎細胞癌；ROR1、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1；TCL、T細胞白血病/リンパ腫；Th2、Tヘルパー2；TNBC、トリプルネガティブ乳癌；TNFR、腫瘍壊死因子受容体；VEGFR-2、血管内皮増殖因子-2。

【0738】

参考文献：

- Abecasis, G. R., Altshuler, D., Auton, A., Brooks, L.D., Durbin, R.M., Gibbs, R.A., Hurles, M.E., and McVean, G. A. (2010). A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* 467, 1061-1073.
- Abeyweera, T.P., Merino, E., and Huse, M. (2011). Inhibitory signaling blocks activating receptor clustering and induces cytoskeletal retraction in natural killer cells. *J. Cell Biol.* 192, 675-690.
- Auton, A., Abecasis, G.R., Altshuler, D.M., Durbin, R.M., Bentley, D.R., Chakravarti, A., Clark, A.G., Donnelly, P., Eichler, E.E., Flicek, P., et al. (2015). A global reference for human genetic variation. *Nature* 526, 68-74.
- Barbas, Carlos F., Dennis R. Burton, Jamie K. Scott, G.J.S. 2004. Phage display: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Bausch-Fluck, D., Hofmann, A., Bock, T., Frei, A.P., Cerciello, F., Jacobs, A., Moest, H., Omasits, U., Gundry, R.L., Yoon, C., et al. (2015). A mass spectrometric-derived cell surface protein atlas. *PLoS One* 10.
- Bayle, J.H., Grimley, J.S., Stankunas, K., Gestwicki, J.E., Wandless, T.J., and Crabtree, G.R. (2006). Rapamycin analogs with differential binding specificity permit orthogonal control of protein activity. *Chem. Biol.* 13, 99-107.
- Bergbold, N., and Lemberg, M.K. (2013). Emerging role of rhomboid family proteins in mammalian biology and disease. *Biochim. Biophys. Acta* 1828, 2840-2848.
- Blankenstein, T., Leisegang, M., Uckert, W., and Schreiber, H. (2015). Targeting cancer-specific mutations by T cell receptor gene therapy. *Curr. Opin. Immunol.* 33, 112-119.
- Boczkowski, D., S.K. Nair, J.H. Nam, H.K. Lyerly, and E. Gilboa. 2000. Induction of tumor immunity and cytotoxic T lymphocyte responses using dendritic cells transfected with messenger RNA amplified from tumor cells. *Cancer Res* 60:1028-4.
- Barrett, M.T., Sanchez, C.A., Prevo, Burrell, R.A., McGranahan, N., Bartek, J., and Swanton, C. (2013). The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution. *Nature* 501, 338-345.
- Van Buuren, M.M., Calis, J.J.A., and Schumacher, T.N.M. (2014). High sensitivity of cancer exome-based CD8 T cell neo-antigen identification. *Oncoimmunology* 3.
- Caescu, C.I., Jeschke, G.R., and Turk, B.E. (2009). Active-site determinants of substrate recognition by the metalloproteinases TACE and ADAM10. *Biochem. J.* 424, 79-88.
- Carney, W.P., Petit, D., Hamer, P., Der, C.J., Finkel, T., Cooper, G.M., Lefebvre, M

- ., Mobtaker, H., Delellis, R., and Tischler, A.S. (1986). Monoclonal antibody specific for an activated RAS protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83, 7485-7489.
- Cerami E, et al. The cbio cancer genomics portal: An open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer discovery.* 2012; 2:401-404.
- Chao, G., W.L. Lau, B.J. Hackel, S.L. Sazinsky, S.M. Lippow, and K.D. Wittrup. 2006. Isolating and engineering Human antibodies using yeast surface display. *Nat. Protoc.* 1.
- Chess, A. (2012). Mechanisms and consequences of widespread random monoallelic expression. *Nat. Rev. Genet.* 13, 421-428. 10
- Chicaybam, L., and Bonamino, M.H. (2014). Abstract 2797: Construction and validation of an activating and inhibitory chimeric antigen receptor (CAR) system. *Cancer Res.* 74, 2797-2797.
- Chicaybam, L., and Bonamino, M.H. (2015). Abstract 3156: Construction and validation of an activating and inhibitory chimeric antigen receptor (CAR) system. *Cancer Res.* 75, 3156-3156.
- Consortium GT. Human genomics. The genotype-tissue expression (gtex) pilot analysis: Multitissue gene regulation in Humans. *Science.* 2015; 348:648-660. 20
- Da Cunha, J.P.C., Galante, P.A.F., De Souza, J.E., De Souza, R.F., Carvalho, P.M., Ohara, D.T., Moura, R.P., Oba-Shinja, S.M., Marie, S.K.N., Silva Jr., W.A., et al. (2009). Bioinformatics construction of the Human cell surfaceome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 16752-16757.
- Devilee, P., Cleton-Jansen, A.-M., and Cornelisse, C.J. (2001). Ever since Knudson. *Trends Genet.* 17, 569-573.
- Dotti, G., Gottschalk, S., Savoldo, B., and Brenner, M.K. (2014). Design and development of therapies using chimeric antigen receptor-expressing T cells. *Immunol. Rev.* 257, 107-126.
- Ebsen, H., Schroeder, A., Kabelitz, D., and Janssen, O. (2013). Differential surface expression of ADAM10 and ADAM17 on Human T lymphocytes and tumor cells. *PLoS One* 8, e76853. 30
- Eriksson, M., Leitz, G., Faellman, E., Axner, O., Ryan, J.C., Nakamura, M.C., and Sentman, C.L. (1999). Inhibitory receptors alter natural killer cell interactions with target cells yet allow simultaneous killing of susceptible targets. *J. Exp. Med.* 190, 1005-1012.
- Fedorov, V.D., Themeli, M., and Sadelain, M. (2013a). PD-1- and CTLA-4-based inhibitory chimeric antigen receptors (iCARs) divert off-target immunotherapy responses. *Sci. Transl. Med.* 5, 215ra172.
- Fedorov, V.D., Themeli, M., and Sadelain, M. (2013b). PD-1- and CTLA-4-based inhibitory chimeric antigen receptors (iCARs) divert off-target immunotherapy responses. In *Science Translational Medicine*, (Affiliation: Center for Cell Engineering, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC), New York, NY 10065, United States; Affiliation: Tri-Institutional MSTP Program (MSKCC, Rockefeller University, Weill-Cornell Medical College), New York, NY 10065, Un),. 40
- Feenstra, M., Veltkamp, M., van Kuik, J., Wiertsema, S., Slootweg, P., van den Tweel, J., de Weger, R., and Tilanus, M. (1999). HLA class I expression and chromosomal deletions at 6p and 15q in Head and neck squamous cell carcinomas. *Tissue Antigens* 54, 235-245. 50

- Gao J. et al, Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBio Portal. *Sci Signal*. 2013 2;6(269)
- Gill, S., and June, C.H. (2015). Going viral: chimeric antigen receptor T-cell therapy for Hematological malignancies. *Immunol. Rev.* 263, 68-89.
- Gordon, W.R., Zimmerman, B., He, L., Miles, L.J., Huang, J., Tiyanont, K., McArthur, D.G., Aster, J.C., Perrimon, N., Loparo, J.J., et al. (2015). Mechanical Allostery: Evidence for a Force Requirement in the Proteolytic Activation of Notch. *Dev. Cell* 33, 729-736.
- Graef, I.A., Holsinger, L.J., Diver, S., Schreiber, S.L., and Crabtree, G.R. (1997). Proximity and orientation underlie signaling by the non-receptor tyrosine kinase ZAP70. *EMBO J.* 16, 5618-5628. 10
- Gross, G., and Eshhar, Z. (2016a). Therapeutic Potential of T-Cell Chimeric Antigen Receptors in Cancer Treatment: Counteracting Off-Tumor Toxicities for Safe CAR T-Cell Therapy. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2016. 56:59-83.
- Gross, G., and Eshhar, Z. (2016b). Therapeutic Potential of T Cell Chimeric Antigen Receptors (CARs) in Cancer Treatment: Counteracting Off-Tumor Toxicities for Safe CAR T Cell Therapy. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 56, 59-83.
- Gross, G., Waks, T., and Eshhar, Z. (1989). Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86, 10024-10028. 20
- Haapasalo, A., and Kovacs, D.M. (2011). The many substrates of presenilin/γ-secretase. *J. Alzheimers. Dis.* 25, 3-28.
- Hanes, J., and A. Plueckthun. 1997. In vitro selection and evolution of functional proteins by using ribosome display. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94.
- Heemskerk, B., Kvistborg, P., and Schumacher, T.N.M. (2013). The cancer antigenome. *EMBO J.* 32, 194-203.
- Hemming, M.L., Elias, J.E., Gygi, S.P., and Selkoe, D.J. (2009). Identification of beta-secretase (BACE1) substrates using quantitative proteomics. *PLoS One* 4, e8477. 30
- Huse, M., Catherine Milanoski, S., and Abeyweera, T.P. (2013). Building tolerance by dismantling synapses: inhibitory receptor signaling in natural killer cells. *Immunol. Rev.* 251, 143-153.
- Jimenez, P., Canton, J., Collado, A., Cabrera, T., Serrano, A., Real, L.M., Garcia, A., Ruiz-Cabello, F., and Garrido, F. (1999). Chromosome loss is the most frequent mechanism contributing to HLA Haplotype loss in Human tumors. *Int. J. Cancer* 83, 91-97.
- Klebanoff, C.A., Rosenberg, S.A., and Restifo, N.P. (2016). Prospects for gene-engineered T cell immunotherapy for solid cancers. *Nat. Med.* 22, 26-36. 40
- Kloss, C.C., Condomines, M., Cartellieri, M., Bachmann, M., and Sadelain, M. (2013). Combinatorial antigen recognition with balanced signaling promotes selective tumor eradication by engineered T cells. *Nat. Biotechnol.* 31, 71-75.
- Knudson Jr., A.G. (1971). Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 68, 820-823.
- Lanitis, E., Poussin, M., Klattenhoff, A.W., Song, D., Sandaltzopoulos, R., June, C.H., and Powell Jr, D.J. (2013). Chimeric antigen receptor T cells with dissociated signaling domains exhibit focused anti-tumor activity with reduced potential for toxicity. *Cancer Immunol. Res.* 1, 10.1158/2326-6066. 50

CIR-13-0008.

Lawrence, M.S., Stojanov, P., Polak, P., Kryukov, G.V., Cibulskis, K., Sivachenko, A., Carter, S.L., Stewart, C., Mermel, C.H., Roberts, S.A., et al. (2013). Mutation al Heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature* 499, 214-218.

Lee, A., Rana, B.K., Schiffer, H.H., Schork, N.J., Brann, M.R., Insel, P.A., and Weiner, D.M. (2003). Distribution analysis of nonsynonymous polymorphisms within the G-protein-coupled receptor gene family. *Genomics* 81, 245-248.

Lek M, et al., Exome Aggregation C. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 Humans. *Nature*. 2016; 536: 285-291.

10

Lengauer, C., Kinzler, K.W., and Vogelstein, B. (1998). Genetic instabilities in Human cancers. *Nature* 396, 643-649.

Li, H., Yang, B., Xing, K., Yuan, N., Wang, B., Chen, Z., He, W., and Zhou, J. (2014). A preliminary study of the relationship between breast cancer metastasis and loss of Heterozygosity by using exome sequencing. *Sci. Rep.* 4.

Liberles, S.D., Diver, S.T., Austin, D.J., and Schreiber, S.L. (1997). Inducible gene expression and protein translocation using nontoxic ligands identified by a mammalian three-hybrid screen. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94, 7825-7830.

Lindblad-Toh, K., Tanenbaum, D.M., Daly, M.J., Winchester, E., Lui, W.-O., Villa pakkam, A., Stanton, S.E., Larsson, C., Hudson, T.J., Johnson, B.E., et al. (2000). Loss-of-heterozygosity analysis of small-cell lung carcinomas using single-nucleotide polymorphism arrays. *Nat. Biotechnol.* 18, 1001-1005.

20

Lo, K.C., Bailey, D., Burkhardt, T., Gardina, P., Turpaz, Y., and Cowell, J.K. (2008). Comprehensive analysis of loss of Heterozygosity events in glioblastoma using the 100K SNP mapping arrays and comparison with copy number abnormalities defined by BAC array comparative genomic Hybridization. *Genes Chromosom. Cancer* 47, 221-237.

Long, E.O., Sik Kim, H., Liu, D., Peterson, M.E., and Rajagopalan, S. (2013). Controlling natural killer cell responses: Integration of signals for activation and inhibition. *Annu. Rev. Immunol.* 31, 227-258.

30

Maleno, I., Lopez-Nevot, M.A., Cabrera, T., Salinero, J., and Garrido, F. (2002). Multiple mechanisms generate HLA class I altered phenotypes in laryngeal carcinomas: High frequency of HLA Haplotype loss associated with loss of Heterozygosity in chromosome region 6p21. *Cancer Immunol. Immunother.* 51, 389-396.

Maleno, I., Cabrera, C.M., Cabrera, T., Paco, L., Lopez-Nevot, M.A., Collado, A., Ferron, A., and Garrido, F. (2004). Distribution of HLA class I altered phenotypes in colorectal carcinomas: High frequency of HLA Haplotype loss associated with loss of Heterozygosity in chromosome region 6p21. *Immunogenetics* 56, 244-253.

40

Maleno, I., Romero, J.M., Cabrera, T., Paco, L., Aptsiauri, N., Cozar, J.M., Tallada, M., Lopez-Nevot, M.A., and Garrido, F. (2006). LOH at 6p21.3 region and HLA class I altered phenotypes in bladder carcinomas. *Immunogenetics* 58, 503-510.

Maleno, I., Aptsiauri, N., Cabrera, T., Gallego, A., Paschen, A., Lopez-Nevot, M.A., and Garrido, F. (2011). Frequent loss of Heterozygosity in the 2-microglobulin region of chromosome 15 in primary Human tumors. *Immunogenetics* 63, 65-71.

McGranahan, N., Burrell, R.A., Endesfelder, D., Novelli, M.R., and Swanton, C. (2012). Cancer chromosomal instability: Therapeutic and diagnostic chall

50

- enges. *EMBO Rep.* 13, 528-538.
- Morsut, L., Roybal, K. T., Xiong, X., Gordley, R. M., Coyle, S. M., Thomson, M., and Lim, W. A. (2016). Engineering Customized Cell Sensing and Response Behaviors Using Synthetic Notch Receptors. *Cell* 164, 780-791.
- Ng PC, Henikoff S. Sift: Predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic acids research.* 2003; 31: 3812-3814.
- Nirschl, C. J., and Drake, C. G. (2013). Molecular pathways: Coexpression of immune checkpoint molecules: Signaling pathways and implications for cancer immunotherapy. *Clin. Cancer Res.* 19, 4917-4924.
- O'Keefe, C., McDevitt, M. A., and Maciejewski, J. P. (2010). Copy neutral loss of Heterozygosity: A novel chromosomal lesion in myeloid malignancies. *Blood* 115, 2731-2739. 10
- Ohgaki, H., Dessen, P., Jourde, B., Horstmann, S., Nishikawa, T., Di Patre, P.-L., Burkhard, C., Schuler, D., Probst-Hensch, N. M., Maiorka, P. C., et al. (2004). Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer Res.* 64, 6892-6899.
- Overwijk, W. W., Wang, E., Marincola, F. M., Rammensee, H. G., and Restifo, N. P. (2013). Mining the mutanome: developing Highly personalized Immunotherapies based on mutational analysis of tumors. *J. Immunother. Cancer* 1, 11. 20
- Rana, B. K., Shiina, T., and Insel, P. A. (2001). Genetic variations and polymorphisms of G protein-coupled receptors: functional and therapeutic implications. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 41, 593-624.
- Rawson, R. B. (2013). The site-2 protease. *Biochim. Biophys. Acta* 1828, 2801-2807.
- Rosenberg, S. A. (2014). Finding suitable targets is the major obstacle to cancer gene therapy. *Cancer Gene Ther.* 21, 45-47.
- Rosenberg, S. A., and Restifo, N. P. (2015). Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for Human cancer. *Science* 348, 62-68.
- Roybal, K. T., Rupp, L. J., Morsut, L., Walker, W. J., McNally, K. A., Park, J. S., and Lim, W. A. (2016a). Precision Tumor Recognition by T Cells With Combinatorial Antigen-Sensing Circuits. *Cell*. 30
- Roybal, K. T., Rupp, L. J., Morsut, L., Walker, W. J., McNally, K. A., Park, J. S., and Lim, W. A. (2016b). Precision Tumor Recognition by T Cells With Combinatorial Antigen-Sensing Circuits. *Cell* 164, 770-779.
- Sathirapongsasuti, J. F., Lee, H., Horst, B. A. J., Brunner, G., Cochran, A. J., Binder, S., Quackenbush, J., and Nelson, S. F. (2011). Exome sequencing-based copy-number variation and loss of Heterozygosity detection: ExomeCNV. *Bioinformatics* 27, 2648-2654.
- Savage, P. A. (2014). Tumor antigenicity revealed. *Trends Immunol.* 35, 47-48. 40
- Savova, V., Chun, S., Sohail, M., McCole, R. B., Witwicki, R., Gai, L., Lenz, T. L., Wu, C.-T., Sunyaev, S. R., and Gimelbrant, A. A. (2016). Genes with monoallelic expression contribute disproportionately to genetic diversity in Humans. *Nat. Genet.* 48, 231-237.
- Schumacher, T. N., and Schreiber, R. D. (2015). Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science* (80-.). 348, 69-74.
- Sela-Culang, I., Y. Ofran, and B. Peters. 2015a. Antibody specific epitope prediction-Emergence of a new paradigm. *Curr. Opin. Virol.* 11.
- Sela-Culang, I., S. Ashkenazi, B. Peters, and Y. Ofran. 2015b. PEASE: Predicting B-cell epitopes utilizing antibody sequence. *Bioinformatics* 31.
- Skora, A. D., Douglass, J., Hwang, M. S., Tam, A. J., Blosser, R. L., Gabelli, S. B., Cao 50

- , J., Diaz, L. A., Papadopoulos, N., Kinzler, K. W., et al. (2015). Generation of M ANAbodies specific to HLA-restricted epitopes encoded by somatically mutated genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 9967-9972.
- Stark, M., and Hayward, N. (2007). Genome-wide loss of Heterozygosity and copy number analysis in melanoma using High-density single-nucleotide polymorphism arrays. *Cancer Res.* 67, 2632-2642.
- Stark, S. E., and Caton, A. J. (1991). Antibodies that are specific for a single amino acid interchange in a protein epitope use structurally distinct variable regions. *J. Exp. Med.* 174, 613-624.
- Teo, S. M., Pawitan, Y., Ku, C. S., Chia, K. S., and Salim, A. (2012). Statistical challenges associated with detecting copy number variations with next-generation sequencing. *Bioinformatics* 28, 2711-2718.
- Thul P J, et al. A subcellular map of the Human proteome. *Science.* 2017; 356.
- Treanor, B., Lanigan, P. M. P., Kumar, S., Dunsby, C., Munro, I., Auksoy, E., Cull ey, F. J., Purbhoo, M. A., Phillips, D., Neil, M. A. A., et al. (2006). Microclusters of inhibitory killer immunoglobulin-like receptor signaling at natural killer cell immunological synapses. *J. Cell Biol.* 174, 153-161.
- Uhlen M, et al. Tissue-based map of the Human proteome. *Science.* 2015; 347: 1260419.
- Vogelstein, B., Fearon, E. R., Kern, S. E., Hamilton, S. R., Preisinger, A. C., Nakamura, Y., and White, R. (1989). Allelotype of colorectal carcinomas. *Science* (80-). 244, 207-211.
- Vogelstein, B., Papadopoulos, N., Velculescu, V. E., Zhou, S., Diaz Jr., L. A., and Kinzler, K. W. (2013). Cancer genome landscapes. *Science* (80-). 340, 1546-1558.
- Voss, M., Schroeder, B., and Fluhrer, R. (2013). Mechanism, specificity, and physiology of signal peptide peptidase (SPP) and SPP-like proteases. *Biochim. Biophys. Acta* 1828, 2828-2839.
- Vyas, Y. M., Mehta, K. M., Morgan, M., Maniar, H., Butros, L., Jung, S., Burkhardt, J. K., and Dupont, B. (2001). Spatial organization of signal transduction molecules in the NK cell immune synapses during MHC class I-regulated noncytolytic and cytolytic interactions. *J. Immunol.* 167, 4358-4367.
- Wang, Z. C., Lin, M., Wei, L.-J., Li, C., Miron, A., Lodeiro, G., Harris, L., Ramaswamy, S., Tanenbaum, D. M., Meyerson, M., et al. (2004). Loss of Heterozygosity and its correlation with expression profiles in subclasses of invasive breast cancers. *Cancer Res.* 64, 64-71.
- Wilkie, S., Van Schalkwyk, M. C. I., Hobbs, S., Davies, D. M., Van, D. S., Pereira, A. C. P., Burbridge, S. E., Box, C., Eccles, S. A., and Maher, J. (2012). Dual targeting of ErbB2 and MUC in breast cancer using chimeric antigen receptors engineered to provide complementary signaling. *J. Clin. Immunol.* 32, 1059-1070.
- Wu, C.-Y., Roybal, K. T., Puchner, E. M., Onuffer, J., and Lim, W. A. (2015). Remote control of therapeutic T cells through a small molecule-gated chimeric receptor. *Science* (80-). 350, aab4077.
- Yeung, J. T., Hamilton, R. L., Ohnishi, K., Ikeura, M., Potter, D. M., Nikiforova, M. N., Ferrone, S., Jakacki, R. I., Pollack, I. F., and Okada, H. (2013). LOH in the HLA class I region at 6p21 is associated with shorter survival in newly diagnosed adult glioblastoma. *Clin. Cancer Res.* 19, 1816-1826.

【 0 7 3 9 】

実施例 4 . タンパク質レベルでの LOH の検証

50

[00644] L O Hは、対立遺伝子特異的抗体を使用して、腫瘍細胞試料に対して正常細胞試料を区別して染色することにより、タンパク質レベルで検出することができる。例えば、癌試料におけるHLA - L O Hの検証は、患者のHLAアロタイプに特異的な市販のHLA抗体を使用して行うことができる。以下の表12は、使用することができる、利用可能な対立遺伝子特異的抗体の例を詳細に示す。

【0740】

[00645] 試料は、以下のIHCプロトコルで説明されているように、免疫組織化学(IHC)染色を施される。

【0741】

【表15】

10

表12: 対立遺伝子特異的抗HLA抗体

| 抗体                                     | 製造者           |
|--|---------------|
| 抗ヒトHLA-A2 APC (BB7.2)                  | eBiosciences  |
| 抗ヒトHLA-A2 PE-cy7 (BB7.2)               | eBiosciences  |
| 抗ヒトHLA-A3 FITC (GAP A3)                | eBiosciences  |
| 抗ヒトHLA-A3 PE (GAP A3)                  | eBiosciences  |
| マウス抗HLAクラス1抗原A25, A32抗体                | US Biological |
| HLAクラス1抗原A30, A31                      | MyBioSource   |
| マウス抗ヒトHLA-B7-PE (BB7.1)                | Millipore     |
| HLA-A2抗体 (BB7.2)                       | Novus         |
| HLA B7抗体 (BB7.1)                       | Novus         |
| マウス抗ヒトHLA-B27-FITC<br>(クローンHLA.ABC.m3) | Millipore     |

20

【0742】

IHCプロトコル

凍結組織試料 -

[00646] 多くの場合、凍結組織は、ホルマリン系溶液で固定され、OCT(最適切断温度化合物)に包埋されて、試料の凍結切断が可能である。OCT中組織は、-80で凍結保存される。凍結ブロックを切断前に、-80のクライオスタットチャンバーから取り出し、平衡化し、薄い切片(多くの場合5~15µm厚)に切断する。切片は、組織学的スライドに載せる。スライドは、-20~-80で保存することができる。IHC染色前にスライドを室温(RT)で10~20分間解凍する。

30

【0743】

パラフィン包埋組織 -

[00647] 組織を、ホルムアルデヒド固定液に包埋する。パラフィンワックスを添加する前に、RTで特定の時間及び期間の間、エタノールの濃度を徐々に上げながら(70%、90%、100%)キシレンとともに徐々に組織を浸漬することによって脱水する。次いで、組織をパラフィンワックスに包埋する。

40

【0744】

[00648] パラフィン包埋組織を、ミクロトームで5~15µm厚の切片に切断し、56の水浴に浮遊させ、組織学的スライドに載せる。スライドはRTで保持することができる。

【0745】

[00649] IHC染色前に、パラフィン包埋切片には再水和ステップが必要である。再水和-切片を、キシレンへの浸漬(2X10分)によって再水和した後、続いてエタノールの濃度を減少させる(100%X2、それぞれ10分95%エタノール-5分70%エタノール-5分50%エタノール-5分dH2O中ですすぎ)。

50

## 【0746】

免疫蛍光検出：

[00650] プロトコル：

1. スライドを洗浄緩衝液で10分間再水和する(PBS X 1)。洗浄緩衝液を排水する。
2. 抗原取得を実施する - 必要な場合(熱誘導抗原取得又は酵素による取得)。
3. 細胞内抗原では、透過処理を実施する - PBS X 1中0.1%のトリトンX - 100で、スライドをRTで10分間インキュベートする。
4. ブロッキング - ブロッキング緩衝液で、組織をRTで30分間ブロックする。ブロッキング緩衝液は検出方法に依存する(通常PBS X 1中5%の動物血清又はPBS X 1中1%のBSA)。
5. 一次抗体 - 抗体製造者の指示書に従って、一次抗体をインキュベーション緩衝液で希釈する(例えば、PBS中1%BSA、1%のロバ血清、他のインキュベーション緩衝液も使用し得る)。希釈した一次抗体中で、組織を4で一晚インキュベートする。一次抗体は、上で詳述したモノクローナル抗HLA - A、抗HLA - B又は抗HLA - C対立遺伝子特異的抗体であり得る。
  - ・ 共役一次抗体を使用する場合、光から保護し、ステップ8に進む。
  - ・ 陰性対照として、一次抗体を含まない、インキュベーション緩衝液のみで組織をインキュベートする。
  - ・ また、実験で使用したモノクローナル抗体のアイソタイプに一致する対照にも実施する
6. 洗浄 - スライドを洗浄緩衝液で洗浄する(-3 X 5 ~ 15分)。
7. 二次抗体 - 抗体製造者の指示書に従って、二次抗体をインキュベーション緩衝液で希釈する。希釈した二次抗体中の組織を、RTで30 ~ 60分間インキュベートする。光から保護する。
8. 洗浄 - スライドを洗浄緩衝液で洗浄する(-3 X 5 ~ 15分)。
9. DAPI染色 - DAPIインキュベーション緩衝液を希釈する(約300 nM ~ 3 μM)。300 μlのDAPI溶液を各切片に添加する。RTで5 ~ 10分間インキュベートする。
10. 洗浄 - スライドをX1PBSで1回洗浄する。
11. 退色防止用封入剤とともに載せる
12. スライドを光から保護し続ける。
13. 蛍光顕微鏡を使用して、スライドを視覚化する。

## 【0747】

色素原検出：

[00651] プロトコル：

1. スライドを洗浄緩衝液で10分間再水和する(PBS X 1)。洗浄緩衝液を排水する。
2. 抗原取得を実施する - 必要な場合、上記を参照されたい。
3. HRP試薬では、メタノール中3.0%の過酸化水素を用いて、内因性ペルオキシダーゼ活性を少なくとも15分間ブロックする。
4. 切片をdH2O中に5分間浸漬することによって洗浄する。
5. 細胞内抗原では、透過処理を実施する - PBS X 1中0.1%のトリトンX - 100で、スライドをRTで10分間インキュベートする。
6. ブロッキング - ブロッキング緩衝液で、組織をRTで30分間ブロックする。ブロッキング緩衝液は検出方法に依存する(通常PBS X 1中5%の動物血清又はPBS X 1中1%のBSA)。
7. 一次抗体 - 抗体製造者の指示書に従って、一次抗体をインキュベーション緩衝液で希釈する(例えば、PBS中1%BSA、1%のロバ血清、他のインキュベーション緩衝液も使用し得る)。希釈した一次抗体中で、組織を4で一晚インキュベートする

8. 洗浄 - スライドを洗浄緩衝液で洗浄する ( - 3 X 5 ~ 1 5 分 ) 。
9. 二次抗体 - R T で 3 0 ~ 6 0 分間、組織を H R P 共役二次抗体とインキュベートする。
10. 洗浄 - スライドを洗浄緩衝液で洗浄する ( 3 X 5 ~ 1 5 分 ) 。
11. 製造者のガイドラインに従って、A B C - H R P 試薬を添加する。R T で 6 0 分間インキュベートする。
12. 製造者のガイドラインに従って、D A B 溶液 ( 又は他の色素原 ) を調製し、組織切片に適用する。色素原反応により、エピトープ部位が茶色に変わる ( 通常、数秒 ~ 1 0 分 ) 。シグナルの強度が画像化に適切であるときには、次のステップに進む。
13. 洗浄 - スライドを洗浄緩衝液で洗浄する ( - 3 X 5 ~ 1 5 分 ) 。
14. スライドを d H 2 O で洗浄する ( - 2 X 5 ~ 1 5 分 )
15. 核染色 - ヘマトキシリン溶液を添加する。R T で 5 分間インキュベートする。
16. 組織切片を脱水する - 9 5 % エタノール - 2 X 2 分。1 0 0 % エタノール - 2 X 2 分。キシレン - 2 X 2 分。
17. 退色防止用封入剤とともに載せる。
18. 明視野照明を使用して、スライドを視覚化する。

【 0 7 4 8 】

実施例 5 . C A R - T の設計及び構築

[00652] 研究の目的は、C A R - T 療法のオンターゲットの「腫瘍外」効果を阻害するであろう合成受容体を作製することである。その程度まで、活性化及び阻害性 C A R で構成される C A R 構築物のライブラリーを確立した。

【 0 7 4 9 】

[00653] 構築物の第 1 のセットは、H L A I 型配列に向けられた阻害性 C A R ( H L A - A 2 ) と、腫瘍抗原に向けられた活性化 C A R ( C D 1 9 、 E G F R 又は H E R 2 ) とを含んだ。概念実証のために使用される次の構築物のセットは、C D 1 9 、 E G F R 又は H E R 2 に向けられた活性化 C A R 配列と、C D 2 0 に向けられた阻害性 C A R 配列都を含む。将来のバイオインフォマティクス分析によって同定される、標的抗原に向けられた追加の構築物が構築される。標的候補は、示された基準に従って優先順位が付けられる ( 例示的な基準には、限定されないが、標的発現パターン、標的発現レベル、抗原性などが含まれる ) 。

i C A R 構築物は、市販の D N A 合成を使用して設計及び合成した。H L A - A 2 s c F v の下流に、P D - 1 の第 1 のアノテーション付き細胞外ドメインまでの膜貫通及び細胞内ドメイン ( アミノ酸 1 4 5 ~ 2 8 8 ) を融合した ( H L A - A 2 をコードする D N A 配列は、抗 H L A - A 2 を生成する、ハイブリドーマ B B 7 . 2 から取得した ( A T C C カタログ # : H B - 8 2 ) ) 。

【 0 7 5 0 】

[00654] C T L A 4 ( アミノ酸 1 6 1 - 2 2 3 ) 又は追加の負の免疫レギュレーター ( 例えば、2 B 4 、 L A G - 3 及び B T L A - 4 ) に由来する他の配列を含む構築物が設計され、H L A - A 2 s c F v の下流に、それらのシグナル伝達配列が融合される。

【 0 7 5 1 】

[00655] 図 1 5 に図示されるように、i C A R の検出及び選別のために、i C A R 配列の下流に、I R E S 配列を介してレポーター遺伝子 ( 例えば、e G F P ) の後、続いて P 2 A 配列によって分離された抗生物質耐性遺伝子 ( すなわちハイグロマイシン ) を統合した。

【 0 7 5 2 】

[00656] a C A R 構築物では、C D 1 9 s c F V 、 E G F R s c F V 又は H E R 2 s c F V を、C D 8 ヒンジ配列の後、続いて C D 2 8 膜貫通並びに 4 1 B B 共刺激 1 及び C D 3 で構成される第 2 世代の C A R 構築物に融合した。他のシグナル伝達又は構造要素で構成される追加の a C A R 構築物も設計及び構築される ( 例えば、C D 2 8 ヒンジ、C D 2 8 シグナル伝達ドメイン又は C D 2 8 及び 4 1 B B シグナル伝達ドメインの両方 )

。 a C A R の検出及び選別のために、 I R E S 配列を介して R F P レポーター遺伝子の後、続いて P 2 A 配列によって分離された抗生物質耐性遺伝子（ピューロマイシン耐性）を a C A R 配列の下流に統合した（図 1 5）。

【 0 7 5 3 】

[00657] a C A R 及び i C A R の両方の配列を、レンチウイルス移動ベクターにクローニングし、次いで H E K - 2 9 3 T パッケージング細胞を使用して、ウイルス粒子の生成に使用した。

【 0 7 5 4 】

[00658] 形質導入された各 T 細胞の表面での i C A R タンパク質の発現を確実にするために、i C A R と a C A R の両方をコードするバイストロニックなウイルス構築物が産生される。好ましくは、i C A R 配列は、I R E S 配列の上流にコードされる。発現レベルの違いは、I R E S の上流又は下流に i C A R 及び a C A R をクローニングし、R T q P C R 及び F A C S で発現レベルを測定することによって検証される。さらに、バイストロニックな発現を可能にする 2 A 配列も検証され、これらの配列の上流及び下流の遺伝子の発現レベルが決定される。ウイルスベクターを使用して、上述のようにウイルス粒子を生成する。

10

【 0 7 5 5 】

[00659] a C A R 及び i C A R 配列は、RNA エレクトロポレーションによって P B M C に導入することができる。そのために、a C A R 及び i C A R の両方の配列を p G E M - 4 Z ベクターにサブクローニングし、m R N A のインビトロ転写を可能にした。C D 1 9 a C A R 及び H L A - A 2 i C A R の m R N A をさらに P B M C にエレクトロポレーションした。E G F R a C A R 及び H L A - A 2 i C A R の m R N A をさらに P B M C にエレクトロポレーションした。H E R 2 a C A R 及び H L A - A 2 i C A R の m R N A をさらに P B M C にエレクトロポレーションした。

