

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-515471

(P2023-515471A)

(43)公表日 令和5年4月13日(2023.4.13)

(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	4 B 0 6 5
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00	Z N A	4 C 0 7 6
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 8 4
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		4 C 0 8 6
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		4 C 0 8 7

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全101頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2022-549811(P2022-549811)	(71)出願人	519028678 センティ バイオサイエンス インコーポレイテッド アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州 サウスサンフランシスコ コーポレート ドライブ 2 ファースト フロア
(86)(22)出願日	令和3年2月19日(2021.2.19)	(74)代理人	100102978 弁理士 清水 初志
(85)翻訳文提出日	令和4年10月12日(2022.10.12)	(74)代理人	100102118 弁理士 春名 雅夫
(86)国際出願番号	PCT/US2021/018847	(74)代理人	100160923 弁理士 山口 裕孝
(87)国際公開番号	WO2021/168298	(74)代理人	100119507 弁理士 刑部 俊
(87)国際公開日	令和3年8月26日(2021.8.26)	(74)代理人	100142929
(31)優先権主張番号	62/979,310		
(32)優先日	令和2年2月20日(2020.2.20)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(31)優先権主張番号	63/127,843		
(32)優先日	令和2年12月18日(2020.12.18)		
(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】 抑制性キメラ受容体構造物

(57)【要約】

本明細書で提供されているのは、抑制性キメラ抗原受容体組成物及びそのような組成物を含む細胞である。提供されているのはまた、抑制性キメラ抗原受容体及び細胞を使用する方法である。

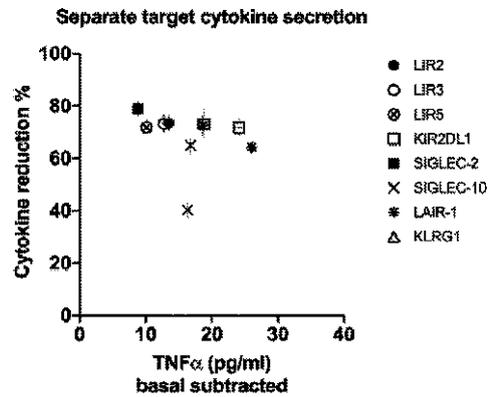
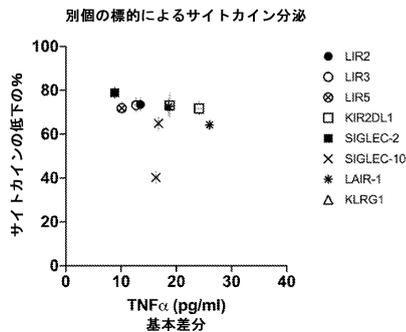


FIG. 4

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- (a) 細胞外タンパク質結合ドメインと、
- (b) 前記細胞外タンパク質結合ドメインに操作可能に連結されている、膜貫通ドメインと、
- (c) 前記膜貫通ドメインに操作可能に連結されている、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインと

を含む、キメラ抑制性受容体であって、

前記1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのそれぞれが、SLAP1、SLAP2、Dok-1、Dok-2、LAIR1、GRB-2、CD200R、SIRP、HAVR、GITR、PD-L1、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL2、CD94、KLRG-1、CEACAM1、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、及びSIGLEC-10から成る群から選択されるタンパク質に由来し、前記1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち少なくとも1つが、免疫調節細胞上に発現される腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害することができる、

10

前記キメラ抑制性受容体。

【請求項 2】

(a) 前記膜貫通ドメイン及び前記1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つが同じタンパク質に由来し、任意で前記膜貫通ドメインが前記同じタンパク質の細胞外ドメインの少なくとも一部をさらに含み；または

20

(b) 前記膜貫通ドメインが第1のタンパク質に由来し、且つ前記1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのそれぞれが、第1のタンパク質とは異なる第2のタンパク質に由来する、

請求項1に記載のキメラ抑制性受容体。

【請求項 3】

(a) 前記1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つがSLAP1に由来し、任意で前記細胞内シグナル伝達ドメインが、PAPAERPLPNPEGLDSDFLAVLSDYPSPDISPPIFRRGEKLRVISDEGGWWKAISLSTGRESYIPGICVARVYHGWLFEGLGRDKAEELLQLPDTKVG SFMIRESSETKKG FYSLSVRHRQVKHYRIFRLPNNWYYISPRLTFQCLEDLVNHYS EVADGLCCVLTTPCLTQSTAAPAVRASSSPVTLRQKTVDWRRVSR LQEDPEG TENPLGVDES LFSYGLRESIASYLSLTS EDNTS FDRKKKS ISLMYGGSKRKS SFFS SPPYFED (配列番号4) と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、もしくは約100%同一であるアミノ酸配列を含み、または前記細胞内シグナル伝達ドメインが、PAPAERPLPNPEGLDSDFLAVLSDYPSPDISPPIFRRGEKLRVISDEGGWWKAISLSTGRESYIPGICVARVYHGWLFEGLGRDKAEELLQLPDTKVG SFMIRESSETKKG FYSLSVRHRQVKHYRIFRLPNNWYYISPRLTFQCLEDLVNHYS EVADGLCCVLTTPCLTQSTAAPAVRASSSPVTLRQKTVDWRRVSR LQEDPEG TENPLGVDES LFSYGLRESIASYLSLTS EDNTS FDRKKKS ISLMYGGSKRKS SFFS SPPYFED (配列番号4) のアミノ酸配列を含み；または

30

40

(b) 前記1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つがSLAP1に由来し、任意で前記細胞内シグナル伝達ドメインが、PAPAERPLPNPEGLDSDFLAVLSDYPSPDISPPIFRRGEKLRVISDEGGWWKAISLSTGRESYIPGICVARVYHGWLFEGLGRDKAEELLQLPDTKVG SFMIRESSETKKG FYSLSVRHRQVKHYRIFRLPNNWYYISPRLTFQCLEDLVNHYS EVADGLCCVLTTPCLTQSTAAPAVRASSSPVTLRQKTVDWRRVSR LQEDPEG TENPLGVDES LFSYGLRESIASYLSLTS EDNTS FDRKKKS ISLMYGGSKRKS SFFS SPPYFED (配列番号4) のアミノ酸配列を含み；または

50

I R E S E T K K G F Y S L S V R H R Q V K H Y R I F R L P N N W Y Y I S P R L T
 F Q C L E D L V N H Y S E V A D G L C C V L T T P C L T Q S T A A P A V R A S S
 S P V T L R Q K T V D W R R V S R L Q E D P E G T E N P L G V D E S L F S Y G L
 R E S I A S Y L S L T S E D N T S F (配列番号 5) と少なくとも約 8 0 %、少なく
 とも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なく
 とも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なく
 とも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、もしくは約 1 0 0 % 同一であ
 るアミノ酸配列を含み、または前記細胞内シグナル伝達ドメインが、P A P A E R P L P
 N P E G L D S D F L A V L S D Y P S P D I S P P I F R R G E K L R V I S D E G G
 W W K A I S L S T G R E S Y I P G I C V A R V Y H G W L F E G L G R D K A E E L
 L Q L P D T K V G S F M I R E S E T K K G F Y S L S V R H R Q V K H Y R I F R L
 P N N W Y Y I S P R L T F Q C L E D L V N H Y S E V A D G L C C V L T T P C L T
 Q S T A A P A V R A S S S P V T L R Q K T V D W R R V S R L Q E D P E G T E N P
 L G V D E S L F S Y G L R E S I A S Y L S L T S E D N T S F (配列番号 5) のアミ
 ノ酸配列を含み；または

(c) 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが S L A P 2 に由来し、任
 意で前記細胞内シグナル伝達ドメインが、R K S L P S P S L S S S V Q G Q G P V T M
 E A E R S K A T A V A L G S F P A G G P A E L S L R L G E P L T I V S E D G D W
 W T V L S E V S G R E Y N I P S V H V A K V S H G W L Y E G L S R E K A E E L L
 L L P G N P G G A F L I R E S Q T R R G S Y S L S V R L S R P A S W D R I R H Y
 R I H C L D N G W L Y I S P R L T F P S L Q A L V D H Y S E L A D D I C C L L K
 E P C V L Q R A G P L P G K D I P L P V T V Q R T P L N W K E L D S S L L F S E
 A A T G E E S L L S E G L R E S L S F Y I S L N D E A V S L D D A (配列番号 6)
 と少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %
 、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %
 、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %
 、もしくは約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含み、または前記細胞内シグナル伝達ド
 メインが、R K S L P S P S L S S S V Q G Q G P V T M E A E R S K A T A V A L G S
 F P A G G P A E L S L R L G E P L T I V S E D G D W W T V L S E V S G R E Y N I
 P S V H V A K V S H G W L Y E G L S R E K A E E L L L L P G N P G G A F L I R E
 S Q T R R G S Y S L S V R L S R P A S W D R I R H Y R I H C L D N G W L Y I S P
 R L T F P S L Q A L V D H Y S E L A D D I C C L L K E P C V L Q R A G P L P G K
 D I P L P V T V Q R T P L N W K E L D S S L L F S E A A T G E E S L L S E G L R
 E S L S F Y I S L N D E A V S L D D A (配列番号 6) のアミノ酸配列を含み；または

(d) 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが K I R 2 D L 1 に由来し
 、任意で前記細胞内シグナル伝達ドメインが、H R W C S N K K N A A V M D Q E S A G
 N R T A N S E D S D E Q D P Q E V T Y T Q L N H C V F T Q R K I T R P S Q R P K
 T P P T D I I V Y T E L P N A E S R S K V V S C P (配列番号 6 0) と少なくとも約
 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約
 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約
 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、もしくは約 1
 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含み、または前記細胞内シグナル伝達ドメインが、H R
 W C S N K K N A A V M D Q E S A G N R T A N S E D S D E Q D P Q E V T Y T Q L N
 H C V F T Q R K I T R P S Q R P K T P P T D I I V Y T E L P N A E S R S K V V S
 C P (配列番号 6 0) のアミノ酸配列を含み；または

(e) 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが K L R G - 1 に由来し、
 任意で前記細胞内シグナル伝達ドメインが、M T D S V I Y S M L E L P T A T Q A Q N
 D Y G P Q Q K S S S S R P S C S C L G S G (配列番号 6 1) と少なくとも約 8 0 %、
 少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、
 少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、

10

20

30

40

50

少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、もしくは約 100% 同一であるアミノ酸配列を含み、または前記細胞内シグナル伝達ドメインが、MTDSVIY S M L E L P T A T Q A Q N D Y G P Q Q K S S S S R P S C S C L G S G (配列番号 61) のアミノ酸配列を含み；または

(f) 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが L A I R 1 に由来し、任意で前記細胞内シグナル伝達ドメインが、H R Q N Q I K Q G P P R S K D E E Q K P Q Q R P D L A V D V L E R T A D K A T V N G L P E K D R E T D T S A L A A G S S Q E V T Y A Q L D H W A L T Q R T A R A V S P Q S T K P M A E S I T Y A A V A R H (配列番号 62) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、もしくは約 100% 同一であるアミノ酸配列を含み、または前記細胞内シグナル伝達ドメインが、H R Q N Q I K Q G P P R S K D E E Q K P Q Q R P D L A V D V L E R T A D K A T V N G L P E K D R E T D T S A L A A G S S Q E V T Y A Q L D H W A L T Q R T A R A V S P Q S T K P M A E S I T Y A A V A R H (配列番号 62) のアミノ酸配列を含み；または

10

(g) 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが L I R 2 に由来し、任意で前記細胞内シグナル伝達ドメインが、L R H R R Q G K H W T S T Q R K A D F Q H P A G A V G P E P T D R G L Q W R S S P A A D A Q E E N L Y A A V K D T Q P E D G V E M D T R A A A S E A P Q D V T Y A Q L H S L T L R R K A T E P P P S Q E R E P P A E P S I Y A T L A I H (配列番号 63) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、もしくは約 100% 同一であるアミノ酸配列を含み、または前記細胞内シグナル伝達ドメインが、L R H R R Q G K H W T S T Q R K A D F Q H P A G A V G P E P T D R G L Q W R S S P A A D A Q E E N L Y A A V K D T Q P E D G V E M D T R A A A S E A P Q D V T Y A Q L H S L T L R R K A T E P P P S Q E R E P P A E P S I Y A T L A I H (配列番号 63) のアミノ酸配列を含み；または

20

(h) 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが L I R 3 に由来し、任意で前記細胞内シグナル伝達ドメインが、R R Q R H S K H R T S D Q R K T D F Q R P A G A A E T E P K D R G L L R R S S P A A D V Q E E N L Y A A V K D T Q S E D R V E L D S Q S P H D E D P Q A V T Y A P V K H S S P R R E M A S P P S S L S G E F L D T K D R Q V E E D R Q M D T E A A A S E A S Q D V T Y A Q L H S L T L R R K A T E P P P S Q E G E P P A E P S I Y A T L A I H (配列番号 64) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、もしくは約 100% 同一であるアミノ酸配列を含み、または前記細胞内シグナル伝達ドメインが、R R Q R H S K H R T S D Q R K T D F Q R P A G A A E T E P K D R G L L R R S S P A A D V Q E E N L Y A A V K D T Q S E D R V E L D S Q S P H D E D P Q A V T Y A P V K H S S P R R E M A S P P S S L S G E F L D T K D R Q V E E D R Q M D T E A A A S E A S Q D V T Y A Q L H S L T L R R K A T E P P P S Q E G E P P A E P S I Y A T L A I H (配列番号 64) のアミノ酸配列を含み；または

30

40

(i) 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが L I R 5 に由来し、任意で前記細胞内シグナル伝達ドメインが、Q H W R Q G K H R T L A Q R Q A D F Q R P P G A A E P E P K D G G L Q R R S S P A A D V Q G E N F C A A V K N T Q P E D G V E M D T R Q S P H D E D P Q A V T Y A K V K H S R P R R E M A S P P S P L S G E F L D T K D R Q A E E D R Q M D T E A A A S E A P Q D V T Y A Q L H S F T L R Q K A T E P P P S Q E G A S P A E P S V Y A T L A I H (配列番号 65) と少なくとも

50

約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、もしくは約 100% 同一であるアミノ酸配列を含み、または前記細胞内シグナル伝達ドメインが、
 HWRQ GK HRTLAQRQADFQRPPGAAEPEPKDGG LQRRSSPA
 ADVQGENFCAAVKNTQPEDGVEMDTRQSPHDEDPQAVTYA
 VKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEA
 AASEAPQDVTYAQLHSFTLRQKATEPPPSQEGASPAEPSV
 YATLAIH (配列番号 65) のアミノ酸配列を含み；または

(j) 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが SIGLEC - 2 に由来し、任意で前記細胞内シグナル伝達ドメインが、
 KLQRRWKRTQSQQGLQEN
 SSGQSFFVRNKKVRRAPLSEGP HSLGCYNPMMEDGISYTT
 LRFPEMNI PRTGDAESSEMQRPPPCDDTVTYSALHKRQV
 GDYENVIPDFPEDEGIHYSELIQFGVGERPQAQENVDYVI
 LKH (配列番号 66) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、もしくは約 100% 同一であるアミノ酸配列を含み、または前記細胞内シグナル伝達ドメインが、
 KLQRRWKRTQSQQGLQENSSGQSFF
 VVRNKKVRRAPLSEGP HSLGCYNPMMEDGISYTTLRFPEM
 NI PRTGDAESSEMQRPPPCDDTVTYSALHKRQVGDYENV
 IPDFPEDEGIHYSELIQFGVGERPQAQENVDYVILKH (配列番号 66) のアミノ酸配列を含み；または

(k) 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが SIGLEC - 10 に由来し、任意で前記細胞内シグナル伝達ドメインが、
 KILPKRRTQTETPRPRFSRHSTILDYINVVPTAGPLAQKRNQKATPNSPRTPLPPGAPSPESKKNQKKQYQLPSFPEPKSSTQAPESQESQEE LHYATLNFPGVRPRPEARMMPKGTQADYAEVKFQ (配列番号 67) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、もしくは約 100% 同一であるアミノ酸配列を含み、または前記細胞内シグナル伝達ドメインが、
 KILPKRRTQTETPRPRFSRHSTILDYINVVPTAGPLAQ
 KRNQKATPNSPRTPLPPGAPSPESKKNQKKQYQLPSFPEP
 KSSTQAPESQESQEE LHYATLNFPGVRPRPEARMMPKGTQA
 DYAEVKFQ (配列番号 67) のアミノ酸配列を含む、
 請求項 1 または 2 に記載のキメラ抑制性受容体。

【請求項 4】

(a) 前記膜貫通ドメインが、CD8、CD28、CD3、CD4、4-IBB、OX40、ICOS、2B4、CD25、CD7、LAX、LAT、LAIR1、GRB-2、Dok-1、Dok-2、SLAP1、SLAP2、CD200R、SIRP、HAVR、GITR、PD-L1、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL2、CD94、KLRG-1、CEACAM1、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、及び SIGLEC-10 から成る群から選択されるタンパク質に由来し；または

(b) 前記膜貫通ドメインが CD28 に由来し、任意で前記膜貫通ドメインが、FWVLVVGGVLA CYSLLVTVA FII FWV (配列番号 20) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、もしくは約 100% 同一であるアミノ酸配列を含み、または前記細胞内シグナル伝達ドメインが、

10

20

30

40

50

0%同一であるアミノ酸配列を含み、または前記膜貫通ドメインが、FWVLVVVGGLVLA C Y S L L V T V A F I I F W V (配列番号20)のアミノ酸配列を含み；または

(c)前記膜貫通ドメインがK I R 2 D L 1に由来し、任意で前記膜貫通ドメインが、I L I G T S V V I I L F I L L F F L L (配列番号76)と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、もしくは約100%同一であるアミノ酸配列を含み、または前記膜貫通ドメインが、I L I G T S V V I I L F I L L F F L L (配列番号76)のアミノ酸配列を含み；または

(d)前記膜貫通ドメインがK L R G - 1に由来し、任意で前記膜貫通ドメインが、V A I A L G L L T A V L L S V L L Y Q W I (配列番号78)と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、もしくは約100%同一であるアミノ酸配列を含み、または前記膜貫通ドメインが、V A I A L G L L T A V L L S V L L Y Q W I (配列番号78)のアミノ酸配列を含み；または

(e)前記膜貫通ドメインがL A I R 1に由来し、任意で前記膜貫通ドメインが、I L I G V S V V F L F C L L L V L F C L (配列番号79)と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、もしくは約100%同一であるアミノ酸配列を含み、または前記膜貫通ドメインが、I L I G V S V V F L F C L L L V L F C L (配列番号79)のアミノ酸配列を含み；または

(f)前記膜貫通ドメインがL I R 2に由来し、任意で前記膜貫通ドメインが、V I G I L V A V V L L L L L L L L F L I (配列番号80)と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、もしくは約100%同一であるアミノ酸配列を含み、または前記膜貫通ドメインが、V I G I L V A V V L L L L L L L L L F L I (配列番号80)のアミノ酸配列を含み；または

(g)前記膜貫通ドメインがL I R 3に由来し、任意で前記膜貫通ドメインが、V L I G V S V A F V L L L F L L L F L L L (配列番号81)と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、もしくは約100%同一であるアミノ酸配列を含み、または前記膜貫通ドメインが、V L I G V S V A F V L L L F L L L L F L L L (配列番号81)のアミノ酸配列を含み；または

(h)前記膜貫通ドメインがL I R 5に由来し、任意で前記膜貫通ドメインが、V L I G V L V V S I L L L S L L L F L L L (配列番号82)と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、もしくは約100%同一であるアミノ酸配列を含み、または前記膜貫通ドメインが、V L I G V L V V S I L L L S L L L F L L L (配列番号82)のアミノ酸配列を含み；または

(i)前記膜貫通ドメインがS I G L E C - 2に由来し、任意で前記膜貫通ドメインが、V A V G L G S C L A I L I L A I C G L (配列番号83)と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、もしくは約100%同一であるアミノ酸配列を含み、または前記膜貫通ドメインが、V A V G L G S C L A I L I

10

20

30

40

50

L A I C G L (配列番号 8 3) のアミノ酸配列を含み ; または

(j) 前記膜貫通ドメインが S I G L E C - 1 0 に由来し、任意で前記膜貫通ドメインが、G A F L G I G I T A L L F L C L A L I I M (配列番号 8 4) と少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、もしくは約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含み、または前記膜貫通ドメインが、G A F L G I G I T A L L F L C L A L I I M (配列番号 8 4) のアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のキメラ抑制性受容体。

【請求項 5】

(a) 前記キメラ抑制性受容体が、K I R 2 D L 1 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインと、L I R 2 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、または

(b) 前記キメラ抑制性受容体が、K I R 2 D L 1 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインと、L I R 3 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、または

(c) 前記キメラ抑制性受容体が、K I R 2 D L 1 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインと、L I R 5 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、または

(d) 前記キメラ抑制性受容体が、L I R 2 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインと、K I R 2 D L 1 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、または

(e) 前記キメラ抑制性受容体が、L I R 3 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインと、K I R 2 D L 1 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、または

(f) 前記キメラ抑制性受容体が、L I R 5 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインと、K I R 2 D L 1 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載のキメラ抑制性受容体。

【請求項 6】

(a) 前記タンパク質結合ドメインが、標的腫瘍上で発現されないタンパク質を結合し、または前記タンパク質結合ドメインが、非腫瘍細胞上で発現されるタンパク質を結合し、任意で、前記非腫瘍細胞が、脳、神経組織、内分泌、内皮、骨、骨髄、免疫系、筋肉、肺、肝臓、胆嚢、膵臓、消化管、腎臓、膀胱、雄性生殖器、雌性生殖器、脂肪、軟組織、及び皮膚から成る群から選択される組織に由来する ; 且つ

(b) 前記細胞外タンパク質結合ドメインが、リガンド結合ドメインを含む、または前記細胞外タンパク質結合ドメインが受容体結合ドメインを含む、または前記細胞外タンパク質結合ドメインが抗原結合ドメインを含み、任意で、前記細胞外タンパク質結合ドメインが抗原結合ドメインを含む場合、前記抗原結合ドメインは、抗体、抗体の抗原結合断片、F (a b) 断片、F (a b ') 断片、単鎖可変断片 (s c F v)、または単一ドメイン抗体 (s d A b) を含み、且つ任意で、前記抗原結合ドメインが s c F v を含む場合、前記 s c F v は、重鎖可変ドメイン (V H) と軽鎖可変ドメイン (V L) とを含み、前記 V H 及び V L はペプチドリンカーによって分離され、且つ任意で、前記ペプチドリンカーが、G G S (配列番号 2 3)、G G S G G S (配列番号 2 4)、G G S G G S G G S (配列番号 2 5)、G G S G G S G G S G G S (配列番号 2 6)、G G S G G S G G S G G S G G S (配列番号 2 7)、G G G S (配列番号 2 8)、G G G S G G G S (配列番号 2 9)、G G G S G G G S G G G S (配列番号 3 0)、G G G S G G G S G G G S G G G S (配列番号 3 1)、G G G S G G G S G G G S G G G S G G G S (配列番号 3 2)、G G G S (配列番号 3 3)、G G G S G G G S (配列番号 3 4)、G G G S G G G S G G G S (配列番号 3 5)、G G G S G G G S G G G S G G G S G G G S (配列番号 3 6)、G G G S G G G S G G G S G G G S G G G S G G G S (配列番号 3 7)、及び T T P A P R P P T P A P T I A L Q P L S L R P E A C R P A A G G A V H T R G L D F A C D Q T T P G E R S S L P A F Y P G T S G S C S G C G S L S L P (配列番号 9 4) から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、

請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載のキメラ抑制性受容体。

【請求項 7】

10

20

30

40

50

前記キメラ抑制性受容体が、
前記細胞外タンパク質結合ドメインと前記膜貫通ドメインとの間に配置され、前記細胞外タンパク質結合ドメイン及び前記膜貫通ドメインのそれぞれに操作可能に連結されるまたは物理的に連結される、スパーサー領域
をさらに含み、

任意で、前記キメラ抑制性受容体が、
前記膜貫通ドメインと前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つとの間に配置され、前記膜貫通ドメイン及び前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち前記 1 つのそれぞれに操作可能に連結されるまたは物理的に連結される、細胞内スパーサー領域
をさらに含み、

任意で、前記スパーサー領域が、CD 8、CD 4、CD 7、CD 28、IgG 1、IgG 4、FcγRIIb、LNGFR、及びPDGFRから成る群から選択されるタンパク質に由来し、または

前記スパーサー領域が、AAAI EVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKP (配列番号 39)、ESKYGP P C P S C P (配列番号 40)、ESKYGP P A P S A P (配列番号 41)、ESKYGP P C P P C P (配列番号 42)、EPKSCDKTHTCP (配列番号 43)、AAAFV P V F L P A K P T T T P A P R P P T P A P T I A S Q P L S L R P E A C R P A A G G A V H T R G L D F A C D I Y I W A P L A G T C G V L L L S L V I T L Y C N H R N (配列番号 44)、ACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQP CGANQTVCEPCLDSVTFSDVVSATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCA Y G Y Y Q D E T T G R C E A C R V C E A G S G L V F S C Q D K Q N T V C E E C P D G T Y S D E A D A E C (配列番号 46)、ACPTGLYTHSGECCKACNLGEGVAQP CGANQTV C (配列番号 47)、及びAVGQDTQEVIVVPHSLPFKV (配列番号 48) から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、
請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載のキメラ抑制性受容体。

【請求項 8】

前記腫瘍標的キメラ受容体がキメラ抗原受容体 (CAR) または操作された T 細胞受容体 (TCR) である、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のキメラ抑制性受容体。

【請求項 9】

前記免疫調節細胞が、T 細胞、CD 8 + T 細胞、CD 4 + T 細胞、ガンモデルタ T 細胞、細胞傷害性 T リンパ球 (CTL)、制御性 T 細胞、ウイルス特異的 T 細胞、ナチュラルキラー T (NKT) 細胞、ナチュラルキラー (NK) 細胞、B 細胞、腫瘍浸潤リンパ球 (TIL)、自然リンパ系細胞、肥満細胞、好酸球、好塩基球、好中球、骨髄細胞、マクロファージ、単球、樹状細胞、ESC 由来細胞、及び iPSC 由来細胞から成る群から選択される、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のキメラ抑制性受容体。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のキメラ抑制性受容体をコードする、操作された核酸。

【請求項 11】

請求項 10 に記載の操作された核酸を含む、発現ベクター。

【請求項 12】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のキメラ抑制性受容体、請求項 10 に記載の操作された核酸、または請求項 11 に記載の発現ベクターを含む、単離された免疫調節細胞であって、任意で前記細胞が、前記細胞の表面上に発現される腫瘍標的キメラ受容体をさらに含み、任意で、前記キメラ抑制性受容体に前記タンパク質が結合すると、前記キメラ抑制性受容体が、キメラ抑制性受容体を欠く他の点では同一である細胞と比べて、前記腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する、前記単離された免疫調節細胞。

【請求項 13】

10

20

30

40

50

(a) 請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のキメラ抑制性受容体、請求項 1 0 に記載の操作された核酸、請求項 1 1 に記載の発現ベクター、または請求項 1 2 に記載の単離された細胞と、

(b) 薬学的に許容される担体、薬学的に許容される賦形剤、またはそれらの組み合わせと

を含む、組成物。

【請求項 1 4】

免疫調節細胞の表面上に発現される腫瘍標的キメラ受容体によって誘導される細胞媒介性免疫応答を防止する、減弱させる、または阻害する方法であって、

前記免疫調節細胞の前記表面上に請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のキメラ抑制性受容体を発現するように前記免疫調節細胞を操作することを含み、

同族抗原が前記キメラ抑制性受容体に結合すると、前記細胞内シグナル伝達ドメインが、前記腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害し、

任意で、前記腫瘍標的キメラ受容体がキメラ抗原受容体 (C A R) または操作された T 細胞受容体であり、任意で、前記 C A R が、腫瘍細胞の表面に発現される 1 以上の抗原を結合する、前記方法。

10

【請求項 1 5】

免疫調節細胞の表面上に発現される腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する方法であって、

キメラ抑制性受容体が同族抗原を結合するのに好適な条件下で、請求項 1 2 に記載の単離された細胞または請求項 1 3 に記載の組成物を前記キメラ抑制性受容体の前記同族抗原と接触させることを含み、

前記抗原が前記キメラ抑制性受容体に結合すると、前記細胞内シグナル伝達ドメインが、前記腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害し、

任意で、前記腫瘍標的キメラ受容体がキメラ抗原受容体 (C A R) または操作された T 細胞受容体であり、任意で、前記 C A R が、腫瘍細胞の表面に発現される 1 以上の抗原を結合する、前記方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本出願はそのそれぞれがあらゆる目的で全体として参照によって本明細書に組み込まれる、2 0 2 0 年 1 2 月 1 8 日に提出された米国仮特許出願第 6 3 / 1 2 7 , 8 4 3 号及び 2 0 2 0 年 2 月 2 0 日に提出された同第 6 2 / 9 7 9 , 3 1 0 号の恩典を主張する。

30

【0 0 0 2】

配列表

本出願は E F S - W e b を介して提出された、且つその全体が参照によって本明細書に組み込まれる配列表を含有する。2 0 X X 年 X 月 X 日に作成された前記 A S I I コピーは X X X X X U S _ s e q u e n c e l i s t i n g . t x t という名称であり、X , X X X , X X X バイトの大きさである。

40

【背景技術】

【0 0 0 3】

背景

キメラ抗原受容体 (C A R) は T 細胞などの免疫調節細胞の生体内での標的を定めた活性化を可能にする。これらの組換え膜受容体は抗原結合ドメイン 1 つと 1 以上のシグナル伝達ドメイン (例えば、T 細胞活性化ドメイン) を有する。これらの特殊な受容体は T 細胞が腫瘍細胞上の特異的なタンパク質抗原を認識し、T 細胞の活性化及びシグナル伝達経路を誘導するのを可能にする。キメラ受容体を発現している T 細胞による臨床試験の最近の結果は、がん免疫療法のための薬剤としてのそれらの有用性の有力な支持を提供している。しかしながら、これらの有望な結果にもかかわらず、C A R T 細胞療法に関連する