20

【 0 7 5 6 】

[00660] i C A R 及び a C A R の両方をコードするバイストロニックな転写物を生成するために、追加の構築物を設計及び合成し、D N A 配列をクローニングベクターにクローニングして、インビトロ転写を可能にした。2 つの C A R 配列は、I R E S （ベクター I D P L 9 3 ）又は P 2 A （ベクター I D P L 9 6 ）のいずれかによって分離された。さらに、阻害性シグナルドメインを欠く対照 i C A R 配列も調製した（ベクター I D P L 6 5 、 P L 9 4 ）。C A R をさらに最適化するために、次の要素：シグナルペプチド、s c F v 、ヒンジ、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインで構成される追加の構築物を、図 5 0 A 及び図 5 0 B に従って設計した。

30

【 0 7 5 7 】

[00661] 全ての配列を p G E M - 4 Z にクローニングした。転写された m R N A は、p B M C へのエレクトロポレーションと、標的細胞及び腫瘍外細胞との共培養による分析後に比較する。

【 0 7 5 8 】

[00662] 上記の異なる i C A R 構築物に加えて、C D 2 8 及び C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインを有する C D 1 9 a C A R も合成され、p G E M - 4 z （ベクター I D P L 9 5 ）にサブクローニングされた。

40

【 0 7 5 9 】

[00663] 上記の異なる i C A R 構築物に加えて、C D 2 8 及び C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインを有する E G F R a C A R も合成され、p G E M - 4 z にサブクローニングされる。

【 0 7 6 0 】

[00664] 上記の異なる i C A R 構築物に加えて、C D 2 8 及び C D 3 ゼータシグナル伝達ドメインを有する H E R 2 a C A R も合成され、p G E M - 4 z にサブクローニングされる。

【 0 7 6 1 】

50

[00665] 調製された様々な i C A R 及び a C A R 配列を以下に示す。

配列番号 1 1

C D 8 S P - 1 - 6 3

M y c タグ - 6 4 - 9 3

H L A - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8

C T L A 4 ( ヒンジ + T M + 細胞内ドメイン ) - 8 2 9 - 1 0 7 4

【化 2】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGCGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGGGCATCGGCAACGGCACCCAAATCTACGTGATCGACCCAGAG  
 CCCTGCCCTGACAGCGATTTCTGCTGTGGATTCTGGCCGCGGTGAGCAGCGGCC  
 TGTICTTTTATTCTTTCTGCTGACCGCCGTGTCTCTGAGCAAGATGCTGAAGAAG  
 CGGTCTCCTCTGACCACAGGCGTGGGCGTGAAGATGCCCCCTACAGAGCCCGAG  
 TGTGAGAAGCAGTTCCAGCCATACTTTATCCCCATCAATTGA

10

20

配列番号 1 2

C D 8 S P - 1 - 6 3

M y c タグ - 6 4 - 9 3

H L A - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8

L A G - 3 ( ヒンジ + T M + 細胞内ドメイン ) - 8 2 9 - 1 , 1 4 3

30

40

50

## 【化 3】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGGCTGCCACGACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGCTGGGGCGCCGCGTGTACTTCACCGAGCTGAGCAGCCCTGGC  
 GCCAGCGGTCCGGCAGGGCCCCAGGGCGCCCTGCCTGCCGGCCACCTGCTGCTGT  
 TTCTGATCCTGGGCGTGCTGTCTCTGCTGCTGCTGGTGACAGGGCGCCTTCGGCTTT  
 CACCTGTGGCGGAGACAGTGGCGGCCAGGGCGCTTCTCTGCCCTGGAGCAGGGC  
 ATCCACCCACCTCAGGCACAGAGCAAGATCGAGGAGCTGGAGCAGGAGCCAGA  
 GCCAGAGCCTGAACCTGAGCCAGAGCCTGAACCCGAGCCAGAGCCTGAGCAGCT  
 GTGA

10

20

## 配列番号 13

C D 8 S P - 1 - 6 3

M y c タグ - 6 4 - 9 3

H L A - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8

2 B 4 ( ヒンジ + T M + 細胞内ドメイン ) - 8 2 9 - 1 , 2 6 9

30

40

50

## 【化 4】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGGCA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGGCGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGGAGTTCGGTTTTGGCCCTTCCTGGTCATCATCGTGATCCTGTC  
 TGCCCTGTTCTGGGCACCCTGGCCTGCTTTTGCCTGTGGCGGAGAAAGCGGAAG  
 GAGAAGCAGAGCGAGACCTCCCCAAGGAGTTCCTGACAATCTACGAGGACGTG  
 AAGGATCTGAAGACAAGGCGCAACCACGAGCAGGAGCAGACCTTTCCTGGCGGC  
 GGCTCTACAATCTATAGCATGATCCAGTCCCAGAGCAGCGCCCCCACCAGCCAG  
 GAGCCTGCCTACACACTGTATTCTCTGATCCAGCCTAGCAGAAAGTCTGGCAGCC  
 GGAAGAGAAACCACTCCCCATCTTTCAATTCCACCATCTACGAAGTGATCGGCAA  
 GTCTCAGCCAAAGGCACAGAACCCAGCAAGGCTGAGCCGCAAGGAGCTGGAGA  
 ATTTTGACGTGTATTCTGA

10

20

## 配列番号 1 4

C D 8 S P - 1 - 6 3

M y c タグ - 6 4 - 9 3

H L A - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8

B T L A ( ヒンジ + T M + 細胞内ドメイン ) - 8 2 9 - 1 , 2 9 3

30

40

50

## 【化 5】

ATGGCACTGCCAGTGACCCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACA TGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGGCGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGGATGTGAAGAGCGCCTCCGAGAGACCTTCTAAGGACGAGATG  
 GCCAGCCGGCCATGGCTGCTGTACAGACTGCTGCCACTGGGAGGACTGCCTCTGC  
 TGATCACCACATGCTTCTGTCTGTTTTGCTGTCTGCGGAGACACCAGGGCAAGCA  
 GAACGAGCTGTCCGATACCGCCGGCAGGGAGATCAATCTGGTGGACGCCACCT  
 GAAGTCTGAGCAGACCGAGGCCAGCACACGCCAGA ACTCCAGGTGCTGCTGTC  
 TGAGACAGGCATCTACGACAATGATCCCGACCTGTGCTTCCGGATGCAGGAGGG  
 CTCTGAGGTGTACAGCAACCCATGTCTGGAGGAGAATAAGCCCCGGCATCGTGTA  
 TGCCTCCCTGAACCACTCTGTGATCGGACCCAACTCCAGGCTGGCCAGGAATGTG  
 AAGGAGGCCCTACCGAGTATGCCAGCATCTGCGTGCGGTCTGA

10

20

## 配列番号 15

CD8 SP - 1 - 63

Myc タグ - 64 - 93

HLA - A2 scFV - 94 - 828

KIR2DL2 (ヒンジ + TM + 細胞内ドメイン) - 829 - 1, 185

30

40

50

## 【化 6】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGGCTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGTCTCCAACCGAGCCCAGCTCCAAGACAGGCAACCCAAGGCAC  
 CTGCACATCCTGATCGGCACCAGCGTGGTCATCATCCTGTTTCATCCTGCTGTTCTT  
 TCTGCTGCACCGCTGGTGCAGCAACAAGAAGAATGCCGCCGTGATGGACCAGGA  
 GTCCGCCGGCAACAGGACAGCCAATTCCGAGGACTCTGATGAGCAGGACCCCCA  
 GGAGGTGACCTACACACAGCTGAACCACTGCGTGTTTACCCAGCGGAAGATCAC  
 AAGACCTTCCCAGAGGCCAAAGACCCCCCTACAGACATCATCGTGTATGCCGA  
 GCTGCCCAATGCCGAGTCTCGGAGCAAGGTGGTGTCTTGTCTTGA

10

20

## 配列番号 16

CD8 SP - 1 - 63

My c タグ - 64 - 93

HLA - A2 scFV - 94 - 828

KIR2DL3 (ヒンジ + TM + 細胞内ドメイン) - 829 - 1, 164

30

40

50

## 【化 7】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG 10  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGCGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGTCTCCAACCGAGCCCAGCTCCGAGACAGGCAACCCTAGGCAC  
 CTGCACGTGCTGATCGGCACCAGCGTGGTTCATCATCCTGTTTCATCCTGCTGCTGTT  
 CTTTCTGCTGCACCGGTGGTGTGTAACAAGAAGAATGCAGTGGTCATGGACCAG  
 GAGCCAGCCGGCAACAGGACCGTGAATAGAGAGGACTCCGATGAGCAGGACCC 20  
 CCAGGAGGTGACATACGCCAGCTGAACCACTGCGTGTTTACCCAGAGGAAGAT  
 CACACGCCCTTCTCAGCGGCCAAAGACCCCCCTACAGACATCATCGTGTATACA  
 GAGCTGCCCAATGCCGAGCCTTGA

## 配列番号 17

C D 8 S P - 1 - 6 3

M y c タグ - 6 4 - 9 3

H L A - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8

P D 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6

P D 1 T M - 9 0 7 - 9 6 9 30

K I R 2 D L 2 (シグナル伝達ドメイン) - 9 7 0 - 1 2 2 1

10

20

30

40

50

## 【化 8】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACA TGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGCGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCCACCGCTGGT  
 GCTCCAACAAGAAGAATGCCGCCGTGATGGACCAGGAGTCTGCCGGCAACAGGA  
 CCGCCAATTCTGAGGACAGCGATGAGCAGGACCCCCAGGAGGTGACCTACACAC  
 AGCTGAACCACTGCGTGTTCACCCAGCGGAAGATCACAAGACCAAGCCAGAGGC  
 CCAAGACCCCCCTACAGACATCATCGTGTATGCCGAGCTGCCTAATGCCGAGAG  
 CAGGTCCAAGGTGGTGTCTGTCCATGA

10

20

## 配列番号 18

C D 8 S P - 1 - 6 3

M y c タグ - 6 4 - 9 3

H L A - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8

P D 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6

P D 1 T M - 9 0 7 - 9 6 9

B T L A (シグナル伝達ドメイン) - 9 7 0 - 1 3 0 2

30

40

50

## 【化 9】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGGCGTGCCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCAAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGTCTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCCGGAGACACC  
 AGGGCAAGCAGAACGAGCTGAGCGATAACCGCCGGCCGGGAGATCAATCTGGTGG  
 ACGCCACCTGAAGTCCGAGCAGACCGAGGCCCTCCACAAGACAGAACTCTCAGG  
 TGCTGCTGAGCGAGACAGGCATCTACGACAATGATCCCGACCTGTGCTTCAGGAT  
 GCAGGAGGGCAGCGAGGTGTACTCCAACCCCTGTCTGGAGGAGAATAAGCCTGG  
 CATCGTGTATGCCTCTCTGAACCACAGCGTGATCGGCCCAAACCTCTAGGCTGGCC  
 CGCAATGTGAAGGAGGCCCCCAACCGAGTATGCCTCCATCTGCGTGAGGTCTTGA

10

20

## 配列番号 19

CD8 SP - 1 - 63

My c タグ - 64 - 93

HLA - A2 scFV - 94 - 828

PD1 ヒンジ - 829 - 906

PD1 TM - 907 - 969

CTLA4 (シグナル伝達ドメイン) - 970 - 1092

30

40

50

## 【化 1 0】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG 10  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGCGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGCTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCGCCGTGAGCC  
 TGTCCAAGATGCTGAAGAAGCGGTCTCCTCTGACCACAGGCGTGGGCGTGAAGA 20  
 TGCCCCCTACCGAGCCCGAGTGCAGAGAAGCAGTTCCAGCCATACTTTATCCCCAT  
 CAACTGA

## 配列番号 2 0

C D 8 S P - 1 - 6 3

M y c タグ - 6 4 - 9 3

H L A - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8

P D 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6

P D 1 T M - 9 0 7 - 9 6 9

C S K ( シグナル伝達ドメイン ) - 9 7 0 - 1 7 3 4 30

10

20

30

40

50

## 【化 1 1】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACACAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGGCGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCCTGAAGCTGC  
 TCCAGACCATCGGCAAGGGCGAGTTCGGCGACGTGATGCTGGGCGATTACAGAG  
 GCAACAAGGTGGCCGTGAAGTGCATCAAGAATGACGCAACCGCACAGGCCTTTC  
 TGGCAGAGGCCAGCGTGATGACACAGCTGAGGCACTCCAACCTGGTGCAGCTGC  
 TGGGCGTGATCGTGAGGAGAAGGGCGGCCTGTACATCGTGACAGAGTATATGG  
 CCAAGGGCAGCCTGGTGGACTACCTGCGGTCCAGAGGCAGGTCTGTGCTGGGAG  
 GCGACTGCCTGCTGAAGTTCAGCCTGGACGTGTGCGAGGCCATGGAGTATCTGG  
 AGGGCAACAATTTTGTGCACCGCGATCTGGCAGCAAGGAACGTGCTGGTGTCTG  
 AGGACAATGTGGCCAAGGTGAGCGATTTTCGGCCTGACCAAGGAGGCCAGCTCCA  
 CCCAGGACACAGGCAAGCTGCCTGTGAAGTGGACCGCACCAAGAGGCCCTGAGGG  
 AGAAGAAGTTCTCTACAAAGAGCGACGTGTGGTCCTTTGGCATCCTGCTGTGGGA  
 AATCTACTCTTTTGGCAGAGTGCCATATCCCAGAATCCCCCTGAAGGACGTGGTG  
 CCTCGGGTGGAGAAGGGCTACAAGATGGACGCACCAAGATGGATGCCACCTGCC  
 GTGTATGAAGTGATGAAGAATTGTTGGCACCTGGATGCAGCAATGAGGCCCCAGC  
 TTCCTCCAGCTGAGGGAGCAGCTGGAGCACATCAAGACACACGAGCTGCACTGA

10

20

30

## 配列番号 2 1

C D 8 S P - 1 - 6 3

M y c タグ - 6 4 - 9 3

H L A - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8

P D 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6

P D 1 T M - 9 0 7 - 9 6 9

P D 1 シグナル伝達 - 9 7 0 - 1 2 6 0

G S リンカー - 1 2 6 1 - 1 3 0 5

C T L A 4 (シグナル伝達ドメイン) - 1 3 0 6 - 1 4 2 8

40

50

## 【化 1 2】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG 10  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGGCTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGCTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGG  
 CCGCCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACC 20  
 CTCCGCGCGTGCCAGTGTTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCG  
 GGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCCTGAGCAGACCGAGTATGC  
 CACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAG  
 CGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTC  
 TTGGCCCCITGGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGGTGGCGGGCGGATC  
 TGCCGTGAGCCTGTCCAAGATGCTGAAGAAGCGGTCTCCTCTGACCACAGGCGTG  
 GGCGTGAAGATGCCCCCTACCGAGCCCGAGTGCGAGAAGCAGTTCAGCCATAC  
 TTTATCCCCATCAACTGA

10

20

## 配列番号 2 2

C D 8 S P - 1 - 6 3  
 M y c タグ - 6 4 - 9 3  
 H L A - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8  
 P D 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6  
 P D 1 T M - 9 0 7 - 9 6 9  
 P D 1 シグナル伝達 - 9 7 0 - 1 2 6 0  
 G S リンカー - 1 2 6 1 - 1 3 0 5  
 L A G 3 (シグナル伝達ドメイン) - 1 3 0 6 - 1 4 6 7

30

40

50

## 【化 1 3】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTACAGCGGCGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGG  
 CCGCCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACC  
 CTCCGCGCGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCG  
 GGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGC  
 CACAATCGTGTITCCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAG  
 CGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTC  
 TTGGCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGGTGGCGGCGGATC  
 TCACCTGTGGCGGAGACAGTGGCGGCCAGGCCGCTTCAGCGCCCTGGAGCAGGG  
 CATCCACCCACCTCAGGCACAGTCCAAGATCGAGGAGCTGGAGCAGGAGCCAGA  
 GCCAGAGCCTGAACCTGAGCCAGAGCCTGAACCCGAGCCAGAGCCTGAGCAGCT  
 GTGA

10

20

30

## 配列番号 2 3

C D 8 S P - 1 - 6 3  
 M y c タグ - 6 4 - 9 3  
 H L A - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8  
 P D 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6  
 P D 1 T M - 9 0 7 - 9 6 9  
 P D 1 シグナル伝達 - 9 7 0 - 1 2 6 0  
 G S リンカー - 1 2 6 1 - 1 3 0 5  
 2 B 4 (シグナル伝達ドメイン) - 1 3 0 6 - 1 6 6 5

40

50

【化 1 4】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTACAGCGGCGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGG  
 CCGCCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACC  
 CTTCGCGCGTGCCAGTGTTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCG  
 GGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGC  
 CACAATCGTGTITCCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAG  
 CGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTC  
 TTGGCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGGTGGCGGCGGATC  
 TTGGCGGAGAAAGCGGAAGGAGAAGCAGAGCGAGACCTCCCCCAAGGAGTTCCT  
 GACAATCTACGAGGACGTGAAGGATCTGAAGACCAGGCGCAACCACGAGCAGG  
 AGCAGACCTTTCTGGCGGCGGCTCTACAATCTATAGCATGATCCAGTCCCAGAG  
 CAGCGCCCCACCTCTCAGGAGCCTGCCTACACACTGTATTCTCTGATCCAGCCT  
 AGCCGGAAGTCTGGCAGCCGGAAGAGAAACCACTCCCCATCTTTCAATTCCACA  
 ATCTACGAAGTGATCGGCAAGTCTCAGCCAAAGGCACAGAACCAGCAAGGCTG  
 AGCCGCAAGGAGCTGGAGAATTTTGACGTGTATTCTGA

10

20

30

配列番号 2 4

CD8 SP - 1 - 6 3

My c タグ - 6 4 - 9 3

HLA - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8

PD1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6

PD1 TM - 9 0 7 - 9 6 9

PD1 シグナル伝達 - 9 7 0 - 1 2 6 0

GS リンカー - 1 2 6 1 - 1 3 0 5

CD300LF (シグナル伝達ドメイン) - 1 3 0 6 - 1 6 4 4

40

50

## 【化 1 5】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG 10  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGGCGTGCCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGG  
 CCGCCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACC 20  
 CTTCGCGCGTGCCAGTGTTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCG  
 GGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCCTGAGCAGACCGAGTATGC  
 CACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAG  
 CGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTC  
 TTGGCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGGTGGCGGGCGGATC  
 TTGGCGGATGATGAAGTACCAGCAGAAGGCCGCGGAATGTCTCCAGAGCAGGT  
 GCTCCAGCCCCTGGAGGGCGACCTGTGCTATGCCGACCTGACCCCTCCAGCTGGCC  
 GGCACAAGCCCACAGAAGGCAACCACAAAGCTGAGCAGCGCCAGGTGGACCA  
 GGTGGAGGTGGAGTACGTGACCATGGCCTCCCTGCCTAAGGAGGACATCTCCTAT  
 GCCTCTCTGACCCTGGGCGCCGAGGATCAGGAGCCTACATACTGTAACATGGGCC  
 ACCTGTCTAGCCACCTGCCAGGAAGGGGACCAGAGGAGCCTACCGAGTATAGCA 30  
 CAATCTCCAGACCCTGA

10

20

30

## 配列番号 2 5

C D 8 S P - 1 - 6 3

M y c タグ - 6 4 - 9 3

H L A - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8

P D 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6

P D 1 T M - 9 0 7 - 9 6 9

P D 1 シグナル伝達 - 9 7 0 - 1 2 6 0

G S リンカー - 1 2 6 1 - 1 3 0 5

B T L A (シグナル伝達ドメイン) - 1 3 0 6 - 1 4 2 8

40

50

## 【化 1 6】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGGCTGCCAGGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGG  
 CCGCCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACC  
 CTTCGCGCGTGCCAGTGTTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCG  
 GGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGC  
 CACAACTCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAG  
 CGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTC  
 TTGGCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGGTGGCGGGCGGATC  
 TGCCGTGAGCCTGTCCAAGATGCTGAAGAAGCGGTCTCCTCTGACCACAGGCGTG  
 GGCGTGAAGATGCCCCCTACCGAGCCCGAGTGCGAGAAGCAGTTCCAGCCATAC  
 TTTATCCCCATCAACTGA

10

20

## 配列番号 2 6

C D 8 S P - 1 - 6 3

M y c タグ - 6 4 - 9 3

H L A - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8

P D 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6

P D 1 T M - 9 0 7 - 9 6 9

P D 1 シグナル伝達 - 9 7 0 - 1 2 6 0

G S リンカー - 1 2 6 1 - 1 3 0 5

L A I R 1 (シグナル伝達ドメイン) - 1 3 0 6 - 1 6 0 8

30

40

50

【化 1 7】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCAGCGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACA TGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG 10  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGCGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GFACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGG  
 CCGCCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACC 20  
 CTCCGCGCGTGCCAGTGTTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCG  
 GGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCCAGGTATGC  
 CACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAG  
 CGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTC  
 TTGGCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGGTGGCGGGCGGATC  
 TCACAGGCAGAACCAGATCAAGCAGGGACCACCTCGCAGCAAGGACGAGGAGC  
 AGAAGCCACAGCAGAGGCCCGACCTGGCAGTGGATGTGCTGGAGAGAACC GCCG  
 ATAAGGCCACAGTGAATGGCCTGCCCGAGAAGGACAGGGAGACCGATAACATCCG  
 CCCTGGCCGCCGGCAGCTCCCAGGAGGTGACCTACGCCAGCTGGACCACTGGG  
 CACTGACCCAGAGGACAGCCAGAGCCGTGTCTCCTCAGAGCACCAAGCCAATGG  
 CCGAGTCTATCACCTACGCCGCGGTGGCCAGACACTGA 30

10

20

30

配列番号 2 7

CD8 SP - 1 - 63

My c タグ - 64 - 93

HLA - A2 sc F V - 94 - 828

PD1 ヒンジ - 829 - 906

PD1 TM - 907 - 969

PD1 シグナル伝達 - 970 - 1260

GS リンカー - 1261 - 1305

TIGIT (シグナル伝達ドメイン) - 1306 - 1551

40

50

【化 1 8】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGGCGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GFACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGCTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGG  
 CCGCCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACC  
 CTTCGCGCGTGCCAGTGTTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCG  
 GGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCCTGAGCAGACCGAGTATGC  
 CACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAG  
 CGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTC  
 TTGGCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTTCGGGTGGCGGGGATC  
 TCTGACCCGGAAGAAGAAGGCCCTGCGCATCCACAGCGTGGAGGGCGACCTGAG  
 GAGAAAGTCCGCCGGCCAGGAGGAGTGGAGCCCATCCGCCCCCTCCCCCTGG  
 CTCTTGCCTGCAGGCAGAGGCAGCACCTGCCGGCCTGTGCGGGCAGCAGCGGGG  
 CGAGGACTGTGCCGAGCTGCACGATTACTTCAACGTGCTGTCTTATAGGAGCCTG  
 GGCAATTGTTCTTTCTTTACCGAGACAGGCTGA

10

20

30

配列番号 2 8

- CD 8 SP - 1 - 6 3
- My c タグ - 6 4 - 9 3
- HLA - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8
- PD 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6
- PD 1 TM - 9 0 7 - 9 6 9
- PD 1 シグナル伝達 - 9 7 0 - 1 2 6 0
- GS リンカー - 1 2 6 1 - 1 3 0 5
- V I S T A (シグナル伝達ドメイン) - 1 3 0 6 - 1 5 9 3

40

50

## 【化 1 9】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACA TGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGGCTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGTCTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGG  
 CCGCCC GCGGACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACC  
 CTTCCGCGGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCG  
 GGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGC  
 CACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAG  
 CGCCGACGGACACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTC  
 TTGGCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGGTGGCGGGCGGATC  
 TTACAAGCAGAGGCAGGCAGCCAGCAACAGGAGAGCCCAGGAGCTGGTGAGGA  
 TGGACTCCAACATCCAGGGCATCGAGAATCCAGGATTCGAGGCCTCTCCACCTGC  
 ACAGGGCATCCCTGAGGCAAAGGTGCGGCACCCACTGAGCTATGTGGCACAGAG  
 GCAGCCTAGCGAGTCCGGCCGCCACCTGCTGTCTGAGCCCAGCACCCCTCTGTCC  
 CCACCAGGACCAGGCGACGTGTTCTTCCCCTCCCTGGACCCTGTGCCAGATTCTC  
 CCAATTTTGAAGTGATCTGA

10

20

30

## 配列番号 2 9

C D 8 S P - 1 - 6 3

M y c タグ - 6 4 - 9 3

H L A - A 2 s c F V - 9 4 - 8 2 8

P D 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6

P D 1 T M - 9 0 7 - 9 6 9

P D 1 シグナル伝達 - 9 7 0 - 1 2 6 0

G S リンカー - 1 2 6 1 - 1 3 0 5

L y 9 (シグナル伝達ドメイン) - 1 3 0 6 - 1 8 4 2

40

50

【化 2 0】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGCGTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACC'TTTGGCGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGG  
 CCGCCC GCGG CACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACC  
 CTTCCGCGGTGCCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCG  
 GGAGAAAACCC CAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGC  
 CACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAG  
 CGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTC  
 TTGGCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGGTGGCGGCGGATC  
 TAAGCGGAAGGGCAGATGCTCCGTGCCAGCCTTCTGTAGCTCCCAGGCAGAGGC  
 ACCCGCCGACACCC CAGAGCCTACAGCCGGCCACACCCTGTACTCCGTGCTGTCT  
 CAGGGCTATGAGAAGCTGGATAACCCACTGAGGCCTGCAAGGCAGCAGCCAACC  
 CCCACAAGCGACTCTAGCTCCGATTCCAACCTGACCACAGAGGAGGACGAGGAT  
 CGGCCC GAGGTGCACAAGCCTATCTCCGGCAGGTACGAGGTGTTCCGACCAGGTG  
 ACACAGGAGGGAGCAGGACACGATCCTGCACCAGAGGGCCAGGCCGACTACGA  
 TCCAGTGACACCCTATGTGACCGAGGTGGAGTCTGTGGTGGGCGAGAACACCAT  
 GTACGCC CAGGTGTTCAACCTCCAGGGCAAGACACCCGTGAGCCAGAAGGAGGA  
 GTCTAGCGCCACCATCTATTGCAGCATCAGGAAGCCACAGGTGGTGTCCCCCTCCA  
 CAGCAGAACGACCTGGAGATCCCTGAGAGCCCAACCTACGAGAACTTCACCTGA

10

20

30

配列番号 3 0

CD 8 SP - 1 - 6 3

My c タグ - 6 4 - 9 3

PSMA s c F V - 9 4 - 8 6 7

PD 1 ヒンジ - 8 6 8 - 9 4 4

PD 1 TM - 9 4 5 - 1 0 0 7

PD 1 (シグナル伝達) - 1 0 0 8 - 1 2 9 9

40

50

【化 2 1】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGGCACTGCCTGTGACAG  
 CCCTGCTGCTGCCACTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGAGGTGCAGCTCCAGCAGAG  
 CGGACCAGAGCTGGTGAAGCCAGGCACAAGCGTGC GGATCTCCTGCAAGACCTC  
 TGGCTACACCTTCACAGAGTATACCATCCACTGGGTGAAGCAGAGCCACGGCAA  
 GTCCCTGGAGTGGATCGGCAACATCAATCCCAACAATGGCGGCACCACATACAA  
 CCAGAAGTTTGAGGACAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAAGAGCAGCAGCACCCGC  
 CTATATGGAGCTGAGGAGCCTGACCTCCGAGGACTCTGCCGTGTACTATTGCGCC  
 GCCGGATGGAATTTGATTACTGGGGCCAGGGCACACAGTGACCGTGAGCAGC  
 GCGCGCGGCGGCTCTGGAGGAGGAGGCAGCGGCGGAGGAGGCTCCGACATCGT  
 GATGACACAGTCCCACAAGTTTATGTCTACCAGCGTGGGCGATCGCGTGTCTATC  
 ATCTGTAAGGCCAGCCAGGACGTGGGCACCGCCGTGGATTGGTATCAGCAGAAG  
 CCCGGCCAGTCCCCTAAGCTGCTGATCTATTGGGCCTCTACAAGGCACACCGGCG  
 TGCCCGACAGATTACAGGCTCCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAC  
 CAACGTGCAGAGCGAGGACCTGGCCGATTATTTCTGTCAGCAGTACAATTCCTAT  
 CCTCTGACATTTGGCGCCGGCACCATGCTGGACCTGAAGAGGGCTGCCGCCACCG  
 AGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGT  
 GCTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCATC  
 GGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACCCTTCCGCCGTGCCAGTG  
 TTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAG  
 CCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTTCCAT  
 CCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGT  
 CCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCCTGTGA

10

20

配列番号 3 1

- CD 8 SP 1 - 6 3
- My c タグ - 6 4 - 9 3
- HLA - A 2 s c F V 9 4 - 8 2 8
- PD 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6
- PD 1 TM - 9 0 7 - 9 6 9
- PD 1 (シグナル伝達) - 9 7 0 - 1 2 6 0
- IRES - 1 2 6 4 - 1 8 5 0
- CD 8 SP - 1 8 5 7 - 1 9 1 6
- FLAG タグ - 1 9 1 7 - 1 9 4 0
- CD 1 9 s c F V - 1 9 4 1 - 2 6 6 6
- CD 8 ヒンジ - 2 6 6 7 - 2 8 0 1
- CD 8 TM - 2 8 0 2 - 2 8 7 3
- 4 1 BB - 2 8 7 4 - 2 9 9 9
- CD 3 z - 3 0 0 0 - 3 3 3 5

30

40

50

【化 2 2】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCCTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGGCTGCCACGACACTTTTGGCGGGCGGCAAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGCTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGG  
 CCGCCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACC  
 CTCCGCGCGTGCCAGTGTTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCG  
 GGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGC  
 CACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAG  
 CGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTC  
 TTGGCCCCTGTGACCCCTCTCCCTCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGC  
 TTGGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTC  
 TTTTGGCAATGTGAGGGCCCCGGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCT  
 AGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGG  
 AAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTG

10

20

30

40

50

【化 2 3】

CAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACG  
TGTATAAGATAACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCAGTGCCACGTTGTGAGTTG  
GATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCT  
GAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTG  
CACATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCCGAAC  
CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCTGA  
ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCG  
CCAGGCCGGACTACAAAGACGATGACGACAAGGACATCCAGATGACACAGACTA  
CATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAG  
TCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGT  
AAACTCCTGATCTACCATAACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCA  
GTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGA  
AGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCGA  
GGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGCG  
GGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCG  
CCCTCACAGAGCCTGTCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACT  
ATGGTGTAAGCTGGATTTCGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAG  
TAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGAC  
CATCATCAAGGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCA  
AACTGATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGC  
TATGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAACCACTA  
CCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTC  
CCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGG  
TCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGGCCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGG  
TCCGTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCCGAAGAAGCT  
GCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAG  
GACGGCTGTTTCATGCCGTTTCCAGAGGAGGAGGAAGGCCGGCTGCGAACTGCGC  
GTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAG  
CTCTACAACGAACCTCAATCTTGGTTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAG  
CGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCA  
AGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGA  
GATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACC  
AGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTTTCACATGCAGGCC  
TGCCGCCTCGGTGA

10

20

30

配列番号 3 2

- CD 8 SP 1 - 6 3
- My c タグ - 6 4 - 9 3
- HLA - A 2 s c F V 9 4 - 8 2 8
- PD 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6
- PD 1 TM - 9 0 7 - 9 6 9
- IRES - 9 7 3 - 1 5 5 9
- CD 8 SP - 1 5 6 6 - 1 6 2 5
- FLAG タグ - 1 6 2 6 - 1 6 4 9
- CD 19 s c F V - 1 6 5 0 - 2 3 7 5
- CD 8 ヒンジ - 2 3 7 6 - 2 5 1 0
- CD 8 TM - 2 5 1 1 - 2 5 8 2
- 4 1 BB - 2 5 8 3 - 2 7 0 8
- CD 3 z 2 7 0 9 - 3 0 4 4

40

50

【化 2 4】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCAGCGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACCTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTACGCGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGACAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGTGTGGCCGTGATCTGACCCCTCTC  
 CCTCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAAATAAGGCCGGTGTGC  
 GTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATAATGGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCC  
 GGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCC  
 AAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCT  
 TCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCCA  
 CCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCA  
 AAGGCGGCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTC  
 AAATGGCTCTCCTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTA  
 CCCCATTGTATGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCACATGCTTTACATGTGTTTA  
 GTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCCGAACCACGGGGACGTGGTTTTCTT  
 TGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCTGAATGGCCTTACCAGTGACCGC  
 CTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGTGCTCCACGCCGCCAGGCCGGACTACAAAGAC  
 GATGACGACAAGGACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTC  
 TGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATT  
 TAAATTGGTATCAGCAGAAACAGACTGGAACCTGTTAAACTCCTGATCTACCATAC  
 ATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAAC  
 AGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATAATTGCCACTTACTTT  
 TGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAG  
 ATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGGGGTGGCGGCCCTCACAGGCCTGTCC  
 GTACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAGCTGGATTC  
 GCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAA  
 CCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTC  
 CAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACAGCCATT  
 TACTACTGTGCCAAACATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGG  
 GCCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAACCACTACCCAGCACCGAGGCCACC  
 CACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGT  
 AGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATA  
 TCTACATTTGGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGGCGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTG  
 ATCACTCTTACTGTAAGCGCGGTCCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAAC  
 CCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGTT  
 CCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAATTCAGCCGCAGCGC

10

20

30

40

【化 2 5】

AGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCT  
 TGGTCCGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAG  
 AAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAG  
 CTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAA  
 CGCAGAAGAGGCCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCCGCCACC  
 AAGGACACCTATGACGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCTCGGTGA

50

## 配列番号 33

CD 8 SP 1 - 6 3  
My c タグ - 6 4 - 9 3  
HLA - A 2 s c F V 9 4 - 8 2 8  
PD 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6  
PD 1 TM - 9 0 7 - 9 6 9  
PD 1 (シグナル伝達) - 9 7 0 - 1 2 6 0  
P 2 A - 1 2 6 1 - 1 3 2 6  
CD 8 SP - 1 3 2 7 - 1 3 5 1  
FLAG タグ - 1 3 5 2 - 1 4 1 0  
CD 1 9 s c F V - 1 4 1 1 - 2 1 3 6  
CD 8 ヒンジ - 2 1 3 7 - 2 2 7 1  
CD 8 TM - 2 2 7 2 - 2 3 4 3  
4 1 B B - 2 3 4 4 - 2 4 6 9  
CD 3 z 2 4 7 0 - 2 8 0 5

10

20

30

40

50

【化 2 6】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAGC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGG  
 CCGCCCCGCGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACC  
 CTTCCGCGTGGCAGTGTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCG  
 GGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGC  
 CACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGGCAG  
 CGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTC  
 TTGGCCCCTGGGTTCCGGCGCGACAACTTTAGCTTGTGAAGCAAGCTGGTGAC  
 GTGGAGGAGAATCCCGGCCCTGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGG  
 CCTTGCTGCTCCACGCCCGCCAGGCCGACTACAAAGACGATGACGACAAGGACA  
 TCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCAC  
 CATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAG  
 AAACCAGATGGAAGTGTAACTCCTGATCTACCATAACATCAAGATTACACTCAG  
 GAGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTAATCTCTACCCAT  
 TAGCAAACCTGGAGCAAGAAGATAATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACG  
 CTTCCGTACACGTTCCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGC  
 TCGGGCGGTGGTGGTTCGGGTGGCGGCGGATCTGAGGTTGAACTGCAGGAGTCA  
 GGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCGTACATGCACTGTCTCAG  
 GGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAGCTGGATTCCGCCAGCCTCCACGAAAGGG  
 TCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTAGCT  
 CTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAA  
 AAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTA  
 TTACTIONGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGAACCTCAGTCACC  
 GTCTCCTCAACCACTACCCAGCACCCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCG  
 CCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGACAGCTGGTGGGGC  
 CGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTG  
 GCTGGTACTTGGGGTCTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTTTTACTGTAAAGCG  
 CGGTCCGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCCTTCATGAGGCCTGTGCAG  
 ACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCAGAGGAGGAGGAAGGC  
 GGCTGCGAACTGCGCGTGAATTCAGCCGACGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAG  
 CAGGGGCAGAACAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCCGAGAGAGGAGTAC  
 GACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCCGG  
 CAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGC  
 AGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAAGAGGCAAAGGCC  
 ACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTC  
 TTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGGTGA

10

20

30

40

配列番号 3 4

CD 8 SP 1 - 6 3

My c タグ - 6 4 - 9 3

HLA - A 2 sc F V 9 4 - 8 2 8

PD 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6

PD 1 TM - 9 0 7 - 9 6 9

【化 2 7】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACA TGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGGCTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGCTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGA

10

20

配列番号 3 5

- C D 8 S P 1 - 6 3
- M y c タグ - 6 4 - 9 3
- H L A - A 2 s c F V 9 4 - 8 2 8
- P D 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6
- P D 1 T M - 9 0 7 - 9 6 9
- P D 1 (シグナル伝達) - 9 7 0 - 1 2 6 0

30

40

50

## 【化 2 8】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACA TGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGCGA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGCGTGCCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGG  
 CCGCCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACC  
 CTTCCGCCGTGCCAGTGTTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCG  
 GGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGC  
 CACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCCTGCAAGGAGAGGCAG  
 CGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTC  
 TTGGCCCCTGTGA

10

20

## 配列番号 3 6

C D 8 S P 1 - 6 3  
 M y c タグ - 6 4 - 9 3  
 H L A - A 2 s c F V 9 4 - 8 2 8  
 P D 1 ヒンジ - 8 2 9 - 9 0 6  
 P D 1 T M - 9 0 7 - 9 6 9  
 P D 1 (シグナル伝達) - 9 7 0 - 1 2 6 0  
 G S リンカー - 1 2 6 1 - 1 3 0 5  
 P D 1 (シグナル伝達) - 1 3 0 6 - 1 5 9 6

30

40

50

## 【化 2 9】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGC  
 AGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGCAAGG  
 CCAGCGGCTACACCTTCACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGG  
 ACAGGGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGGCGACGGCTCCACACAGTA  
 TAACGAGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCGCCGATAAGAGCAGCAGCAC  
 CGCCTACATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGC  
 GCCAGGGAGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTG  
 ACAGTGTCTAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGGGCGGCGG 10  
 CAGCGACGTGCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGGCA  
 TCAGGTGAGCATCTCCTGTAGATCCTCTCAGAGCATCGTGCACTCCAACGGCAAT  
 ACCTACCTGGAGTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCT  
 ATAAGGTGTCTAATCGGTTTCAGCGGCGTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTC  
 CGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGT  
 GTACTATTGTTTCCAGGGCTCCCACGTGCCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAG  
 CTGGAGATCAAGACCGAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCA  
 AGCCCTAGGCCAGCAGGACAGTTCCAGACCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGC  
 CTGCTGGGCTCTCTGGTGCTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCTGCAGCAGGG  
 CCGCCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCTGAAGGAGGACC 20  
 CTCCGCGCGTGCCAGTGTTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGATTTTCAGTGGCG  
 GGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCCTGAGCAGACCGAGTATGC  
 CACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAAGGAGAGGCAG  
 CGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTC  
 TTGGCCCCTGGGTGGCGGTGGCTCAGGCGGTGGTGGGTGGGTGGCGGCGGATC  
 TTGCAGCAGGGCCGCCCGCGGCACCATCGGCGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTCT  
 GAAGGAGGACCCTTCCGCGGTGCCAGTGTTCTCTGTGGACTACGGCGAGCTGGAT  
 TTTCAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACCTGTGCCCTGCGTGCCCTGAGCAG  
 ACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGAATGGGCACAAGCTCCCCTGCAA  
 GGAGAGGCAGCGCCGACGGACCACGGTCCGCCAGCCACTGCGGCCCGAGGATG 30  
 GCCACTGTTCTTGGCCCCTGTGA

10

20

30

## 配列番号 37

C D 8 シグナルペプチド 1 - 63  
 F l a g タグ 64 - 87  
 C D 19 s c F V 88 - 813  
 C D 8 ヒンジ 814 - 948  
 C D 8 T M 949 - 1020  
 C D 28 1021 - 1677  
 C D 3 z 1678 - 2013

40

50

【化 3 0】

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCG  
 CCAGGCCGGACTACAAAGACGATGACGACAAGGACATCCAGATGACACAGACTA  
 CATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAG  
 TCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGT  
 AAACCTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCA  
 GTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGA  
 AGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCGGA  
 GGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTGCG  
 GGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCG  
 CCCTCACAGAGCCTGTCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACT  
 ATGGTGTAAGCTGGATTCCGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAG  
 TAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGAC  
 CATCATCAAGGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCA  
 AACTGATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGC  
 TATGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAACCACTA  
 CCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTC  
 CCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGG  
 TCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGG  
 TCCGTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTACTGTCTCAGGCTGCTCTTGGCTCTC  
 AACTTATTCCTTCAATTCAAGTAACAGGAAACAAGATTTTGGTGAAGCAGTCGC  
 CCATGCTTGTAGCGTACGACAATGCGGTCAACCTTAGCTGCAAGTATTCCTACAA  
 TCTCTTCTCAAGGGAGTCCCGGCATCCCTTCACAAAGGACTGGATAGTGCTGTG  
 GAAGTCTGTGTTGTATATGGGAATTACTCCCAGCAGCTTCAGGTTTACTCAAAAA  
 CGGGGTTCAACTGTGATGGGAAATTGGGCAATGAATCAGTGACATTCTACCTCCA  
 GAATTTGTATGTTAACCAAACAGATATTTACTTCTGCAAAAATTGAAGTTATGTAT  
 CCTCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAGAGCAATGGAACCATTATCCATGTGAAAG  
 GGAAACACCTTTGTCCAAGTCCCCTATTTCCCGGACCTTCTAAGCCCTTTTGGGTG  
 CTGGTGGTGGTGGTGGAGTCCCTGGCTTGCTATAGCTTGTAGTAACAGTGGCCT  
 TTATTATTTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACAT  
 GAACATGACTCCCCGCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCC  
 CCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCCCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAG  
 ATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTG  
 GTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAA  
 ATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTC  
 CAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACG  
 CAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCCGCCACCA  
 AGGACACCTATGACGCTTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGGTGA

10

20

30

40

50

配列番号 3 8

- CD 8 SP - ヌクレオチド 1 - 6 3
- My c タグ - ヌクレオチド 6 4 - 9 3
- s c F V E G F R 9 4 - 8 1 6
- CD 8 ヒンジ 8 1 7 - 9 5 1
- CD 8 TM 9 5 2 - 1 0 2 3
- 4 1 B B 1 0 2 4 - 1 1 4 9
- CD 3 z 1 1 5 0 - 1 4 8 5

【化 3 1】

ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAG  
 CCAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGGACATCCTGCTGACCC  
 AGTCCCAGTGATCCTGAGCGTGTCCCAGGAGAGCGGGTGAGCTTCAGCTGCC  
 GGGCCTCCAGTCTATCGGCACCAATATCCACTGGTATCAGCAGAGGACAAACG  
 GCTCCCCTCGCCTGCTGATCAAGTATGCCAGCGAGTCCATCTCTGGCATCCCATC  
 TAGGTTACAGCGGCTCCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGTCTATCAATAGCGTG  
 GAGTCCGAGGACATCGCCGATTACTATTGCCAGCAGAACAATAACTGGCCCCACC  
 ACATTTGGCGCAGGCACCAAGCTGGAGCTGAAGGGAGGCGGGCGGCTCTGGAGGA  
 GGAGGCAGCGGGCGGAGGAGGCTCCAGGTGCAGCTGAAGCAGTCCGGACCAGG  
 CCTGGTGCAGCCTAGCCAGTCCCTGTCTATCACCTGTACAGTGTCTGGCTTCAGC  
 CTGACCAACTACGGAGTGCAGTGGGTGCGGCAGTCTCCAGGCAAGGGCCTGGAG  
 TGGCTGGGCGTGATCTGGAGCGGAGGCAATACAGACTATAACACCCCTTTTACAT  
 CCAGACTGTCTATCAATAAGGATAACAGCAAGTCCCAGGTGTTCTTTAAGATGAA  
 TAGCCTCCAGTCCAACGACACCGCCATCTACTATTGTGCCAGAGCCCTGACATAC  
 TATGATTACGAGTTCGCCTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGAGCGCCA  
 CCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGCC  
 TCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACC  
 CGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTG  
 CGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAAGCGCGGTCCGGAAG  
 AAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAG  
 AGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAAC  
 TGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGA  
 ACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCCGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGG  
 ACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAAT  
 CCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTAT  
 AGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACT  
 GTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCA  
 GGCCCTGCCGCCTCGGTGA

10

20

30

配列番号 39

E G F R a C A R (セツキシマブ s c F v に基づく)

【化 3 2】

MALPVTALLLPLALLLHAARPDILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQ  
 RTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTF  
 GAGTKLELKGGGSGGGGSGGGGSQVQLKQSGPGLVQPSQSLSTCTVSGFSLTNYG  
 VHWVRQSPGKLEWLGVWVSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNL  
 TAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLVTVSADYKDDDDKTTTIPAPRPPTPAPTIASQP  
 LSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL  
 LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN  
 ELNLGRREEYDVLDRRGRDPENGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK  
 GERRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

40

配列番号 40

E G F R a C A R (パニツムマブ s c F v に基づく)

50

【化 3 3】

MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCQASQDISNYLNWY  
 QQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFITSSLQPEDIATYFCQHFDHLP  
 LAFGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVS  
 SGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYYSGNTNYPNPSLKSRLTISIDTSKTQFSLKLSSTV  
 AADTAIYYCVRDRVTFGAFDIWGQTMVTVSSDYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQ  
 PLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK  
 LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLY  
 NELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM  
 KGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

10

配列番号 4 1

E G F R a C A R (ニモツズマブ s c F v に基づく)

【化 3 4】

MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRSSQNIVHSNGNTY  
 LDWYQQTPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTFITSSLQPEDIATYFCFY  
 SHVPWTFGQGTKLQIGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS  
 GYTFTNYIYWVRQAPGQGLEWIGGINPTSGGSNFNEKFKTRVTITADESSTAYME  
 LSSLRSEDYAFYFCTRQGLWFDSDGRGDFDWGQGTTVTVSSDYKDDDDKTTTPAPR  
 PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVIT  
 LYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPA  
 YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK  
 MAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

20

配列番号 4 2

E G F R a C A R (ネシツムマブ s c F v に基づく)

【化 3 5】

MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWY  
 QQKPGQAPRLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCHQYGSTP  
 LTFGGGTKAEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLTCTVSGGSISS  
 GDYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTDYNPSLKSRTMSVDTSKNQFSLKVNSV  
 TAADTAVYYCARVSIFGVGTFDYWGQGLVTVSSYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIA  
 SQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGR  
 KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ  
 LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI  
 GMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

30

配列番号 4 3

E G F R a C A R (C 1 0 s c F v に基づく)

【化 3 6】

MALPVTALLLPLALLLHAARPQSVLTQDPAVSVALGQTVKITCQGDSLRSYFASWY  
 QQKPGQAPTLVMYARNDRPAGVPDRFSGSKSGTSASLSAISGLQPEDEAYYCAAWD  
 DSLNGYLFGAGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK  
 ASGGTFSSYAIGWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGIANYAQKFQGRVTITADESTSSAYM  
 ELSSLRSEDYAVYYCAREEGPYCSSTSCYAAFDIWGQGLVTLSSYKDDDDKTTTPA  
 PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSL  
 VITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADA  
 PAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD  
 KMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

40

50

## 配列番号 4 4

トラスツズマブ s c F v に基づく H E R 2 a C A R

【化 3 7】

MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVAWY  
 QQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTP  
 PTFGQGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK  
 DTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSL  
 RAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSSYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPT  
 IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRG  
 RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQN  
 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPENMGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE  
 IGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

10

## 配列番号 4 5

ベルツズマブ s c F v に基づく H E R 2 a C A R

【化 3 8】

MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVSIGVAWY  
 QQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYP  
 YTFGQGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFT  
 DYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSYINQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNS  
 LRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGLVTVSSYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIA  
 SQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGR  
 KKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ  
 LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPENMGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI  
 GMMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

20

## 配列番号 4 6

ヒト化 H L A - A 2 s c F v - I g G - V K A 1 7 / V H 1 - 3

【化 3 9】

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVVMTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSIVHSNGNTY  
 LEWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDGVVYYCFQ  
 GSHVPRTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA  
 SGYFTFSYHIQWVRQAPGQRLEWMGWYTPGDGSTQYNEKFKGRVTITRDTSASTAY  
 MELSSLRSEDVAVYYCAREGTYAMDYWGQGLVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAP  
 ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT  
 KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP  
 QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS  
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

## 配列番号 4 7

ヒト化 H L A - A 2 s c F v - I g G - V K A 1 7 / V H 1 - 6 9

40

50

## 【化40】

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVVMVTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSIVHSNGNTY  
LEWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQ  
GSHVPRTFGGQTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCA  
SGGTFSSYHIQWVRQAPGQGLEWMGWYIPGDGSGTQYNEKFKGRVTITADKSTSTAY  
MELSSLRSEDVAVYYCAREGTYAMDYWGQGLVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAP  
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT  
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP  
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS  
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

## 配列番号 48

ヒトHLA-A2scFv-IgG VKA18/VH1-3

## 【化41】

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSIVHSNGNTYL  
EWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQ  
GSHVPRTFGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCA  
ASGYTFSSYHIQWVRQAPGQRLEWMGWYIPGDGSGTQYNEKFKGRVTITRDTASTA  
YMELSSLRSEDVAVYYCAREGTYAMDYWGQGLVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPA  
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK  
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE  
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG  
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

20

## 配列番号 49

ヒトHLA-A2scFv-IgG VKA18/VH1-69

## 【化42】

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSIVHSNGNTYL  
EWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQ  
GSHVPRTFGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCA  
SGGTFSSYHIQWVRQAPGQGLEWMGWYIPGDGSGTQYNEKFKGRVTITADKSTSTAY  
MELSSLRSEDVAVYYCAREGTYAMDYWGQGLVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAP  
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT  
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP  
QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS  
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

30

## 【0762】

## 実施例6. エフェクター細胞の生成

【00666】 CD19 CAR活性化の調節に対するiCAR構築物の効果を研究するために、以下の表15に詳述されるように、組換えJurkatエフェクター細胞を構築した。Jurkat(ATCC TIB152)、CD4+T細胞株及びJurkat-NFAT(NFAT応答要素の制御下でホタルルシフェラーゼタンパク質を発現するように操作されたBPS Biosciencesから購入したJurkat細胞株)を、レトロネクチンでコーティングした(Takara)レンチウイルスベクター結合プレートを使用して又はポリブレンの存在下で形質導入した。形質導入された細胞に、さらに抗生物質選択を施して、表13に記載の細胞株を得た。選択に続き、細胞にフローサイトメトリー分析を施して、各構築物にコードされたレポータータンパク質の発現を検証した。

40

## 【0763】

50

## 【表 16】

表13 - 組換えエフェクター細胞株

| 組換えエフェクター細胞株                     | 親細胞         | 構築物 1 (aCAR-RFP) | 構築物 2 (iCAR-GFP) |
|----------------------------------|-------------|------------------|------------------|
| CD19 aCAR Jurkat                 | Jurkat      | CD19 aCAR        | -                |
| CD19aCAR/HLA-A2 iCAR Jurkat      | Jurkat      | CD19 aCAR        | HLA-A2 iCAR      |
| HLA-A2 iCAR Jurkat               | Jurkat      | -                | HLA-A2 iCAR      |
| CD19aCAR/CD20 iCAR Jurkat        | Jurkat      | CD19 aCAR        | CD20 iCAR        |
| CD20 iCAR Jurkat                 | Jurkat      | -                | CD20 iCAR        |
| CD19 aCAR Jurkat-NFAT            | Jurkat-NFAT | CD19 aCAR        | -                |
| CD19aCAR/HLA-A2 iCAR Jurkat-NFAT | Jurkat-NFAT | CD19 aCAR        | HLA-A2 iCAR      |
| HLA-A2 iCAR Jurkat-NFAT          | Jurkat-NFAT | -                | HLA-A2 iCAR      |
| CD19aCAR/CD20 iCAR Jurkat-NFAT   | Jurkat-NFAT | CD19 aCAR        | CD20 iCAR        |
| CD20 iCAR Jurkat-NFAT            | Jurkat-NFAT | -                | CD20 iCAR        |

10

20

## 【0764】

[00667] 加えて、健康なドナーから得た末梢血に由来する活性化T細胞は、異なる感染多重度(MOI)でaCAR、iCAR又は両方をコードするウイルス粒子で形質導入される。レポーター遺伝子発現に基づくFACS選択は、異なるレベルのaCAR、iCAR又は両方を発現する細胞集団の選別及び選択に使用され得る。

30

## 【0765】

[00668] また、健康なドナーから得られた末梢血由来の活性化T細胞に上記のベクターから転写されたmRNAをエレクトロポレーションした。aCAR mRNA、iCAR mRNA又は異なるモル比でのその両方及び対照mRNAを用いて、細胞をエレクトロポレーションした。エレクトロポレーションに続いて、CAR発現をFACS分析により決定した。

## 【0766】

実施例7. 標的細胞の調製

[00669] オフターゲット細胞に対するaCARの活性を阻害する際のiCAR構築物の機能性を試験するための、インビトロ組換え系を確立した。この目的のために、aCARエピトープ、iCARエピトープ又は両方を発現する標的細胞を生成した。aCARエピトープを発現する組換え細胞は、「オンターゲット」の「腫瘍上の」細胞を表し、aCAR及びiCARエピトープの両方を発現する細胞は、「オンターゲット」の「腫瘍外」の健康な細胞を表す。

40

## 【0767】

[00670] 第1のiCAR/aCARのセットは、それぞれHLA-A2及びCD19に基づくため、HLA-A2若しくはCD19又は両方を発現する組換え細胞を、これらの遺伝子をコードする発現ベクターを用いて細胞株(例えば、Hela、ATCC CRM-CC-2、Hela-ルシフェラーゼ-GenTarget SCO32-Bsd又はRaji

50

- A T C C C C L - 8 6 ) をトランスフェクトすることによって生成した。

【 0 7 6 8 】

[00671] 組換え H L A A - 2 発現の検出のために、M y c タグを挿入した。C D 2 0 i C A R / C D 1 9 a C A R で構成される第 2 の i C A R / a C A R のセットでは、C D 2 0 若しくは C D 1 9 又は両方を発現する組換え細胞を構築した ( 標的細胞は表 1 4 に詳述している ) 。

【 0 7 6 9 】

【 表 1 7 】

表14 - 標的細胞株

| 組番号 | 親細胞  | 標的<br>タンパク質<br>1 | 標的<br>タンパク質<br>2 | 目的  | モデリング |
|-----|------|------------------|------------------|---|-------|
| 1   | Raji | CD19             | なし               | 内因性 CD19 を発現している癌細胞のモデル                   | 腫瘍上   |
|     | Raji | CD19             | HLA-A2           | 内因性 CD19 を発現している正常細胞のモデル;<br>組換え HLA-A2   | 腫瘍外   |
|     | Thp1 | なし               | HLA_A2           | 内因性 HLA-A2 を発現し、<br>CD19 に陰性の正常細胞の<br>モデル | 陰性対照  |

10

20

30

40

【 0 7 7 0 】

50

【表 1 8】

|   |      |        |      |   |      |    |
|---|------|--------|------|---|------|----|
| 2 | Hela | HLA-A2 | なし   | 内因性 HLA-A2 を発現し、<br>CD19 に陰性の正常細胞の<br>モデル | 陰性対照 | 10 |
|   | Hela | HLA-A2 | CD19 | 組換え CD19 を発現して<br>いる正常細胞のモデル;<br>HLA-A2   | 腫瘍外  |    |
| 4 | Hela | CD19   | なし   | 組換え CD19 を発現して<br>いる癌細胞のモデル               | 腫瘍上  | 20 |
|   | Hela | CD19   | CD20 | 組換え CD19 を発現して<br>いる正常細胞のモデル;<br>CD20     | 腫瘍外  |    |
|   | Hela | CD20   | なし   | 内因性 CD20 を発現し、<br>CD19 に陰性の正常細胞の<br>モデル   | 陰性対照 | 40 |
|   |      |        |      |   |      |    |

【 0 7 7 1 】

【表 19】

|   |                      |        |      |   |      |    |
|---|----------------------|--------|------|---|------|----|
| 3 | Hela-<br>ルシフェ<br>ラーゼ | HLA-A2 | なし   | 殺傷アッセイで使用される<br>陰性対照                            | 陰性対照 | 10 |
|   | Hela-<br>ルシフェ<br>ラーゼ | HLA-A2 | CD19 | 組換え CD19 を発現して<br>いる正常細胞のモデル;<br>HLA-A2(殺傷アッセイ) | 腫瘍外  | 20 |
| 5 | Hela-<br>ルシフェ<br>ラーゼ | CD19   | なし   | 組換え CD19 を発現して<br>いる癌細胞のモデル(殺傷<br>アッセイ)         | 腫瘍上  | 30 |
|   | Hela-<br>ルシフェ<br>ラーゼ | CD19   | CD20 | 組換え CD19 を発現して<br>いる正常細胞のモデル;<br>CD20(殺傷アッセイ)   | 腫瘍外  | 40 |
|   | Hela-<br>ルシフェ<br>ラーゼ | CD20   | なし   | 陰性対照(殺傷アッセイ)                                    | 陰性対照 |    |

## 【0772】

アッセイ -

[00672] iCARの阻害効果を、インビトロで試験し、さらにインビボで試験する。

## 【0773】

[00673] インビトロ分析では、サイトカインの分泌及び細胞毒性効果の測定に重点を置き、インビボでは、腫瘍を根絶するための二重iCAR/aCAR構築物の有効性並びにaCAR及びiCARの両方の標的を発現する「腫瘍外」細胞の阻害及び保護を評価する。研究は、例えば、異種移植片などのマウスモデルを使用し行われる。レポーター遺伝子を使用して、T細胞をiCAR/aCAR二重陽性に選別することにより、iCAR欠

損T細胞が結果を汚染することが制限され得る。iCARブロッキング活性についての陰性対照として、scFvドメイン又はシグナル伝達ドメインのどちらか一方が欠損したCARで形質導入したT細胞を使用し得る(すなわちモック形質導入)。

【0774】

実施例8．インビトロアッセイ

ルシフェラーゼ細胞傷害性Tリンパ球(CTL)アッセイ

[00674] ホタルルシフェラーゼ及び1つ又は2つのCAR標的抗原を発現するように操作された、上記のHeLa-Luc組換え標的細胞を使用して、アッセイは実施される。インビトロルシフェラーゼアッセイは、Bright-Gloルシフェラーゼアッセイの製造者のプロトコル(Promega)に従って、生物発光を読み取り値として実施される。

10

【0775】

[00675] T細胞(aCAR及びpCARの両方、又はiCAR及びaCAR又は細胞質ドメイン(Pdel)が欠損したaCAR及びiCAR若しくはモックCARで形質導入又はエレクトロポレーションしたmRNA)は、HLA-A2若しくはCD19、又はHLA-A2及びCD19若しくはCD20の両方、又はCD20及びCD19の両方を異なるエフェクター対標的の比で発現する組換え標的細胞で24~48時間インキュベートされる。細胞殺傷は、Bright-Gloルシフェラーゼ系で定量化される。

【0776】

[00676] 「腫瘍外」の細胞傷害性は、iCAR/aCAR発現レベルに従って形質導入T細胞集団を選別するか、又はCD19、HLA-A2若しくはCD20発現レベルに従って組換え標的細胞のサブ集団を選択することによって最適化され得る。iCAR形質導入T細胞がインビトロで「腫瘍上」及び「腫瘍外」細胞を区別することができるかどうかを試験するために、1:1以上の比の「腫瘍上」及び「腫瘍外」細胞の混合物とインキュベートした形質導入T細胞の殺傷効果が試験される。「腫瘍上」組換え細胞は、(1つの細胞集団のみがルシフェラーゼ遺伝子を所与の回数発現するように操作される)ルシフェラーゼ発現により、「腫瘍外」組換え細胞とは区別される。コインキュベーションの24~48時間後に、殺傷は定量化される。

20

【0777】

カスパーゼ3活性アッセイ - 抗活性化カスパーゼ3(CASP3)によるCTL誘導アポトーシスの検出。

30

[00677] 細胞傷害性T細胞が標的細胞を殺傷する経路の1つは、Fasリガンドを通してアポトーシスを誘導することによる。カスパーゼの順次活性化は、細胞アポトーシスの実行段階で重要な役割を果たす。pro-カスパーゼ3からカスパーゼ3への開裂により、立体構造的変化及び触媒活性の発現を生じる。カスパーゼ3の切断された活性化型は、モノクローナル抗体によって特異的に認識される。形質導入又はmRNAエレクトロポレーションT細胞を、「腫瘍上」又は「腫瘍外」の組換え細胞又は「腫瘍上」細胞及び「腫瘍外」細胞の混合と1~3時間共培養した。標的細胞集団が混合された場合、細胞集団の1つを、あらかじめ細胞トレーサー色素(例えば、CellTrace Violet又はCFSE)で染色した。内部染色キット(例えば、BD bioscience)による細胞透過処理及び固定、T細胞除外のための抗CD3による染色(CD3マイナス細胞をゲートした)に続き、活性化CASP3は、特異的抗体染色(BD bioscience)によって検出され、アポトーシスの標的細胞は、フローサイトメトリーによって検出及び定量化された。異なるモル比のiCAR/aCAR(1:1; 1:2.5; 1:5)又はaCARのみでエレクトロポレーションされたT細胞を、「腫瘍上」(「Raji」)又は「腫瘍外」(「Raji-A2」又は「Raji-HLA-A2」)細胞を1:1の比率で共培養し、CASP3染色後に細胞毒性を測定した。図52は、iCAR及びaCARの比率が増加するにつれて、Raji-A2の保護が強化されることを示す。「腫瘍外」細胞のiCAR保護は、iCAR/aCARのモル比の増加と相関した。aCAR mRNAのみをエレクトロポレーションしたT細胞と比較して、aCAR及びiCAR mRNAの両方をエレクトロポレーションしたT細胞で示されたRaji標的細胞に対する減少した細胞毒性は、単独でエ

40

50

レクトロポレーションした場合の a C A R の発現レベルと比較して、a C A R 及び i C A R m R N A の両方をエレクトロポレーションした T 細胞膜での a C A R のより低い発現に起因する可能性がある。「腫瘍外」細胞の保護は、エフェクター対ターゲットの比率 ( E / T ) の範囲及び異なる健康なドナーに由来する P B M C で実証できた。

#### 【 0 7 7 8 】

[00678] a C A R 又は a C A R 及び i C A R ( 1 : 5 ) のいずれかを発現するエフェクター T 細胞を、E / T 比 1、2 及び 5 の R a j i 又は R a j i - A 2 のいずれかで共培養した。全ての E / T 比について顕著な保護を実証できた ( 図 5 2 )。ブランクのエレクトロポレーションされた T 細胞は、各 E / T 比での非特異的殺傷の背景を示す。図 5 2 は、i C A R が広範囲の E / T 比で保護を提供することを示す。図 5 2 において、「腫瘍外」細胞が腫瘍細胞と混合された場合にも、「腫瘍外」細胞の保護が実証された。R a j i 腫瘍細胞又は R a j i - A 2 : R a j i の「腫瘍外」は Violet CellTrace で標識され、4 つの細胞混合物が調製された。標識 R a j i - A 2 と非標識 R a j i ( 1 : 1 の比率 ) ; 非標識 R a j i - A 2 と標識 R a j i ( 1 : 1 の比率 ) ; 標識 R a j i と非標識 R a j i ( 1 : 1 ) ; 標識 R a j i - A 2 と非標識 R a j i - A 2 ( 1 : 1 )。各混合物は、エフェクター対ターゲット比が 1 : 1 の a C A R 及び i C A R m R N A で事前にエレクトロポレーションされた T 細胞とともに培養された。

10

#### 【 0 7 7 9 】

[00679] 3 時間の共培養後、細胞を抗カスパーゼ 3 及び抗 C D 3 で染色した。各細胞混合物において、カスパーゼ 3 を発現する標的細胞 ( C D 3 陰性細胞 ) の割合を図 5 3 に示す。

20

#### 【 0 7 8 0 】

[00680] 図 5 3 は、a C A R 及び i C A R m R N A でエレクトロポレーションした T 細胞と共培養した標的細胞のカスパーゼ 3 発現を示す。R a j i - V は、Violet CellTrace で標識された R a j i 細胞である。R a j i - A 2 V は、Violet CellTrace で標識された R a j i - A 2 細胞である。

#### 【 0 7 8 1 】

##### タイムラプス顕微鏡 C T L

[00681] 形質導入又は m R N A エレクトロポレーション T 細胞は、「腫瘍上」又は「腫瘍外」細胞のいずれかと最大 5 日間インキュベートされる。タイムラプス顕微鏡を使用して、殺傷が視覚化される。代わりに、エンドポイント時点での標的細胞数を決定するために、生存細胞数染色及び CountBright ビーズ ( Invitrogen ) を使用するフローサイトメトリー分析が行われる。

30

#### 【 0 7 8 2 】

[00682] a C A R / i C A R 形質導入 T 細胞が、インビトロで標的を識別することの有効性を実証するために、各組換え標的細胞 ( 「腫瘍上」又は「腫瘍外」 ) は、異なるレポータータンパク質 ( 例えば、G F P 及び mCherry ) で標識される。形質導入 T 細胞 ( エフェクター細胞 ) は、1 つ又は 2 つの標的抗原 ( 標的細胞 ) を異なる E / T 比で発現する組換え細胞の混合物とコインキュベートされる。各細胞株の運命は、顕微鏡画像化によって追跡される。

40

#### 【 0 7 8 3 】

##### サイトカイン放出

[00683] T 細胞が活性化されると、細胞は、定量化して T 細胞の活性化及び阻害を評価するために使用することができるサイトカインを分泌する。サイトカインは、フローサイトメトリー又は E L I S A 若しくはサイトメトリービーズアレイ ( C B A ) による培地中の分泌タンパク質の測定により、細胞内で検出することができる。

#### 【 0 7 8 4 】

##### E L I S A による分泌サイトカインの定量化

[00684] i C A R 若しくは a C A R 又は a C A R 及び i C A R の両方を発現する形質導入 T 細胞 ( Jurkat 又は一次 T 細胞 ) の改変標的細胞との共培養に続き、i C A R 若し

50

くは a C A R 又は a C A R 及び i C A R の両方の抗原をそれらの細胞表面上に発現する条件培地は収集され、製造指示書に従って（例えば、BioLegend 又は同様のもの）サイトカイン E L I S A（I L - 2、I N F 及び又は T N F ）及び（Miltenyi 又は同様のもの）サイトメトリービーズアレイによってサイトカインの濃度を測定される。

【0785】

I L - 2 E L I S A によって測定される i C A R 特異的阻害

[00685] 図 16 A に図示されるように、Jurkat C D 19 a C A R 及び Jurkat C D 19 a C A R / H L A - A 2 i C A R エフェクター細胞を、R a j i、R a j i - H L A - A 2 及び T h p 1 標的細胞と共培養し、E L I S A による I L - 2 測定用に対応する上清を収集した。Jurkat C D 19 - a C A R / H L A - A 2 - i C A R と、C D 19 を発現する R a j i 標的細胞（「腫瘍」）とのインキュベーションは I L - 2 分泌を示したが、しかしながら、これらのエフェクター細胞と、C D 19 及び H L A - A 2 の両方を発現する R a j i - H L A - A 2 標的細胞（「腫瘍外」）とのインキュベーションは、I L - 2 分泌の 80% 超の阻害を生じた。逆に、C D 19 a C A R Jurkat 細胞を R a j i 又は R a j i - H L A - A 2 標的細胞とインキュベートすると、I L - 2 分泌は影響を受けなかった（図 16 B）。この結果は、以下で説明する他のアッセイと一緒に、腫瘍細胞では発現されない抗原を発現する正常細胞（腫瘍外）を特異的に保護する i C A R 構築物の効力を示唆している。