50

多数の副作用が特定され、重大な安全性の懸念を生じている。副作用の1つはTCRとCARで操作したT細胞に由来する「狙いどおりの、ただし、組織を外した」有害事象であり、その際、CAR T細胞は標的腫瘍組織の外でそのリガンドに結合し、免疫応答を誘導する。したがって、適切なCARの標的を特定する能力は、同じ標的抗原を発現している正常細胞を損傷することなく、腫瘍を効果的に標的とし、治療するのに重要である。

【0004】

抑制性キメラ抗原受容体(iCARとしても知られる)は標的細胞上のその同族リガンドに結合したのち免疫調節細胞の活性を抑制するまたは低下させるタンパク質構成である。現在のiCARは抑制のためにレパレッジPD-1細胞内ドメインを考案しているが、再現するのが難しいことが判明している。したがって、iCARにて使用するための代わりの抑制性ドメインが必要である。

10

【発明の概要】

【0005】

概要

本明細書で提供されているのは、細胞外タンパク質結合ドメインと、膜貫通ドメインが細胞外タンパク質結合ドメインに操作可能に連結される膜貫通ドメインと、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインが膜貫通ドメインに操作可能に連結される1以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含むキメラ抑制性受容体であり、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち少なくとも1つは、免疫調節細胞上で発現される腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減衰させるまたは阻害することができる。

20

【0006】

いくつかの態様では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインはそれぞれ、SLAP1、SLAP2、Dok-1、Dok-2、LAIR1、GRB-2、CD200R、SIRP、HAVR、GITR、PD-L1、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL2、CD94、KLRG-1、CEACAM1、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、及びSIGLEC-10から成る群から選択されるタンパク質に由来する。

【0007】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つと同じタンパク質に由来する。

30

【0008】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは同じタンパク質の細胞外ドメインの少なくとも一部をさらに含む。

【0009】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは第1のタンパク質に由来し、且つ1以上の細胞内シグナル伝達ドメインは、第1のタンパク質とは異なる第2のタンパク質に由来する。

【0010】

いくつかの態様では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはSLAP1に由来する。

【0011】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインはPAPAERPLPNPEGLD SDFLAVLSDYPSPDISPPIFRRG EKLRVISDEGGWWKAIS LSTGRESYIPGICVARVYHGWLF EGLGRDKAEE LLQLPDT KVG SFMIRES ETKKGFYSLSVRHRQVKHYRIFRLPNNWYY ISPRLT FQCLEDLVNHYSEVADGLCCVLTTPCLTQSTAAP AVRASSSPVTLRQKTVDWRRVSR LQEDPEGTENPLGVDES LFSYGLRESIASYLSLTS EDNTS FDRKKKSISLMYGGSKR KSSFFSSPPYFED(配列番号4)またはPAPAERPLPNPEGLDSD FLAVLSDYPSPDISPPIFRRG EKLRVISDEGGWWKAISLS TGRESYIPGICVARVYHGWLF EGLGRDKAEE LLQLPDTKV

40

50

G S F M I R E S E T K K G F Y S L S V R H R Q V K H Y R I F R L P N N W Y Y I S
 P R L T F Q C L E D L V N H Y S E V A D G L C C V L T T P C L T Q S T A A P A V
 R A S S S P V T L R Q K T V D W R R V S R L Q E D P E G T E N P L G V D E S L F
 S Y G L R E S I A S Y L S L T S E D N T S F (配列番号 5) と少なくとも約 8 0 %、
 少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、
 少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、
 少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または約 1 0 0 % 同一
 であるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 1 2 】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは P A P A E R P L P N P E G L D 10
 S D F L A V L S D Y P S P D I S P P I F R R G E K L R V I S D E G G W W K A I S
 L S T G R E S Y I P G I C V A R V Y H G W L F E G L G R D K A E E L L Q L P D T
 K V G S F M I R E S E T K K G F Y S L S V R H R Q V K H Y R I F R L P N N W Y Y
 I S P R L T F Q C L E D L V N H Y S E V A D G L C C V L T T P C L T Q S T A A P
 A V R A S S S P V T L R Q K T V D W R R V S R L Q E D P E G T E N P L G V D E S
 L F S Y G L R E S I A S Y L S L T S E D N T S F D R K K K S I S L M Y G G S K R
 K S S F F S S P P Y F E D (配列番号 4) または P A P A E R P L P N P E G L D S D
 F L A V L S D Y P S P D I S P P I F R R G E K L R V I S D E G G W W K A I S L S
 T G R E S Y I P G I C V A R V Y H G W L F E G L G R D K A E E L L Q L P D T K V
 G S F M I R E S E T K K G F Y S L S V R H R Q V K H Y R I F R L P N N W Y Y I S 20
 P R L T F Q C L E D L V N H Y S E V A D G L C C V L T T P C L T Q S T A A P A V
 R A S S S P V T L R Q K T V D W R R V S R L Q E D P E G T E N P L G V D E S L F
 S Y G L R E S I A S Y L S L T S E D N T S F (配列番号 5) のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 1 3 】

いくつかの態様では、1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つは S L A P 2 に由来する。

【 0 0 1 4 】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは R K S L P S P S L S S S V Q G
 Q G P V T M E A E R S K A T A V A L G S F P A G G P A E L S L R L G E P L T I V 30
 S E D G D W W T V L S E V S G R E Y N I P S V H V A K V S H G W L Y E G L S R E
 K A E E L L L L P G N P G G A F L I R E S Q T R R G S Y S L S V R L S R P A S W
 D R I R H Y R I H C L D N G W L Y I S P R L T F P S L Q A L V D H Y S E L A D D
 I C C L L K E P C V L Q R A G P L P G K D I P L P V T V Q R T P L N W K E L D S
 S L L F S E A A T G E E S L L S E G L R E S L S F Y I S L N D E A V S L D D A (配列番号 6) と少なくとも約 8 0 %、
 少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、
 少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、
 少なくとも約 9 9 %、または約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 1 5 】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは R K S L P S P S L S S S V Q G 40
 Q G P V T M E A E R S K A T A V A L G S F P A G G P A E L S L R L G E P L T I V
 S E D G D W W T V L S E V S G R E Y N I P S V H V A K V S H G W L Y E G L S R E
 K A E E L L L L P G N P G G A F L I R E S Q T R R G S Y S L S V R L S R P A S W
 D R I R H Y R I H C L D N G W L Y I S P R L T F P S L Q A L V D H Y S E L A D D
 I C C L L K E P C V L Q R A G P L P G K D I P L P V T V Q R T P L N W K E L D S
 S L L F S E A A T G E E S L L S E G L R E S L S F Y I S L N D E A V S L D D A (配列番号 6) のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 1 6 】

いくつかの態様では、1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つは K I R 2 D L 1 に由来する。

10
20
30
40
50

【 0 0 1 7 】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインはHRWC SNKKNA AVMD QESAGNRTANSEDSDEQDPQEVTYTQLNHCVFTQRKITRPSQRPKTPPTDIIIVYTELPNAESRSKVVSCP (配列番号60)と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 1 8 】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、HRWC SNKKNA AVMD QESAGNRTANSEDDDEQDPQEVTYTQLNHCVFTQRKITRPSQRPKTPPTDIIIVYTELPNAESRSKVVSCP (配列番号60)のアミノ酸配列を含む。

10

【 0 0 1 9 】

いくつかの態様では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはKLRG-1に由来する。

【 0 0 2 0 】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインはMTDSVIYSMLELPTATQAQNDYGPQQKSSSRPSCSCLGSG (配列番号61)と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

20

【 0 0 2 1 】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、MTDSVIYSMLELPTATQAQNDYGPQQKSSSRPSCSCLGSG (配列番号61)のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 2 2 】

いくつかの態様では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはLAIR1に由来する。

30

【 0 0 2 3 】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインはHRQNQIKQGPPRSKDEEQKPPQRPDLAVDVLERTADKATVNGLPKEDRETDTSA LAAAGSSQEVTYAQLDHWALTQRTARAVSPQSTKPM AESITYAAVARH (配列番号62)と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 2 4 】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、HRQNQIKQGPPRSKDEEQKPPQRPDLAVDVLERTADKATVNGLPKEDRETDTSA LAAAGSSQEVTYAQLDHWALTQRTARAVSPQSTKPM AESITYAAVARH (配列番号62)のアミノ酸配列を含む。

40

【 0 0 2 5 】

いくつかの態様では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはLIR2に由来する。

【 0 0 2 6 】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインはLRHRRQGKHWTS TQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKDTQPEDGVEMDTRAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRRKATEP

50

PPSQEREPPEAEPSIYATLAIH (配列番号63) と少なくとも約80%、
 少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、
 少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、
 少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一
 であるアミノ酸配列を含む。

【0027】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、LRHRRQGKHWTSTQ
 RKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAV
 KDTQPEDGVEMDTRAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRKRKATE
 PPSQEREPPEAEPSIYATLAIH (配列番号63) のアミノ酸配列を含む

10

【0028】

いくつかの態様では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはLIR3に由
 来する。

【0029】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインはRRQRHSHKHR TSDQRK
 TDFQRPAAGAAETEPKDRGLLRRSSPAADVQEEENLYAAVKD
 TQSEDRVELDSQSPHDEDPQAVTYAPVKHSSSPRREMASPP
 SLSGELFDTKDRQVEEDRQMDTEAAASEASQDVTYAQLH
 SLTLRKRKATEPPPSQEGEPPEAEPSIYATLAIH (配列番号64)
 と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%
 、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%
 、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%
 、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

20

【0030】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、RRQRHSHKHR TSDQR
 KTDFQRPAAGAAETEPKDRGLLRRSSPAADVQEEENLYAAVK
 DTQSEDRVELDSQSPHDEDPQAVTYAPVKHSSSPRREMASP
 PSSLSGELFDTKDRQVEEDRQMDTEAAASEASQDVTYAQL
 HSLTLRKRKATEPPPSQEGEPPEAEPSIYATLAIH (配列番号64
) のアミノ酸配列を含む。

30

【0031】

いくつかの態様では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはLIR5に由
 来する。

【0032】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインはQHWRQGHKHR TLAQRQ
 ADFQRPPGAAEPEPKDGG LQRRSSPAADVQGENFC AAVKN
 TQPEDGVEMDTRQSPHDEDPQAVTYAKVKHSRPRREMASP
 PSPLSGELFDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQL
 HSFTLRQKATEPPPSQEGASPAEPSVYATLAIH (配列番号65
) と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91
 %、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95
 %、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99
 %、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

40

【0033】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、QHWRQGHKHR TLAQR
 QADFQRPPGAAEPEPKDGG LQRRSSPAADVQGENFC AAVK
 NTQPEDGVEMDTRQSPHDEDPQAVTYAKVKHSRPRREMAS
 PPSPLSGELFDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQL
 LHSFTLRQKATEPPPSQEGASPAEPSVYATLAIH (配列番号6

50

5) のアミノ酸配列を含む。

【0034】

いくつかの態様では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはSIGLEC-2に由来する。

【0035】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインはK L Q R R W K R T Q S Q Q G L Q E N S S G Q S F F V R N K K V R R A P L S E G P H S L G C Y N P M M E D G I S Y T T L R F P E M N I P R T G D A E S S E M Q R P P P D C D D T V T Y S A L H K R Q V G D Y E N V I P D F P E D E G I H Y S E L I Q F G V G E R P Q A Q E N V D Y V I L K H (配列番号66)と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

10

【0036】

一部の態様では、細胞内シグナル伝達ドメインはK L Q R R W K R T Q S Q Q G L Q E N S S G Q S F F V R N K K V R R A P L S E G P H S L G C Y N P M M E D G I S Y T T L R F P E M N I P R T G D A E S S E M Q R P P P D C D D T V T Y S A L H K R Q V G D Y E N V I P D F P E D E G I H Y S E L I Q F G V G E R P Q A Q E N V D Y V I L K H (配列番号66)のアミノ酸配列を含む。

【0037】

いくつかの態様では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはSIGLEC-10に由来する。

20

【0038】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインはK I L P K R R T Q T E T P R P R F S R H S T I L D Y I N V V P T A G P L A Q K R N Q K A T P N S P R T P L P P G A P S P E S K K N Q K K Q Y Q L P S F P E P K S S T Q A P E S Q E S Q E E L H Y A T L N F P G V R P R P E A R M P K G T Q A D Y A E V K F Q (配列番号67)と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

30

【0039】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、K I L P K R R T Q T E T P R P R F S R H S T I L D Y I N V V P T A G P L A Q K R N Q K A T P N S P R T P L P P G A P S P E S K K N Q K K Q Y Q L P S F P E P K S S T Q A P E S Q E S Q E E L H Y A T L N F P G V R P R P E A R M P K G T Q A D Y A E V K F Q (配列番号67)のアミノ酸配列を含む。

【0040】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインはCD8、CD28、CD3、CD4、4-1BB、OX40、ICOS、2B4、CD25、CD7、LAX、LAT、LAIR1、GRB-2、Dok-1、Dok-2、SLAP1、SLAP2、CD200R、SIRP、HAVR、GITR、PD-L1、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL2、CD94、KLRG-1、CEACAM1、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、及びSIGLEC-10から成る群から選択されるタンパク質に由来する。

40

【0041】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体はCD28に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0042】

いくつかの態様では膜貫通ドメインはFWVLVVVGGLACYSLLVTVAF

50

I I F W V (配列番号 20) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。

【0043】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは F W V L V V V G G V L A C Y S L L V T V A F I I F W V (配列番号 20) のアミノ酸配列を含む。

【0044】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は K I R 2 D L 1 に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0045】

いくつかの態様では膜貫通ドメインは I L I G T S V V I I L F I L L F F L L (配列番号 76) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。

【0046】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは I L I G T S V V I I L F I L L F F L L (配列番号 76) のアミノ酸配列を含む。

【0047】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は K L R G - 1 に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0048】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは V A I A L G L L T A V L L S V L L Y Q W I (配列番号 78) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。

【0049】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは V A I A L G L L T A V L L S V L L Y Q W I (配列番号 78) のアミノ酸配列を含む。

【0050】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は L A I R 1 に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0051】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは I L I G V S V V F L F C L L L L V L F C L (配列番号 79) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。

【0052】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは I L I G V S V V F L F C L L L L V L F C L (配列番号 79) のアミノ酸配列を含む。

【0053】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は L I R 2 に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0054】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは V I G I L V A V V L L L L L L L L L F L I (配列番号 80) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、

10

20

30

40

50

なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。

【0055】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは V I G I L V A V V L L L L L L L L L F L I (配列番号 80) のアミノ酸配列を含む。

【0056】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は L I R 3 に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0057】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは V L I G V S V A F V L L L F L L L F L L L (配列番号 81) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。 10

【0058】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは V L I G V S V A F V L L L F L L L F L L L (配列番号 81) のアミノ酸配列を含む。

【0059】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は L I R 5 に由来する膜貫通ドメインを含む。 20

【0060】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは V L I G V L V V S I L L L S L L L F L L L (配列番号 82) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。

【0061】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは V L I G V L V V S I L L L S L L L F L L L (配列番号 82) のアミノ酸配列を含む。

【0062】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は S I G L E C - 2 に由来する膜貫通ドメインを含む。 30

【0063】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは V A V G L G S C L A I L I L A I C G L (配列番号 83) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。