10

【0786】

フローサイトメトリーによるサイトカイン放出の定量化

[00686] 細胞表面上に i C A R 若しくは a C A R 又は a C A R 及び i C A R の両方の標的抗原を発現する組換え標的細胞と、4 ~ 24 時間共培養した i C A R 若しくは a C A R 又は異なるモル比の a C A R 及び i C A R の両方を発現する形質導入 T 細胞又は m R N A エレクトロポレーション T 細胞（Jurkat 又は一次 T 細胞）は、ゴルジ輸送ブロッカー（例えば、プレフェルジン A、モネンシン）を受けて、サイトカインの細胞内蓄積を可能にするであろう。次に、T 細胞を透過処理し、内部染色キット（例えば、BD bioscience）で固定し、抗 C D 3 及び C D 8 で染色し、I N F の場合には追加のサイトカインの染色も行うことができる（すなわち I L - 2、T N F ）。

20

【0787】

[00687] 図 5 4 は、両方の抗原を発現する標的細胞で刺激した後、a C A R 及び i C A R の両方をエレクトロポレーションした T 細胞を、I F N g 発現が特異的に減少したことを示す。エフェクター：標的の比率は 2 : 1 であった。a C A R : i C A R の比率はグループ間で異なる。示されているように、最大の阻害は、a C A R : i C A R 比が 1 : 5 のときに得られる。

30

【0788】

サイトメトリービーズアレイ（C B A）アッセイによって測定されるサイトカイン分泌

[00688] サイトメトリービーズアレイ（C B A）を使用して、サイトカイン、ケモカイン及び成長因子を含む多様な可溶性及び細胞内タンパク質を測定する。

【0789】

[00689] a C A R 又は a C A R 及び i C A R の両方の構築物又は m R N A（エフェクター細胞）で形質導入又はエレクトロポレーションされた T 細胞（一次 T 細胞又は Jurkat 細胞）は、細胞表面上に i C A R 及び a C A R の両方又は a C A R 若しくは i C A R 標的抗原を発現する改変標的細胞で刺激した（図 17 A）。数時間のコインキュベーションに続き、エフェクター細胞は、サイトカインを生成及び分泌し、これはそれらのエフェクター状態を示す。反応の上清を収集し、分泌された I L - 2、T N F a 及び I F N g を測定し、マルチプレックス C B A アッセイによって定量化した。

40

【0790】

[00690] 図 17 B に示されるように、両方の標的抗原を発現する標的細胞と共培養された a C A R / i C A R 形質導入 Jurkat T 細胞での、I L - 2 分泌の特異的阻害が実証された。二重 C A R（a C A R / i C A R）形質導入細胞が、両方の標的抗原を発現す

50

る標的細胞とコインキュベーションされると、同じエフェクター細胞と、1つの標的のみを発現する標的細胞とのコインキュベーションから生じるIL-2分泌と比較して、IL-2分泌の86%の減少が実証された。

【0791】

【00691】 図55は、腫瘍細胞又は「腫瘍外」細胞と共培養したエレクトロポレーションしたT細胞のIFNg及びTNFaの分泌を示す。図55は、「腫瘍外」細胞による刺激後、aCAR及びiCARの両方でエレクトロポレーションしたT細胞におけるIFNg及びTNFaサイトカイン分泌の特異的な減少を示す。阻害率(表15)を、次の式を使用して計算した： $\% \text{阻害率} = 100 \times [1 - (\text{Conc RAJI} - A2 / \text{Conc RAJI})]$ 。

10

【0792】

【表20】

表15. CBAアッセイに基づく阻害%の算出

|      | aCAR [E:T 5:1] | aCAR iCAR [E:T 5:1] | aCAR [E:T 2:1] | aCAR iCAR [E:T 2:1] | aCAR [E:T 1:1] | aCAR iCAR [E:T 1:1] |
|------|----------------|---------------------|----------------|---------------------|----------------|---------------------|
| IFNg | 17%            | 85%                 | 31%            | 96%                 | 32%            | 96%                 |
| TNFa | 11%            | 98%                 | 25%            | 100%                | 28%            | 97%                 |

20

【0793】

NFAT活性化アッセイ

【00692】 NFAT活性化によって測定されるT細胞活性化の決定のために、表13に詳述されるように、Jurkat - NFAT細胞に、異なる組み合わせのaCAR及びiCARを形質導入した。表14に記載されているように、CD19 aCAR、HLA-A2 iCAR又は両方を発現するエフェクターJurkat - NFAT細胞株を、CD19 (Raji細胞 - 「オンターゲット」)、CD19及びHLA-A2 (Raji - HLA-A2 「腫瘍外」)又はHLA-A2 (Thp1「腫瘍外」)の両方、のいずれかを発現する標的細胞と共培養した。陽性対照として、エフェクター細胞をPMA及びイオノマイシンの存在下で刺激し、これによりNFATシグナル伝達に必要なカルシウム放出を誘発した。37で16時間のインキュベーションに続き、製造者の指示書に従ってBPS Biosciencesキット「ワンステップルシフェラーゼアッセイ系」を使用して、ルシフェラーゼを定量化した。予想通り、CD19 - CAR構築物を発現するJurkat NFAT細胞株は、CD19を発現するRaji細胞株の存在下で特異的に活性化されたが、これらの細胞がCD19を発現しないThp1細胞株と共培養されると、活性化は示されなかった(図18)。

30

【0794】

【00693】 CD19 aCAR誘導NFAT活性化に対するHLA-A2 iCARの阻害効果は、図19に見ることができる。CD19 aCAR及びHLA-A2 iCARの両方を発現するJurkat - NFAT細胞株は、CD19のみを発現するRaji細胞によって誘導される活性化と比較して、CD19及びHLA-A2を発現するRaji - HLA-A2とコインキュベートされると、特異的に阻害された。対照的に、CD19 - CARのみを発現するJurkat - NFAT細胞株は、Raji及びRaji - A2細胞株の両方によって同様に活性化された。これらの条件下で、NFAT活性化の阻害は約30%と計算された(図19)。

40

【0795】

【00694】 異なるE/T比の影響を試験した。10:1、5:1、1:1のE/T比で、アッセイを数回繰り返した。図20に提供されている結果は、より高いE/T比で、増加した阻害効果を得ることができることを示している。結果は、「腫瘍外」の標的細胞と

50

の各エフェクター細胞株の共培養からの平均発光値対「オンターゲット」の提示細胞との共培養からの平均値の比として提供される。示されているように、CD19 aCAR及びHLA-A2の両方を発現するJurkat-NFAT細胞株は、CD19及びHLA-A2タンパク質を発現するRaji-HLA-A2とコインキュベートされると、特異的に阻害されたが、しかしながら、この細胞株は、CD19のみを発現するRaji細胞株とコインキュベートされると、阻害は検出されなかった。逆に、CD19 aCARを発現するJurkat-NFAT細胞株は、共培養されたCD19を発現する標的細胞株が(Raji又はRaji-HLA-A2)に関係なく、等しく活性化された。

#### 【0796】

CD107a染色によって測定されるT細胞脱顆粒化アッセイ

10

[00695] T細胞の脱顆粒は、リソソーム関連膜タンパク質(LAMP-1)であるCD107aの表面発現によって同定することができる。LAMP-1の表面発現は、CD8 T細胞の細胞傷害性と相関することが示されている。この分子は、リソソームの管腔側に位置する。CD107aは、活性化すると、活性化したリンパ球の細胞膜表面に移動する。CD107aは、細胞表面上に一過性に発現し、エンドサイトーシス経路を介して迅速に再内部化される。したがって、CD107aの検出は、細胞刺激中の抗体染色及びモノニン及びブレフェルジン(Brefeldine)の添加(エンドサイトーシスされたCD107a抗体複合体の酸性化及びその後の分解を防止するため)によって最大化される。

#### 【0797】

[00696] 殺傷能力のマーカーとしての顆粒化(CD107a)。細胞溶解性T細胞の最も重要な機能は、標的細胞を殺傷する能力である。細胞傷害性CD8+Tリンパ球は、パーフォリン-グランザイムが媒介するアポトーシスの活性化及びfas-fasリガンドが媒介するアポトーシスの誘導の2つの主要な経路を介して標的細胞の殺傷を媒介する。これらの経路の誘導は、応答しているCD8+T細胞からの細胞溶解性顆粒の放出に依存する。脱顆粒化は、パーフォリン-グランザイムが媒介する殺傷の前提条件であり、抗原特異的CD8+T細胞の応答によって媒介される即時の溶解機能に必要である。細胞傷害性は、エフェクターCD8+T細胞によるタンパク質のde novo合成を必要としないが、代わりに、細胞質内に位置する事前に形成された溶解性顆粒が、標的細胞に向かって分極した様式で放出される。溶解性顆粒は、膜結合型の分泌性リソソームであり、パーフォリン及びグランザイムを含む、様々なタンパク質で構成される高密度のコアを含有する。顆粒コアは、CD107a(LAMP-1)、CD107b(LAMP-2)及びCD63(LAMP-3)を含む、多くのリソソーム関連膜糖タンパク質(LAMP)を含有する脂質二重層によって囲まれている。脱顆粒化のプロセスの間、溶解性顆粒膜は、活性化CD8+T細胞の形質膜と融合し、次いで顆粒の内容物がCD8+T細胞と標的細胞との間の免疫学的シナプスに放出される。このプロセスの結果として、CD107a、CD107b及びCD63糖タンパク質をその中に含む顆粒膜が、応答しているCD8+T細胞の形質膜に組み込まれる。コルヒチンなどの脱顆粒化阻害因子は、CD107a及びbの細胞表面発現を劇的に低減するため、活性化T細胞の細胞表面上でのCD107a及びbの高レベル発現には脱顆粒化が必要である。重要なことに、これらのタンパク質は、休止Tリンパ球の表面上にはほとんど見られない。したがって、応答している細胞をCD107a及びbに対する抗体で標識し、フローサイトメトリーによってそれらの発現を測定することにより、脱顆粒化しているCD8+T細胞を直接同定することができる(Betts and Koup, 2004)。

20

30

40

#### 【0798】

実験環境：

[00697] 異なる比率で、aCAR又はiCAR+aCAR/mRNAをエレクトロポレーションしたPBMC(エフェクター細胞)を、細胞表面にiCAR+aCAR又はaCAR抗原を発現する標的細胞と共培養した。4時間のコインキュベーション中に、エフェクター細胞が脱顆粒化され、CD107aが細胞表面上に検出された。この発現は一過性であり、CD107aはエンドサイトーシス経路を介して迅速に再内部化される。した

50

がって、CD107aの検出は、細胞刺激中の抗体染色及びモネンシン（Cytofix/Cytoperm BD BD554715）（酸性化及びそれに続くエンドサイトーシスをしたCD107a抗体複合体の分解を防ぐため）及びブレフェルジン（Brefeldine）含有のゴルジストップ試薬の添加によって最大化される。4時間後、細胞を上記のように固定及び透過処理し、CD8マーカー及びINFで染色した。CD8で染色する理由は、脱顆粒が細胞傷害性細胞にのみ関連するためである。INFで染色する理由は、CD107による染色の特異性の陽性対照として機能したためである。最後に、細胞をFACSで分析し、CD107aを発現するCD8T細胞の割合を定量化した。「オフターゲット」細胞の保護は、阻害率 $100 \times (1 - (Raji - A2で培養されたT細胞中のCD107a / Rajiで培養されたCD107aT細胞))$ として計算された。図56は、iCAR発現が、用量依存的に「腫瘍外」細胞を保護することができたことを示すデータである。aCAR及びiCARの比率が1：5で、最も高い保護が観察され、CD107a発現の84パーセントの阻害に達した（図56）。

10

## 【0799】

[00698] 二重CAR T細胞（aCAR及びiCARの両方を発現するT細胞）が一緒に混合された場合、標的細胞を識別できるかどうかをテストする。対照T細胞（EPのみ）、aCARのみを発現するT細胞又は二重CAR発現T細胞（iCAR及びaCARの比率が5：1）をRajiのみ、Raji-A2のみ又はRaji及びRaji-A2の1：1混合物とインキュベートした。Raji及びRaji-A2の1：1混合物は、Rajiのみの条件に比べて、半分の量のRaji細胞を含有していた。aCARのみを発現するT細胞は、全ての条件で同様に活性化された。陰性対照T細胞はどちらの条件でも活性化されなかった。一方、二重CAR T細胞は、Rajiの存在下で活性化を示し、Raji-A2の存在下では顕著な活性化を示さず、Raji及びRaji-A2の1：1混合物の存在下では、中間的な活性化を示した。このことは、二重CARは、Raji細胞によってのみ活性化され、Raji-A2の存在は、Raji細胞に対する有効性を低下させないことが示唆された（図57）。

20

## 【0800】

[00699] 図57は、二重CAR（aCAR及びiCAR）発現T細胞が、別々に共培養した場合又は一緒に混合した場合、「オフターゲット」細胞から腫瘍細胞を識別することを示すデータを提供する。

30

## 【0801】

## 実施例9．インビボモデル

## ヒト異種移植片マウスモデルにおけるインビボCTLアッセイ

[00700] aCAR及びiCAR構築物の両方を発現するT細胞が、同じ生物内で、標的細胞と「オフターゲット」細胞とを区別することができるかどうか、並びに「オフターゲット」細胞を生かしながら標的細胞を効果的に殺傷するかどうかの試験は、インビボCTLアッセイによって評価される。

## 【0802】

[00701] iCAR若しくはaCAR又はiCAR及びaCARの両方で形質導入されたT細胞が、ナイーブNOD/SCID/c-又は同様のマウスにi.v.注射される。数時間後、iCAR、aCAR又は両方を発現する標的細胞が注入される。これらの標的は、それらの間のさらなる区別を可能にする、異なる濃度（高、中及び低）のCFSE/CPDE又は同様の細胞のトレース色素のいずれかで標識される。標的注射の18時間後、マウスを犠牲にし、脾臓を採取し、FACSによる特定の標的の排除が評価される。特定の殺傷の割合は、以下の式に従って計算される。

40

## 【数1】

$$\left\{ 1 - \left[ \left( \frac{\%pop_{高}(1日目)}{\%pop_{高}(0日目)} \right) \div \left( \frac{\%pop_{中}(1日目)}{\%pop_{中}(0日目)} \right) \right] \right\} \times 100$$

50

## 【0803】

ヒト異種移植片マウスモデルにおける腫瘍成長動態

[00702] NOD/SCID/c - 又は同様のマウスは、腫瘍細胞を接種される。接種は、ip/iv又はscであり得る。腫瘍細胞は、iCAR標的、aCAR標的又は両方のいずれかを発現する。1つの例示的な可能性のあるaCAR腫瘍細胞株は、CD19陽性NALM6(ATCC、ヒトBALL細胞株)であり得る。可能性のあるaCAR腫瘍細胞株の他の例は、EGFR及びHER2陽性細胞株A549、A431、Fadu、SK-OV-3、U-87、MCF7、MDA-MB-231及び/又はNCI-H460(ATCC細胞株)であり得る。例示的なaCAR及びiCARの両方を発現する腫瘍細胞(すなわち「腫瘍外」細胞)は、iCARエピトープ(例えば、HLA-A2)を発現するように操作され、それにより健康な細胞を表すNALM6である。さらなる例示的なaCAR及びiCARの両方を発現する腫瘍細胞(すなわち「腫瘍外」細胞)は、iCARエピトープ(例えば、HLA-A2)を発現するために操作されたA549、A431、Fadu、SK-OV-3、U-87、MCF7、MDA-MB-231及び/又はNCI-H460のいずれか1つであり、それにより健康な細胞を代表する。

10

## 【0804】

[00703] NALM6及びNALM6-HLA-A2; A549及びA549-HLA-A2; A431及びA431-HLA-A2; Fadu及びFadu-HLA-A2; SK-OV-3及びSK-OV-3-HLA-A2; 又はNCI-H460及びNCI-H460-HLA-A2は、検知しやすいようにレポーター遺伝子(例えば、ホタルルシフェラーゼ)を発現させるために操作することもできる。マウスは、標的細胞の可能な全ての組み合わせを接種したいいくつかの研究群に分けられる。一例として、1つの群にはNALM6細胞が注射され、他方にはiCARエピトープを発現するNALM-6が注射される。数日後、腫瘍がすでに確立されている間、マウスは、aCAR、又はaCAR/iCAR、又はiCARで形質導入されたT細胞を静脈内注入される。加えて、非形質導入T細胞の対照群、T細胞なし又はシグナル伝達ドメインを含まない形質導入T細胞も含まれる。マウスは、腫瘍が実験の終点、すなわち最大許容腫瘍体積に達するまでモニタリングされる。モニタリングは、機械的手段(キャリパー)によって腫瘍体積を測定し、且つインビボ画像化システム(IVIS)を使用することによっても行われる。終点日に、マウスを犠牲にし、腫瘍負荷を定量化し、浸潤T細胞集団がFACSによって分析される。iCAR構築物を発現するT細胞が同じ生物内の標的細胞と「オフターゲット」細胞とを区別することができるかどうかを試験するために、いくつかの比の「腫瘍上」/「腫瘍外NALM-6細胞のいくつかの可能な混合物の後、続いてaCAR単独又はaCAR及びiCARの両方のいずれかを発現する形質導入T細胞がマウスに注入される。マウスを犠牲にし、フローサイトメトリーにより、2つのマーカー、CD19及びiCARエピトープでの脾臓及び骨髄の「腫瘍上」及び「腫瘍外細胞の存在が分析される。

20

30

## 【0805】

トランスジェニックマウスモデルにおける毒性及び腫瘍成長動態

[00704] ヒトaCAR及びiCAR標的を発現するトランスジェニックマウスも使用して、形質導入T細胞の有効性が決定される。これらの環境下では、マウスは完全に機能する免疫系を有し、iCAR/aCAR形質導入T細胞の潜在的な毒性を評価することができる。CAR構築物はヒト抗原と一致するscFvを含有するが、シグナル伝達ドメインはマウスT細胞を活性化又は阻害するように改変される。かかるモデルの1つの例は、ヒトHLA-A2分子のみを発現するHHD-HLA-A2マウスであるが、他の全てのタンパク質はマウスのみのものである。この場合、CD19 aCARのscFvは、マウスCD19ホモログに向けられる。HLA分子が欠如したヒト標的細胞(例えば、LCL 721.221細胞若しくはC1R-neoATCC(登録商標)CRL-2369(商標)又は同様のもの)が使用される。マウスCD19を発現するように標的は改変される。この系により、有効性及び毒性の問題のモニタリングが可能になる。

40

## 【0806】

50

## m A b s の生成

[00705] 異なる腫瘍で同定された保存及び喪失対立遺伝子バリエーションのいくつかのペアが選択され、m A b 生成技法を使用するそれらのポリペプチド生成物は、バリエーション特異的 m A b の生成に役立つ。候補 m A b の区別力は、選択された対立遺伝子を発現する組換え細胞株への結合によって決定されるように、二重染色及びフローサイトメトリー実験又は免疫組織化学によってアッセイされる。

## 【0807】

## 実施例 10 . A C A R / I C A R ペアの識別

## a C A R / i C A R ペアの識別

[00706] 潜在的な i C A R 標的の識別に続いて、次に、潜在的な a C A R / i C A R ペアのリストを確立するために設定する。ここで、好ましいペアは、a C A R 標的が標的組織において高度に発現される一方で、i C A R 標的が非標的組織において、高度に発現されるペアである。この目的のために、各 i C A R 及び a C A R 候補抗原の組織発現を、G T E X データベースを使用して分析した。a C A R 標的は、臨床的に開発された a C A R 標的及びそれらに一致する癌の適応症の文献レビューから導き出された一方で、i C A R 標的は上記の分析から導き出された。

## 【0808】

[00707] このことを考慮して、各 i C A R - a C A R - 腫瘍型トリオにはいくつかのメトリックが注釈として付けられた。

( i ) a C A R 標的が発現した組織の数

( i i ) i C A R 標的が発現した組織の数

( i i i ) i C A R が a C A R よりも高く発現した組織の数 ( 発現閾値なし )

( i v ) i C A R が a C A R よりも高く発現され、a C A R が背景レベルよりも高く発現された組織の数。

## 【0809】

[00708] これら全ての場合において、発現の閾値は、G T E X データベースのバックグラウンドノイズレベルに近い 1 R P K M である。

## 【0810】

[00709] 598 個の個々の i C A R 遺伝子標的 ( 図 22 を参照されたい )、49 個の a C A R 遺伝子標的 ( 図 23 を参照されたい ) 及び 27 種類の腫瘍型 ( 図 24 を参照されたい ) に対応する合計 71,910 個の i C A R - a C A R 腫瘍型トリオ ( ここに提出された長い表に記載 ) を特定した。

## 【0811】

[00710] アンメットメディカルニーズ、抗原の活性及び阻害の意味などの様々な特徴の文献レビューに続いて、さらなる標的の優先順位付けが行われるであろう。

## 【0812】

## 実施例 11 . A C A R / I C A R ペアの追加の識別

[00711] 結腸癌、胃癌、膵臓癌、肝臓癌、腎臓癌、肺癌及び乳癌などのいくつかの適応症の処置のために、いくつかの i C A R 標的をいくつかの a C A R 標的とのペア形成について分析した。選択された a C A R は、E G F R、H e r 2、C E A C A M 5 及びメソテリンであった。H L A - A 2 を除いて、選択された i C A R は、C D H 11、C D H 5、C L D N 8、D C C、D C S H 1、F A T 4、G G T 1、G G T 5、I T G A 3、I T G A 9、P T P R G、R O B O 2 及び T U S C 5 である。ペアの最終リストを以下の表 16 に列挙する。

## 【0813】

10

20

30

40

50

【表 2 1】

表 16. 新規 iCAR と適応症に応じて選択された aCAR のペアリング。

| iCAR  | aCAR  | 適応症  | iCAR SNP    | 対立遺伝子頻度 | LOH の割合 |
|-------|-------|------|-------------|---------|---------|
| CDH11 | CEA   | lusc | p.Met275Ile | 0.181   | 0.318   |
| CDH11 | CEA   | lusc | p.Thr255Met | 0.273   | 0.318   |
| CDH11 | CEA   | luad | p.Met275Ile | 0.181   | 0.255   |
| CDH11 | CEA   | luad | p.Thr255Met | 0.273   | 0.255   |
| CDH11 | CEA   | stad | p.Met275Ile | 0.181   | 0.294   |
| CDH11 | CEA   | stad | p.Thr255Met | 0.273   | 0.294   |
| CDH11 | CEA   | brca | p.Met275Ile | 0.181   | 0.618   |
| CDH11 | CEA   | brca | p.Thr255Met | 0.273   | 0.618   |
| CDH11 | EGFR  | luad | p.Met275Ile | 0.181   | 0.255   |
| CDH11 | EGFR  | luad | p.Thr255Met | 0.273   | 0.255   |
| CDH11 | EGFR  | lusc | p.Met275Ile | 0.181   | 0.318   |
| CDH11 | EGFR  | lusc | p.Thr255Met | 0.273   | 0.318   |
| CDH11 | HER2  | brca | p.Met275Ile | 0.181   | 0.618   |
| CDH11 | HER2  | brca | p.Thr255Met | 0.273   | 0.618   |
| CDH11 | メソテリン | luad | p.Met275Ile | 0.181   | 0.255   |
| CDH11 | メソテリン | luad | p.Thr255Met | 0.273   | 0.255   |
| CDH11 | メソテリン | lusc | p.Met275Ile | 0.181   | 0.318   |
| CDH11 | メソテリン | lusc | p.Thr255Met | 0.273   | 0.318   |
| CDH5  | CEA   | lusc | p.Ile517Thr | 0.721   | 0.318   |
| CDH5  | CEA   | luad | p.Ile517Thr | 0.721   | 0.255   |
| CDH5  | CEA   | stad | p.Ile517Thr | 0.721   | 0.288   |
| CDH5  | CEA   | brca | p.Ile517Thr | 0.721   | 0.620   |
| CDH5  | EGFR  | luad | p.Ile517Thr | 0.721   | 0.255   |
| CDH5  | EGFR  | lusc | p.Ile517Thr | 0.721   | 0.318   |
| CDH5  | HER2  | brca | p.Ile517Thr | 0.721   | 0.620   |
| CDH5  | メソテリン | luad | p.Ile517Thr | 0.721   | 0.255   |
| CDH5  | メソテリン | lusc | p.Ile517Thr | 0.721   | 0.318   |

10

20

30

【 0 8 1 4 】

40

50

【表 2 2】

|       |       |          |              |       |       |
|-------|-------|----------|--------------|-------|-------|
| CLDN8 | CEA   | lusc     | p.Ser151Pro  | 0.297 | 0.488 |
| CLDN8 | CEA   | luad     | p.Ser151Pro  | 0.297 | 0.285 |
| CLDN8 | CEA   | coadread | p.Ser151Pro  | 0.297 | 0.366 |
| CLDN8 | CEA   | stad     | p.Ser151Pro  | 0.297 | 0.405 |
| CLDN8 | CEA   | paad     | p.Ser151Pro  | 0.297 | 0.264 |
| CLDN8 | EGFR  | coadread | p.Ser151Pro  | 0.297 | 0.366 |
| CLDN8 | EGFR  | luad     | p.Ser151Pro  | 0.297 | 0.285 |
| CLDN8 | EGFR  | lusc     | p.Ser151Pro  | 0.297 | 0.488 |
| CLDN8 | EGFR  | paad     | p.Ser151Pro  | 0.297 | 0.264 |
| CLDN8 | EGFR  | kirp     | p.Ser151Pro  | 0.297 | 0.288 |
| CLDN8 | HER2  | coadread | p.Ser151Pro  | 0.297 | 0.366 |
| CLDN8 | メソテリン | luad     | p.Ser151Pro  | 0.297 | 0.285 |
| CLDN8 | メソテリン | lusc     | p.Ser151Pro  | 0.297 | 0.488 |
| CLDN8 | メソテリン | paad     | p.Ser151Pro  | 0.297 | 0.264 |
| DCC   | CEA   | lusc     | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.488 |
| DCC   | CEA   | luad     | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.493 |
| DCC   | CEA   | coadread | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.801 |
| DCC   | CEA   | stad     | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.544 |
| DCC   | CEA   | brca     | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.381 |
| DCC   | CEA   | paad     | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.720 |
| DCC   | EGFR  | coadread | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.801 |
| DCC   | EGFR  | luad     | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.493 |
| DCC   | EGFR  | lusc     | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.488 |
| DCC   | EGFR  | paad     | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.720 |
| DCC   | EGFR  | kirc     | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.209 |
| DCC   | EGFR  | kirp     | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.312 |
| DCC   | HER2  | brca     | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.381 |
| DCC   | HER2  | coadread | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.801 |
| DCC   | メソテリン | luad     | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.493 |
| DCC   | メソテリン | lusc     | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.488 |
| DCC   | メソテリン | paad     | p.Arg201Gly  | 0.444 | 0.720 |
| DCHS1 | CEA   | lusc     | p.Thr1949Met | 0.354 | 0.436 |
| DCHS1 | CEA   | luad     | p.Thr1949Met | 0.354 | 0.243 |
| DCHS1 | CEA   | stad     | p.Thr1949Met | 0.354 | 0.217 |
| DCHS1 | CEA   | brca     | p.Thr1949Met | 0.354 | 0.290 |
| DCHS1 | EGFR  | luad     | p.Thr1949Met | 0.354 | 0.243 |
| DCHS1 | EGFR  | lusc     | p.Thr1949Met | 0.354 | 0.436 |
| DCHS1 | EGFR  | kirp     | p.Thr1949Met | 0.354 | 0.210 |
| DCHS1 | HER2  | brca     | p.Thr1949Met | 0.354 | 0.290 |
| DCHS1 | メソテリン | luad     | p.Thr1949Met | 0.354 | 0.243 |
| DCHS1 | メソテリン | lusc     | p.Thr1949Met | 0.354 | 0.436 |
| FAT4  | CEA   | lusc     | p.Gly3524Asp | 0.267 | 0.682 |
| FAT4  | CEA   | luad     | p.Gly3524Asp | 0.267 | 0.471 |

10

20

30

40

【 0 8 1 5 】

50

【表 2 3】

|       |       |          |              |       |       |
|-------|-------|----------|--------------|-------|-------|
| FAT4  | CEA   | coadread | p.Gly3524Asp | 0.267 | 0.536 |
| FAT4  | CEA   | stad     | p.Gly3524Asp | 0.267 | 0.513 |
| FAT4  | CEA   | brca     | p.Gly3524Asp | 0.267 | 0.382 |
| FAT4  | EGFR  | coadread | p.Gly3524Asp | 0.267 | 0.536 |
| FAT4  | EGFR  | luad     | p.Gly3524Asp | 0.267 | 0.471 |
| FAT4  | EGFR  | lusc     | p.Gly3524Asp | 0.267 | 0.682 |
| FAT4  | EGFR  | kirc     | p.Gly3524Asp | 0.267 | 0.285 |
| FAT4  | EGFR  | kirp     | p.Gly3524Asp | 0.267 | 0.332 |
| FAT4  | HER2  | brca     | p.Gly3524Asp | 0.267 | 0.382 |
| FAT4  | HER2  | coadread | p.Gly3524Asp | 0.267 | 0.536 |
| FAT4  | メソテリン | luad     | p.Gly3524Asp | 0.267 | 0.471 |
| FAT4  | メソテリン | lusc     | p.Gly3524Asp | 0.267 | 0.682 |
| GGT1  | CEA   | luad     | p.Val272Ala  | 0.192 | 0.363 |
| GGT1  | CEA   | coadread | p.Val272Ala  | 0.192 | 0.391 |
| GGT1  | CEA   | stad     | p.Val272Ala  | 0.192 | 0.314 |
| GGT1  | CEA   | brca     | p.Val272Ala  | 0.192 | 0.421 |
| GGT1  | CEA   | paad     | p.Val272Ala  | 0.192 | 0.220 |
| GGT1  | EGFR  | coadread | p.Val272Ala  | 0.192 | 0.391 |
| GGT1  | EGFR  | luad     | p.Val272Ala  | 0.192 | 0.363 |
| GGT1  | EGFR  | paad     | p.Val272Ala  | 0.192 | 0.220 |
| GGT1  | EGFR  | kirp     | p.Val272Ala  | 0.192 | 0.437 |
| GGT1  | HER2  | brca     | p.Val272Ala  | 0.192 | 0.421 |
| GGT1  | HER2  | coadread | p.Val272Ala  | 0.192 | 0.391 |
| GGT1  | メソテリン | luad     | p.Val272Ala  | 0.192 | 0.363 |
| GGT1  | メソテリン | paad     | p.Val272Ala  | 0.192 | 0.220 |
| GGT5  | CEA   | luad     | p.Lys330Arg  | 0.292 | 0.361 |
| GGT5  | CEA   | coadread | p.Lys330Arg  | 0.292 | 0.394 |
| GGT5  | CEA   | stad     | p.Lys330Arg  | 0.292 | 0.314 |
| GGT5  | CEA   | brca     | p.Lys330Arg  | 0.292 | 0.425 |
| GGT5  | CEA   | paad     | p.Lys330Arg  | 0.292 | 0.214 |
| GGT5  | EGFR  | coadread | p.Lys330Arg  | 0.292 | 0.394 |
| GGT5  | EGFR  | luad     | p.Lys330Arg  | 0.292 | 0.361 |
| GGT5  | EGFR  | paad     | p.Lys330Arg  | 0.292 | 0.214 |
| GGT5  | EGFR  | kirp     | p.Lys330Arg  | 0.292 | 0.437 |
| GGT5  | HER2  | brca     | p.Lys330Arg  | 0.292 | 0.425 |
| GGT5  | HER2  | coadread | p.Lys330Arg  | 0.292 | 0.394 |
| GGT5  | メソテリン | luad     | p.Lys330Arg  | 0.292 | 0.361 |
| GGT5  | メソテリン | paad     | p.Lys330Arg  | 0.292 | 0.214 |
| ITGA3 | CEA   | brca     | p.Ala719Thr  | 0.138 | 0.215 |
| ITGA3 | HER2  | brca     | p.Ala719Thr  | 0.138 | 0.215 |
| ITGA9 | CEA   | lusc     | p.Gly507Glu  | 0.571 | 0.820 |
| ITGA9 | CEA   | luad     | p.Gly507Glu  | 0.571 | 0.445 |
| ITGA9 | CEA   | coadread | p.Gly507Glu  | 0.571 | 0.204 |

10

20

30

40

【 0 8 1 6 】

50

【表 2 4】

|       |       |          |             |       |       |
|-------|-------|----------|-------------|-------|-------|
| ITGA9 | CEA   | stad     | p.Gly507Glu | 0.571 | 0.330 |
| ITGA9 | CEA   | brca     | p.Gly507Glu | 0.571 | 0.275 |
| ITGA9 | EGFR  | coadread | p.Gly507Glu | 0.571 | 0.204 |
| ITGA9 | EGFR  | luad     | p.Gly507Glu | 0.571 | 0.445 |
| ITGA9 | EGFR  | lusc     | p.Gly507Glu | 0.571 | 0.820 |
| ITGA9 | EGFR  | kirc     | p.Gly507Glu | 0.571 | 0.874 |
| ITGA9 | HER2  | brca     | p.Gly507Glu | 0.571 | 0.275 |
| ITGA9 | HER2  | coadread | p.Gly507Glu | 0.571 | 0.204 |
| ITGA9 | メソテリン | luad     | p.Gly507Glu | 0.571 | 0.445 |
| ITGA9 | メソテリン | lusc     | p.Gly507Glu | 0.571 | 0.820 |
| PTPRG | CEA   | lusc     | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.864 |
| PTPRG | CEA   | lusc     | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.864 |
| PTPRG | CEA   | luad     | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.453 |
| PTPRG | CEA   | luad     | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.453 |
| PTPRG | CEA   | coadread | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.235 |
| PTPRG | CEA   | coadread | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.235 |
| PTPRG | CEA   | stad     | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.358 |
| PTPRG | CEA   | stad     | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.358 |
| PTPRG | CEA   | brca     | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.339 |
| PTPRG | CEA   | brca     | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.339 |
| PTPRG | CEA   | paad     | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.209 |
| PTPRG | CEA   | paad     | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.209 |
| PTPRG | EGFR  | coadread | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.235 |
| PTPRG | EGFR  | coadread | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.235 |
| PTPRG | EGFR  | luad     | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.453 |
| PTPRG | EGFR  | luad     | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.453 |
| PTPRG | EGFR  | lusc     | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.864 |
| PTPRG | EGFR  | lusc     | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.864 |
| PTPRG | EGFR  | paad     | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.209 |
| PTPRG | EGFR  | paad     | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.209 |
| PTPRG | EGFR  | kirc     | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.828 |
| PTPRG | EGFR  | kirc     | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.828 |
| PTPRG | HER2  | brca     | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.339 |
| PTPRG | HER2  | brca     | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.339 |
| PTPRG | HER2  | coadread | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.235 |
| PTPRG | HER2  | coadread | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.235 |
| PTPRG | メソテリン | luad     | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.453 |
| PTPRG | メソテリン | luad     | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.453 |
| PTPRG | メソテリン | lusc     | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.864 |
| PTPRG | メソテリン | lusc     | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.864 |
| PTPRG | メソテリン | paad     | p.Gly574Ser | 0.140 | 0.209 |
| PTPRG | メソテリン | paad     | p.Tyr92His  | 0.115 | 0.209 |
| ROBO2 | CEA   | lusc     | p.Val25Met  | 0.381 | 0.930 |

10

20

30

40

【 0 8 1 7 】

50

【表 2 5】

|       |       |          |            |       |       |
|-------|-------|----------|------------|-------|-------|
| ROBO2 | CEA   | luad     | p.Val25Met | 0.381 | 0.451 |
| ROBO2 | CEA   | coadread | p.Val25Met | 0.381 | 0.238 |
| ROBO2 | CEA   | stad     | p.Val25Met | 0.381 | 0.341 |
| ROBO2 | CEA   | brca     | p.Val25Met | 0.381 | 0.338 |
| ROBO2 | CEA   | paad     | p.Val25Met | 0.381 | 0.220 |
| ROBO2 | EGFR  | coadread | p.Val25Met | 0.381 | 0.238 |
| ROBO2 | EGFR  | luad     | p.Val25Met | 0.381 | 0.451 |
| ROBO2 | EGFR  | lusc     | p.Val25Met | 0.381 | 0.930 |
| ROBO2 | EGFR  | paad     | p.Val25Met | 0.381 | 0.220 |
| ROBO2 | EGFR  | kirc     | p.Val25Met | 0.381 | 0.709 |
| ROBO2 | HER2  | brca     | p.Val25Met | 0.381 | 0.338 |
| ROBO2 | HER2  | coadread | p.Val25Met | 0.381 | 0.238 |
| ROBO2 | メソテリン | luad     | p.Val25Met | 0.381 | 0.451 |
| ROBO2 | メソテリン | lusc     | p.Val25Met | 0.381 | 0.930 |
| ROBO2 | メソテリン | paad     | p.Val25Met | 0.381 | 0.220 |
| TUSC5 | CEA   | lusc     | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.574 |
| TUSC5 | CEA   | lusc     | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.574 |
| TUSC5 | CEA   | luad     | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.527 |
| TUSC5 | CEA   | luad     | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.527 |
| TUSC5 | CEA   | coadread | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.603 |
| TUSC5 | CEA   | coadread | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.603 |
| TUSC5 | CEA   | stad     | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.394 |
| TUSC5 | CEA   | stad     | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.394 |
| TUSC5 | CEA   | brca     | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.578 |
| TUSC5 | CEA   | brca     | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.578 |
| TUSC5 | CEA   | paad     | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.473 |
| TUSC5 | CEA   | paad     | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.473 |
| TUSC5 | EGFR  | coadread | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.603 |
| TUSC5 | EGFR  | coadread | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.603 |
| TUSC5 | EGFR  | luad     | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.527 |
| TUSC5 | EGFR  | luad     | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.527 |
| TUSC5 | EGFR  | lusc     | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.574 |
| TUSC5 | EGFR  | lusc     | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.574 |
| TUSC5 | EGFR  | paad     | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.473 |
| TUSC5 | EGFR  | paad     | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.473 |
| TUSC5 | HER2  | brca     | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.578 |
| TUSC5 | HER2  | brca     | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.578 |
| TUSC5 | HER2  | coadread | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.603 |
| TUSC5 | HER2  | coadread | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.603 |

10

20

30

40

【 0 8 1 8 】

50

【表 2 6】

|       |       |      |            |       |       |
|-------|-------|------|------------|-------|-------|
| TUSC5 | メソテリン | luad | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.527 |
| TUSC5 | メソテリン | luad | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.527 |
| TUSC5 | メソテリン | lusc | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.574 |
| TUSC5 | メソテリン | lusc | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.574 |
| TUSC5 | メソテリン | paad | p.Ser57Gly | 0.773 | 0.473 |
| TUSC5 | メソテリン | paad | p.Phe20Ser | 0.790 | 0.473 |

10

【 0 8 1 9 】

20

30

40

50

## 【表 27】

表 17. 表 16 の略称

| 研究略称 | 研究名                      |
|------|--------------------------|
| LAML | 急性骨髄性白血病                 |
| ACC  | 副腎皮質癌                    |
| BLCA | 膀胱尿路上皮癌                  |
| LGG  | 脳低グレード神経膠腫               |
| BRCA | 乳房浸潤癌                    |
| CESC | 子宮頸部扁平上皮癌及び子宮頸部腺癌        |
| CHOL | 胆管癌                      |
| LCML | 慢性骨髄性白血病                 |
| COAD | 結腸腺癌                     |
| CNTL | 対照                       |
| ESCA | 食道癌                      |
| FPPP | FFPE 試験段階II              |
| GBM  | 多形神経膠芽腫                  |
| HNSC | 頭頸部扁平上皮癌                 |
| KICH | 腎臓嫌色素性                   |
| KIRC | 腎臓腎明細胞癌                  |
| KIRP | 腎臓腎乳頭状細胞癌                |
| LIHC | 肝臓肝細胞癌                   |
| LUAD | 肺腺癌                      |
| LUSC | 肺扁平上皮癌                   |
| DLBC | リンパ系新生物びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 |
| MESO | 中皮腫                      |
| MISC | その他                      |
| OV   | 卵巣漿液性嚢胞腺癌                |
| PAAD | 膵臓腺癌                     |
| PCPG | 褐色細胞腫及び傍神経節腫             |
| PRAD | 前立腺腺癌                    |
| READ | 直腸腺癌                     |
| SARC | 肉腫                       |
| SKCM | 皮膚皮膚黒色腫                  |
| STAD | 胃腺癌                      |
| TGCT | 精巣胚細胞腫瘍                  |
| THYM | 胸腺腫                      |
| THCA | 甲状腺癌                     |
| UCS  | 子宮癌肉腫                    |
| UCEC | 子宮体部子宮内膜癌                |
| UVM  | ブドウ膜黒色腫                  |

10

20

30

40

## 【0820】

[00712] HLA-A2 iCAR 保護は、IL-2 分泌を介した Jurkat 安定株 - NFAT 活性化で実証されている。

## 【0821】

[00713] 殺傷アッセイ：CD8+T 細胞が必要であることが示されている。

## 【0822】

[00714] CAR は次の方法で管理できる。

- ・PBMC へのウイルス形質導入 - キャリブレーションが進行中
- ・PBMC への mRNA エレクトロポレーション - キャリブレーションが完了する

50

## 【0823】

[00715] エレクトロポレーションされたPBM Cは、カスパーゼ及びCD107殺傷アッセイで使用された

## 【0824】

[00716] これらのアッセイでは、80%を超える特異的保護が実証された。

## 【0825】

[00717] アウトプット：以下を介して示される標的細胞の殺傷

- ・カスパーゼ3
- ・アネキシン - P I

## 【0826】

[00718] アウトプット：以下を介して示されるエフェクター細胞の活性化

- ・CD107アッセイ
- ・CBA (サイトメトリービーズアレイアッセイ) - I F N 、 I L - 2、T N F

## 【0827】

[00719] さらなる研究は、aCAR及びiCAR構築物の安定性及び動力学を検討する。

## 【0828】

[00720] 異なるドナーからのPBM Cを用いて、特異的保護を示す追加の研究を行うつもりである。追加の研究は、ウイルスの形質導入をキャリブレーションするであろう。aCAR及びiCARの両方をコードするウイルスベクターのさらなる構築が行われており、今後も行われる予定である。

## 【0829】

実施例12：2対対立遺伝子発現の検証

[00721] 選択されたiCAR候補の両対立遺伝子の発現を調査し、検証するために、関連する試料においてRNA - Seq実験の利用可能なデータセットを調査した。最初に、GEO (NCBI) のポータルを使用して、利用可能なRNA - Seqデータと一致する腫瘍正常試料の大規模データセット (20試料超) を特定した。生の配列データ (fastq) は、SRA (NCBI) からダウンロードされ、各試料をBWA - GATKパイプラインを使用して分析し、合計バリエーションコールが生成された。

## 【0830】

[00722] iCAR候補リスト内の各SNPについて、試料ごとの読み取り分布 (参照対立遺伝子を支持する読み取りの数と代替対立遺伝子を支持する読み取りの数) とともにバリエーションコールが抽出された。腫瘍正常のペアの間で、代替対立遺伝子の割合によって表される読み取り分布の比較は、SNPに対して明らかなヘテロ接合性を示す正常試料の識別が可能であり、その後、一致した腫瘍試料のうち、参照対立遺伝子又は代替対立遺伝子のホモ接合性のどちらに向かうかヘテロ接合性からの明確な偏りを示すかを識別する。

## 【0831】

新規iCAR候補の2対対立遺伝子発現証拠の要約

[00723] バイオインフォマティク分析に基づいて、iCAR標的の1000以上の潜在的な候補のパネルが特定され、次に、iCARであるための前提条件である、両方の対立遺伝子を有する正常組織で発現したiCAR候補の選抜リストの2対対立遺伝子発現について、さらなる証拠を特定するために設定した。この目的のために、最初にGEOデータベース (ワールドワイドウェブ上にあるncbi.nlm.nih.gov/geo/) を閲覧して、腫瘍正常RNA - Seq実験の大規模な (20試料超) データセットを目指した。次に、関連する試料セットの生の配列データ (fastq) をSRA (ワールドワイドウェブ上にあるncbi.nlm.nih.gov/sra) からダウンロードした。

## 【0832】

[00724] 生データを使用して、BWAを使用して読み取りを参照ゲノムにアライメントし、その後、GATKを使用して各試料の結果のBAMファイルからバリエーションを直接呼び出した。最後に、iCAR候補リストの各SNPについて次のデータを抽出した。

- ・バリエーションコール（遺伝子型、ヘテロ接合型又はホモ接合型のいずれか）
- ・試料ごとの読み取り分布（参照対立遺伝子を支持する読み取りの数、代替対立遺伝子を支持する読み取りの数）
- ・腫瘍正常ペアの分布（%代替対立遺伝子）の読み取り

【0833】

[00725] RNA-seq実験のデータセットごとに得られた知見を要約すると、SNPに対する明確なヘテロ接合性の呼び出しを示した正常試料数は、ヘテロ接合性の呼び出しから明確な偏りを有する一致した腫瘍試料数とともに抽出され、腫瘍試料におけるヘテロ接合性の喪失が実際に裏付けられた。

【0834】

[00726] 一致した正常、原発性CRC及び転移のトリプレット18を含む結腸癌のRNA-Seqの大規模なセットの結果は、ワールドワイドウェブ上のncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE50760で入手できる。

【0835】

[00727] 18の正常な試料のうち、CDH11 (p.Thr255Met)、CLDN8 (p.Ser151Pro)、GGT1 (p.Val272Ala)、GGT5 (p.Lys330Arg)及びPTPRG (p.Gly574Ser)について2対対立遺伝子発現の高品質の証拠を識別できた。試料源に関係なく、2対対立遺伝子発現のさらなる証拠が、信頼性の低いFAT4及びICOSLGで識別された。LOHの証拠を調査するために一致した腫瘍試料におけるバリエーション細胞の評価が進行している。

【0836】

実施例13：追加のICAR候補

実施例13 - 追加のiCAR候補

[00728] 「癌の素因」というキーワードでClinVarを検索し、フレームシフト/ナンセンス/スプライス部位の病原性変異をフィルタリングした。この検索の結果、63個の遺伝子に5000を超えるClinVarエントリが見つかった。これらの63の遺伝子は、UniProtにおいて60のヒトタンパク質エントリと一致した。

【0837】

[00729] 遺伝子オントロジーの細胞内コンパートメントアノテーションで「原形質膜」を検索すると、16のタンパク質エントリが得られ、そのうちの4つは、膜貫通タンパク質 (BMPR1A、CDH1、PTCH1、TMEM127) である。

【0838】

[00730] 全ての見出し及びセクションの指定は、明確さ及び参照目的のためのみに使用されているにすぎず、決して限定的であるとみなされるべきではない。例えば、当業者は、本明細書に記載の本発明の趣旨及び範囲に従って、必要に応じて異なる見出し及びセクションからの様々な態様を組み合わせることの有用性を認識するであろう。

【0839】

[00731] 本明細書に引用された全ての参考文献は、あたかも各個々の刊行物又は特許又は特許出願が全ての目的のためにその全体が参照により援用されるように具体的且つ個別に示されるのと同程度にそれらの全体が全ての目的のために本明細書に参照により援用される。

【0840】

[00732] 当業者に明らかなように、本出願の趣旨及び範囲から逸脱することなく、本出願の多くの修正形態及び変形形態がなされ得る。本明細書に記載された特定の実施形態及び実施例は、例としてのみ提供され、特許請求の範囲が権利を与えられる均等物の全範囲とともに添付の特許請求の範囲の用語によってのみ限定されるべきである。

10

20

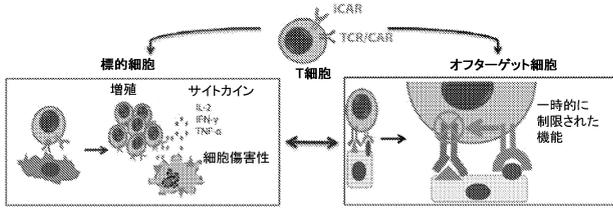
30

40

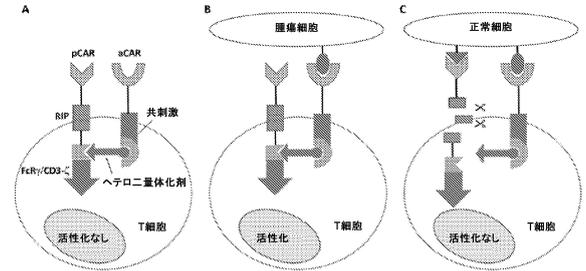
50

【 図 面 】

【 図 1 】



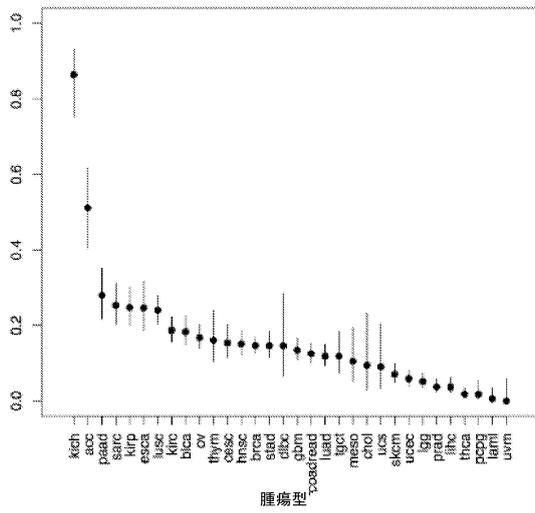
【 図 2 】



10

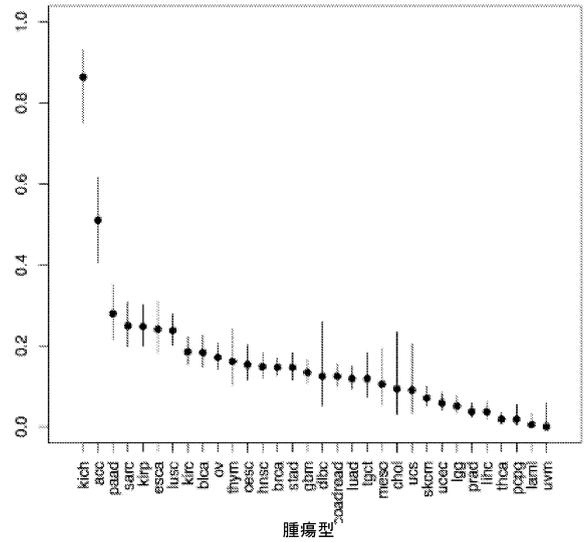
20

【 図 3 A 】



HLA-G(上流遺伝子)

【 図 3 B 】



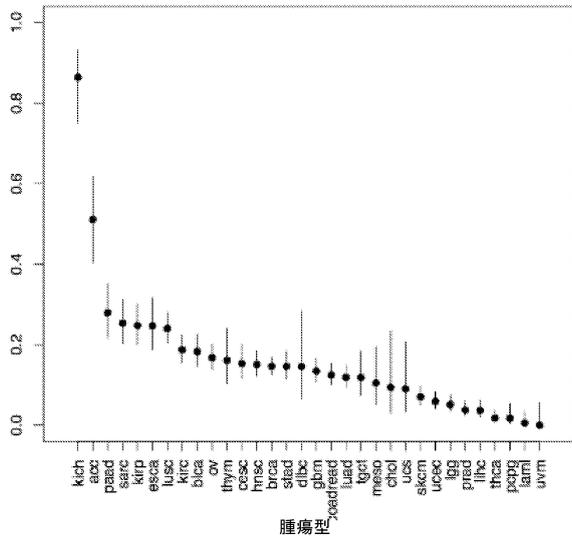
HLA-A

30

40

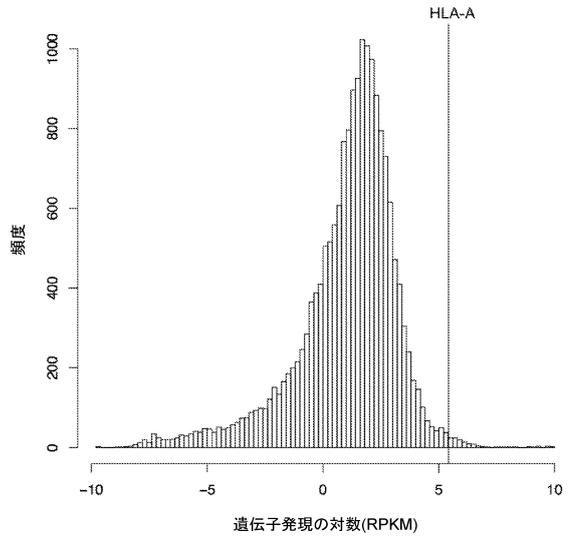
50

【 図 3 C 】



ZNRD1(下流遺伝子)

【 図 4 】

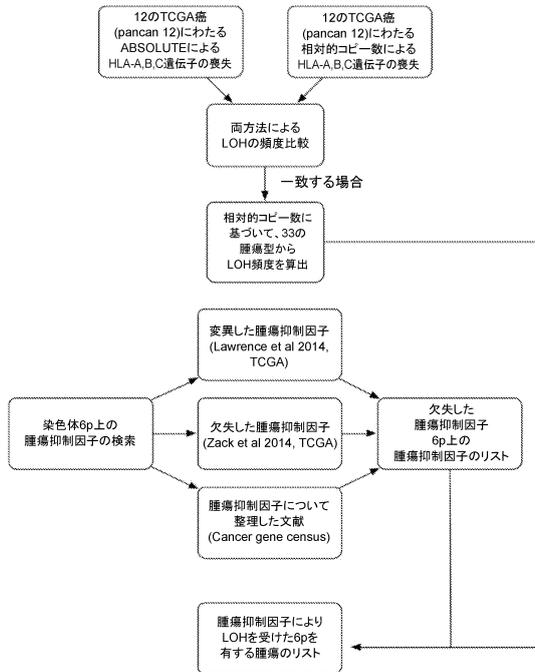


10

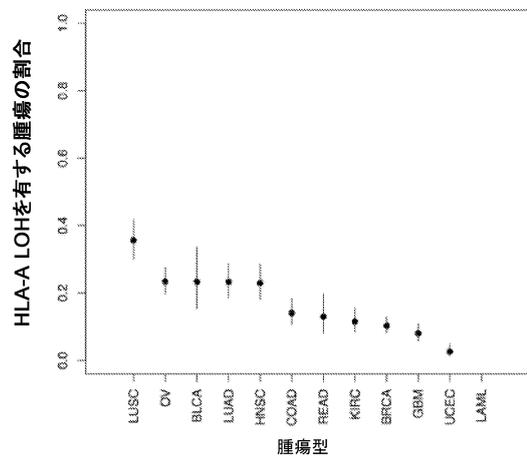
20

【 図 5 】

癌におけるHLAタンパク質のヘテロ接合性の喪失



【 図 6 】

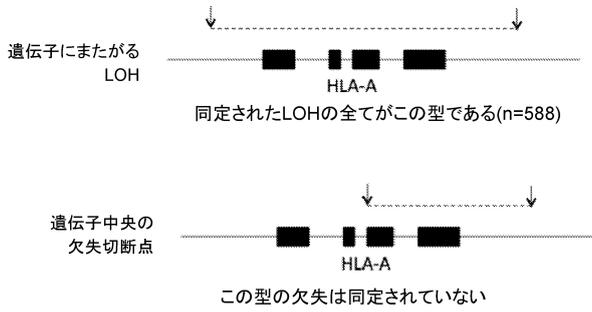


30

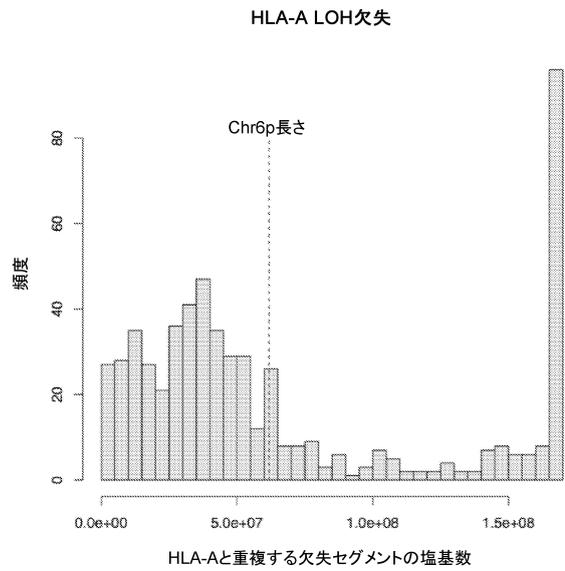
40

50

【 図 7 】



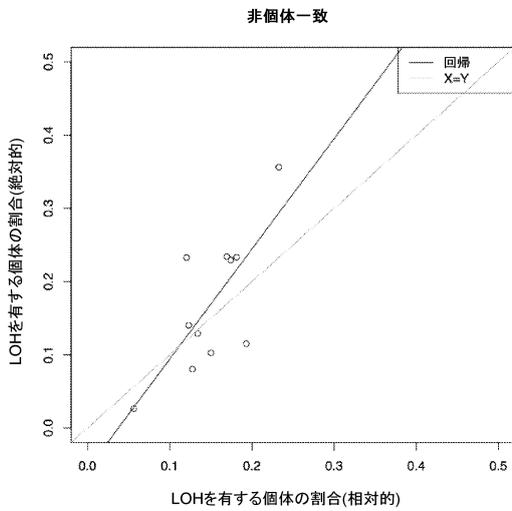
【 図 8 】



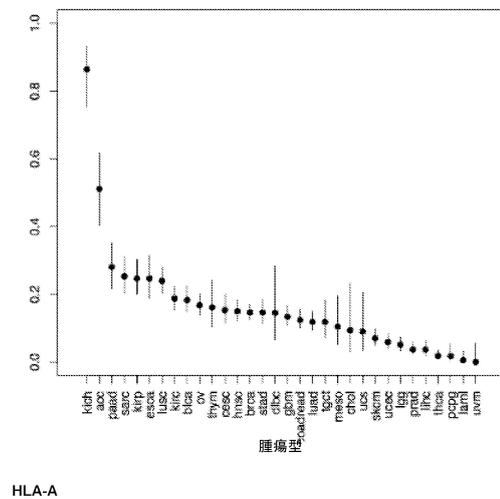
10

20

【 図 9 】



【 図 10 A 】



30

40

50



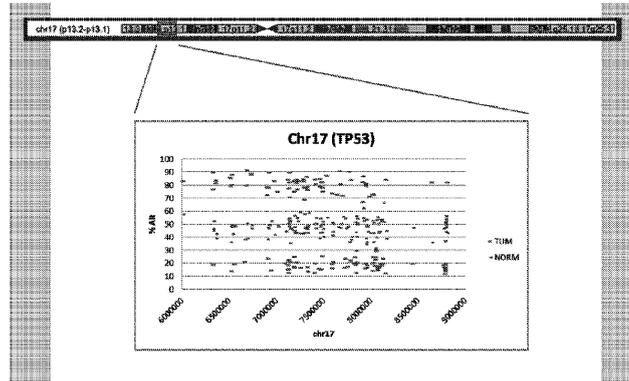
【 図 1 3 】

TCGA研究略称

| 研究略称      | 研究名                    |
|-----------|------------------------|
| LAML      | 急性骨髄性白血病               |
| ACC       | 副腎皮質癌                  |
| BLCA      | 膀胱尿路上皮癌                |
| LGG       | 脳低グレード神経膠腫             |
| BRCA      | 乳房浸潤癌                  |
| CESC      | 子宮頸部扁平上皮癌及び子宮頸部腺癌      |
| CHOL      | 胆管癌                    |
| LCML      | 慢性骨髄性白血病               |
| COAD      | 結腸腺癌                   |
| CNTL      | 対照                     |
| ESCA      | 食道癌                    |
| FPPP FFPE | 試験段階II                 |
| GBM       | 多形神経膠芽腫                |
| HNSC      | 頭頸部扁平上皮癌               |
| KICH      | 腎臓嫌色素性                 |
| KIRC      | 腎臓腎明細胞癌                |
| KIRP      | 腎臓腎乳頭状細胞癌              |
| LIHC      | 肝臓肝細胞癌                 |
| LUAD      | 肺腺癌                    |
| LUSC      | 肺扁平上皮癌                 |
| DLBC      | リンパ系新生物びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 |
| MESO      | 中皮腫                    |
| MISC      | その他                    |
| OV        | 卵巣漿液性嚢胞腺癌              |
| PAAD      | 膵臓腺癌                   |
| PCPG      | 褐色細胞腫及び傍神経節腫           |
| PRAD      | 前立腺腺癌                  |
| READ      | 直腸腺癌                   |
| SARC      | 肉腫                     |
| SKCM      | 皮膚皮膚黒色腫                |
| STAD      | 胃腺癌                    |
| TGCT      | 精巣胚細胞腫瘍                |
| THYM      | 胸腺腫                    |
| THCA      | 甲状腺癌                   |
| UCS       | 子宮癌肉腫                  |
| UCEC      | 子宮体部子宮内膜癌              |
| UVM       | ブドウ膜黒色腫                |

【 図 1 4 】

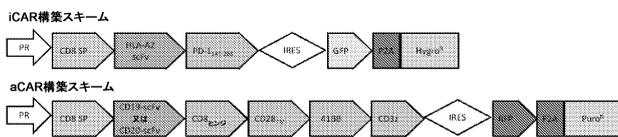
Fig. 14



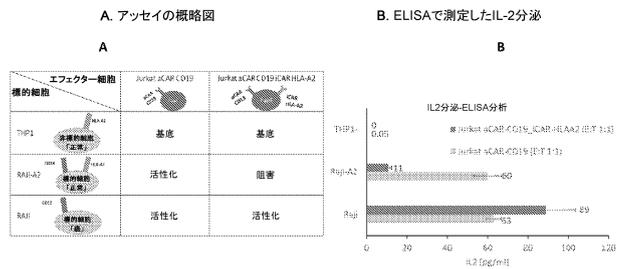
10

20

【 図 1 5 】



【 図 1 6 】



30

40

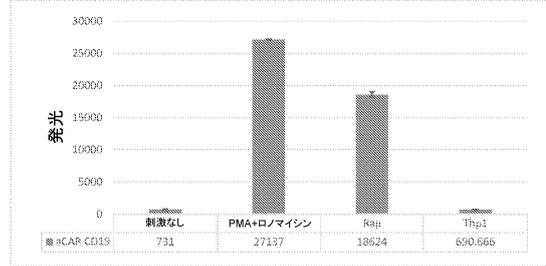
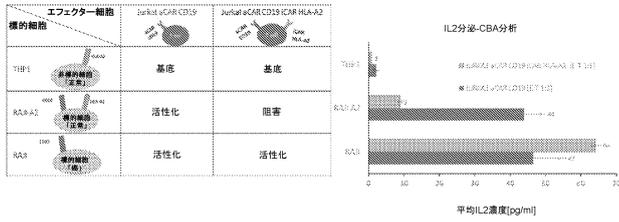
50

【 図 17 】

【 図 18 】

A. アッセイの概略図

B. CBAで測定したIL-2分泌

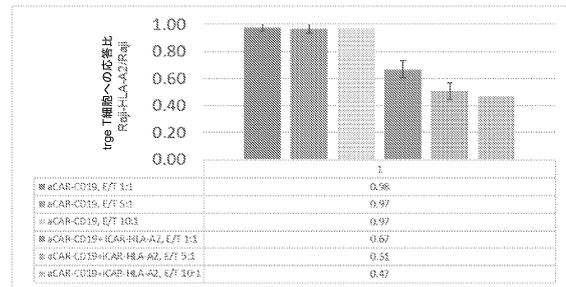
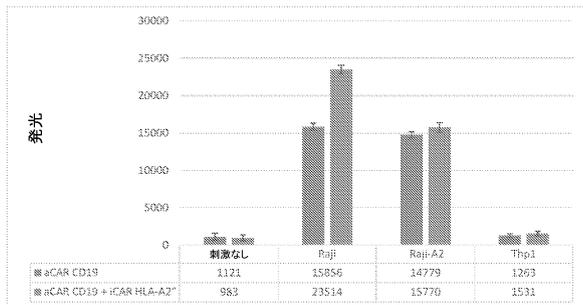


10

20

【 図 19 】

【 図 20 】



30

40

50







【 図 2 1 L 】

配列番号13  
 CD8 SP- 1-63  
 Mycタグ-64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 2B4(ヒンジ+TM+細胞内ドメイン)-829-1,269  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTTGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCTTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTC AAGGGCAAGACCACACTGACCCGCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCT  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGCGCGCGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCCTGAGGCTGCGCGTGAGCTGGGGCATCAGGTGAGC  
 ATCTCTGTAGATCTCTCAGAGCATCTGACTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCAAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACGCGGCTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCACAGTGCACGCACCTTTGGCGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGGAG  
 TTCCGGTTTTGGCCCTTCTGGTATCATCTGTGATCTGTCTGCCCTGTCTTCTGGCC  
 ACCCTGGCTGCTTTTGGCGTGTGGCGGAGAAAGCGGAAGGAGAAGCAGAGCGAGA  
 CCTCCCCAAGGAGTTCCTGACAATCTACGAGGACGTGAAGGATCTGAAGACAAG  
 GCGCAACCAGCAGCAGGACGACACTTTCTGGCGCGGCTCTACAATCTATAGC  
 ATGATCCAGTCCAGAGCAGCGCCACCAGCCAGGAGCTGCCTACACACTGT  
 ATTTCTGATCCAGCTAGCAGAAGTCTGGCAGCCGGAAGAGAAACCCTCCCT  
 ATCTTCAATTCCACCACTACGAAAGTGTATCGGCAAGTCTAGCCAAAGGCACAGA  
 ACCCAGCAAGGCTGAGCCGCAAGGAGCTGGAGAAATTTGACGCTGATTTCTGTA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCAAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACGCGGCTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGTCT  
 CCAACCGAGCCAGCTCCAAAGACAGGCAACCCAAAGGCACCTGCACATCTGTATG  
 GCACACGCTGGTTCATCATCTGTTCATCTGCTGTTCTTTCTGCTGCACCGCTGGT  
 GCAGCAACAAGAAGATGCCCGCTGATGGACCAGGAGTCCGCGGCAACAGGA  
 CAGCCAATTCGAGGACTCTGATGAGCAGGACCCCAAGGAGGTGACCTACACACA  
 GCTGAACCACTGCTGTTTACCAGCGGAAGATCACAGACCTTCCAGAGGCCA  
 AAGACCCCTACAGACATCATGCTGATGCCAGCTGCCAATGCCGAGTCTCG  
 GAGCAAGGTGGTGTCTTGTCTTGA

【 図 2 1 M 】

配列番号14  
 CD8 SP- 1-63  
 Mycタグ-64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 BTLA(ヒンジ+TM+細胞内ドメイン)-829-1,293  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTTGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCTTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTC AAGGGCAAGACCACACTGACCCGCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCT  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGCGCGCGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCCTGAGGCTGCGCGTGAGCCTGGGGCATCAGGTGAGC  
 ATCTCTGTAGATCTCTCAGAGCATCTGACTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCAAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACGCGGCTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGGAT  
 GTGAAGAGCGCTCCGAGAGACCTTCAAGGACGAGATGGCCAGCGGCCATGGC  
 TGCTGATACAGACTGCTGCCACTGGGAGGACTGCCCTGCTGATCACCACATGCTCT  
 TGCTGTTTTGCTGCTGCGGAGACACAGGGCAAGCAGAACGAGCTGTCCGATAC  
 CGCCGGCAGGAGATCAATCTGGTGGACGCCCACTGAAGTCTGAGCAGACCGAG  
 GCCAGCACAGCCAGACTCCAGGTGCTGCTGCTGAGCAGGATCTACGACA  
 ATGATCCGACCTGACTTCCGGATGCAGGAGGCTCTGAGTGTACAGCAACCCA  
 TGTCTGGAGGAGAATAAGCCCGCATCTGTGATGCTGCTCCCTGAACCACTCTGTGAT  
 CGGACCCCACTCCAGGCTGGCAGGAATGTGAAGGAGGCCCTACCGAGTATGCC  
 AGCATCTGCGTGGTCTG