【0064】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは V A V G L G S C L A I L I L A I C G L (配列番号 83) のアミノ酸配列を含む。 40

【0065】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は S I G L E C - 10 に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0066】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは G A F L G I G I T A L L F L C L A L I I M (配列番号 84) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。 50

【 0 0 6 7 】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは G A F L G I G I T A L L F L C L A L I I M (配列番号 8 4) のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 6 8 】

いくつかの態様では、1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインは 2 つの細胞内シグナル伝達ドメインである。

【 0 0 6 9 】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は K I R 2 D L 1 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメイン及び L I R 2 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

【 0 0 7 0 】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は K I R 2 D L 1 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメイン及び L I R 3 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

【 0 0 7 1 】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は K I R 2 D L 1 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメイン及び L I R 5 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

【 0 0 7 2 】

いくつかの態様では、第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインはさらに K I R 2 D L 1 に由来する膜貫通ドメインを含む。

【 0 0 7 3 】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は L I R 2 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメイン及び K I R 2 D L 1 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

【 0 0 7 4 】

いくつかの態様では、第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインはさらに L I R 2 に由来する膜貫通ドメインを含む。

【 0 0 7 5 】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は L I R 3 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメイン及び K I R 2 D L 1 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

【 0 0 7 6 】

いくつかの態様では、第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインはさらに L I R 3 に由来する膜貫通ドメインを含む。

【 0 0 7 7 】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は L I R 5 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメイン及び K I R 2 D L 1 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

【 0 0 7 8 】

いくつかの態様では、第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインはさらに L I R 5 に由来する膜貫通ドメインを含む。

【 0 0 7 9 】

いくつかの態様では、タンパク質は標的腫瘍上で発現されない。

【 0 0 8 0 】

いくつかの態様では、タンパク質は非腫瘍細胞上で発現される。

【 0 0 8 1 】

いくつかの態様では、タンパク質は、脳、神経組織、内分泌、内皮、骨、骨髄、免疫系、筋肉、肺、肝臓、胆嚢、膵臓、消化管、腎臓、膀胱、雄性生殖器、雌性生殖器、脂肪、軟組織、及び皮膚から成る群から選択される組織に由来する非腫瘍細胞上で発現される。

【 0 0 8 2 】

いくつかの態様では、細胞外タンパク質結合ドメインはリガンド結合ドメインを含む。

【 0 0 8 3 】

いくつかの態様では、細胞外タンパク質結合ドメインは受容体結合ドメインを含む。

【 0 0 8 4 】

いくつかの態様では、細胞外タンパク質結合ドメインは抗原結合ドメインを含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 8 5 】

いくつかの態様では、抗原結合ドメインは抗体、抗体の抗原結合断片、F (a b)断片、F (a b ')断片、単鎖可変断片 (s c F v)、または単一ドメイン抗体 (s d A b)を含む。

【 0 0 8 6 】

いくつかの態様では、抗原結合ドメインは単鎖可変断片 (s c F v)を含む。

【 0 0 8 7 】

いくつかの態様では、各 s c F v は重鎖可変ドメイン (V H) 及び軽鎖可変ドメイン (V L) を含む。

【 0 0 8 8 】

いくつかの態様では、V H 及び V L はペプチドリンカーによって分離される。

【 0 0 8 9 】

いくつかの態様では、ペプチドリンカーは G G S (配列番号 2 3)、G G S G G S (配列番号 2 4)、G G S G G S G G S (配列番号 2 5)、G G S G G S G G S G G S (配列番号 2 6)、G G S G G S G G S G G S G G S (配列番号 2 7)、G G G S (配列番号 2 8)、G G G S G G G S (配列番号 2 9)、G G G S G G G S G G G S (配列番号 3 0)、G G G S G G G S G G G S G G G S (配列番号 3 1)、G G G S G G G S G G G S G G G S G G G S (配列番号 3 2)、G G G G S (配列番号 3 3)、G G G G S G G G G S (配列番号 3 4)、G G G G S G G G G S G G G G S (配列番号 3 5)、G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S (配列番号 3 6)、G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S (配列番号 3 7)、及び T T T P A P R P P T P A P T I A L Q P L S L R P E A C R P A A G G A V H T R G L D F A C D Q T T P G E R S S L P A F Y P G T S G S C S G C G S L S L P (配列番号 9 4) から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【 0 0 9 0 】

いくつかの態様では、s c F v は構造 V H - L - V L または V L - L - V H を含み、V H は重鎖可変ドメインであり、L はペプチドリンカーであり、V L は軽鎖可変ドメインである。

【 0 0 9 1 】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは細胞外タンパク質結合ドメインに物理的に連結されている。

【 0 0 9 2 】

いくつかの態様では、1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つは膜貫通ドメインに物理的に連結されている。

【 0 0 9 3 】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインが細胞外タンパク質結合ドメインに物理的に連結され、且つ 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つは膜貫通ドメインに物理的に連結されている。

【 0 0 9 4 】

いくつかの態様では、細胞外タンパク質結合は高い結合親和性を有する。

【 0 0 9 5 】

いくつかの態様では、細胞外タンパク質結合は低い結合親和性を有する。

【 0 0 9 6 】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は活性化された免疫調節細胞からのサイトカイン産生を抑制することができる。

【 0 0 9 7 】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は、標的細胞に対する細胞媒介性免疫応答を抑制ことができ、その際、免疫応答は免疫調節細胞の活性化によって誘導される。

【 0 0 9 8 】

いくつかの態様では、標的細胞は腫瘍細胞である。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 9 】

いくつかの態様では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインは1以上の修飾を含む。

【 0 1 0 0 】

いくつかの態様では、1以上の修飾は他の点では同一である非修飾受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を調節する。

【 0 1 0 1 】

いくつかの態様では、1以上の修飾は他の点では同一である非修飾受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を調節する。

【 0 1 0 2 】

いくつかの態様では、1以上の修飾は他の点では同一である非修飾受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を低下させる。

10

【 0 1 0 3 】

いくつかの態様では、1以上の修飾は他の点では同一である非修飾受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を調節する。

【 0 1 0 4 】

いくつかの態様では、1以上の修飾は他の点では同一である非修飾受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を高める。

【 0 1 0 5 】

いくつかの態様では、1以上の修飾は他の点では同一である非修飾受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を低下させる。

20

【 0 1 0 6 】

いくつかの態様では、1以上の修飾は免疫調節細胞上で発現されると、他の点では同一である非修飾受容体と比べて、腫瘍標的キメラ受容体の活性化の基本的な防止、減弱、または阻害を調節する。

【 0 1 0 7 】

いくつかの態様では、1以上の修飾は他の点では同一である非修飾受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を低下させる。

【 0 1 0 8 】

いくつかの態様では、1以上の修飾は他の点では同一である非修飾受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を高める。

30

【 0 1 0 9 】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は、細胞外タンパク質結合ドメインと膜貫通ドメインとの間に配置され、細胞外タンパク質結合ドメイン及び膜貫通ドメインのそれぞれに操作可能に連結されるスペーサー領域をさらに含む。

【 0 1 1 0 】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は、細胞外タンパク質結合ドメインと膜貫通ドメインとの間に配置され、細胞外タンパク質結合ドメイン及び膜貫通ドメインのそれぞれに物理的に連結されるスペーサー領域をさらに含む。

【 0 1 1 1 】

いくつかの態様では、スペーサー領域は、CD8、CD4、CD7、CD28、IgG1、IgG4、FcRII、LNGFR、及びPDGFRから成る群から選択されるタンパク質に由来する。

40

【 0 1 1 2 】

いくつかの態様では、スペーサー領域はA A A I E V M Y P P P Y L D N E K S N G T I I H V K G K H L C P S P L F P G P S K P (配列番号39)、E S K Y G P P C P S C P (配列番号40)、E S K Y G P P A P S A P (配列番号41)、E S K Y G P P C P P C P (配列番号42)、E P K S C D K T H T C P (配列番号43)、A A A F V P V F L P A K P T T T P A P R P P T P A P T I A S Q P L S L R P E A C R P A A G G A V H T R G L D F A C D I Y I W A P L A G T C G V L L L S L V I T L Y C N H R N (配列番号44)、A C P T G L Y T H S G E C C K A C N L G E G V A Q P C G A N Q

50

T V C E P C L D S V T F S D V V S A T E P C K P C T E C V G L Q S M S A P C V E
 A D D A V C R C A Y G Y Y Q D E T T G R C E A C R V C E A G S G L V F S C Q D K
 Q N T V C E E C P D G T Y S D E A D A E C (配列番号 4 6)、 A C P T G L Y T H S
 G E C C K A C N L G E G V A Q P C G A N Q T V C (配列番号 4 7)、及び A V G Q D
 T Q E V I V V P H S L P F K V (配列番号 4 8) から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【 0 1 1 3 】

いくつかの態様では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を調節する。

【 0 1 1 4 】

いくつかの態様では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を高める。

【 0 1 1 5 】

いくつかの態様では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を低下させる。

【 0 1 1 6 】

いくつかの態様では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を調節する。

【 0 1 1 7 】

いくつかの態様では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を高める。

【 0 1 1 8 】

いくつかの態様では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を低下させる。

【 0 1 1 9 】

いくつかの態様では、スパーサー領域は免疫調節細胞にて発現されると、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、腫瘍標的キメラ受容体の活性化の基本的な防止、減弱、または阻害を調節する。

【 0 1 2 0 】

いくつかの態様では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を低下させる。

【 0 1 2 1 】

いくつかの態様では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を高める。

【 0 1 2 2 】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は、膜貫通ドメインと1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つとの間に配置され、膜貫通ドメイン及び1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つのそれぞれに操作可能に連結される細胞内スパーサー領域をさらに含む。

【 0 1 2 3 】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は、膜貫通ドメインと1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つとの間に配置され、膜貫通ドメイン及び1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つのそれぞれに物理的に連結される細胞内スパーサー領域をさらに含む。

【 0 1 2 4 】

いくつかの態様では、細胞内スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を調節する。

【 0 1 2 5 】

いくつかの態様では、細胞内スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を高める。

10

20

30

40

50

【0126】

いくつかの態様では、スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を低下させる。

【0127】

いくつかの態様では、細胞内スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を調節する。

【0128】

いくつかの態様では、細胞内スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を高める。

【0129】

いくつかの態様では、細胞内スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を低下させる。

10

【0130】

いくつかの態様では、細胞内スパーサー領域は免疫調節細胞にて発現されると、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、腫瘍標的キメラ受容体の活性化の基本的な防止、減弱、または阻害を調節する。

【0131】

いくつかの態様では、細胞内スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を低下させる。

20

【0132】

いくつかの態様では、細胞内スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を高める。

【0133】

いくつかの態様では、抑制性キメラ受容体はさらに酵素抑制性ドメインを含む。

【0134】

いくつかの態様では、酵素抑制性ドメインは免疫調節細胞にて発現されると、酵素抑制性ドメインを欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害することができる。

【0135】

いくつかの態様では、酵素抑制性ドメインは酵素触媒ドメインを含む。

30

【0136】

いくつかの態様では、酵素触媒ドメインはCSK、SHP-1、PTEN、CD45、CD148、PTP-MEG1、PTP-PEST、c-CBL、CBL-b、PTPN22、LAR、PTPH1、SHIP-1、及びRasGAPから成る群から選択される酵素に由来する。

【0137】

いくつかの態様では、酵素抑制性ドメインは基本的な防止、減弱または阻害を調節する1以上の修飾を含む。

【0138】

いくつかの態様では、1以上の修飾は、1以上の修飾を欠く他の点では同一である酵素抑制性ドメインと比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を低下させる。

40

【0139】

いくつかの態様では、1以上の修飾は、1以上の修飾を欠く他の点では同一である酵素抑制性ドメインと比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を高める。

【0140】

いくつかの態様では、腫瘍標的キメラ受容体はキメラ抗原受容体(CAR)または操作されたT細胞受容体(TCR)である。

【0141】

いくつかの態様では、免疫調節細胞はT細胞、CD8+T細胞、CD4+T細胞、ガン

50

モデルT細胞、細胞傷害性Tリンパ球（CTL）、制御性T細胞、ウイルス特異的T細胞、ナチュラルキラー（NKT）細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、B細胞、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、自然リンパ系細胞、肥満細胞、好酸球、好塩基球、好中球、骨髄細胞、マクロファージ、単球、樹状細胞、ESC由来細胞、及びiPSC由来細胞から成る群から選択される。

【0142】

いくつかの態様では、免疫調節細胞はナチュラルキラー（NK）細胞である。

【0143】

本明細書で提供されているのは、本明細書に記載されているようなキメラ抑制性受容体と、薬学的に許容される担体とを含む組成物である。

【0144】

本明細書で提供されているのはまた、本明細書に記載されているようなキメラ抑制性受容体をコードする操作された核酸である。

【0145】

本明細書で提供されているのはまた、本明細書に記載されているような操作された核酸を含む発現ベクターである。

【0146】

本明細書で提供されているのはまた、本明細書に記載されているような操作された核酸または本明細書に記載されているような発現ベクターと、薬学的に許容される担体とを含む組成物である。

【0147】

本明細書で提供されているのはまた、本明細書に記載されているようなキメラ抑制性受容体を含む単離された免疫調節細胞である。

【0148】

いくつかの態様では、細胞は、細胞の表面上に発現されている腫瘍標的キメラ受容体をさらに含む。

【0149】

いくつかの態様では、タンパク質がキメラ抑制性受容体に結合すると、キメラ抑制性受容体は、キメラ抑制性受容体を欠く他の点では同一である細胞と比べて、腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する。

【0150】

本明細書で提供されているのはまた、キメラ抑制性受容体を含む単離された免疫調節細胞であり、その際、キメラ抑制性受容体は、細胞外タンパク質結合ドメインと、膜貫通ドメインが細胞外タンパク質結合ドメインに操作可能に連結される膜貫通ドメインと、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインが膜貫通ドメインに操作可能に連結される1以上の細胞内シグナル伝達ドメインとを含み、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインはそれぞれ、SLAP1、SLAP2、Dok-1、Dok-2、LAIR1、GRB-2、CD200R、SIRP、HAVR、GITR、PD-L1、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL2、CD94、KLRG-1、CEACAM1、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、及びSIGLEC-10から成る群から選択されるタンパク質に由来し；タンパク質がキメラ抑制性受容体に結合すると、キメラ抑制性受容体は、細胞の表面に発現されている腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する。

【0151】

いくつかの態様では、細胞は、細胞の表面上に発現されている腫瘍標的キメラ受容体をさらに含む。

【0152】

本明細書で提供されているのはまた、キメラ抑制性受容体を含む単離された細胞であり、その際、キメラ抑制性受容体は、細胞外タンパク質結合ドメインと、膜貫通ドメインが細胞外タンパク質結合ドメインに操作可能に連結される膜貫通ドメインと、1以上の細胞

10

20

30

40

50

内シグナル伝達ドメインが膜貫通ドメインに操作可能に連結される1以上の細胞内シグナル伝達ドメインとを含み、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインはそれぞれ、SLAP1、SLAP2、Dok-1、Dok-2、LAIR1、GRB-2、CD200R、SIRP、HAVR、GITR、PD-L1、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL2、CD94、KLRG-1、CEACAM1、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、及びSIGLEC-10から成る群から選択されるタンパク質に由来し；腫瘍標的キメラ受容体は細胞の表面上で発現され、タンパク質がキメラ抑制性受容体に結合すると、キメラ抑制性受容体は、細胞の表面に発現されている腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する。