FIG. 21L

SEQ ID NO:13  
 CD8 SP- 1-63  
 Myc tag - 64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 2B4 (hinge+TM+intracellular domain) - 829- 1,269  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTTGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCTTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTC AAGGGCAAGACCACACTGACCCGCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCT  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGCGCGCGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCCTGAGGCTGCGCGTGAGCCTGGGGCATCAGGTGAGC  
 ATCTCTGTAGATCTCTCAGAGCATCTGACTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCAAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACGCGGCTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCACAGTGCACGCACCTTTGGCGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGGAG  
 TTCCGGTTTTGGCCCTTCTGGTATCATCTGTGATCTGTCTGCCCTGTCTTCTGGCC  
 ACCCTGGCTGCTTTTGGCGTGTGGCGGAGAAAGCGGAAGGAGAAGCAGAGCGAGA  
 CCTCCCCAAGGAGTTCCTGACAATCTACGAGGACGTGAAGGATCTGAAGACAAG  
 GCGCAACCAGCAGCAGGACGACACTTTCTGGCGCGGCTCTACAATCTATAGC  
 ATGATCCAGTCCAGAGCAGCGCCACCAGCCAGGAGCTGCCTACACACTGT  
 ATTTCTGATCCAGCTAGCAGAAGTCTGGCAGCCGGAAGAGAAACCCTCCCT  
 ATCTTCAATTCCACCACTACGAAAGTGTATCGGCAAGTCTAGCCAAAGGCACAGA  
 ACCCAGCAAGGCTGAGCCGCAAGGAGCTGGAGAAATTTGACGCTGATTTCTGTA

【 図 2 1 N 】

配列番号15  
 CD8 SP- 1-63  
 Mycタグ-64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 KIR2DL2(ヒンジ+TM+細胞内ドメイン)-829-1,185  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTTGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCTTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTC AAGGGCAAGACCACACTGACCCGCGATAAGAGCAGCAGCACCGCCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCT  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGCGCGCGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACACCCTGAGCCTGCCCGTGAGCCTGGGGCATCAGGTGAGC  
 ATCTCTGTAGATCTCTCAGAGCATCTGACTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCAAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACGCGGCTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCCACGTCACGCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGGAT  
 GTGAAGAGCGCTCCGAGAGACCTTCAAGGACGAGATGGCCAGCGGCCATGGC  
 TGCTGATACAGACTGCTGCCACTGGGAGGACTGCCCTGCTGATCACCACATGCTCT  
 TGCTGTTTTGCTGCTGCGGAGACACAGGGCAAGCAGAACGAGCTGTCCGATAC  
 CGCCGGCAGGAGATCAATCTGGTGGACGCCCACTGAAGTCTGAGCAGACCGAG  
 GCCAGCACAGCCAGACTCCAGGTGCTGCTGCTGAGCAGGATCTACGACA  
 ATGATCCGACCTGACTTCCGGATGCAGGAGGCTCTGAGTGTACAGCAACCCA  
 TGTCTGGAGGAGAATAAGCCCGCATCTGTGATGCTGCTCCCTGAACCACTCTGTGAT  
 CGGACCCCACTCCAGGCTGGCAGGAATGTGAAGGAGGCCCTACCGAGTATGCC  
 AGCATCTGCGTGGTGTG

10

20

30

40

50

【 2 1 O 】

配列番号16  
 CD8 SP- 1-63  
 Mycタグ-64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 KIR2DL3(ヒンジ+TM+細胞内ドメイン)-829-1,164  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGCTTGAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGCCCGGACAG  
 GCTGATGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCCGCGATAAGAGCAGCAGCACCCTCA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCT  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGCGCGGCGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGCACACCTAGCCTGACCTGAGCCTGGGGGATCAGGTGAGC  
 ATCTCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGCATCCAAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGCCAGTCCCCAAAGCTGTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACGCGGCTGCTGACAGATTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGACAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCACCTGACCAGCACCCTTTGGCGCGGGCACAAAGCTGGAGATCAAGTCT  
 CCAACCGAGCCAGCTCCGAGACAGGCAACCTAGGCACCTGCACGTGCTGATCG  
 GCACCAGCGTGGTATCATCTGTTCATCTGCTGCTGCTTTCTTCTGCTGCACCGGT  
 GTGGTGTAAACAAGAAGTTCAGTGGTTCATGGACAGGAGGACCGCCGCAACAG  
 GACCGTGAATAGAGAGGACTCCGATGAGCAGGACCCAGGAGGTGACATACGCC  
 CAGCTGAACCACTGCGTGTACCAGAGGAAGATCACACGCCCTTCTCAGCGGCC  
 AAAGACCCCTTACAGACATCATCGTGTATACAGAGCTGCCCAATGCCGAGCCTT  
 GA

【 2 1 P 】

配列番号17  
 CD8 SP- 1-63  
 Mycタグ-64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1ヒンジ-829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 KIR2DL2(シグナル伝達ドメイン)-970-1221  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGCTTGAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGCCCGGACAG  
 GGGCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCCGCGATAAGAGCAGCAGCACCCTCA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCT  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGCGCGGCGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGCACACCTAGCCTGACCTGAGCCTGGGGGATCAGGTGAGC  
 ATCTCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGCATCCAAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGCCAGTCCCCAAAGCTGTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACGCGGCTGCTGACAGATTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGACAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCACCTGACCAGCACCCTTTGGCGCGGGCACAAAGCTGGAGATCAAGTCT  
 CCAACCGAGCCAGCTCCGAGACAGGCAACCTAGGCACCTGCACGTGCTGATCG  
 GCACCAGCGTGGTATCATCTGTTCATCTGCTGCTGCTTTCTTCTGCTGCACCGGT  
 GTGGTGTAAACAAGAAGTTCAGTGGTTCATGGACAGGAGGACCGCCGCAACAG  
 GACCGTGAATAGAGAGGACTCCGATGAGCAGGACCCAGGAGGTGACATACGCC  
 CAGCTGAACCACTGCGTGTACCAGAGGAAGATCACACGCCCTTCTCAGCGGCC  
 AAAGACCCCTTACAGACATCATCGTGTATACAGAGCTGCCCAATGCCGAGCCTT  
 GA

10

【 2 1 Q 】

配列番号18  
 CD8 SP- 1-63  
 Mycタグ-64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1ヒンジ-829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 BTLA(シグナル伝達ドメイン)-970-1302  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGCTTGAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGCCCGGACAG  
 GGCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCCGCGATAAGAGCAGCAGCACCCTCA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCT  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGCGCGGCGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGCACACTGAGCCTGCCCGTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGCATCCAAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGCCAGTCCCCAAAGCTGTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACGCGGCTGCTGACAGATTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGACAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCACCTGACCAGCACCCTTTGGCGCGGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCTTCCAAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCTGGTGGTGGAGTGGTGGGAGGCGCTGCTGGGCTCTCTGGT  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCCGGAGACACCAGGGCAAGCAGAAGCAGC  
 TGAGCGATACCCGCGCGGGAGATCAATCTGGTGGACGCCACCTGAAGTCCGA  
 GCAGACCGAGGCTCCACAAGACAGAAGTCTCAGGTGCTGCTGAGCGAGACAGGC  
 ATCTACGACAATGATCCGACCTGTGCTCAGGATCGAGGAGGGCAGCGAGGTGT  
 ACTCCAACCCCTGCTGGAGGAGAATAAGCCTGGCATCGTGTATGCTCTCTGAAC  
 CACAGCGTGTGCGCCAACTCTAGGCTGGCCGCAATGTAAGGAGGCGCCCA  
 CCGAGTATGCCTCATCTGCTGAGGCTTGA

【 2 1 R 】

配列番号19  
 CD8 SP- 1-63  
 Mycタグ-64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1ヒンジ-829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 CTLA4(シグナル伝達ドメイン)-970-1092  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGCTTGAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGCCCGGACAG  
 GGCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGGCGACGGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCCGCGATAAGAGCAGCAGCACCCTCA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCT  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCGCGCGGCGCAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGCACACTGAGCCTGCCCGTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGCATCCAAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGCCAGTCCCCAAAGCTGTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACGCGGCTGCTGACAGATTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGACAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCACCTGACCAGCACCCTTTGGCGCGGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCTTCCAAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCTGGTGGTGGAGTGGTGGGAGGCGCTGCTGGGCTCTCTGGT  
 CTGCTGGTGTGGGTGCTGGCCGTGATCCGGAGACACCAGGGCAAGCAGAAGCAGC  
 TGAGCGATACCCGCGCGGGAGATCAATCTGGTGGACGCCACCTGAAGTCCGA  
 GCAGACCGAGGCTCCACAAGACAGAAGTCTCAGGTGCTGCTGAGCGAGACAGGC  
 ATCTACGACAATGATCCGACCTGTGCTCAGGATCGAGGAGGGCAGCGAGGTGT  
 ACTCCAACCCCTGCTGGAGGAGAATAAGCCTGGCATCGTGTATGCTCTCTGAAC  
 CACAGCGTGTGCGCCAACTCTAGGCTGGCCGCAATGTAAGGAGGCGCCCA  
 CCGAGTATGCCTCATCTGCTGAGGCTTGA

30

40

50

【 図 2 1 S 】

配列番号20  
 CD8 SP- 1-63  
 Mycタグ-64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1ヒンジ-829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 CSK(シグナル伝達ドメイン)-970-1734  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCAGCGCAGCGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCCGGGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCAGGGCACCAGCGTACAGTGTG  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTTGGCGGCGCGGACGACGT  
 GCTGATGACCCAGACCAACTGAGCTGCCCCTGAGCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGACTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACAGCGCTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCACAGTGGCCACGCACCTTTGGCGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGCAGAGGTGCCACAGCAGCACCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGC  
 GACAGTTCCAGACCTTGGTGGTGGAGTGTGGGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGGGTGCTGGCGTATCTTGAAGCTGCTCCAGACCATCGGCAAGGG  
 CGAGTTCGGCGACGTGATGCTGGGCGATTACAGAGGCAACAAGGTGGCCGTGAAG  
 TGCATCAAGAATGACGCAACCTGACAGCTTTTGGCAGAGCCAGCCGATCAAGACC  
 CACAGCTGAGGCACTCCAACCTGGTGCAGCTGCTGGGCGTATCTGGAGGAGAA  
 GGGCGGCTGTACATCTGTGACAGATATATGGCCAAGGGCAGCCTGGTGGACTAC  
 CTGGCGTCCAGAGGAGGCTGTGCTGGGAGGCACTGCTGCTGAAGTTCAGCCT  
 GGACGTGGCGAGGCCATGGAGTATCTGGAGGGCAACAATTTTGTGACCCGAT  
 CTGGCAGCAAGGAACGTGCTGGTGTCTGAGGACAATGTGGCAAGGTGAGCGATT  
 TCGGCTGACCAAGGAGGCCAGCTCCACCCAGGACACAGCCAGCTGCTGTGAA  
 GTGGACCCAGCAGAGGCCCTGAGGAGAGAAGAAGTTCTTACAAAGAGCGACGTG  
 TGGTCTTTGGCATCTCTGCTGGGAAATCTACTTTTGGCAGAGTCCCATATCCC  
 AGAATCCCCTGAAGGACGTGGTGCCTCGGTTGAGAAAGGGCTACAAGATGGACG  
 CACCAGATGGATGCCACCTGCCGTGTATGAAGTGTGAAGAAATTTGTGGCACCTG  
 GATGACCAATGAGGCCACTTCTCCAGCTGAGGGAGCAGCTGGAGCACATCA  
 AGACACACGAGCTGCCTGA

【 図 2 1 T 】

配列番号21  
 CD8 SP- 1-63  
 Mycタグ-64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1ヒンジ-829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 PD1シグナル伝達-970-1260  
 GCリンカー -1261-1305  
 CTLA4(シグナル伝達ドメイン)-1306-1428  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCAGCGCAGCGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCCGGGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCAGGGCACCAGCGTACAGTGTG  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTTGGCGGCGCGGACGACGT  
 GCTGATGACCCAGACCAACTGAGCCTGCCCCTGAGCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGACTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACAGCGCTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTC  
 ATCGGTTACAGCGCTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCACAGTGGCCACGCACCTTTGGCGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGCAGAGGTGCCACAGCAGCACCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAGC  
 GACAGTTCCAGACCTTGGTGGTGGAGTGTGGGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGGGTGCTGGCGTATCTTGAAGCTGCTCCAGACCATCGGCAAGGG  
 CGAGTTCGGCGACGTGATGCTGGGCGATTACAGAGGCAACAAGGTGGCCGTGAAG  
 TGCATCAAGAATGACGCAACCTGACAGCTTTTGGCAGAGCCAGCCGATCAAGACC  
 CACAGCTGAGGCACTCCAACCTGGTGCAGCTGCTGGGCGTATCTGGAGGAGAA  
 GGGCGGCTGTACATCTGTGACAGATATATGGCCAAGGGCAGCCTGGTGGACTAC  
 CTGGCGTCCAGAGGAGGCTGTGCTGGGAGGCACTGCTGCTGAAGTTCAGCCT  
 GGACGTGGCGAGGCCATGGAGTATCTGGAGGGCAACAATTTTGTGACCCGAT  
 CTGGCAGCAAGGAACGTGCTGGTGTCTGAGGACAATGTGGCAAGGTGAGCGATT  
 TCGGCTGACCAAGGAGGCCAGCTCCACCCAGGACACAGCCAGCTGCTGTGAA  
 GTGGACCCAGCAGAGGCCCTGAGGAGAGAAGAAGTTCTTACAAAGAGCGACGTG  
 TGGTCTTTGGCATCTCTGCTGGGAAATCTACTTTTGGCAGAGTCCCATATCCC  
 AGAATCCCCTGAAGGACGTGGTGCCTCGGTTGAGAAAGGGCTACAAGATGGACG  
 CACCAGATGGATGCCACCTGCCGTGTATGAAGTGTGAAGAAATTTGTGGCACCTG  
 GATGACCAATGAGGCCACTTCTCCAGCTGAGGGAGCAGCTGGAGCACATCA  
 AGACACACGAGCTGCCTGA

【 図 2 1 U 】

配列番号22  
 CD8 SP- 1-63  
 Mycタグ-64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1ヒンジ-829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 PD1シグナル伝達-970-1260  
 GCリンカー -1261-1305  
 LAG3(シグナル伝達ドメイン)-1306-1467  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATCACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCAGCGCAGCGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCCGGGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAAGCAGGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCGCAGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTACAGTGTG  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTTGGCGGCGCGGAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACCAACTGAGCCTGCCGCTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGACTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACAGCGCTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCACAGTGGCCACGCACCTTTGGCGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCAGCACCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCTTGGTGGTGGAGTGTGGGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGGGTGCTGGGCGTATCTGCAGCAGAGGCCGCGCCGCGGACCAATCGG  
 CGCCAGGCCGACAGGCCAGCCCTTGAAGGAGGACCTTCCGCGGTGCCAGTGTCT  
 CTGTGGACTACGGCAGCTGGATTTTCTAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACC  
 TGTGCCCTGCTGCTGAGCAGCCAGTATGCCAATCTGTTTCCATCCGGAA  
 TGGGCACAAGCTCCCTGCAAGGAGAGGAGCGCCGACGAGCCAGCTCCGCCCA  
 GCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGG  
 CGGTTGGTGGGTGCGGTTGGCGGGATCTCAGCTTGGCGGAGACAGTGGCGGAC  
 CAGGCCCTTACGCCCTTGGAGCAGGGCATCCACCCACTCAGGCAGTGTGCAAG  
 ATCCAGGAGCTGGAGCAGGAGCCAGAGCCAGACCTGAGCCAGAGCCTG  
 AACCCGAGCCAGAGCTGAGCAGCTGTA

【 図 2 1 V 】

配列番号23  
 CD8 SP- 1-63  
 Mycタグ-64-93  
 HLA-A2 scFV- 94-828  
 PD1ヒンジ-829-906  
 PD1 TM- 907-969  
 PD1シグナル伝達-970-1260  
 GCリンカー -1261-1305  
 2B4(シグナル伝達ドメイン)-1306-1665  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG  
 TCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGTCTTGAAGGCCA  
 GCGGCTACACCTTACATCTTATACATCCAGTGGGTGAAGCAGCGGCCCGGACAG  
 GGCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCAGCGCAGCGCTCCACACAGTATAACG  
 AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACACTGACCCGGGATAAGAGCAGCAGCACCGCCTA  
 CATGCTGCTGAGCAGCCTGACCAAGCAGGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCGCAGG  
 AGGGCACATACTATGCTATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTACAGTGTG  
 TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTTGGCGGCGCGGAGCGACGT  
 GCTGATGACCCAGACCAACTGAGCCTGCCCCTGAGCCTGGGCGATCAGGTGAGC  
 ATCTCTGTAGATCTCTCAGAGCATCGTGACTCCAACGGCAATACCTACCTGGA  
 GTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGTCTA  
 ATCGGTTACAGCGCTGCCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTC  
 ACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAGGCAGAGGATCTGGGCGTACTATTGTTTCCA  
 GGGCTCCACAGTGGCCACGCACCTTTGGCGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACC  
 GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCAGCACCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG  
 GACAGTTCCAGACCTTGGTGGTGGAGTGTGGGAGGCTGCTGGGCTCTCTGGTG  
 CTGCTGGTGGGTGCTGGGCGTATCTGCAGCAGAGGCCGCGCCGCGGACCAATCGG  
 CGCCAGGCCGACAGGCCAGCCCTTGAAGGAGGACCTTCCGCGGTGCCAGTGTCT  
 CTGTGGACTACGGCAGCTGGATTTTCTAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCACC  
 TGTGCCCTGCTGCTGAGCAGCCAGTATGCCAATCTGTTTCCATCCGGAA  
 TGGGCACAAGCTCCCTGCAAGGAGAGGAGCGCCGACGAGCCAGCTCCGCCCA  
 GCCACTGCGGCCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGGGTGGCGGTGGCTCGG  
 CGGTTGGTGGGTGCGGTTGGCGGGATCTCAGCTTGGCGGAGACAGTGGCGGAC  
 CAGGCCCTTACGCCCTTGGAGCAGGGCATCCACCCACTCAGGCAGTGTGCAAG  
 ATCCAGGAGCTGGAGCAGGAGCCAGAGCCAGACCTGAGCCAGAGCCTG  
 AACCCGAGCCAGAGCTGAGCAGCTGTA

10  
30  
40





【 図 1 】

FIG. 21AE

SEQ ID NO:31
CD8 SP 1-63
Myc tag- 64-93
HLA-A2 scFV 94-828
PD1 hinge - 829-906
PD1 TM - 907-969
PD1 (signaling)-970-1260
IRES-1264-1850
CD8 SP- 1857-1916
FLAG tag- 1917-1940
CD19 scFV-1941-2666
CD8 hinge- 2667-2801
CD8 TM-2802-2873
41BB-2874-2999
CD3z -3000-3335
ATGGCACTGCCAGTACCGCCCTGCTGCTCCTGGCCCTGCTGTCACGCGACG
CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG
TCTGGACCTAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGCTTGAAGGCCA
CGCGCTACACCTTCAACATCTACATCTCAGTGGGTGAAGCAGCGCCGGACAG
GGCCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGCGACGGCTCCACACAGTATAAAG
AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCCCGGATAAGAGCAGCAGCACCCGCTA
CATGCTGCTGAGCAGCTTACACAGCGGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGG
AGGGCATACTATGCTATGACATATTTGGGGCAGGGCAGCAGCTGACAGTGTCT
TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTCTGGCCGGCGCGGACGCGT
GCTGATGACCCAGACACCACTGAGGCTTGGCGTGGGCGATCAGGTGAGC
ATCTCCGTAGATCTCTCAGAGCATCTGTCACCTCCAAGCGCAATACCTACTCGGA
GTGGTATCTGCAAGGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGCTTA
ATCGGTTACAGCGGCTGCTTGCAGAGATTTCTGGCAGCGCTCCGGCACCGACTC
ACCTGAAGATCAGCCGGTGGAGGCGAGAGGATCTGGGCGTGTACTATTGTTTCCA
GGCCTCCACAGTCCAGCCCTTTGGCGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAC
GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG
GACAGTTCCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCCCTGCTGGGCTCTTGGTG
CTGCTGGTGGTGGTGGTGGCGTGTATGTCAGCAGGCGCCGCGCGGACACATCGG
CGCCAGGCGCACAGGCCAGCCTTGAAGGAGGACCCCTCCGCGTGGCAGTGTCT
CTGTGGACTACGCGAGCTGGATTTTCTAGTGGCGGGAGAAAACCCAGAGCCAC
TGTGCCCTGCGTGCCTGAGCAGACCGAGTATGCCACAATCGTGTTCATCCGGA
TGGGCAAAAGTCCCTGCAAGGAGAGGCGAGCGCGCAGCGGACACAGGTCCGCCCA
GCCACTGGCGCCGAGGATGGCCACTGTTCTTGGCCCTGTGACCCCTCTCCCTCC
CCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAAGCCGCTTGGAAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGT
CTATATGTTATTTTCCACCATTTGCCGTCTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACC
TGGCCCTGCTCTTTCAGCAGCATCTTCCAGGGGCTTTCCTTCCGCAAAAGGAAT
GCAAGTCTGTGAATGCTGTAAGGAAGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGAC
AAACAACGCTGTAGCGACCCCTTTCAGGAGCGGGAACCCCACTGGCGGACAG
GTGCTCTGGCGGCAAAAAGCCAGTGTATAAGATACACCTGCAAAAGCGGCAACA
CCCCAGTCCAGCTGTGAGTGGATAGTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCTC
AAGCGTATTCACAAGGGGCTGAAGGATGGCCAGAAAGTACCCCATTTGATGGGA
TCTGATCTGGGGCTCGGTGCACATGCTTACATGTGTTTGTGAGGTTAAAAA
ACGCTTAGGCCCCCGCAACCCAGGGGACGTGGTTCCTTTGAAAAACAGCATGAT

【 図 2 1 A F 】

配列番号32
CD8 SP 1-63
Mycタグ-64-93
HLA-A2 scFV 94-828
PD1ヒンジ-829-906
PD1 TM - 907-969
IRES-973-1559
CD8 SP- 1566-1625
FLAGタグ-1626-1649
CD19 scFV-1650-2375
CD8ヒンジ-2376-2510
CD8 TM-2511-2582
41BB-2583-2708
CD3z 2709-3044
ATGGCACTGCCAGTACCGCCCTGCTGCTGCCTTGGCCCTGCTGTCACGCGACG
CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG
TCTGGACCTAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGCTTGAAGGCCA
CGCGCTACACCTTACATCTTATACATCTCAGTGGTGAAGTGCAGCGCCGGACAG
GGCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGCGACGGCTCCACACAGTATAAG
AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCCCGGATAAGAGCAGCAGCACCCGCTA
CATGCTGCTGAGCAGCTGACACAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGG
AGGGCACAATACTATGCTATGACTATTTGGGGCAGGGCACCAGCTGACAGTGTCT
TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTTGGCGCGCGCGGACGCGT
GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGGCCCTGAGCCTGGGGGATCAGGTGAGC
ATCTCCTGTAGATCTCTCAGAGCATCTGTCACCTCCAAGCGCAATACCTACTCGGA
GTGGTATCTGCAAGGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGCTTA
ATCGGTTACGCGGCTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCCGACTTC
ACCTGAAAGATCAGCCGGTGGAGGAGAGGATCTGGCGGTGACTATTGTTTCCA
GGCTCCACGCTGCCACCCCTTTGGCGCGGCAAAAAGCTGGAGATCAAGACC
GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG
GACAGTTCCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCGCTGCTGGGCTCTTGGTG
CTGCTGGTGGTGGTGGCGGTGATGACCCCTCTCCCTCCCGCCCTCAACGCT
TACITGGCCGAAGCCGCTTGGAAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATAATGTTATTT
CACCATATTGGCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGCTCTT
GACGAGCATCTTCCAGGGGCTTTCCCTCCGCAAAAGGAATGCAAGGTGTGTTGA
ATGTCGTGAAGGAAGAGATCTCTCGGAAGCTCTTGAAGACAACAACCGTCTGTA
CGGACCCCTTTCAGGCGAGCGGAAACCCCACTGGCGCACAGGTGCTCTGGCGCC
AAAAGCCACGTTGATATAAGATGCTGCAAGCGGCGCACAAACCCAGTGGCAGCT
TGTGAGTGGATAGTTGTGGAAAGGATCAAAATGGCTCTCTCAAGCGTATTCAACA
AGGGCTCGAAGGATGCGCAAGGATACCCCAATGATGGGATCTGATCTGGGGCC
TCGGTGCACATGCTTACATGTTTGTGCGAGGTTAAAAAAGCTGCTAGGCCCC
TGCCACACCGGGACGTGGTTCCTTTGAAAAACACAGATGATAATATGGCCACAA
CTGAATGGCCTTACCAGTACGCCCTTGTCTCTGGCGCTGGCCCTGCTGCTCCAGC
CGCCAGGCGGACTACAAGACGATGACGACAAGGACATCCAGATGACACAGAC
TACATCTCCCTGCTGCTCTCGGAGACAGAGTACCACATGTTGACGGGCA
GTACGGACATTAAGTAATATTTAAATTTGATATGACGAGAAACAGATGGAATGTT
AACTCTGATCTACCATAATCAAGATTAACACTCAGGAGTCCATCAAGGTTTCAG
TGGCAGTGGGCTGGAAACAGATTATCTCTACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAG

AAATATGGCCACAACCTGAATGGCCCTTACCAGTGACCGCCCTGCTCCTGCCGTGGC
CTTGTGCTCCACGCCCGCAGGCGGACTACAAGACGATGACGACAAGGACATC
CAGATGACACAGACTACATCTCCCTGCTGCTCCTCTGGGAGCAGAGTACCAT
CAGTTGCAGGGCAAGTACAGGACATTAAGTAATATTTAAATTTGGTATCAGCAGAAA
CCAGATGGAACCTGTTAAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGT
CCCATCAAGGTTTACAGTGGCAGTGGGCTGGAAACAGATTATTTCTCACCATTAGCA
ACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGGCCAAGGGTAAATACGCTTCCG
TACAGTTCCGGAGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTGGCGG
GTGGTGGTGGTGGCGGGGATCTGAGGTGAAACTGCAAGGAGTCAAGGACCTGG
CCTGGTGGCGCCCTCACAGACCTGCTCCGTCACATGACACTGTCACGGGCTCTCAT
TACCCGACTATGGTGAAGCTGGATTGCCAGCTCCACGTAAGGAGGCTTGGAGTGG
CTGGGAGTAAATGGGGTAGTGAACACCATACTATAAATTCAGCTTCAAAATCCAG
ACTGACCATATCAAGGACAACCTCCAAGAGCCAAAGTTTCTTAAAAATGAACAGTC
TGCAAACTGATGACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTAATACAGGTTGGT
AGCTATGCTATGGACTACTGGGGCAAGGAACTCAGTCAAGTCCCTCTCAACAC
TACCCAGCCAGCGAGGCCACCCCGGGTCTTACCATCGCTCCAGCCTGGT
CCCTCGCTCGGAGGATGTAGACCCGACGCTGGTGGGGGCTGCATACCCGGGG
TCTTGACTTCGCCGTGCATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGGCGGGT
CTGCTGCTTTCACCTCGTATCACTTACTGTAGCGCGGCTCGGAAGAAGCTGCG
TGTACATCTTAAAGCAACCCCTCATGAGGCTGTACAGCAGCTACTCAAGAGGAGGAC
GGCTGTTATCGCGGTTCCCAAGAGGAGGAGGAGGCGGCTGGCAACTGCGCGTGA
AATTACGGCGCAGCGCAGATGCTCCAGCTACAAGCAGGGGCAAGCAACAGCTCA
CAACGAACTCAATCTTGGTGGAGAGGAGTACGACAGGCTGCTGCCAAGCGGAGA
GACGGGGCCAGAAAATGGCGGGAAAGCCGCGCAAAAAGAAATTTCCCAAGCGGGC
CTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAGATGGCAGAAAGCTATAGCGAGATTGGTA
TGAAAGGGGACCGCAGAAAGGCAAGGCCACGACGAGCTGTACCAGGACTCA
GACCCGCAACAGGACACCTATGACGCTCTTACATGACAGGCCCTGCGCCCTCGG
TGA

10

20

【 図 2 】

FIG. 21AF

SEQ ID NO:32
CD8 SP 1-63
Myc tag- 64-93
HLA-A2 scFV 94-828
PD1 hinge - 829-906
PD1 TM - 907-969
IRES-973-1559
CD8 SP- 1566-1625
FLAG tag-1626-1649
CD19 scFV-1650-2375
CD8 hinge-2376-2510
CD8 TM-2511-2582
41BB-2583-2708
CD3z 2709-3044
ATGGCACTGCCAGTACCGCCCTGCTGCTGCCTTGGCCCTGCTGTCACGCGACG
CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGCAGGTGCAGCTGCAGCAG
TCTGGACCTAGCTGGTGAAGCCAGGAGCCTCCGTGAAGATGCTTGAAGGCCA
CGCGCTACACCTTACATCTTATACATCTCAGTGGTGAAGTGCAGCGCCGGACAG
GGCTGGAGTGGATCGGATGGATCTACCCAGCGCAGGCTCCACACAGTATAAAG
AGAAGTTCAAGGGCAAGACCACTGACCCCGGATAAGAGCAGCAGCACCCGCTA
CATGCTGCTGAGCAGCTGACACAGCGAGGACAGCGCCATCTACTTTTGGCCAGGG
AGGGCACAATACTATGCTATGACTATTTGGGGCAGGGCACCAGCTGACAGTGTCT
TAGCGGAGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGCTTGGCGCGCGCGGACGCGT
GCTGATGACCCAGACACCACTGAGCCTGGCCCTGAGCCTGGGGGATCAGGTGAGC
ATCTCCTGTAGATCTCTCAGAGCATCTGTCACCTCCAAGCGCAATACCTACTCGGA
GTGGTATCTGCAAGGCCAGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTATAAGGTGCTTA
ATCGGTTACGCGGCTGCTGACAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCCGACTTC
ACCTGAAAGATCAGCCGGTGGAGGAGAGGATCTGGCGGTGACTATTGTTTCCA
GGCTCCACGCTGCCACCCCTTTGGCGCGGCAAAAAGCTGGAGATCAAGACC
GAGAGGAGAGCAGAGGTGCCACAGCACACCCATCTCCAAGCCCTAGGCCAGCAG
GACAGTTCCAGACCCCTGGTGGTGGGAGTGGTGGGAGGCGCTGCTGGGCTCTTGGTG
CTGCTGGTGGTGGTGGCGGTGATGACCCCTCTCCCTCCCGCCCTCAACGCT
TACTGGCCGAAGCCGCTTGGAAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATAATGTTATTT
CACCATATTGGCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGCTCTT
GACGAGCATCTTCCAGGGGCTTTCCCTCCGCAAAAGGAATGCAAGGTGTGTTGA
ATGTCGTGAAGGAAGAGATCTCTCGGAAGCTCTTGAAGACAACAACCGTCTGTA
CGGACCCCTTTCAGGCGAGCGGAAACCCCACTGGCGCACAGGTGCTCTGGCGCC
AAAAGCCACGTTGATATAAGATGCTGCAAGCGGCGCACAAACCCAGTGGCAGCT
TGTGAGTGGATAGTTGTGGAAAGGATCAAAATGGCTCTCTCAAGCGTATTCAACA
AGGGCTCGAAGGATGCGCAAGGATACCCCAATGATGGGATCTGATCTGGGGCC
TCGGTGCACATGCTTACATGTTTGTGCGAGGTTAAAAAAGCTGCTAGGCCCC
TGCCACACCGGGACGTGGTTCCTTTGAAAAACACAGATGATAATATGGCCACAA
CTGAATGGCCTTACCAGTACGCCCTTGTCTCTGGCGCTGGCCCTGCTGCTCCAGC
CGCCAGGCGGACTACAAGACGATGACGACAAGGACATCCAGATGACACAGAC
TACATCTCCCTGCTGCTCTCGGAGACAGAGTACCACATGTTGACGGGCA
GTACGGACATTAAGTAATATTTAAATTTGATATGACGAGAAACAGATGGAATGTT
AACTCTGATCTACCATAATCAAGATTAACACTCAGGAGTCCATCAAGGTTTCAG
TGGCAGTGGGCTGGAAACAGATTATCTCTACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAG

30

40

50





【 図 2 1 A L 】

配列番号38  
 CD8 SP-ヌクレオチド1-63.  
 Mycタグ-ヌクレオチド64-93  
 scFV EGFR 94-816  
 CD8ヒンジ 817-951  
 CD8 TM 952-1023  
 41BB 1024-1149  
 CD3z 1150-1485  
 ATGGCACTGCCAGTGACCGCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGC  
 CAGACCCGAGCAGAAGCTGATCTCCGAGGAGGACCTGGACATCCTGCTGACCCAG  
 TCCCAGTGTATCTGAGCGTGTCCCAGGAGAGCGGGTIGAGCTTCAGCTGCCGGGC  
 CTCCAGTCTATCGGCACCAATATCCACTGGTATCAGCAGAGGACAAACGGCTCCC  
 CTCGCTGCTGATCAAGTATGCCAGCGAGTCCATCTCTGGCATCCCATCAGGTTT  
 AGCGGCTCCGGCTCTGGCACCAGCTTACCCCTGTCTATCAATAGCGTGGAGTCCGA  
 GGACATCGCCGATTAATAATTGCCAGCAGAACAATAACTGGCCACCACATTTGGCG  
 CAGGCACCAAGCTGGAGCTGAAGGGAGGCGGGCTCTGGAGGAGGAGGCAGCG  
 GCGGAGGAGGCTCCAGGTGCAGCTGAAGCAGTCCGGACAGGCCTGGTGCAGCC  
 TAGCCAGTCCCTGTCTATACCTGTACAGTGTCTGGCTTCAGCCTGACCAACTACG  
 GAGTGCAGCTGGGTGCGGCAGTCTCCAGGCAAGGGCTGGAGTGGCTGGCGGTGAT  
 CTGGAGCGGAGGCAATACAGACTATAACACCCCTTTTACATCCAGACTGTCTATCA  
 ATAAGGATAACAGCAAGTCCCAGGTGTCTTTAAGATGAATAGCCTCCAGTCCAAC  
 GACACCGCCATCTACTATTGTGCCAGAGCCCTGACATACTATGATTACAGTTCGC  
 CTATTTGGGGCCAGGCGACCCCTGGTGCAGTGCAGCCACCCTACCCAGCAGCCG  
 AGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGA  
 GCGATGTAGACCCGAGCTGTGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGCTTGACTTCGGCT  
 GCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGGGGTCTGCTGCTTTAC  
 TCGTGATCACTTTACTGTAAAGCGCGGTCCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG  
 CAACCTTCATGAGGCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTTTCATGCCG  
 GTTCCAGAGGAGGAGGAAAGCCGGCTGCCAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGACG  
 GCAGATGCTCCAGCTACAAGCAGGGGCAAGAACAGCTTACAACGAACCAATC  
 TTGGTCCGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAG  
 AAATGGGGGGAAAGCCGCGCAGAAAGAAATCCCAAGAGGGCTGTACAACGAGC  
 TCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAAGCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACG  
 CAGAAAGGCAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGACTCAGCACCACCACCAA  
 GGACACCTATGACGCTTTCACATGCAGGCCCTGCCCTCGGTGA

【 図 2 1 A M 】

配列番号39  
 EGFR aCAR(セツキシマブscFvに基づく)  
 MALPVTALLPLALLLHAARPDILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQR  
 TNGSPRLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSSINSVESEDIADYYCQNNNNWPTTFGA  
 GTKLELKGSGGGGGGGGGGGGGVQLKQSGPLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH  
 WVVRQSPGKLEWLGVWISGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKQVFFKMNSLQSNDAIY  
 YCARALTYDYEFAYWQGLTVTVSADYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP  
 EACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQ  
 PFMRPVQTTQEEEDGCSRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNLNELNLRRE  
 EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK  
 HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

10

20

30

40

50

【 図 2 1 A N 】

配列番号40  
 EGFR aCAR(バニツムマブscFvに基づく)  
 MALPVTALLPLALLLHAARPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTTCQASQDISNLYNLYQ  
 QKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSPRFSGSGSGTDFTTISSLPEDIATYFCQHFHDLPLAF  
 GGGTKVEIKGGGGGGGGGGGGGGVQLQESGPLVKPSETLSLCTVSGGVSSSGDY  
 YWTWIRQSPGKLEWIGHIYSGNTNYPNLSKRLTISIDTSKTFSLKSSVTAADTAI  
 YYCVRDRVTGAFDIWGGGTMTVSSDYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE  
 ACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPF  
 MRPVQTTQEEEDGCSRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNLNELNLRRE  
 EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK  
 HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

【 図 2 1 A O 】

配列番号41  
 EGFR aCAR(ニモツズマブscFvに基づく)  
 MALPVTALLPLALLLHAARPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRSSQNVHNSGNTYL  
 DWYQQTPGKAPKLLIYKVSNNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTTISSLPEDIATYFCQYSH  
 VPWTFQGQTKLQIGGGGGGGGGGGGGGGVQLQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTF  
 TNYIYIYVVRQAPGQLEWIGGINPTSGGNSFNEKFKTRVTTITADESSTTAYMELSSLRS  
 EDTAFYFCTRQGLWFDSDGRGDFWQGGTTVTVSSDYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTI  
 ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGR  
 KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEEDGCSRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNL  
 YNELNLRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM  
 KGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

【 図 2 1 A P 】

配列番号42

EGFR aCAR(ネシツムマブscFvに基づく)

MALPVTALLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ
QKPGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGSGSDFTLTISSLEPEDFAVYYCHQYGSPTLT
FGGGTKAEIKGGGGGGGGGGGGGGVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGD
YYWVSWIROPKGLWIGIYIYSGSDYNSPLSKSRVTMSVDTSKNQFSLKVNSVTAA
DTAVYYCARVSIQVGFVDFYWGQGLTVTVSSYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTASQPLS
LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIF
KQPFMRPVQTTQEEDGCSRFPPEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNLYNELNL
GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR
GKGDHGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

【 図 2 1 A Q 】

配列番号43

EGFR aCAR(C10 scFvに基づく)

MALPVTALLPLALLLHAARPOSVLTQDPAVSVVALGQTVKITCQGDLSRYSYFASWYQ
QKPGQAPTLYMYARNDRPAAGVDRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCAAWDDS
LNGYLFAGATKLTVLGGGGGGGGGGGGGGVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASG
GTFSSYAIQVVRQAPGQGLEWVGGIIPFGIANYAQKFGQGRVITADESTSSAYMELSS
LRSEDTAVYYCAREEGPYCSSTSCYAAFADIWGGQGLTVTLSSYKDDDDKTTTPAPRPPT
PAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAAPLAGTCGVLLSLVITLYC
KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSRFPPEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQG
QNLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS
EIGMKGERRRKGKGDHGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

【 図 2 1 A R 】

配列番号44

トラスツマブscFvに基づくHER2 aCAR

MALPVTALLPLALLLHAARPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVNTAVAWYQ
QKPGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGSGSDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHYTTPPTF
GQGTKVEIKGGGGGGGGGGGGGGVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI
HWVVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDT
AVYYCSRWGGDFYAMDYWGQGLTVTVSSYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTASQPLS
LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIF
KQPFMRPVQTTQEEDGCSRFPPEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNLYNELNL
GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR
GKGDHGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

【 図 2 1 A S 】

配列番号45

ベルツマブscFvに基づくHER2 aCAR

MALPVTALLPLALLLHAARPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASQDVSIQVAWYQ
QKPGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGSGSDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHYIYIYPT
FGQGTKVEIKGGGGGGGGGGGGGGVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYT
MDWVVRQAPGKGLEWVADVNPNSSGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCARNLGPSEFYFDYWGQGLTVTVSSYKDDDDKTTTPAPRPPTPAPTASQPLS
LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIF
KQPFMRPVQTTQEEDGCSRFPPEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNLYNELNL
GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR
GKGDHGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

20

【 図 2 1 A T 】

配列番号46

ヒトHLA-A2scFv-IgG- VKA17/VH1-3

METDITLLWVLLWVPGSTGDVVMQSPSLPVTLQGPASISCRSSQSVHSNGNTYLE
WFQQRPGQSPRRLIYKVSNRFSGVDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGVYYCFQGS
VPRTFGGQTKLEIKGGGGGGGGGGGGGGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGTY
FTSYHIQWVRQAPGQRLWVWYIPGDDGSTQYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSS
LRSEDTAVYYCAREGTYIAMDYWGQGLTVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAPPELLGGP
SVFLFPPKPKDITLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFCVSMHEALHNHYTQKLSLSLSPG

【 図 2 1 A U 】

配列番号47

ヒトHLA-A2scFv-IgG- VKA17/VH1-69

METDITLLWVLLWVPGSTGDVVMQSPSLPVTLQGPASISCRSSQSVHSNGNTYLE
WFQQRPGQSPRRLIYKVSNRFSGVDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGVYYCFQGS
VPRTFGGQTKLEIKGGGGGGGGGGGGGGVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGTT
FSSYHIQWVRQAPGQGLEWVWYIPGDDGSTQYNEKFKGRVTITADKSTASTAYMELSS
LRSEDTAVYYCAREGTYIAMDYWGQGLTVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAPPELLGGP
SVFLFPPKPKDITLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFCVSMHEALHNHYTQKLSLSLSPG

30

40

50

【 2 1 A V 】

配列番号48

ヒトHLA-A2scFv-IgG VKA18/VH1-3

METDTRLWVLLWVPGSTGDIVMTQPLSLVTPGQPASISCRSSQSIHNSNGNTYLE
WYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFGSGVDRFSGSGSDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGS
HYPRTFGGGKVEIKGGGSGGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG
YTFSSYHIQWVRQAPGQRLEWGMWYIPGDGSTQYNEKFKGRVTITRDTASTAYMEL
SSLRSEDATVYYCAREGTYYAMDYWGQGLTVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG

【 2 1 A W 】

配列番号49

ヒトHLA-A2scFv-IgG VKA18/VH1-69

METDTRLWVLLWVPGSTGDIVMTQPLSLVTPGQPASISCRSSQSIHNSNGNTYLE
WYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFGSGVDRFSGSGSDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGS
HYPRTFGGGKVEIKGGGSGGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG
TFSSYHIQWVRQAPGQGLEWGMWYIPGDGSTQYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELS
SLRSEDATVYYCAREGTYYAMDYWGQGLTVTVSSVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG

10

【 2 2 】

| 染色体番号 | iCAR標の遺伝子 |
|-------|-----------|
| 1     | ABCA4     |
| 1     | ADAM30    |
| 1     | CACNA1S   |
| 1     | CD101     |
| 1     | CD164L2   |
| 1     | CD1A      |
| 1     | CLCA2     |
| 1     | CLSTN1    |
| 1     | CR1       |
| 1     | CR2       |
| 1     | CSMD2     |
| 1     | ELTD1     |
| 1     | EMC1      |
| 1     | EPHA10    |
| 1     | FCGR2A    |
| 1     | FCGR2B    |
| 1     | FCGR3A    |
| 1     | FCRL3     |
| 1     | FCRL4     |
| 1     | FCRL5     |
| 1     | GPR37L1   |
| 1     | GPR88     |
| 1     | IGSF3     |
| 1     | IL22RA1   |
| 1     | ITGA10    |
| 1     | LDLRAD2   |
| 1     | LEPR      |
| 1     | LRP8      |
| 1     | MR1       |
| 1     | NFASC     |
| 1     | NOTCH2    |
| 1     | OR10J1    |
| 1     | OR10R2    |
| 1     | OR10T2    |
| 1     | OR2G2     |
| 1     | OR6K3     |
| 1     | OR6N1     |
| 1     | PIGR      |
| 1     | PLXNA2    |
| 1     | PTCHD2    |
| 1     | SDC3      |
| 1     | SELE      |
| 1     | SELL      |

【 2 2 】

FIG. 22

| Chr No. | iCAR Target Gene |
|---------|------------------|
| 1       | ABCA4            |
| 1       | ADAM30           |
| 1       | CACNA1S          |
| 1       | CD101            |
| 1       | CD164L2          |
| 1       | CD1A             |
| 1       | CLCA2            |
| 1       | CLSTN1           |
| 1       | CR1              |
| 1       | CR2              |
| 1       | CSMD2            |
| 1       | ELTD1            |
| 1       | EMC1             |
| 1       | EPHA10           |
| 1       | FCGR2A           |
| 1       | FCGR2B           |
| 1       | FCGR3A           |
| 1       | FCRL3            |
| 1       | FCRL4            |
| 1       | FCRL5            |
| 1       | GPR37L1          |
| 1       | GPR88            |
| 1       | IGSF3            |
| 1       | IL22RA1          |
| 1       | ITGA10           |
| 1       | LDLRAD2          |
| 1       | LEPR             |
| 1       | LRP8             |
| 1       | MR1              |
| 1       | NFASC            |
| 1       | NOTCH2           |
| 1       | OR10J1           |
| 1       | OR10R2           |
| 1       | OR10T2           |
| 1       | OR2G2            |
| 1       | OR6K3            |
| 1       | OR6N1            |
| 1       | PIGR             |
| 1       | PLXNA2           |
| 1       | PTCHD2           |
| 1       | SDC3             |
| 1       | SELE             |
| 1       | SELL             |

20

30

40

50

|   |          |
|---|----------|
| 1 | SELP     |
| 1 | SEMA6C   |
| 1 | TAS1R2   |
| 1 | TLRS     |
| 1 | TMEM81   |
| 1 | TNFRSF1B |
| 1 | USH2A    |
| 2 | DPP10    |
| 2 | GPR35    |
| 2 | ITGA4    |
| 2 | ITGA6    |
| 2 | LCT      |
| 2 | LRP1B    |
| 2 | LRP2     |
| 2 | LY75     |
| 2 | OR6B2    |
| 2 | PLA2R1   |
| 2 | SCN7A    |
| 2 | THSD7B   |
| 3 | ALCAM    |
| 3 | ANO10    |
| 3 | ATP13A4  |
| 3 | CCRL2    |
| 3 | CD200    |
| 3 | CD200R1  |
| 3 | CDCP1    |
| 3 | CDHR4    |
| 3 | CELSR3   |
| 3 | CLDN18   |
| 3 | CLSTN2   |
| 3 | CSPG5    |
| 3 | CX3CR1   |
| 3 | DRD3     |
| 3 | EPHB3    |
| 3 | GABRR3   |
| 3 | GPR128   |
| 3 | GRM7     |
| 3 | HEG1     |
| 3 | HTR3C    |
| 3 | HTR3D    |
| 3 | IGSF11   |
| 3 | IL17RC   |
| 3 | IL17RD   |
| 3 | IL5RA    |
| 3 | IMP2     |
| 3 | ITGA9    |

|   |           |
|---|-----------|
| 3 | LRIG1     |
| 3 | LRRC15    |
| 3 | MST1R     |
| 3 | NAALADL2  |
| 3 | ORSAC1    |
| 3 | ORSH1     |
| 3 | ORSH14    |
| 3 | ORSH15    |
| 3 | ORSH6     |
| 3 | PLXND1    |
| 3 | PRRT3     |
| 3 | PTPRG     |
| 3 | ROBO2     |
| 3 | RYK       |
| 3 | SEMA5B    |
| 3 | SLC22A14  |
| 3 | SLC4A7    |
| 3 | SUSD5     |
| 3 | TFRC      |
| 3 | TMEM44    |
| 3 | ZPLD1     |
| 4 | CNGA1     |
| 4 | CORIN     |
| 4 | EGF       |
| 4 | EMCN      |
| 4 | ENPEP     |
| 4 | EPHA5     |
| 4 | EVC2      |
| 4 | FAT1      |
| 4 | FAT4      |
| 4 | FRAS1     |
| 4 | GYPB      |
| 4 | GYPB      |
| 4 | KDR       |
| 4 | KIAA0922  |
| 4 | KLB       |
| 4 | PARM1     |
| 4 | PDGFRA    |
| 4 | TLR1      |
| 4 | TLR10     |
| 4 | TLR6      |
| 4 | TMEM156   |
| 4 | TMPRSS11A |
| 4 | TMPRSS11B |
| 4 | TMPRSS11E |
| 5 | ADAM19    |

10

20

【 ☒ 】

|   |          |
|---|----------|
| 5 | ADRB2    |
| 5 | CDH12    |
| 5 | CDHR2    |
| 5 | COL23A1  |
| 5 | FAT2     |
| 5 | FGFR4    |
| 5 | GABRG2   |
| 5 | GPR98    |
| 5 | GRM6     |
| 5 | HAVCR1   |
| 5 | HAVCR2   |
| 5 | IL6ST    |
| 5 | LNPEP    |
| 5 | MEGF10   |
| 5 | PCDH12   |
| 5 | PCDHA2   |
| 5 | PCDHA4   |
| 5 | PCDHA8   |
| 5 | PCDHA9   |
| 5 | PCDHB10  |
| 5 | PCDHB11  |
| 5 | PCDHB13  |
| 5 | PCDHB15  |
| 5 | PCDHB16  |
| 5 | PCDHB3   |
| 5 | PCDHB4   |
| 5 | PCDHB6   |
| 5 | SLC06A1  |
| 5 | SV2C     |
| 6 | BAI3     |
| 6 | BTN1A1   |
| 6 | BTN3A2   |
| 6 | BTNL2    |
| 6 | ENPP1    |
| 6 | ENPP3    |
| 6 | GABRR1   |
| 6 | GFRAL    |
| 6 | GPR111   |
| 6 | GPR116   |
| 6 | GPR126   |
| 6 | GPRC6A   |
| 6 | HFE      |
| 6 | HLA-A    |
| 6 | HLA-B    |
| 6 | HLA-C    |
| 6 | HLA-DPA1 |

|   |          |
|---|----------|
| 6 | HLA-DQA1 |
| 6 | HLA-DQB1 |
| 6 | HLA-DQB2 |
| 6 | HLA-DRB1 |
| 6 | HLA-DRB5 |
| 6 | HLA-E    |
| 6 | HLA-F    |
| 6 | HLA-G    |
| 6 | ITPR3    |
| 6 | LMBRD1   |
| 6 | LRFN2    |
| 6 | LRP11    |
| 6 | MEP1A    |
| 6 | MICA     |
| 6 | MICB     |
| 6 | MUC21    |
| 6 | MUC22    |
| 6 | NCR2     |
| 6 | NOTCH4   |
| 6 | OPRM1    |
| 6 | OR10C1   |
| 6 | OR12D2   |
| 6 | OR14J1   |
| 6 | OR2J1    |
| 6 | OR5V1    |
| 6 | PKHD1    |
| 6 | PTCRA    |
| 6 | RAET1E   |
| 6 | RAET1G   |
| 6 | ROS1     |
| 6 | SDIM1    |
| 6 | SLC44A4  |
| 6 | TREM1    |
| 6 | TREM2    |
| 7 | AQP1     |
| 7 | CDHR3    |
| 7 | CNTNAP2  |
| 7 | DPP6     |
| 7 | EGFR     |
| 7 | ERVW-1   |
| 7 | GRM8     |
| 7 | HYAL4    |
| 7 | MUC12    |
| 7 | MUC17    |
| 7 | NPSR1    |
| 7 | OR2A12   |

30

40

50

|   |           |
|---|-----------|
| 7 | OR2A14    |
| 7 | OR2A2     |
| 7 | OR2A25    |
| 7 | OR2F2     |
| 7 | PKD1L1    |
| 7 | PODXL     |
| 7 | PTPRN2    |
| 7 | PTPRZ1    |
| 7 | TAS2R4    |
| 7 | THSD7A    |
| 7 | TMEM213   |
| 7 | ZAN       |
| 7 | ZP3       |
| 8 | ADAM7     |
| 8 | CHRNA2    |
| 8 | CSMD1     |
| 8 | CSMD3     |
| 8 | NRG1      |
| 8 | PRSS55    |
| 8 | SLC39A14  |
| 8 | TNFRSF10A |
| 8 | TNFRSF10B |
| 9 | ABCA1     |
| 9 | AQP7      |
| 9 | CNTNAP3   |
| 9 | CNTNAP3B  |
| 9 | GPR144    |
| 9 | GRIN3A    |
| 9 | KIAA1161  |
| 9 | MUSK      |
| 9 | OR13C2    |
| 9 | OR13C5    |
| 9 | OR13C8    |
| 9 | OR13C9    |
| 9 | OR13D1    |
| 9 | OR13F1    |
| 9 | OR1B1     |
| 9 | OR1L6     |
| 9 | OR1N1     |
| 9 | OR1N2     |
| 9 | OR1Q1     |
| 9 | OR252     |
| 9 | PCSK5     |
| 9 | ROR2      |
| 9 | SEMA4D    |
| 9 | TMEM2     |

|    |          |
|----|----------|
| 10 | ADRB1    |
| 10 | ANTXRL   |
| 10 | ATRNL1   |
| 10 | C10orf54 |
| 10 | CDH23    |
| 10 | COL17A1  |
| 10 | IL15RA   |
| 10 | MRC1     |
| 10 | NRP1     |
| 10 | OPN4     |
| 10 | PCDH15   |
| 10 | PKD2L1   |
| 10 | PLXDC2   |
| 10 | SLC29A3  |
| 10 | SLC39A12 |
| 10 | TACR2    |
| 10 | VSTM4    |
| 11 | AMICA1   |
| 11 | C11orf24 |
| 11 | CD248    |
| 11 | CD44     |
| 11 | CD5      |
| 11 | CD6      |
| 11 | CDON     |
| 11 | DCHS1    |
| 11 | DSCAML1  |
| 11 | FAT3     |
| 11 | FOLH1    |
| 11 | GDPD4    |
| 11 | GDPD5    |
| 11 | HTR3B    |
| 11 | IL10RA   |
| 11 | LRP4     |
| 11 | LRP5     |
| 11 | MFRP     |
| 11 | MPEG1    |
| 11 | MIRGPRE  |
| 11 | MIRGPRF  |
| 11 | MIRGPRX3 |
| 11 | MIRGPRX4 |
| 11 | MS4A4A   |
| 11 | MUC15    |
| 11 | NAALAD2  |
| 11 | OR10A2   |
| 11 | OR10D3   |
| 11 | OR10G4   |

10

20

【 ☒ 】

|    |        |
|----|--------|
| 11 | OR10G7 |
| 11 | OR10G9 |
| 11 | OR10Q1 |
| 11 | OR10S1 |
| 11 | OR1S1  |
| 11 | OR2AG1 |
| 11 | OR2AG2 |
| 11 | OR2D2  |
| 11 | OR4A15 |
| 11 | OR4A5  |
| 11 | OR4C11 |
| 11 | OR4C16 |
| 11 | OR4C3  |
| 11 | OR4C5  |
| 11 | OR4D6  |
| 11 | OR4X1  |
| 11 | OR51L1 |
| 11 | OR52A1 |
| 11 | OR52E1 |
| 11 | OR52E2 |
| 11 | OR52E4 |
| 11 | OR52E6 |
| 11 | OR52J3 |
| 11 | OR52L1 |
| 11 | OR52N1 |
| 11 | OR52N2 |
| 11 | OR56B4 |
| 11 | OR5A1  |
| 11 | OR5A2  |
| 11 | OR5AK2 |
| 11 | OR5AR1 |
| 11 | OR5B17 |
| 11 | OR5B3  |
| 11 | OR5D18 |
| 11 | OR5M11 |
| 11 | OR5R1  |
| 11 | OR5T2  |
| 11 | OR6A2  |
| 11 | OR6X1  |
| 11 | OR8A1  |
| 11 | OR8B2  |
| 11 | OR8B3  |
| 11 | OR8B4  |
| 11 | OR8D1  |
| 11 | OR8D2  |
| 11 | OR8H1  |

|    |          |
|----|----------|
| 11 | OR8H3    |
| 11 | OR8J3    |
| 11 | OR8K1    |
| 11 | OR8U1    |
| 11 | OR9G1    |
| 11 | OR9G4    |
| 11 | OR9Q2    |
| 11 | PTPRI    |
| 11 | ROBO3    |
| 11 | SLC22A10 |
| 11 | TMPRSS5  |
| 11 | TSPAN18  |
| 11 | ZP1      |
| 12 | CD163    |
| 12 | CD27     |
| 12 | CLEC12A  |
| 12 | CLEC2A   |
| 12 | CLEC4C   |
| 12 | ITGA7    |
| 12 | KLRB1    |
| 12 | KLRC2    |
| 12 | KLRC4    |
| 12 | KLRF2    |
| 12 | LRP6     |
| 12 | MANSC4   |
| 12 | OLR1     |
| 12 | OR10AD1  |
| 12 | OR10P1   |
| 12 | OR6C1    |
| 12 | OR6C74   |
| 12 | OR8S1    |
| 12 | OR9K2    |
| 12 | P2RX4    |
| 12 | P2RX7    |
| 12 | PTPRB    |
| 12 | PTPRQ    |
| 12 | SELPLG   |
| 12 | SLC38A4  |
| 12 | SLC5A8   |
| 12 | SLCO1B1  |
| 12 | SLCO1B7  |
| 12 | STAB2    |
| 12 | TAS2R13  |
| 12 | TAS2R20  |
| 12 | TAS2R30  |
| 12 | TAS2R31  |

30

40

50

|    |          |
|----|----------|
| 12 | TAS2R42  |
| 12 | TAS2R43  |
| 12 | TAS2R46  |
| 12 | TMEM119  |
| 12 | TMEM132B |
| 12 | TMEM132C |
| 12 | TMPRSS12 |
| 13 | ATP7B    |
| 13 | FLT3     |
| 13 | FREM2    |
| 13 | KL       |
| 13 | SGCG     |
| 13 | SHISA2   |
| 13 | SLC15A1  |
| 13 | TNFRSF19 |
| 14 | ADAM21   |
| 14 | C14orf37 |
| 14 | FLRT2    |
| 14 | GPR135   |
| 14 | GPR137C  |
| 14 | JAG2     |
| 14 | MMP14    |
| 14 | SYNDIG1L |
| 15 | ANPEP    |
| 15 | CD276    |
| 15 | CSPG4    |
| 15 | DUOX2    |
| 15 | IGDCC4   |
| 15 | ITGA11   |
| 15 | LYSMD4   |
| 15 | MEGF11   |
| 15 | PRTG     |
| 15 | SEMA4B   |
| 15 | SEMA6D   |
| 15 | SLC24A1  |
| 15 | SLC28A1  |
| 15 | TRPM1    |
| 15 | TYRO3    |
| 16 | ATP2C2   |
| 16 | CACNA1H  |
| 16 | CD19     |
| 16 | CDH11    |
| 16 | CDH3     |
| 16 | CDH5     |
| 16 | CNGB1    |
| 16 | CNTNAP4  |

|    |          |
|----|----------|
| 16 | GPR56    |
| 16 | IL4R     |
| 16 | ITGAL    |
| 16 | ITGAM    |
| 16 | ITGAX    |
| 16 | KCNG4    |
| 16 | MMP15    |
| 16 | NOMO1    |
| 16 | OR2C1    |
| 16 | PKD1     |
| 16 | PKD1L2   |
| 16 | TMC7     |
| 17 | ACE      |
| 17 | ASGR2    |
| 17 | C17orf80 |
| 17 | CD300A   |
| 17 | CD300E   |
| 17 | CD300LG  |
| 17 | CHRN1    |
| 17 | CXCL16   |
| 17 | GP1BA    |
| 17 | GUCY2D   |
| 17 | ITGA2B   |
| 17 | ITGA3    |
| 17 | ITGAE    |
| 17 | ITGB3    |
| 17 | KCNJ12   |
| 17 | LRR37A   |
| 17 | LRR37A2  |
| 17 | LRR37A3  |
| 17 | LRR37B   |
| 17 | MRC2     |
| 17 | OR1A2    |
| 17 | OR3A2    |
| 17 | OR4D1    |
| 17 | OR4D2    |
| 17 | RNF43    |
| 17 | SCN4A    |
| 17 | SDK2     |
| 17 | SEZ6     |
| 17 | TMEM132E |
| 17 | TNFSF12  |
| 17 | TTYH2    |
| 17 | TUSC5    |
| 18 | APCDD1   |
| 18 | CDH19    |

10

20

30

40

50

【 ☒ 】

|    |           |
|----|-----------|
| 18 | CDH20     |
| 18 | CDH7      |
| 18 | COLEC12   |
| 18 | DCC       |
| 18 | DSC1      |
| 18 | DSG1      |
| 18 | DYNAP     |
| 18 | MEP1B     |
| 18 | TNFRSF11A |
| 19 | ABCA7     |
| 19 | BCAM      |
| 19 | CATSPERG  |
| 19 | CATSPERG  |
| 19 | CD33      |
| 19 | CD97      |
| 19 | CFACAM21  |
| 19 | CLEC4M    |
| 19 | DLL3      |
| 19 | EMR1      |
| 19 | EMR2      |
| 19 | EMR3      |
| 19 | ERVV-2    |
| 19 | FAM187B   |
| 19 | FFAR3     |
| 19 | FPR1      |
| 19 | GFY       |
| 19 | GRIN3B    |
| 19 | ICAM3     |
| 19 | IL12RB1   |
| 19 | IL27RA    |
| 19 | KIR2DL3   |
| 19 | KIR2DL4   |
| 19 | KIR3DL1   |
| 19 | KIR3DL2   |
| 19 | KIR3DL3   |
| 19 | LAIR1     |
| 19 | LILRA2    |
| 19 | LILRB3    |
| 19 | LILRB4    |
| 19 | LILRB5    |
| 19 | MADCAM1   |
| 19 | MUC16     |
| 19 | OR10H1    |
| 19 | OR10H2    |
| 19 | OR10H3    |
| 19 | OR7C1     |

|    |          |
|----|----------|
| 19 | OR7D4    |
| 19 | OR7G1    |
| 19 | PTPRH    |
| 19 | SIGLEC10 |
| 19 | SIGLEC11 |
| 19 | SIGLEC12 |
| 19 | SIGLECS  |
| 19 | SIGLEC6  |
| 19 | SIGLEC8  |
| 19 | SIGLEC9  |
| 19 | SLC44A2  |
| 19 | SLC7A9   |
| 19 | TMPRSS9  |
| 19 | VN1R2    |
| 19 | VSIG10L  |
| 19 | VSTM2B   |
| 20 | JAG1     |
| 20 | LRRN4    |
| 20 | PTPRA    |
| 20 | SEL1L2   |
| 20 | SIGLEC1  |
| 20 | SIRPA    |
| 20 | SIRPB1   |
| 20 | SIRPG    |
| 20 | SLC24A3  |
| 21 | CLDN8    |
| 21 | DSCAM    |
| 21 | ICOSLG   |
| 21 | IFNAR1   |
| 21 | IFNGR2   |
| 21 | IGSF5    |
| 21 | KCNJ15   |
| 21 | NCAM2    |
| 21 | TMPRSS15 |
| 21 | TMPRSS2  |
| 21 | TMPRSS3  |
| 21 | UMODL1   |
| 22 | CELSR1   |
| 22 | COMT     |
| 22 | CSF2RB   |
| 22 | GGT1     |
| 22 | GGT5     |
| 22 | KREMEN1  |
| 22 | MCHR1    |
| 22 | P2RX6    |
| 22 | PKDREJ   |

50

【 図 2 3 】

|    |         |
|----|---------|
| 22 | SCARF2  |
| 22 | SEZ6L   |
| 22 | TMPRSS6 |

|            |
|------------|
| aCAR標的     |
| 5T4        |
| AFP        |
| AXL        |
| B7H6       |
| CD133      |
| CD19       |
| CD20       |
| CD22       |
| CD30       |
| CD44v6     |
| CD5        |
| CD7        |
| CD70       |
| CD80       |
| CD89       |
| CDH17      |
| CEA        |
| CLD18      |
| CLEC14a    |
| CLL-1      |
| cMet       |
| CS1        |
| EGFR       |
| EGFRvIII   |
| EpCAM      |
| NY-ESO-1   |
| FAP        |
| FHSR       |
| GP100      |
| GPC3       |
| HER2       |
| IL-13R_    |
| IL-13R_2   |
| K-Ras      |
| メソテリン      |
| MUC1       |
| MUC-CD     |
| NKG2Dリガンド  |
| NKG2D_リガンド |
| PDL1       |
| PSCA       |
| PSMA       |
| ROR1       |
| ROR-2      |
| サバイゼン      |

10

20

【 図 】

Fig. 23

|                |
|----------------|
| aCAR Targets   |
| 5T4            |
| AFP            |
| AXL            |
| B7H6           |
| CD133          |
| CD19           |
| CD20           |
| CD22           |
| CD30           |
| CD44v6         |
| CD5            |
| CD7            |
| CD70           |
| CD80           |
| CD89           |
| CDH17          |
| CEA            |
| CLD18          |
| CLEC14a        |
| CLL-1          |
| cMet           |
| CS1            |
| EGFR           |
| EGFRvIII       |
| EpCAM          |
| NY-ESO-1       |
| FAP            |
| FHSR           |
| GP100          |
| GPC3           |
| HER2           |
| IL-13R_        |
| IL-13R_2       |
| K-Ras          |
| Mesothelin     |
| MUC1           |
| MUC-CD         |
| NKG2D ligands  |
| NKG2D_ ligands |
| PDL1           |
| PSCA           |
| PSMA           |
| ROR1           |
| ROR-2          |
| Survivin       |

|        |
|--------|
| TEM8   |
| TGF_   |
| VEGFR2 |
| ALK    |

30

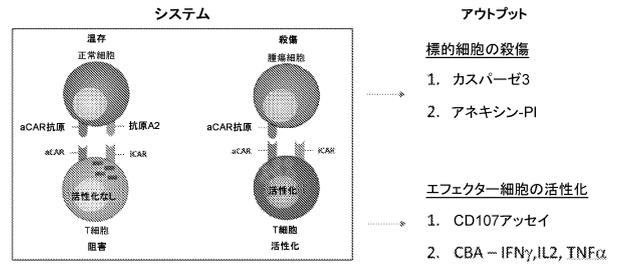
40

50

【 図 2 4 】

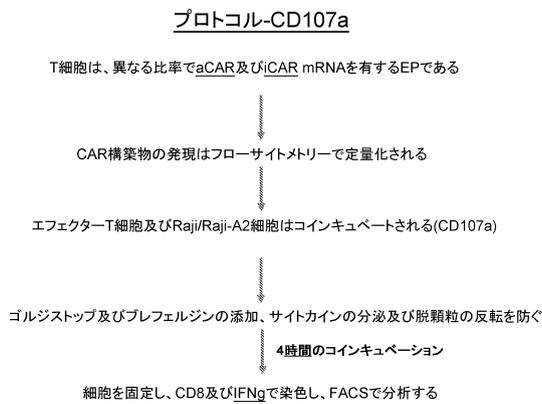
| 腫瘍型      |
|----------|
| ov       |
| prad     |
| meso     |
| coadread |
| hnsc     |
| luad     |
| lusc     |
| linc     |
| kirc     |
| kirp     |
| kich     |
| dlbc     |
| laml     |
| gbm      |
| brca     |
| sarc     |
| paad     |
| chol     |
| stad     |
| blca     |
| tgct     |
| skcm     |
| lgg      |
| ucs      |
| ucec     |
| cesc     |
| esca     |