【0153】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は組換えで発現される。

【0154】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体はベクターからまたは細胞のゲノム由来の選択された遺伝子座から発現される。

【0155】

いくつかの態様では、腫瘍標的キメラ受容体はキメラ抗原受容体(CAR)または操作されたT細胞受容体である。

【0156】

いくつかの態様では、タンパク質がキメラ抑制性受容体に結合する前に、腫瘍標的キメラ受容体は細胞を活性化することができる。

【0157】

いくつかの態様では、タンパク質がキメラ抑制性受容体に結合すると、キメラ抑制性受容体は活性化された細胞からのサイトカイン産生を抑制する。

【0158】

いくつかの態様では、タンパク質がキメラ抑制性受容体に結合すると、キメラ抑制性受容体は、標的細胞に対する細胞媒介性免疫応答を抑制することができ、その際、免疫応答は免疫調節細胞の活性化によって誘導される。

【0159】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインは細胞外タンパク質結合ドメインに物理的に連結されている。

【0160】

いくつかの態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは膜貫通ドメインに物理的に連結されている。

【0161】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインが細胞外タンパク質結合ドメインに物理的に連結され、且つ1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは膜貫通ドメインに物理的に連結されている。

【0162】

いくつかの態様では、標的細胞は腫瘍細胞である。

【0163】

いくつかの態様では、細胞はT細胞、CD8+T細胞、CD4+T細胞、ガンマデルタT細胞、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)、制御性T細胞、ウイルス特異的T細胞、ナチュラルキラーT(NKT)細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞、B細胞、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)、自然リンパ系細胞、肥満細胞、好酸球、好塩基球、好中球、骨髓細胞、マクロファージ、単球、樹状細胞、ESC由来細胞、及びiPSC由来細胞から成る群から選択される。

【0164】

いくつかの態様では、免疫調節細胞はナチュラルキラー(NK)細胞である。

【0165】

いくつかの態様では、細胞は自家である。

10

20

30

40

50

【 0 1 6 6 】

いくつかの態様では、細胞は同種異系である。

【 0 1 6 7 】

本明細書で提供されているのはまた、本明細書に記載されているような単離された細胞と、薬学的に許容される担体とを含む組成物である。

【 0 1 6 8 】

本明細書で提供されているのはまた、免疫調節細胞の表面上に請求項 1 ~ 75 のいずれか 1 項に記載のキメラ抑制性受容体を発現させるように免疫調節細胞を操作することを含む、免疫調節細胞の表面に発現される腫瘍標的キメラ受容体によって誘導される細胞介在性免疫応答を防止する、減弱させる、または阻害する方法であり、その際、同族抗原がキメラ抑制性受容体に結合すると、細胞内シグナル伝達ドメインが、腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する。

10

【 0 1 6 9 】

本明細書で提供されているのはまた、キメラ抑制性受容体が同族抗原を結合するのに好適な条件下でキメラ抑制性受容体の同族抗原と本明細書に記載されているような単離された細胞または本明細書に記載されているような組成物を接触させることを含む、免疫調節細胞の表面に発現される腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する方法であり、その際、抗原がキメラ抑制性受容体に結合すると、細胞内シグナル伝達ドメインが、腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する。

20

【 0 1 7 0 】

いくつかの態様では、腫瘍標的キメラ受容体はキメラ抗原受容体 (C A R) または操作された T 細胞受容体である。

【 0 1 7 1 】

いくつかの態様では、 C A R は、腫瘍細胞の表面に発現されている 1 以上の抗原を結合する。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 1 7 2 】

本発明のこれら及び他の特徴、態様、及び利点は、以下の説明、及び添付の図面に関連してさらによく理解されるであろう。

30

【 0 1 7 3 】

【 図 1 】 A は C D 1 9 及び C D 2 0 を発現している標的細胞に接触している抗 C D 1 9 - S L A P i C A R 及び抗 C D 2 0 - C D 2 8 / C D 3 a C A R を同時発現している T 細胞の例示的な略図を示す。 B はいずれの C A R 構築物も発現していない陰性対照の細胞を示す。 C は形質導入された T 細胞における抗 C D 2 0 - C D 2 8 / C D 3 a C A R の発現を示す。 D は形質導入された T 細胞における抗 C D 2 0 - C D 2 8 / C D 3 a C A R 及び抗 C D 1 9 - S L A P i C A R の発現を示す。

【 図 2 】 A は T 細胞による T N F の産生は抗 C D 2 0 a C A R 単独と比べて抗 C D 2 0 a C A R 及び抗 C D 1 9 i C A R の同時発現によって低下することを示す図である。 B は T 細胞による I F N の産生は抗 C D 2 0 a C A R 単独と比べて抗 C D 2 0 a C A R 及び抗 C D 1 9 i C A R の同時発現によって低下することを示す図である。 C は T 細胞による I L - 2 の産生は抗 C D 2 0 a C A R 単独と比べて抗 C D 2 0 a C A R 及び抗 C D 1 9 i C A R の同時発現によって低下することを示す図である。

40

【 図 3 】 フローサイトメトリーによって評価したとき、 N K 細胞の形質導入後の同時発現を含む、抗 F L T 3 a C A R 及び抗 E M C N 結合ドメインを伴う種々の i C A R 形式の発現プロファイルを示す図である。条件ごとに 1 ~ 3 回の生物学的複製 (別々の点として示す) 。

【 図 4 】 N K 細胞媒介性殺傷 (上のパネル) 及びサイトカイン分泌 (下のパネル) を示す図である。示されているのは、抗 F L T 3 a C A R と示した抗 E M C N i C A R とを同時発現するように操作した種々の N K 細胞である。「別個の」 = 別々に提示されたそれ

50

ぞれの種類 of SEM 細胞（上左のパネル）。「混合した」= 同一培養で一緒に混ぜた双方の種類 of SEM 細胞（上右のパネル）。条件ごとに 1 ~ 3 回の生物学的複製（別々の点として示す）。測定ごとに 3 回の技術的複製、関連する場合にプロットした X 及び Y の SEM。iCAR 保護が陰性である KLRG1 は示されていない。

【発明を実施するための形態】

【0174】

詳細な説明

定義

特許請求の範囲及び本明細書で使用される用語は、特に明記しない限り、以下に示すように定義される。

【0175】

「抑制性キメラ受容体」または「抑制性キメラ抗原受容体」または「キメラ抑制性受容体」という用語は本明細書で使用されるとき、免疫エフェクター細胞で発現されると、標的細胞に対する特異性と抑制性細胞内シグナルの生成とを該細胞に提供するポリペプチドまたはポリペプチドの集合体を指す。抑制性キメラ受容体は通常、細胞外タンパク質結合ドメイン（例えば、抗原結合ドメインとしての抗体断片）と、スペーサドメインと、膜貫通ドメインと、1 以上の細胞内シグナル伝達 / 同時シグナル伝達ドメインとを含む。抑制性キメラ受容体は「iCAR」とも呼ばれてもよい。

【0176】

「腫瘍標的キメラ受容体」という用語は活性化キメラ受容体、腫瘍標的キメラ抗原受容体（CAR）、または操作された T 細胞受容体を指す。腫瘍標的キメラ受容体は「aCAR」とも呼ばれてもよい。

【0177】

「キメラ抗原受容体」または代わりに「CAR」という用語は本明細書で使用されるとき、免疫エフェクター細胞で発現されると、標的細胞に対する特異性と細胞内シグナル生成とを該細胞に提供するポリペプチドまたはポリペプチドの集合体を指す。CAR は通常、細胞外タンパク質結合ドメイン（例えば、抗原結合ドメインとしての抗体断片）と、スペーサドメインと、膜貫通ドメインと、1 以上の細胞内シグナル伝達 / 同時シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの実施形態では、CAR は少なくとも細胞外抗原結合ドメインと、膜貫通ドメインと、抑制性分子または刺激性分子及び / または共刺激分子に由来する機能的なシグナル伝達ドメインを含む細胞質シグナル伝達ドメイン（本明細書では「細胞内シグナル伝達ドメイン」とも呼ばれる）とを含む。いくつかの態様では、抑制性キメラ受容体または腫瘍標的キメラ受容体を含むポリペプチドの集合体は互いに隣接している。いくつかの実施形態では、抑制性キメラ受容体または腫瘍標的キメラ受容体は、細胞外抗原結合ドメインと膜貫通ドメインとの間にスペーサドメインをさらに含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチドの集合体はポリペプチドを互いに結合することができる二量体化ドメインまたは多量体化ドメインのような動員ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抑制性キメラ受容体は、細胞外抗原結合ドメインと、膜貫通ドメインと、抑制性分子または刺激性分子に由来する機能的なシグナル伝達ドメインを含む細胞質シグナル伝達ドメインとを含むキメラ融合タンパク質を含む。一態様では、抑制性キメラ受容体は、細胞外抗原結合ドメインと、膜貫通ドメインと、抑制性分子に由来する機能的な抑制性ドメインを含む細胞質シグナル伝達ドメインとを含むキメラ融合タンパク質を含む。一態様では、腫瘍標的キメラ受容体は、細胞外抗原結合ドメインと、膜貫通ドメインと、共刺激分子に由来する機能的なシグナル伝達ドメイン及び刺激性分子に由来する機能的なシグナル伝達ドメインを含む細胞内シグナル伝達ドメインとを含むキメラ融合タンパク質を含む。

【0178】

「細胞内シグナル伝達ドメイン」という用語は本明細書で使用されるとき、細胞の内部に位置する抑制性キメラ受容体または腫瘍標的キメラ受容体の機能的なドメインを指す。いくつかの実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは抑制性シグナル伝達ドメインで

10

20

30

40

50

ある。分子結合ドメインのタンパク質への結合に続いて、例えば、抑制性シグナル伝達ドメインは受容体のシグナル伝達を抑制する一方で、活性化シグナル伝達ドメインはシグナル（例えば、増殖/生き残りのシグナル）を細胞に伝達する。

【0179】

「膜貫通ドメイン」という用語は本明細書で使用されるとき、細胞膜にまたがるドメインを指す。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは疎水性のらせん体を含む。

【0180】

「細胞外タンパク質結合ドメイン」または「細胞外抗原結合ドメイン」という用語は本明細書で使用されるとき通常、細胞受容体の外部ドメインまたは抗体の抗原結合ドメインであり、細胞の外側に位置し、細胞外空間に露出される分子結合ドメインを指す。細胞外抗原結合ドメインは別のタンパク質またはペプチドに結合することができる任意の分子（例えば、タンパク質またはペプチド）を含むことができる。いくつかの実施形態では、細胞外タンパク質結合ドメインまたは細胞外抗原結合ドメインは、抗体、その抗原結合断片、F(ab)、F(ab')、単鎖可変断片(scFv)、または単一ドメイン抗体(sdAb)を含む。いくつかの実施形態では、細胞外タンパク質または抗原結合ドメインは細胞表面のリガンド（例えば、細胞の表面に発現されている抗原、例えば、がん抗原またはタンパク質）に結合する。

10

【0181】

「腫瘍」という用語は腫瘍細胞及び関連する腫瘍微細環境(TME)を指す。いくつかの実施形態では、腫瘍は腫瘍細胞及び腫瘍塊を指す。いくつかの実施形態では、腫瘍は腫瘍微細環境を指す。

20

【0182】

「発現されない」という用語は、腫瘍標的キメラ抗原受容体の活性化をもたらす非腫瘍細胞における発現のレベルよりも少なくとも2倍少ない発現を指す。いくつかの実施形態では、発現は、腫瘍標的キメラ抗原受容体の活性化をもたらす非腫瘍細胞における発現のレベルよりも少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも6倍、少なくとも7倍、少なくとも8倍、少なくとも9倍、少なくとも10倍以上少ない。

【0183】

「改善すること」という用語は、重症度または進行におけるの予防、緩和、その寛解または治癒を含む病状、例えば、がんの病状の治療における治療上有益な結果を指す。

30

【0184】

「原位置で」という用語は、生体から離れて増殖している、例えば、組織培養で増殖している生細胞にて発生するプロセスを指す。

【0185】

「生体内で」という用語は生体にて発生するプロセスを指す。

【0186】

「哺乳類」という用語は本明細書で使用されるとき、ヒト及び非ヒトの双方を含み、それらにはヒト、非ヒト霊長類、イヌ、ネコ、マウス、ウシ、ウマ及びブタが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0187】

2以上の核酸またはポリペプチドの配列の文脈における「同一性」パーセントという用語は、以下に記載されている配列比較アルゴリズム（例えば、BLASTP及びBLASTNまたは当業者が入手できる他のアルゴリズム）の1つを使用して、または目視検査によって測定されるとき、最大限の一致について比較し、並べた場合、同一であるヌクレオチドまたはアミノ酸残基の特定の割合を有する2以上の配列または部分配列を指す。適用に応じて、「同一性」パーセントは比較される配列のある領域にわたって、例えば、機能的ドメインにわたって存在することができ、または代わりに、比較される2つの配列の完全長にわたって存在することができる。

【0188】

50

配列比較については、通常、1つの配列は試験配列が比較される参照配列としての役目を果たす。配列比較アルゴリズムを使用する場合、試験配列及び参照配列をコンピューターに入力し、必要に応じて部分配列の座標を指定し、配列アルゴリズムのプログラムパラメーターを指定する。次いで、配列比較アルゴリズムは指定したプログラムのパラメーターに基づいて参照配列と比べた試験配列（複数可）の配列同一性パーセントを算出する。

【0189】

例えば、Smith & Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2: 482 (1981) の部分的相同性アルゴリズムによって、Needleman & Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48: 443 (1970) の相同性配列比較アルゴリズムによって、Pearson & Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA*, 85: 2444 (1988) の類似法の検索によって、これらのアルゴリズム (GAP, BESTFIT, FASTA, and TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.) のコンピューター化された実施によって、または目視検査（一般に Ausubel et al., 以下を参照のこと）によって比較のための配列の最適な整列を実施することができる。

【0190】

配列同一性パーセント及び配列類似性を決定するのに好適であるアルゴリズムの一例は BLAST アルゴリズムであり、それは Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215: 403-410 (1990) に記載されている。BLAST 解析を実行するためのソフトウェアは全米バイオテクノロジー情報センター (www.ncbi.nlm.nih.gov/) を介して公的に利用可能である。

【0191】

「十分な量」という用語は、所望の効果を生み出すのに十分な量、例えば、細胞にてタンパク質の凝集を調節するのに十分な量を意味する。

【0192】

「治療有効量」という用語は疾患の症状を改善するのに有効な量である。予防は治療と見なすことができるので、治療有効量は「予防有効量」であることができる。

【0193】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用されるとき、単数形「1つの (a)」、「1つの (an)」、及び「その (the)」は、文脈が別途明確に指示しない限り、複数の指示対象を含むことに留意しなければならない。

【0194】

キメラ抑制性受容体

一態様では、本明細書で提供されているのは、(i) 細胞外タンパク質結合ドメインと、(ii) 膜貫通ドメインが細胞外タンパク質結合ドメインに操作可能に連結される膜貫通ドメインと、(iii) 1以上の細胞内シグナル伝達ドメインが膜貫通ドメインに操作可能に連結される1以上の細胞内シグナル伝達ドメインとを含むキメラ抑制性受容体であり、その際、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち少なくとも1つは、免疫調節細胞上で発現される腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減衰させるまたは阻害することができる。