【 図 2 5 】



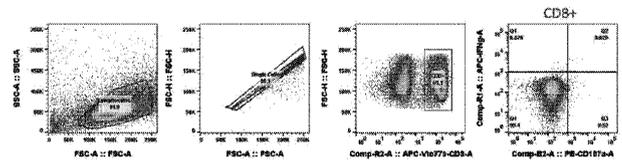
10

【 図 2 6 】



【 図 2 7 】

Fig. 27



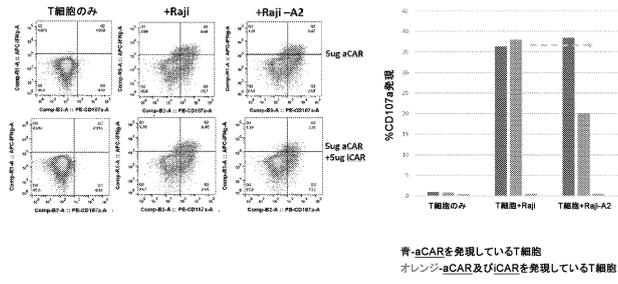
20

30

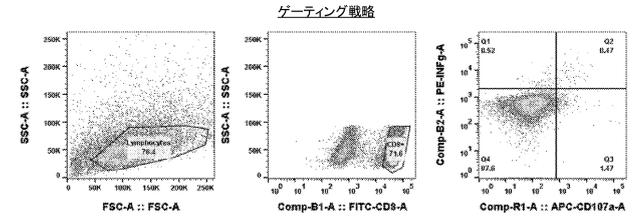
40

50

【 図 2 8 】



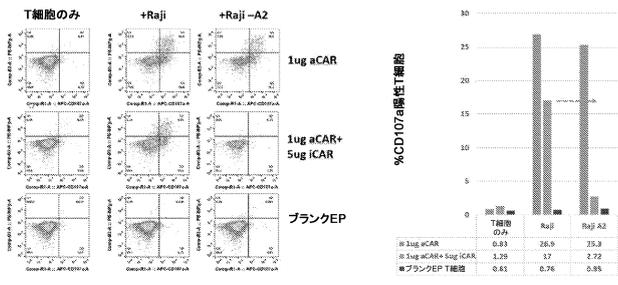
【 図 2 9 】



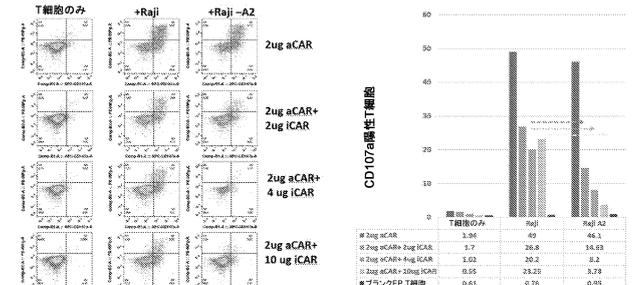
10

20

【 図 3 0 】



【 図 3 1 】

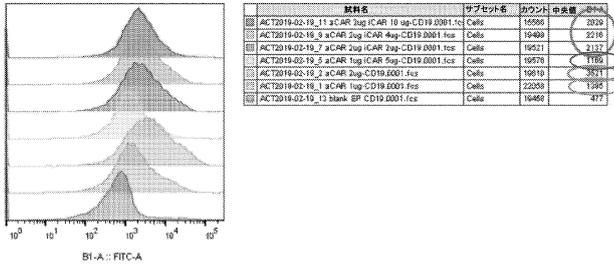


30

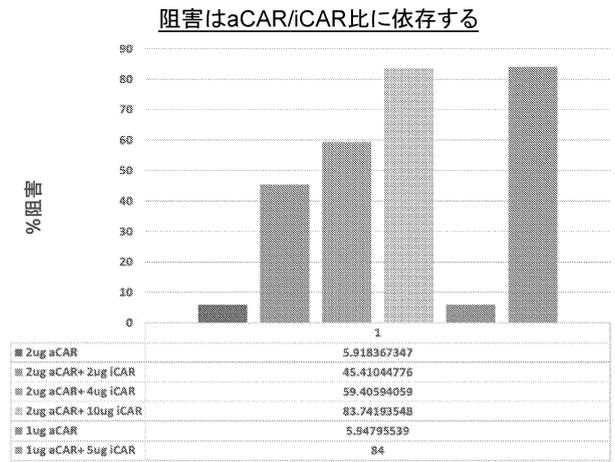
40

50

【 図 3 2 】



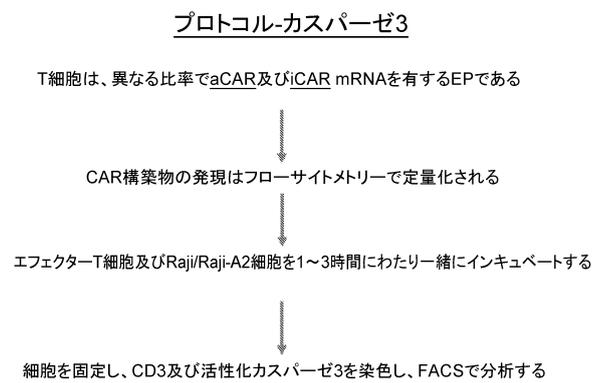
【 図 3 3 】



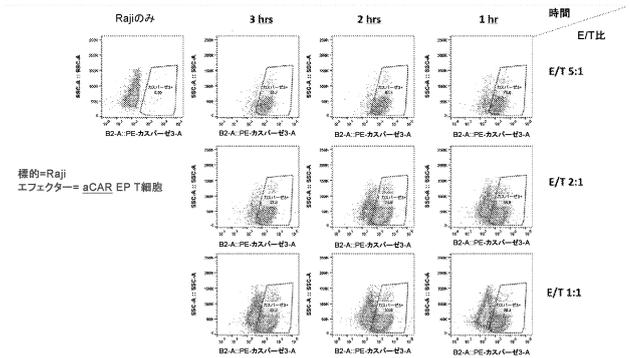
10

20

【 図 3 4 】



【 図 3 5 】

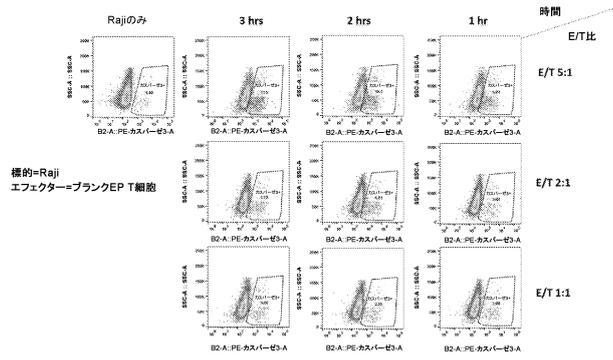


30

40

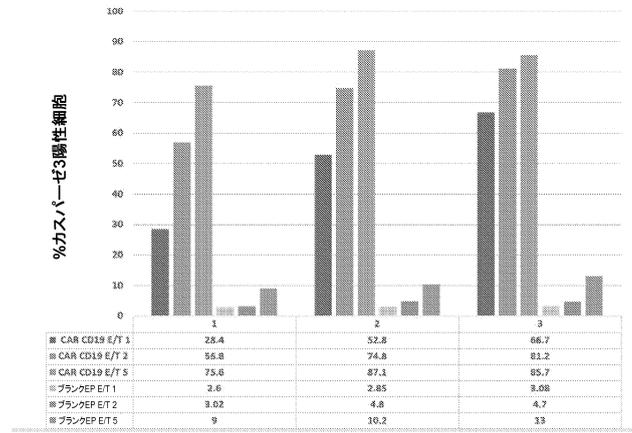
50

【 図 3 6 】



【 図 3 7 】

カスパーゼ3活性化の程度に対する時間及びE/T比の影響

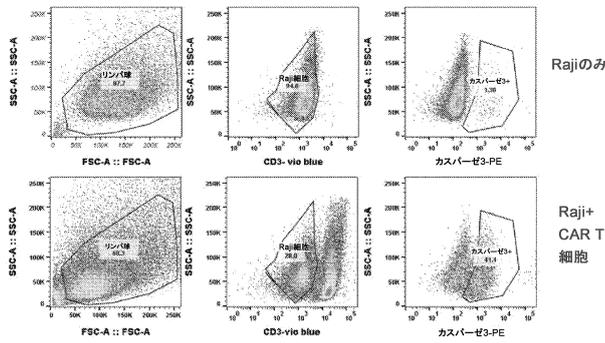


10

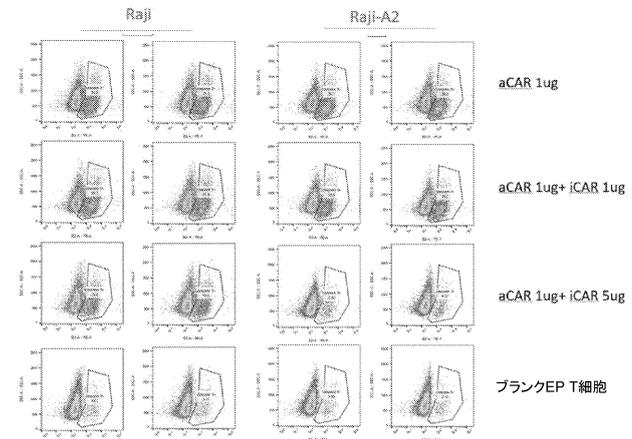
20

【 図 3 8 】

ゲーティング戦略-カスパーゼ3アッセイ



【 図 3 9 】

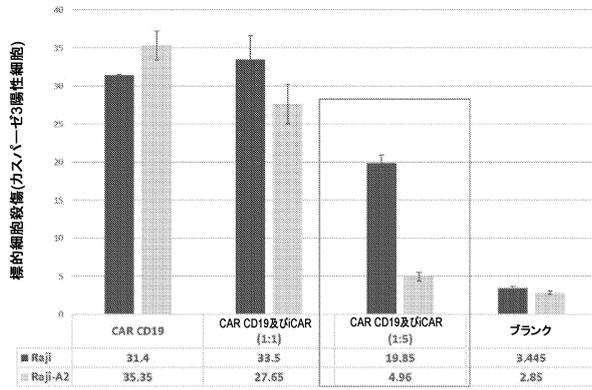


30

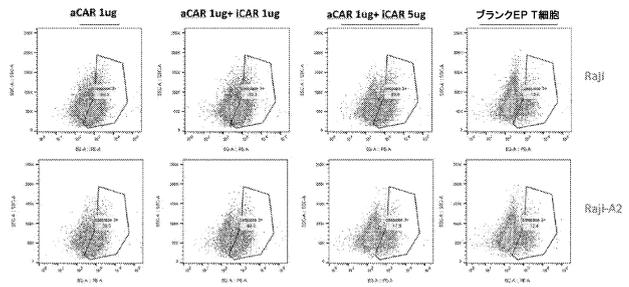
40

50

【 図 4 0 】



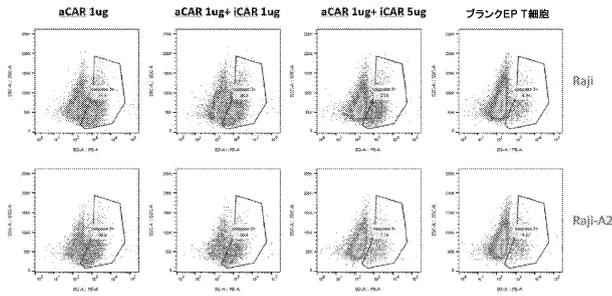
【 図 4 1 】



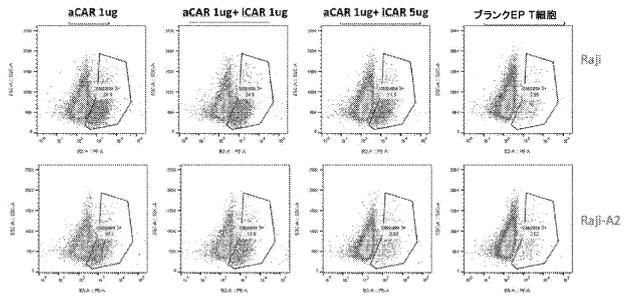
10

20

【 図 4 2 】



【 図 4 3 】

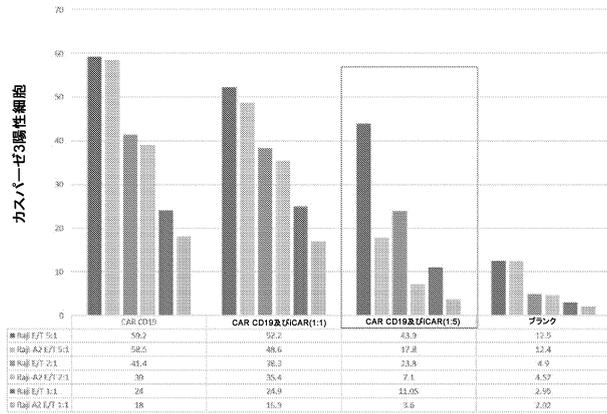


30

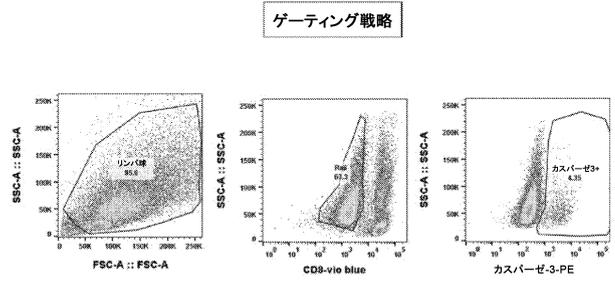
40

50

【 図 4 4 】



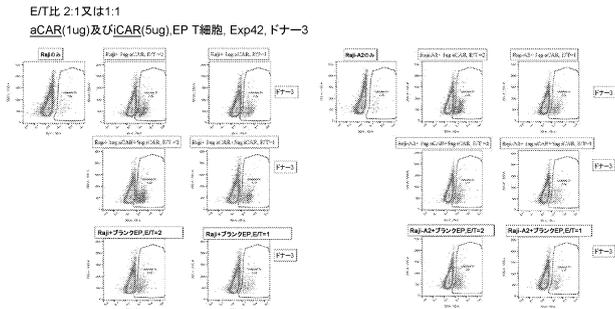
【 図 4 5 】



10

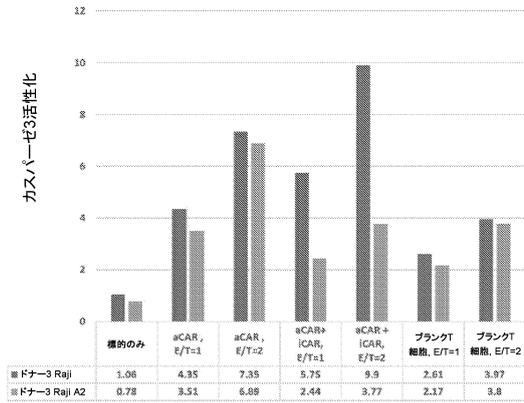
20

【 図 4 6 】



【 図 4 7 】

ドナー3, バックグラウンドレベルに対する有意な阻害

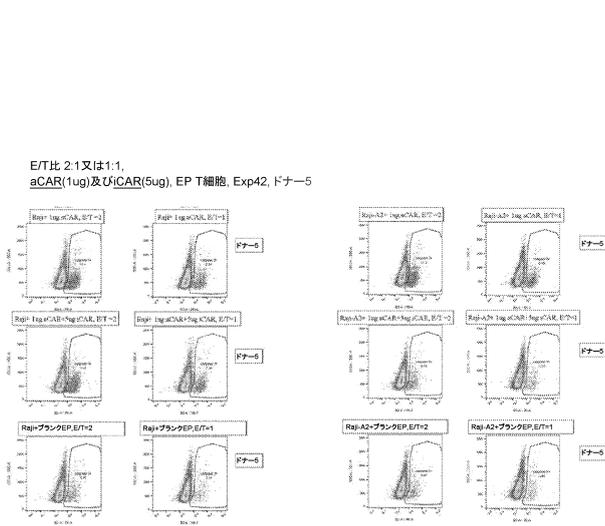


30

40

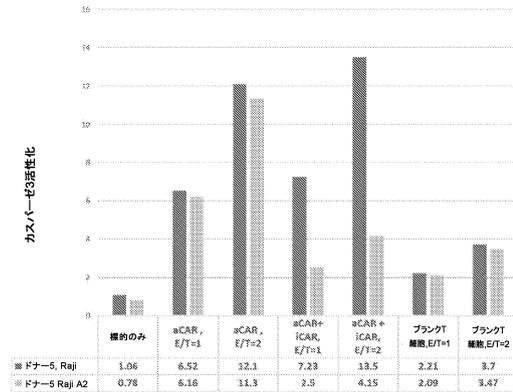
50

【 図 4 8 】



【 図 4 9 】

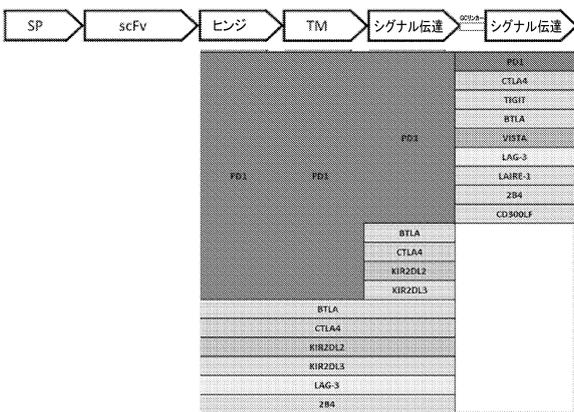
ドナー5, バックグラウンドレベルに対する有意な阻害, ドナー3と同様



10

20

【 図 5 0 】



【 図 5 0 B 】

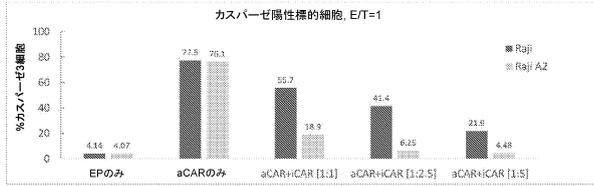
| ベクター ID | タグ  | aCAR scFV | aCAR ヒンジ | aCAR TM  | aCAR シグナル 1          | aCAR シグナル 2 | BICIST RONIC | レポーター | タグ2  | aCAR scFV | aCAR ヒンジ | aCAR シグナル 1 | aCAR シグナル 2 |
|---------|-----|-----------|----------|----------|----------------------|-------------|--------------|-------|------|-----------|----------|-------------|-------------|
| PL38    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | PD1                  | NA          | IRE5         | EGFP  |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL55    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | PD1                  | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| p59     | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | PD1                  | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL65    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | NA                   | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL76    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | KIR2DL2              | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL77    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | CSK                  | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL78    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | BTLA                 | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL79    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | CTLA4                | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL87    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | CTLA4 <sup>mut</sup> | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL88    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | LAG-3                | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL89    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | 2B4                  | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL81    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | PD1                  | CD300F      | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL86    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | BTLA                 | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL82    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | PD1                  | LAIR1       | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL83    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | PD1                  | TIGIT       | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL84    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | PD1                  | VISTA       | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL85    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | PD1                  | Ly9         | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL91    | Myc | PSMA      | PD1      | PD1      | PD1                  | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL92    | Myc | EGFR      | PD1      | PD1      | PD1                  | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL69    | Myc | BB7.2     | CTLA4mut | CTLA4mut | CTLA4mut             | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL70    | Myc | BB7.2     | LAG-3    | LAG-3    | LAG-3                | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL71    | Myc | BB7.2     | 2B4      | 2B4      | 2B4                  | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL72    | Myc | BB7.2     | BTLA     | BTLA     | BTLA                 | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL73    | Myc | BB7.2     | KIR2DL3  | KIR2DL3  | KIR2DL3              | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL74    | Myc | BB7.2     | KIR2DL3  | KIR2DL2  | KIR2DL2              | NA          | NA           | NA    |      | NA        | NA       | NA          | NA          |
| PL93    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | PD1                  | NA          | IRE5         | NA    | Flag | FMCE3     | CDB      | 41BB        | CD3 ゼータ     |
| PL94    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | NA                   | NA          | IRE5         | NA    | Flag | FMCE3     | CDB      | 41BB        | CD3 ゼータ     |
| PL95    | NA  | NA        | NA       | NA       | NA                   | NA          | NA           | NA    | Flag | FMCE3     | CDB      | CD28        | CD3 ゼータ     |
| PL96    | Myc | BB7.2     | PD1      | PD1      | PD1                  | NA          | P2A          | NA    | Flag | FMCE3     | CDB      | 41BB        | CD3 ゼータ     |

30

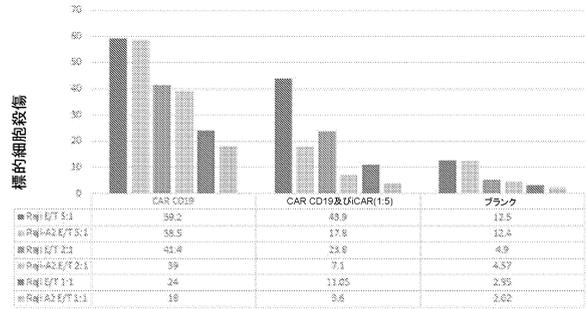
40

50

【 図 5 1 】



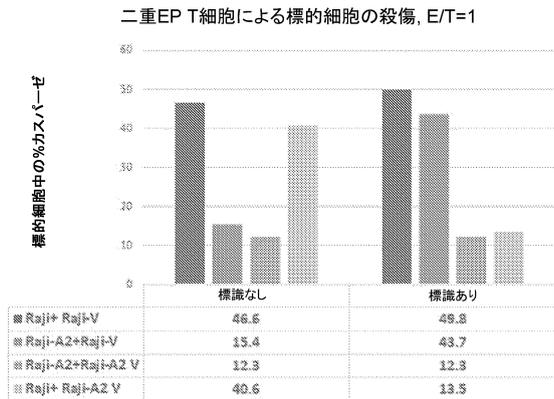
【 図 5 2 】



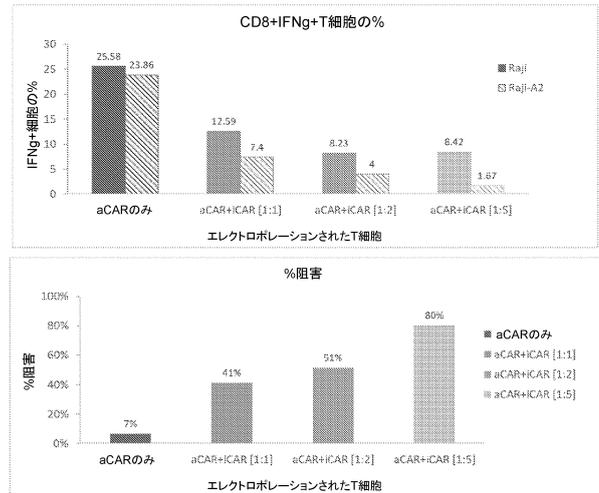
10

20

【 図 5 3 】



【 図 5 4 】

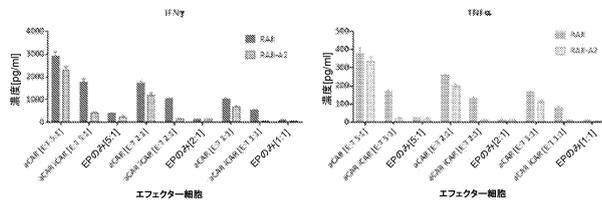


30

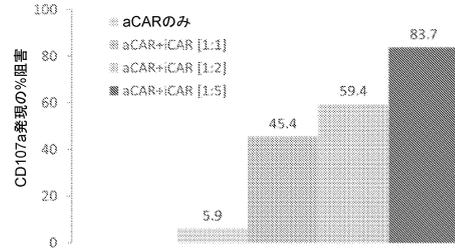
40

50

【 図 5 5 】



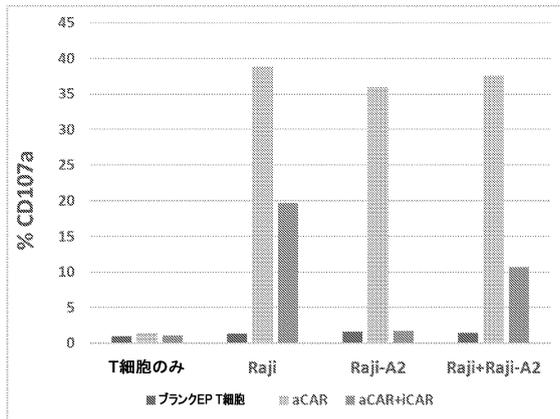
【 図 5 6 】



10

20

【 図 5 7 】



30

40

【 配列表 】

2022508554000001.app

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/IB2019/001108

| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b><br>INV. A61K39/00 C12N15/10 C12Q1/6886<br>ADD.  |   |  |
|--|---|--|
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC  |   |  |
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b><br>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)<br>A61K C07K C12N C12Q  |   |  |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  |   |  |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)<br>EPO-Internal, WPI Data   |   |  |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>  |   |  |
| Category*  | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No.  |
| X  | WO 2016/075612 A1 (RINAT NEUROSCIENCE CORP [US]; COLLECTIS [FR])<br>19 May 2016 (2016-05-19)<br>example 3                       | 1-105  |
| X  | WO 2016/097231 A2 (COLLECTIS [FR])<br>23 June 2016 (2016-06-23)<br>table 3  | 1-105  |
| X  | WO 2015/142314 A1 (SLOAN KETTERING INST CANCER [US])<br>24 September 2015 (2015-09-24)<br>cited in the application<br>example 1 | 1-105  |
|  | -----<br>-/--   |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.   |   |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.   |   |  |
| * Special categories of cited documents :  |   |  |
| *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance<br>*E* earlier application or patent but published on or after the international filing date<br>*L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)<br>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means<br>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed |   | *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention<br>*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone<br>*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art<br>*&* document member of the same patent family |
| Date of the actual completion of the international search<br><br>10 March 2020   |   | Date of mailing of the international search report<br><br>26/06/2020   |
| Name and mailing address of the ISA/<br>European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040,<br>Fax: (+31-70) 340-3016   |   | Authorized officer<br><br>Aslund, Fredrik  |

10

20

30

40

1

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/IB2019/001108

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |   |                       |
|--|---|-----------------------|
| Category*  | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
| X  | V. D. FEDOROV ET AL: "PD-1- and CTLA-4-Based Inhibitory Chimeric Antigen Receptors (iCARs) Divert Off-Target Immunotherapy Responses", SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE, vol. 5, no. 215, 11 December 2013 (2013-12-11), pages 215ra172-215ra172, XP055210508, ISSN: 1946-6234, DOI: 10.1126/scitranslmed.3006597 figures 1,8 | 1-105                 |
| X  | -----<br>WO 2014/145252 A2 (MILONE MICHAEL C [US]; WANG ENXIU [US])<br>18 September 2014 (2014-09-18)<br>example 9  | 1-105                 |
| X  | -----<br>WO 2018/061012 A1 (GAVISH GALILEE BIO APPL LTD [IL]; IMMPACT BIO LTD [IL])<br>5 April 2018 (2018-04-05)<br>example 4   | 1-105                 |

10

20

30

40

1

50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.  
PCT/IB2019/001108

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
- 2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
- 3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

- 1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
  
- 2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
  
- 3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
- 4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

30

40

1-105(partially)

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

10

1. claims: 1-105(partially)

A method of identifying an inhibitory chimeric antigen receptor (iCAR) or protective chimeric antigen receptor (pCAR)/activating chimeric antigen receptor (aCAR) target pair comprising:i) selecting an iCAR or a pCAR capable of preventing or attenuating undesired activation of an effector immune cell, wherein the iCAR or pCAR target is directed to a target extracellular polymorphic epitope from a gene selected from the group consisting of the 598 genes listed in Fig. 22; andii) selecting an aCAR capable of inducing activation of an effector immune cell, wherein the aCAR is directed to a target non-polymorphic cell surface epitope of a protein selected from the group consisting of the 49 target proteins listed Fig. 23;iii) expressing the iCAR or pCAR from step i) and the aCAR from step ii) in a population of cells;iv) subjecting the population of cells to one or more assays, wherein the one or more assays are capable of detecting preventing or attenuating undesired activation of an effector immune cell and/or detecting inducing activation ofm an effector immune cell: andv) identifying an iCAR or pCAR'aCAR target pair based on the assay results in step iv). Furthermore, a safe effector immune cell expressing an iCAR + aCAR combination as above and a method of treating cancer using a safe effector immune cell. Furthermore, a nucleic acid or vector encoding an iCAR and/or aCAR as above. The above methods and products concern an iCAR targeting ABCA4.

20

---

30

2-598. claims: 1-105(partially)

A method of identifying an inhibitory chimeric antigen receptor (iCAR) or protective chimeric antigen receptor (pCAR)/activating chimeric antigen receptor (aCAR) target pair comprising:i) selecting an iCAR or a pCAR capable of preventing or attenuating undesired activation of an effector immune cell, wherein the iCAR or pCAR target is directed to a target extracellular polymorphic epitope from a gene selected from the group consisting of the 598 genes listed in Fig. 22; andii) selecting an aCAR capable of inducing activation of an effector immune cell, wherein the aCAR is directed to a target non-polymorphic cell surface epitope of a protein selected from the group consisting of the 49 target proteins listed Fig. 23;iii) expressing the iCAR or pCAR from step i) and the aCAR from step ii) in a population of cells;iv) subjecting the population of cells to one or more assays, wherein the one or more assays are capable of detecting preventing or attenuating undesired activation of an effector immune cell and/or detecting inducing activation ofm an effector immune cell: andv) identifying an iCAR or pCAR'aCAR target pair based on the

40

50

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

assay results in step iv). Furthermore, a safe effector immune cell expressing an iCAR + aCAR combination as above and a method of treating cancer using a safe effector immune cell. Furthermore, a nucleic acid or vector encoding an iCAR and/or aCAR as above. The above methods and products concern an iCAR targeting a gene listed in Fig. 22, said gene not being ABCA4.

---

10

20

30

40

50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2019/001108

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|--|------------------|-------------------------|------------------|
| WO 2016075612 A1                       | 19-05-2016       | AU 2015344769 A1        | 18-05-2017       |
|  |                  | CA 2967222 A1           | 19-05-2016       |
|  |                  | EP 3218394 A1           | 20-09-2017       |
|  |                  | JP 2017535264 A         | 30-11-2017       |
|  |                  | US 2018044399 A1        | 15-02-2018       |
|  |                  | WO 2016075612 A1        | 19-05-2016       |
| WO 2016097231 A2                       | 23-06-2016       | AU 2015367317 A1        | 01-06-2017       |
|  |                  | CA 2969384 A1           | 23-06-2016       |
|  |                  | EP 3233095 A2           | 25-10-2017       |
|  |                  | JP 2018504104 A         | 15-02-2018       |
|  |                  | US 2017296623 A1        | 19-10-2017       |
|  |                  | WO 2016097231 A2        | 23-06-2016       |
| WO 2015142314 A1                       | 24-09-2015       | AU 2014386824 A1        | 22-10-2015       |
|  |                  | AU 2019213338 A1        | 29-08-2019       |
|  |                  | BR 112015023679 A2      | 24-10-2017       |
|  |                  | CA 2904265 A1           | 15-09-2014       |
|  |                  | CN 105246504 A          | 13-01-2016       |
|  |                  | EP 2968492 A1           | 20-01-2016       |
|  |                  | HK 1220387 A1           | 05-05-2017       |
|  |                  | JP 2017503472 A         | 02-02-2017       |
|  |                  | JP 2018196396 A         | 13-12-2018       |
|  |                  | KR 20150128997 A        | 18-11-2015       |
|  |                  | PH 12015502271 A1       | 01-02-2016       |
|  |                  | RU 2015143207 A         | 20-04-2017       |
|  |                  | SG 11201507688V A       | 29-10-2015       |
|  |                  | US 2015376296 A1        | 31-12-2015       |
| WO 2015142314 A1                       | 24-09-2015       |                         |                  |
| WO 2014145252 A2                       | 18-09-2014       | EP 2970426 A2           | 20-01-2016       |
|  |                  | EP 3623380 A1           | 18-03-2020       |
|  |                  | US 2014322183 A1        | 30-10-2014       |
|  |                  | US 2018022795 A1        | 25-01-2018       |
|  |                  | WO 2014145252 A2        | 18-09-2014       |
| WO 2018061012 A1                       | 05-04-2018       | AU 2017333446 A1        | 18-04-2019       |
|  |                  | BR 112019006006 A2      | 25-06-2019       |
|  |                  | CA 3038475 A1           | 05-04-2018       |
|  |                  | CN 109996871 A          | 09-07-2019       |
|  |                  | EP 3519564 A1           | 07-08-2019       |
|  |                  | JP 2019530456 A         | 24-10-2019       |
|  |                  | KR 20190052697 A        | 16-05-2019       |
|  |                  | US 2019248869 A1        | 15-08-2019       |
|  |                  | WO 2018061012 A1        | 05-04-2018       |

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)  
 A 6 1 P 35/02 (2006.01)  
 A 6 1 P 37/04 (2006.01)  
 A 6 1 K 35/17 (2015.01)

A 6 1 P 35/00  
 A 6 1 P 35/02  
 A 6 1 P 37/04  
 A 6 1 K 35/17

Z

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D  
 K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O  
 A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B  
 B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD  
 ,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,  
 MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,  
 RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW  
 ピー・オー・ボックス 4 0 4 4 , インパクト - バイオ リミテッド内

## (72)発明者

シャルビ - ユンゲル , アディ

イスラエル国 , ネス ジオナ 7 4 0 3 6 3 5 , イラン ラモーン ストリート 2 , ピー・オー・ボ  
 ックス 4 0 4 4 , インパクト - バイオ リミテッド内

## (72)発明者

グロス , ギデオ

イスラエル国 , モシャブ アルマゴー 1 2 9 2 2 0 0 , エム・ピー・コラジム アドレス I I I  
 - 1 - 5

## (72)発明者

ギブソン , ウィリアム , ジェー .

イスラエル国 , ネス ジオナ 7 4 0 3 6 3 5 , イラン ラモーン ストリート 2 , ピー・オー・ボ  
 ックス 4 0 4 4 , インパクト - バイオ リミテッド内

## (72)発明者

ダハリー , デビル

イスラエル国 , ネス ジオナ 7 4 0 3 6 3 5 , イラン ラモーン ストリート 2 , ピー・オー・ボ  
 ックス 4 0 4 4 , インパクト - バイオ リミテッド内

## (72)発明者

ベイマン , メラブ

イスラエル国 , ネス ジオナ 7 4 0 3 6 3 5 , イラン ラモーン ストリート 2 , ピー・オー・ボ  
 ックス 4 0 4 4 , インパクト - バイオ リミテッド内

## F ターム (参考)

4B063 QA05 QQ02 QQ08 QQ13 QS31

4B065 AA90X AA90Y AA94X AA94Y AB01 AC20 BA02 CA24 CA44

4C087 AA01 AA02 BB43 BB65 NA14 ZB09 ZB26 ZB27