【0195】

一般に、抑制性キメラ受容体または腫瘍標的キメラ受容体はT細胞またはNK細胞のために考案され、細胞内シグナル伝達ドメインと抗原認識ドメイン（例えば、抗体の単鎖断片 (scFv)）とのキメラである (Enblad et al., *Human Gene Therapy*. 2015; 26(8): 498-505)。キメラ抗原受容体 (CAR) を発現するT細胞は、CAR T細胞として当該技術分野において既知である。活性化するCARまたは腫瘍標的CARは一般に、T細胞の活性化及び免疫応答をもたらす細胞内シグナル伝達ドメインを介してその同族リガンドに結合すると、T細胞シグナル伝

10

20

30

40

50

達経路を誘導する。活性化CAR、活性化するCAR、及び腫瘍標的CARは相互交換可能な用語である。

【0196】

抑制性キメラ受容体は一般に、細胞によって発現されるタンパク質を認識し、それに結合するように操作された人工的な免疫細胞受容体である。抑制性キメラ受容体は一般に、腫瘍細胞にて発現されていないタンパク質を認識する一方で、活性化するまたは腫瘍標的キメラ受容体（例えば、aCAR）は一般に、腫瘍細胞で発現されているタンパク質を認識する。キメラ受容体は一般に通常、細胞外タンパク質結合ドメインとしての抗体断片と、スペーサドメインまたはヒンジドメインと、疎水性アルファらせん膜貫通ドメインと、1以上の細胞内シグナル伝達/同時シグナル伝達ドメインとを含む。

10

【0197】

抑制性キメラ受容体は一般に、活性化するCAR（aCAR）の構造に従うが、T細胞受容体（TCR）に由来する活性化シグナル伝達ドメインの代わりに、細胞内シグナル伝達ドメインに抑制性ドメインを使用する。細胞内シグナル伝達/同時シグナル伝達ドメインは、同じ細胞内にて他の受容体タンパク質によるシグナル伝達を減らすまたは阻害する抑制性ドメインである。抑制性キメラ受容体細胞は、抗原特異的抑制性受容体含有して、例えば、腫瘍外標的発現から生じてよい非特異的免疫活性化を遮断することができる。いくつかの実施形態では、抑制性キメラ受容体は、内因性T細胞受容体または活性化するCARもしくは腫瘍標的CARのいずれかによって活性化されたT細胞におけるT細胞応答を遮断する。例えば、免疫調節細胞は、非腫瘍タンパク質標的を認識する抑制性キメラ受容体と、腫瘍タンパク質を認識する腫瘍標的キメラ受容体の双方を発現することができる。そのような免疫調節細胞が腫瘍細胞と接触すると、腫瘍標的受容体のみがその同族リガンドを認識して結合し、活性化されて、細胞シグナル伝達経路の誘導と免疫細胞の活性化をもたらす。対照的に、免疫調節細胞が非腫瘍標的と接触すると、抑制性キメラ受容体はその同族リガンドに結合し、腫瘍標的キメラ受容体の活性化によって誘導されるシグナル伝達を抑制する、または阻害する。したがって、免疫調節細胞は、細胞が腫瘍細胞に接触したときにのみ免疫シグナル伝達が生じるように構築することができる。

20

【0198】

いくつかの実施形態では、抑制性キメラ受容体が結合したタンパク質は腫瘍細胞上で発現されない。いくつかの実施形態では、発現は、腫瘍標的キメラ抗原受容体の活性化をもたらす非腫瘍細胞における発現レベルよりも少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも6倍、少なくとも7倍、少なくとも8倍、少なくとも9倍、または少なくとも10倍またはそれ以上低い。

30

【0199】

いくつかの実施形態では、抑制性キメラ受容体が結合したタンパク質は非腫瘍細胞上で発現される。

【0200】

いくつかの実施形態では、抑制性キメラ受容体が結合したタンパク質は、脳、神経組織、内分泌、内皮、骨、骨髄、免疫系、筋肉、肺、肝臓、胆嚢、膵臓、消化管、腎臓、膀胱、雄性生殖器、雌性生殖器、脂肪、軟組織、及び皮膚から成る群から選択される組織に由来する非腫瘍細胞上で発現される。

40

【0201】

細胞内シグナル伝達ドメイン

本開示の抑制性キメラ受容体は、免疫調節細胞上に発現される腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害することができる細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施形態では、キメラ抑制性受容体は1以上の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

【0202】

いくつかの実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは1以上の修飾を含む。いくつかの実施形態では、1以上の修飾は、他の点では同一である非修飾受容体と比べて、キメ

50

ラ抑制性受容体の感受性を調節する。いくつかの実施形態では、1以上の修飾は、他の点では同一である非修飾受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を高める。いくつかの実施形態では、1以上の修飾は、他の点では同一である非修飾受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を低下させる。いくつかの実施形態では、1以上の修飾は他の点では同一である非修飾受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を調節する。いくつかの実施形態では、1以上の修飾は他の点では同一である非修飾受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を高める。いくつかの実施形態では、1以上の修飾は他の点では同一である非修飾受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を低下させる。

【0203】

いくつかの実施形態では、1以上の修飾は、他の点では同一である非修飾受容体と比べて、免疫調節細胞上で発現されている腫瘍標的キメラ受容体の活性化の基本的な防止、減弱、または阻害を調節する。いくつかの実施形態では、1以上の修飾は他の点では同一である非修飾受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を低下させる。いくつかの実施形態では、1以上の修飾は他の点では同一である非修飾受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を高める。

【0204】

抑制性ドメイン

いくつかの実施形態では、抑制性細胞内シグナル伝達ドメインはSLAP1、SLAP2、LAIR1、GRB-2、Dok-1、Dok-2、CD200R、SIRPアルファ(SIRP)、HAVR、GITR、PD-L1、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL2、CD94、KLRG-1、CEACAM1、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、及びSIGLEC-10から成る群から選択されるタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されている抑制性キメラ受容体は抑制性細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抑制性細胞内シグナル伝達ドメインはSLAP1ドメインである。いくつかの実施形態では、SLAP1ドメインは完全長SLAP1タンパク質のアミノ酸残基8~276を含む。いくつかの実施形態では、SLAP1ドメインは完全長SLAP1タンパク質のアミノ酸残基8~247を含む。いくつかの実施形態では、SLAP1ドメインは完全長SLAP1タンパク質のアミノ酸残基8~261を含む。いくつかの実施形態では、抑制性細胞内シグナル伝達ドメインはSLAP2ドメインである。いくつかの実施形態では、抑制性細胞内シグナル伝達ドメインはDok-2ドメインである。いくつかの実施形態では、抑制性細胞内シグナル伝達ドメインはDok-1ドメインである。いくつかの実施形態では、抑制性細胞内シグナル伝達ドメインはGRB2ドメインである。いくつかの実施形態では、抑制性細胞内シグナル伝達ドメインはCD200Rドメインである。いくつかの実施形態では、抑制性細胞内シグナル伝達ドメインはSIRPドメインである。

【0205】

Src様アダプタータンパク質1及び2(SLAP1及びSLAP2)は、細胞内シグナル伝達経路に参与するアダプタータンパク質であり、リンパ球で発現される。SLAP1とSLAP2の双方は共通のSH2及びSH3ドメインを含有する。SH2ドメインはタンパク質がリン酸化チロシンエピトープに結合できるようにする。SLAP1とSLAP2は、たぶんTCR鎖のコピキチン化と分解を促進するE3ユビキチンリガーゼc-Cblと会合し、TCRシグナル伝達の低下をもたらすことによってT細胞受容体(TCR)シグナル伝達の負の調節因子として機能する。

【0206】

ドッキングタンパク質2(Dok-2)はT細胞の負のシグナル伝達複合体の一部である。ドッキングタンパク質1(Dok-1)はインスリン受容体シグナル伝達経路の負の調節の一部である。成長因子受容体結合タンパク質2(GRB2)は、シグナル伝達に参与するアダプタータンパク質であり、1つのSH2ドメインと2つのSH3ドメインを含有する。シグナル調節タンパク質アルファ(SIRP)は4つの免疫受容体チロシンベースの阻害モチーフ(ITIM)を含有する抑制性受容体である。細胞表面膜貫通型糖タ

10

20

30

40

50

ンパク質CD200受容体1(CD200R)は、炎症誘発性分子の発現を調節するシグナル伝達経路に参与し、Dok-1及びDok-2と会合する。

【0207】

例示的な抑制性細胞内シグナル伝達ドメインのアミノ酸配列を表1に示す。例示的な抑制性細胞内シグナル伝達ドメインの核酸配列を表2に示す。

【0208】

【表1】

表1 - 例示的な抑制性細胞内シグナル伝達ドメインのアミノ酸配列		
アミノ酸配列	配列番号	説明
抑制性細胞内シグナル伝達ドメイン		
MEAI AKYDFKATADDELSFKRGDILKVLNEECDQNWYK AELNGKDGFI PKNYIEMKPHPWFFGKIPRAKAEEmLSKQ RHDGAFLIRESESAPGDFSLSVKFGNDVQHFKVLRDGAG KYFLWVVKFNSLNELVDYHRSTSVSRNQQIFLRDIEQVP QQPTYVQALFDFDPQEDGELGFRRGDFIHVMDNSDPNW WKGACHGQTGMFPRNYVTPVNRNV	1	GRB2細胞内シグナル伝達ドメイン
MDGAVMEGPLFLQSQRFGTKRWRKTWAVLYPASPHGV ARLEFFDHKGGSSGGGRGSSRRLDCKVIRLAECVSVAPV TVETPPEPGATAFRLDTAQRSHLLAADAPSSAAWVQTLC RNAFPKGSWTLAPTDNPPKLSALEmLENSLYSPTWEGSQ FWVTVQRTEAAERCGLHGSYVLRVEAERLTLTVGAQS QILEPLLSWPYTLLRRYGRDKVMFSFEAGRRCPSGPGTFT FQTAQGNDIFQAVETAHRQKAQKAGQGHDVLRADSH EGEVAEGKLPSPGPQELLDSPALYAEPLDSLRIAPCPSQ DSLSDPLDSTSAQAGEGVQRKKPLYWDLYEHAQQQLL KAKLTDPKEDPIYDEPEGLAPVPPQGLYDLPREPKDAWW CQARVKEEGYELPYNPATDDYAVPPRSTKPLLAPKPQG PAFPEPGTATGSGIKSHNSALYSQVQKSGASGSWDCGLS RVGTDKTVKSEGST	2	Dok-1細胞内シグナル伝達ドメイン
MGDGA VKQGF LYLQQQTFGKKWRRFGASLYGGSDCA LARLELQEGPEKPRRCEAARKVIRLSDCLRVAEAGGEAS SPRDTSAFFLETKERLYLLAAPAAERGDWVQAICLLAFP GQRKELSGPEGKQSRPCMEENELYSSAVTVGPHKEFAVT MRPTEASERCHLRGSYTLRAGESALELWGGPEPGTQLYD WPYRFLRRFGRDKVTFSEAGRRCVSGEGNFEFETRQGN EIFLALAEAISAQKNAAPATPQPQPATIPASLPRPDSYSRP HDSLPPPSPTTPVPAPRPRGQEGEYAVPFDAVARSLGKNF RGILAVPPQLLADPLYDSIETLPPRPDHIYDEPEGVAALS LYDSPQEPRGEAWRRQATADRDPAQLQHVQPAGQDFSA SGWQPGTEYDENVVLKKGPK	3	Dok-2細胞内シグナル伝達ドメイン
PAPAERPLNPEGLDSDFLAVLSDYSPDISPPIFRRGEKL RVISDEGGWWKAISLSTGRESYIPGICVARVYHGWLFEFEG LGRDKAEELLQLPDTKVGSMIRESETKKGFYSLSVRHR QVKHYRIFRLPNNWYIYISRLTFQCLEDLVNHYSEVADG LCCVLTTPCLTQSTAAPAVRASSPVTLRQKTVDWRRVS RLQEDPEGTENPLGVDESLSYGLRESIASYLSLTSSEDNTS FDRKKKSISLMYGGSKRKSSFFSSPPYFED	4	SLAP1 _{aa8~aa276} の細胞内シグナル伝達ドメイン

10

20

30

40

50

表1－例示的な抑制性細胞内シグナル伝達ドメインのアミノ酸配列		
アミノ酸配列	配列番号	説明
PAPAERPLPNPEGLDSDFLAVLSDYSPDISPPIFRGKLRVISD EGGWKKAISLSTGRESYIPGICVARVYHGWLFEGLGRDKAEEL LQLPDTKVGSMIRESETKKGFYSLSVRHRQVKHYRIFRLPNNW YYISPRLTFQCLEDLVNHYSEVADGLCCVLTTPCLTQSTAAPAV RASSSPVTLRQKTVDWRRVSRLQEDPEGTENPLGVDESLSFYGL RESIASYLSLTSEDNTSF	5	S L A P 1 _{aa8~aa247} の細胞内シグナル伝達ドメイン
RKSLPSPSLSSSVQGGPVTMEAERSKATAVALGSPAGGPAEL SLRLGEPLTIVSEGDWWTVLSEVSGREYNIPSVHVAKVSHGW LYEGLSREKAEELLLPGNPGGAFLIRESQTRRGSYSLSVRLSRP ASWDRIRHYRIHCLDNGWLYISPRLTFPSLQALVDHYSELADDI CCLLKEPCVLQRAGPLPGKDIPLPVTVQRTPLNWKELDSSLLFS EAATGEESLLSEGLRESLSFYISLNDEAVSLDDA	6	S L A P 2 _{aa8~aa261} の細胞内シグナル伝達ドメイン
KVNGCRKYKLNKTESTPVVEEDEMOPYASYTEKNNPLYDTTN KVKASEALQSEVDTDLHTL	7	C D 2 0 0 Rの細胞内シグナル伝達ドメイン
RIRQKKAQGSTSSTRLHEPEKNAREITQDTNDITYADLNLPKGG KPAPQAAEPNNHTEYASIQTSPQPAEDTLTYADLDMVHLNRT KQPAPKPEPSFSEYASVQVPRK	8	S I R P αの細胞内シグナル伝達ドメイン
HRWCSNKKNAAVMDQESAGRNRTANSEDEQDPQEVYTYQL NHCVFTQRKIRPSQRPKTPPTDIIVYTELPNAESRSKVVSCP	60	K I R 2 D L 1の細胞内シグナル伝達ドメイン
MTDSVIYS _m LLEPTATQAQNDYGPQKSSSRPSCSCLGSG	61	K L R G 1の細胞内シグナル伝達ドメイン
HRQNQIKQGPPRSKDEEQKQQRPD LAVDVLERTADKATVNGL PEKDRETDTSALAAGSSQEVTYAQLDHWALTQRTARAVSPQST KPMASITYAAVARH	62	L A I R 1の細胞内シグナル伝達ドメイン
LRHRRQGHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPA ADAQEENLYAAVKDTQPEDGVEMDTRAAASEAPQDVTYAQL HSLTLRRKATEPPPSQEREPPAEPSIYATLAIH	63	L I R 2の細胞内シグナル伝達ドメイン
RRQRHSHKRTSDQRKTDFQRPAGAAETEPKDRGLLRSSPAAD VQEENLYAAVKDTQSEDRVELDSQSPHDEDPQAVTYAPVKHSS PRREMASPPSSLSGFLDTKDRQVEEDRQMDTEAAASEASQDV TYAQLHSLTLRRKATEPPPSQEGEPPAEPSIYATLAIH	64	L I R 3の細胞内シグナル伝達ドメイン
RRQRHSHKRTSDQRKTDFQRPAGAAETEPKDRGLLRSSPAAD VQEENLYAAVKDTQSEDRVELDSQSPHDEDPQAVTYAPVKHSS PRREMASPPSSLSGFLDTKDRQVEEDRQMDTEAAASEASQDV TYAQLHSLTLRRKATEPPPSQEGEPPAEPSIYATLAIH	65	L I R 5の細胞内シグナル伝達ドメイン

10

20

30

40

50

表 1 - 例示的な抑制性細胞内シグナル伝達ドメインのアミノ酸配列		
アミノ酸配列	配列番号	説明
KLQRRWKRTQSQQGLQENSSGQSFFVRNKKVRRAPLSE GPHSLGCYNPMMEDGISYTTLRFPEMNIPRTGDAESSEM QRPPDCDDTVTYSALHKRQVGDYENVIPDFPEDEGIHY SELIQFGVGERPQAQENVVILKH	66	SIGLEC- 2の細胞内シグ ナル伝達ドメ イン
KILPKRRTQTETPRPRFSRHSTILDYINVVPTAGPLAQKR NQKATPNSPRTPLPPGAPSPESKKNQKKQYQLPSFPEPKS STQAPESQESQEELHYATLNFPGVPRPEARMPKGTQAD YAEVKFQ	67	SIGLEC- 10の細胞内シ グナル伝達ドメ イン

10

【 0 2 0 9 】

【 表 2 】

表 2 - 例示的な抑制性細胞内シグナル伝達ドメインの核酸配列		
核酸配列	配列番号	説明
抑制性細胞内シグナル伝達ドメイン		
ATGGAAGCCATTGCCAAATACGACTTCAAGGCCAC CGCCGACGACGAGCTGAGCTTCAAGAGAGGCGACA TCCTGAAGGTGCTGAACGAGGAATGCGACCAGAAC TGGTACAAGGCCGAGCTGAACGGCAAGGACGGCTT CATCCCAAGA ACTACATCGAGATGAAGCCCCATC CATGGTTCTTCGGCAAGATCCCCAGAGCCAAGGCC GAAGAGATGCTGAGCAAGCAGAGACACGACGGCGC CTTTCTGATCCGGGAATCTGAATCTGCCCCTGGCGA CTTCAGCCTGAGCGTGAAGTTCGGCAACGACGTGC AGCACTTCAAGGTCCTGAGAGATGGCGCCGGAAG TACTTCTGTGGGTCGTGAAGTTTAAACAGCCTGAAC GAGCTGGTGGACTACCACAGATCCACCAGCGTGTC CCGGAACCAGCAGATCTTCTGCGGGACATCGAAC AGGTGCCACAGCAGCCAACATACGTGCAGGCCCTG TTCGACTTCGACCCTCAAGAGGATGGCGAGCTGGG CTTTAGACGGGGCGATTTTCATCCACGTGATGGACAA CAGCGACCCCAACTGGTGGAAGGGCGCTTGTCATG GACAGACCGGCATGTTCCCCAGAACTACGTGACC CCTGTGAACCGGAACGTG	9	GRB2の細胞 内シグナル伝達 ドメイン

20

30

40

50

表 2 - 例示的な抑制性細胞内シグナル伝達ドメインの核酸配列		
核酸配列	配列番号	説明
ATGGATGGCGCCGTGATGGAAGGCCCTCTGTTTCTCC AGAGCCAGAGATTCGGCACCAAGCGGTGGCGGAAAA CATGGGCCGTTTCTGTACCCTGCCTCTCCTCATGGCGTG GCCCCGGCTGGAATTTTCGATCACAAGGGCTCTAGCA GCGGCGGAGGCAGAGGATCTAGTAGACGGCTGGACT GCAAAGTGATCCGGCTGGCCGAGTGTGTGTCTGTGGC TCCTGTGACCGTGGAACCCCTCCTGAACCTGGCGCC ACAGCCTTCAGACTGGATACAGCCCAGAGAAGCCATC TGCTGGCCGCCGATGCTCCTTCTTCTGCTGCTTGGGTG CAGACCCTGTGCCGGAACGCTTTTCCTAAAGGCAGCT GGACTGCCCCCTACCGACAATCCTCCTAAGCTGAG CGCCCTGGAATGCTGGAAAAACAGCCTGTACAGCCCC ACCTGGGAGGGCTCTCAGTTTTGGGTCACCGTGCAGA GAACAGAGGCCGCCGAAAGATGTGGCCTGCACGGCT CTTATGTGCTGAGAGTGGAAGCCGAGAGACTGACCCT GCTGACAGTGGGAGCCCAGTCTCAGATCCTGGAACCT CTGCTGAGCTGGCCCTACACACTGCTGAGAAGATACG GCCGGGACAAAGTGATGTTTCAGCTTCGAGGCCGCGCAG AAGATGTCCTTCTGGCCCTGGCACATTCACATTCAGA CAGCCCAGGGCAACGACATCTTCCAGGCTGTGGAAAC CGCCATCCACAGACAGAAGGCCAGGGAAAAGCCGG CCAGGGACACGATGTTCTGAGAGCCGATTCTCACGAG GGCGAAGTGGCCGAGGGAAAGCTTCTTCTCCACCTG GACCTCAAGAGCTGCTGGATAGCCCTCCTGCTCTGTA TGCCGAGCCTCTGGACAGCCTGAGAATCGCCCCCTTGT CCAAGCCAGGACTCTCTGTACAGCGATCCCCTGGATA GCACATCTGCCCAAGCTGGCGAAGGCGTGCAGAGGA AGAAGCCCCGTGACTGGGATCTGTACGAGCACGCTCA GCAGCAACTGCTGAAGGCCAAGCTGACAGACCCCAA AGAGGACCCCATCTACGACGAGCCTGAAGGACTTGCT CCAGTGCCACCTCAGGGCCTGTACGATCTGCCTAGAG AGCCTAAAGACGCCTGGTGGTGTGAGGCCAGAGTGAA AGAGGAAGGCTACGAGCTGCCTTACAACCCCGCCACC GATGATTATGCCGTGCCTCCTCCAAGAAGCACC AAAC CACTGCTGGCCCCAAAGCCTCAGGGACCTGCTTTTCCT GAGCCTGGAACAGCCACAGGCAGCGGCATCAAGAGC CACAATAGCGCCCTGTATAGCCAGGTGCAGAAAAGCG GCGCCAGCGGCTCTTGGGATTGTGGACTTAGCAGAGT GGGCACCGACAAGACCGGCGTGAAGTCTGAGGGAAG CACA	10	Dok-1の細胞内シグナル伝達ドメイン

10

20

30

40

50

表2－例示的な抑制性細胞内シグナル伝達ドメインの核酸配列

核酸配列	配列番号	説明
ATGGGAGATGGCGCCGTGAAGCAGGGCTTTCTGTA TCTCCAGCAGCAGCAGACCTTCGGCAAGAAGTGGC GGAGATTTGGCGCCTCTCTGTACGGCGGCTCTGAT TGTGCTCTGGCCCCGACTGGAAGTCAAGAGGGACC TGAGAAGCCCAGAAGATGCGAGGCCGCCAGAAAA GTGATCCGGCTGAGCGATTGTCTGAGAGTGGCTGA AGCAGGCGGCGAAGCCAGCTCTCCTAGAGATAACC AGCGCATTCTTCTGGAAACAAAAGAGCGGCTGTA CCTGCTGGCCGCTCCTGCTGCTGAAAGAGGCGATT GGGTCCAAGCCATCTGCCTGCTGGCTTTTCCCGGC CAGAGAAAAGAGCTGTCTGGCCCTGAGGGCAAGC AGAGCAGGCCTTGCATGGAAGAGAACGAGCTGTA CTCCAGCGCCGTGACAGTGGGCCCTCACAAGAAT TTGCCGTGACCATGAGGCCACCGAGGCCAGCGAA AGATGTCACCTGAGAGGCAGCTACACCCTGAGAGC CGGCGAATCTGCTCTGGAACCTTGGGGAGGACCTG AGCCTGGCACACAGCTGTACGACTGGCCCTACAGA TTCCTGCGGAGATTCGGCCGGGACAAAGTGACCTT CAGCTTTGAGGCTGGCCGCAGATGTGTGTCCGGCG AGGGCAATTCGAGTTCGAGACAAGACAGGGCAA CGAGATCTTCTGGCTCTGGAAGAGGCCATCAGCG CCCAGAAAAATGCTGCCCCCTGCTACACCTCAGCCT CAGCCTGCTACAATCCCTGCCTCTCTGCCAGACCT GACAGCCCTTATAGCAGACCCACGACTCTCTGCC TCCACCTTCTCCAACAACACCCGTGCCTGCTCCTAG ACCTAGAGGACAAGAGGGCGAGTACGCCGTGCCT TTTGATGCCGTGGCTAGAAGCCTGGGCAAGAACTT CAGAGGCATCCTGGCTGTGCCTCCACAGCTGCTGG CTGACCCTCTGTACGACAGCATCGAGGAAACCCTG CCTCCAAGACCTGACCACATCTACGACGAGCCTGA AGGCGTGGCAGCCCTGTCTCTGTATGACTCCCTC AAGAGCCTAGAGGCGAAGCCTGGCGTAGACAGGC TACCGCCGATAGAGATCCTGCCGACTGCAACATG TGCAGCCAGCCGGCCAGGATTTTCTGCCTCTGGA TGGCAGCCAGGCACCGAGTACGATAACGTGGTGCT GAAGAAGGGCCCCAAG	1 1	D o k - 2 の細胞 内シグナル伝達ド メイン

10

20

30

40

50

表 2 - 例示的な抑制性細胞内シグナル伝達ドメインの核酸配列		
核酸配列	配列番号	説明
CCAGCCCCAGCGGAGCGACCGCTGCCAAACCCTGAAGGG CTCGACAGTGACTTTTTGGCTGTCTCTCCGACTATCCTA GTCCCGATATCAGCCCCCGATATTCAGGCGCGGTGAAA AACTCCGAGTCATCAGCGATGAGGGGGGTTGGTGGAAAG CCATCAGCCTGAGTACCGGACGAGAGTCATACATTCTG GAATATGTGTAGCGAGGGTGTACCACGGTTGGCTGTTG AGGGTCTGGGAAGAGATAAGGCCGAGGAAGTTCTCCAAC TCCAGATACAAAAGTCGGTAGTTTTATGATTCGGGAAA GTGAAACTAAAAAGGGGTTCTATAGCCTCTCAGTTCGGC ATAGGCAGGTCAAGCATTATCGGATATTTGCTTGCCTA ACAACTGGTACTACATAAGTCCCCGACTCACATTCCAAT GCCTGGAGGACCTCGTGAATCACTATTCAGAAGTTGCAG ATGGCCTCTGCTGCGTACTCACGACACCCTGCCTTACCCA GAGTACAGCGGCCCGGCTGTTCGGGCATCTTCCAGCCC AGTAACTCAGGCAAAAACTGTGGATTGGCGCAGAGT CTCACGCCTTCAGGAAGATCCTGAGGGTACGAAAATCC GCTCGGTGTGGACGAGTCACTGTTCTCCTATGGCTTGAGG GAATCTATAGCGTCTTACCTTTCTTGACGTCTGAAGATA ATACGTCTTTGATCGCAAAAAAATCAATATCTCTTAT GTATGGCGGAAGCAAAAGGAAATCATCATTCTTTCTC TCCACCATATTTGAAGAT	1 2	SLAP1 _{aa8~aa276} の胞内シグナル伝達ドメイン
CCAGCCCCAGCGGAGCGACCGCTGCCAAACCCTGAAGGG CTCGACAGTGACTTTTTGGCTGTCTCTCCGACTATCCTA GTCCCGATATCAGCCCCCGATATTCAGGCGCGGTGAAA AACTCCGAGTCATCAGCGATGAGGGGGGTTGGTGGAAAG CCATCAGCCTGAGTACCGGACGAGAGTCATACATTCTG GAATATGTGTAGCGAGGGTGTACCACGGTTGGCTGTTG AGGGTCTGGGAAGAGATAAGGCCGAGGAAGTTCTCCAAC TCCAGATACAAAAGTCGGTAGTTTTATGATTCGGGAAA GTGAAACTAAAAAGGGGTTCTATAGCCTCTCAGTTCGGC ATAGGCAGGTCAAGCATTATCGGATATTTGCTTGCCTA ACAACTGGTACTACATAAGTCCCCGACTCACATTCCAAT GCCTGGAGGACCTCGTGAATCACTATTCAGAAGTTGCAG ATGGCCTCTGCTGCGTACTCACGACACCCTGCCTTACCCA GAGTACAGCGGCCCGGCTGTTCGGGCATCTTCCAGCCC AGTAACTCAGGCAAAAACTGTGGATTGGCGCAGAGT CTCACGCCTTCAGGAAGATCCTGAGGGTACGAAAATCC GCTCGGTGTGGACGAGTCACTGTTCTCCTATGGCTTGAGG GAATCTATAGCGTCTTACCTTTCTTGACGTCTGAAGATA ATACGTCTTTG	1 3	SLAP1 _{aa8~aa247} の細胞内シグナル伝達ドメイン

10

20

30

40

50

核酸配列	配列番号	説明
AGAAAATCCCTCCCAGTCCAAGCCTGTCTAGTAGCGTTCA GGGTCAGGGCCAGTTACTATGGAAGCGGAACGATCCAAG GCTACCGCAGTTGCTCTGGGTTCAATCCCAGGCTGGAGGGCC AGCGGAACTCTCCTTGCGCCTGGGTGAGCCACTTACCATCG TTTCTGAGGACGGAGATTGGTGGACGGTTCTTTCTGAAGTA TCTGGGAGAGAATACAACATACCGTCAGTTCATGTGCGAAA AGTTTCACACGGTTGGCTTTACGAGGGACTCAGCAGGGAAA AAGCGGAGGAATTGTTGCTTTTGGCCGGCAATCCTGGCGGA GCATTTTTGATAAGAGAGAGTCAGACCCGGAGAGGCAGTT ATCCCTGTGCTAGACTCAGCAGACCTGCGAGTTGGGAT AGGATTCCGCACTACAGGATTCAGTGCCTTGATAACGGCTG GCTGTATATATCTCCTCGCCTGACATTCCTAGCCTCCAAGC GTTGGTTGATCAATTAAGTCTGAACTGGCAGACGATATCTGCT GCCTGCTCAAGGAACCGTGCCTCCTCCAGAGGGCAGGCCCCA CTTCTGGCAAGGATATCCACTTCCAGTCACGGTTCAAAG AACCCCTCAATTGGAAGGAGCTGGATAGCTCTCTCCTCT TTCCGAGGCCGCTACAGGTGAAGAATCTCTGTTGTCTGAA GGATTGAGAGAGAGTCTCTCTTCTACATCTCTCTGAATGA TGAAGCAGTGCATTGGACGACGCA	14	SLAP2 _{aa8~aa261} の細胞内シグナル伝達ドメイン
AAAGTGAACGGCTGCCGGAAGTACAAGCTGAACAAGACCG AGAGCACCCCTGTGGTGGAAAGAGGACGAGATGCAGCCTTA CGCCAGCTACACCGAGAAGAACAACCCTCTGTACGACACC ACCAACAAAGTGAAGGCCAGCGAGGCCCTCCAGAGCGAGG TTGACACAGATCTGCACACCTG	15	CD200Rの細胞内シグナル伝達ドメイン
CACCGGTGGTGCAGCAACAAGAAAAACGCCCGCTGATGG ACCAAGAGAGCGCCGAAATAGAACCGCCAACAGCGAGGA TAGCGACGAGCAGGACCCTCAAGAAGTGACCTACACACAG CTGAACCACTGCGTGTTACCCAGCGGAAGATCACAGACC TAGCCAGCGCCTAAGACACCACCTACCGACATCATCGTGT ACACCGAGCTGCCAACGCCGAGAGCAGATCCAAGGTCGT GTCCTGTCCT	68	KIR2DL1の細胞内シグナル伝達ドメイン
ATGACCGACAGCGTGATCTACAGCATGCTCGAGCTGCCTAC AGCCACACAGGCCAGAATGATTACGGCCTCTCAGCAGAA GTCCAGCTCCAGCAGACCTAGCTGTAGCTGTCTTGGCTCCG GC	69	KLRG1の細胞内シグナル伝達ドメイン
CACCGGCAGAACCAGATCAAGCAGGGCCCTCTAGAAGCA AGGACGAGGAACAGAAGCCTCAGCAGAGGCCTGATCTGGC CGTGGACGTGCTGGAAAGAACAGCCGATAAGGCCACCGTG AACGGCCTGCTGAGAAGGACAGAGAGACAGACACATCTG CCCTGGCCGCTGGCAGCTCCCAAGAAGTGACATACGCCAG CTGGACCACTGGGCCCTGACACAGAGAAGTCCAGAGCTGT GTCCCCTCAGAGCACAAACCTATGGCCGAGAGCATCACCT ATGCCCGCTGGCCAGACAT	70	LAIR1の細胞内シグナル伝達ドメイン

10

20

30

40

50

表 2 - 例示的な抑制性細胞内シグナル伝達ドメインの核酸配列		
核酸配列	配列番号	説明
CTGCGGCACAGAAGGCAGGGCAAGCACTGGACAAGC ACCCAGAGAAAGGCCGATTTTCAGCACCCCTGCTGGCG CCGTTGGACCTGAGCCTACAGATAGAGGACTGCAGT GGCGGTCTAGCCCTGCTGCCGATGCTCAAGAGGAAA ACCTGTACGCCGCCGTGAAGGACACCCAACCTGAAG ATGGCGTGAAATGGACACCAGAGCCGCCGCATCTG AAGCCCCTCAGGATGTGACATACGCCCAGCTGCATAG CCTGACACTGAGGCGGAAAGCCACAGAGCCTCCACC TAGCCAAGAGAGAGAGCCTCCTGCCGAGCCTAGCAT CTATGCCACACTGGCCATTAC	7 1	L I R 2 の細 胞内シグナル 伝達ドメイン
CGGAGACAGAGACACAGCAAGCACAGAACCAGCGAC CAGAGAAAGACCGACTTCCAGAGGCCTGCTGGCGCC GCTGAGACAGAGCCTAAAGATAGAGGACTGCTGCGG AGAAGCAGCCCTGCTGCCGATGTGCAAGAGGAAAAT CTGTACGCCGCCGTGAAGGACACCCAGAGCGAGGAT AGAGTGGAAGTGGACAGCCAGTCTCCTCACGACGAA GATCCTCAGGCCGTGACATACGCCCCTGTGAAGCACA GCAGCCCTCGGAGAGAAAATGGCCTCTCCACCTTCTAG CCTGAGCGGCGAGTTCCTGGACACCAAGGACAGACA GGTGAAGAGGACCGGCAGATGGATACAGAAGCTGC CGCCTCTGAAGCCAGCCAGGATGTGACATATGCCCAG CTGCATAGCCTGACACTGCGGCGGAAAGCTACAGAG CCTCCTCCATCTCAAGAGGGCGAGCCTCCAGCCGAGC CTAGCATCTATGCCACACTGGCCATTAC	7 2	L I R 3 の細 胞内シグナル 伝達ドメイン
CAGCATTGGAGACAGGGAAAGCACAGAACACTGGCC CAGCGGCAGGCCGATTTCCAAAGACCTCCAGGTGCC GCCGAACCTGAGCCTAAAGATGGTGGCCTGCAGCGG AGATCTTCTCCTGCTGCCGATGTGCAGGGCGAGAATT TTTGTGCCGCCGTGAAGAACACCCAGCCTGAGGATGG CGTGGAATGGACACCAGACAGAGCCCTCACGACGA GGATCCACAGGCCGTGACATACGCCAAAGTGAAGCA CAGCCGGCCTCGGAGAGAAAATGGCTAGCCCTCCAAG TCCTCTGAGCGGCGAGTTCCTGGACACCAAAGACAG ACAGGCCGAAGAGGACCGGCAGATGGATACAGAAGC TGCCGCCTCTGAAGCCCCTCAGGATGTGACATATGCC CAGCTGCATAGCTTACCCTGCGGCAGAAAGCCACA GAGCCTCCACCTTCTCAAGAGGGCGCTTCTCCAGCCG AGCCATCTGTGTATGCCACACTGGCCATTAC	7 3	L I R 5 の細 胞内シグナル 伝達ドメイン

10

20

30

40

50

表 2 - 例示的な抑制性細胞内シグナル伝達ドメインの核酸配列		
核酸配列	配列番号	説明
AAGCTGCAGCGGAGATGGAAGAGAACACAGAGCCA GCAGGGCCTGCAAGAGAATAGCAGCGGCCAGAGCTT CTTCGTGCGGAACAAGAAAGTGC GGAGAGCCCCTCT GTCTGAGGGACCTCATAGCCTGGGCTGTTACAACCC CATGATGGAAGATGGCATCAGCTACACCACACTGCG GTTCCCCGAGATGAACATCCCTAGAACAGGGCAGCG CGAGAGCAGCGAAATGCAAAGACCTCCTCCTGACTG CGACGACACCGTGACATATAGCGCCCTGCACAAGAG ACAAGTGGGCGACTACGAGAACGTGATCCCTGACTT CCCTGAGGACGAGGGCATCCACTACAGCGAGCTGAT CCAGTTTGGCGTGGGCGAAAGACCCCAGGCTCAAGA GAATGTGGACTACGTGATCCTGAAGCAC	74	SIGLEC-2 の細胞内シグナル 伝達ドメイン
AAGATCCTGCCTAAGCGGCGCACCCAGACCGAGACT CCTAGACCTAGATTCAGCCGGCACAGCACCATCCTG GACTACATCAACGTGGTGCCTACCGCCGGACCACTG GCTCAGAAGAGAAACCAGAAGGCCACACCTAACAG CCCCAGAACACCTCTTCCACCTGGCGCACCTTCTCCA GAGAGCAAGAAGAACCAGAAGAAGCAGTACCAGCT GCCTAGCTTCCCCGAGCCTAAGAGCAGTACACAGGC CCCTGAGAGCCAAGAGTCCCAAGAGGAACTGCACTA CGCCACACTGAACTTCCCCGGCGTCAGACCTAGACC TGAGGCCAGAATGCCTAAGGGCACCCAGGCCGATTA CGCCGAAGTGAAGTTTCAA	75	SIGLEC-1 0の細胞内シグナ ル伝達ドメイン

10

20

【0210】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは、SLAP1、SLAP2、Dok-1、Dok-2、LAIR1、GRB-2、CD200R、SIRP、HAVR、GITR、PD-L1、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL2、CD94、KLRG-1、CEACAM1、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、及びSIGLEC-10から成る群から選択されるタンパク質に由来する。

30

【0211】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つと同じタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは第1のタンパク質に由来し、且つ1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは第1のタンパク質とは異なる第2のタンパク質に由来する。

40

【0212】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはSLAP1に由来する。

【0213】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはPAPAPERPLPNPEGLDSDLAVLSDYPSPDISPPIFRRGEKLRVISDEGGWK AISLSTGRESYIPGICVARVYHGWLFEGLGRDKAEELLQLPDTKVG SFMIRESETKKG FYSLSVRHRQVKHYRIFRLPNWYYISPRLTFQCLEDLVNHYSEVADGLCCVLTTPCLTQSTAAPAVRASSSPVTLRQKTVDWRRVSR LQEDPEGTENPLGVDES LFSYGLRESIASYLSLTS EDNTSFD RKKK

50

S I S L M Y G G S K R K S S F F S S P P Y F E D (配列番号 4) または P A P A E R
 P L P N P E G L D S D F L A V L S D Y P S P D I S P P I F R R G E K L R V I S D
 E G G W W K A I S L S T G R E S Y I P G I C V A R V Y H G W L F E G L G R D K A
 E E L L Q L P D T K V G S F M I R E S E T K K G F Y S L S V R H R Q V K H Y R I
 F R L P N N W Y Y I S P R L T F Q C L E D L V N H Y S E V A D G L C C V L T T P
 C L T Q S T A A P A V R A S S S P V T L R Q K T V D W R R V S R L Q E D P E G T
 E N P L G V D E S L F S Y G L R E S I A S Y L S L T S E D N T S F (配列番号 5)
 と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%
 、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%
 、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%
 、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。

10

【 0 2 1 4 】

いくつかの実施形態では、1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つは P A P A
 E R P L P N P E G L D S D F L A V L S D Y P S P D I S P P I F R R G E K L R V I
 S D E G G W W K A I S L S T G R E S Y I P G I C V A R V Y H G W L F E G L G R D
 K A E E L L Q L P D T K V G S F M I R E S E T K K G F Y S L S V R H R Q V K H Y
 R I F R L P N N W Y Y I S P R L T F Q C L E D L V N H Y S E V A D G L C C V L T
 T P C L T Q S T A A P A V R A S S S P V T L R Q K T V D W R R V S R L Q E D P E
 G T E N P L G V D E S L F S Y G L R E S I A S Y L S L T S E D N T S F D R K K K
 S I S L M Y G G S K R K S S F F S S P P Y F E D (配列番号 4) または P A P A E R
 P L P N P E G L D S D F L A V L S D Y P S P D I S P P I F R R G E K L R V I S D
 E G G W W K A I S L S T G R E S Y I P G I C V A R V Y H G W L F E G L G R D K A
 E E L L Q L P D T K V G S F M I R E S E T K K G F Y S L S V R H R Q V K H Y R I
 F R L P N N W Y Y I S P R L T F Q C L E D L V N H Y S E V A D G L C C V L T T P
 C L T Q S T A A P A V R A S S S P V T L R Q K T V D W R R V S R L Q E D P E G T
 E N P L G V D E S L F S Y G L R E S I A S Y L S L T S E D N T S F (配列番号 5)
 のアミノ酸配列を含む。

20

【 0 2 1 5 】

いくつかの実施形態では、1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つは S L A P
 2 に由来する。

30

【 0 2 1 6 】

いくつかの実施形態では、1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つは R K S L
 P S P S L S S S V Q G Q G P V T M E A E R S K A T A V A L G S F P A G G P A E L
 S L R L G E P L T I V S E D G D W W T V L S E V S G R E Y N I P S V H V A K V S
 H G W L Y E G L S R E K A E E L L L L P G N P G G A F L I R E S Q T R R G S Y S
 L S V R L S R P A S W D R I R H Y R I H C L D N G W L Y I S P R L T F P S L Q A
 L V D H Y S E L A D D I C C L L K E P C V L Q R A G P L P G K D I P L P V T V Q
 R T P L N W K E L D S S L L F S E A A T G E E S L L S E G L R E S L S F Y I S L
 N D E A V S L D D A (配列番号 6) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少な
 くとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少な
 くとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少な
 くとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む
 。

40

【 0 2 1 7 】

いくつかの実施形態では、1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つは R K S L
 P S P S L S S S V Q G Q G P V T M E A E R S K A T A V A L G S F P A G G P A E L
 S L R L G E P L T I V S E D G D W W T V L S E V S G R E Y N I P S V H V A K V S
 H G W L Y E G L S R E K A E E L L L L P G N P G G A F L I R E S Q T R R G S Y S
 L S V R L S R P A S W D R I R H Y R I H C L D N G W L Y I S P R L T F P S L Q A
 L V D H Y S E L A D D I C C L L K E P C V L Q R A G P L P G K D I P L P V T V Q

50

R T P L N W K E L D S S L L F S E A A T G E E S L L S E G L R E S L S F Y I S L
N D E A V S L D D A (配列番号 6) のアミノ酸配列を含む。

【 0 2 1 8 】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはK I R 2
D L 1 に由来する。

【 0 2 1 9 】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはH R W C
S N K K N A A V M D Q E S A G N R T A N S E D S D E Q D P Q E V T Y T Q L N H C
V F T Q R K I T R P S Q R P K T P P T D I I V Y T E L P N A E S R S K V V S C P
(配列番号 6 0) と少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少
10 なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少
なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少
なくとも約 9 9 %、または約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。

【 0 2 2 0 】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはH R W C
S N K K N A A V M D Q E S A G N R T A N S E D S D E Q D P Q E V T Y T Q L N H C
V F T Q R K I T R P S Q R P K T P P T D I I V Y T E L P N A E S R S K V V S C P
(配列番号 6 0) のアミノ酸配列を含む。

【 0 2 2 1 】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはK L R G
1 に由来する。 20

【 0 2 2 2 】

いくつかの実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインはM T D S V I Y S m L E L P
T A T Q A Q N D Y G P Q Q K S S S S R P S C S C L G S G (配列番号 6 1) と少なく
とも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なく
とも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なく
とも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または
約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む。

【 0 2 2 3 】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは、M T D
S V I Y S M L E L P T A T Q A Q N D Y G P Q Q K S S S S R P S C S C L G S G (配
列番号 6 1) のアミノ酸配列を含む。 30

【 0 2 2 4 】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはL A I R
1 に由来する。

【 0 2 2 5 】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはH R Q N
Q I K Q G P P R S K D E E Q K P Q Q R P D L A V D V L E R T A D K A T V N G L P
E K D R E T D T S A L A A G S S Q E V T Y A Q L D H W A L T Q R T A R A V S P Q
S T K P M A E S I T Y A A V A R H (配列番号 6 2) と少なくとも約 8 0 %、少なく
40 も約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なく
とも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なく
とも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または約 1 0 0 % 同一であるア
ミノ酸配列を含む。

【 0 2 2 6 】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは、H R Q
N Q I K Q G P P R S K D E E Q K P Q Q R P D L A V D V L E R T A D K A T V N G L
P E K D R E T D T S A L A A G S S Q E V T Y A Q L D H W A L T Q R T A R A V S P
Q S T K P M A E S I T Y A A V A R H (配列番号 6 2) のアミノ酸配列を含む。

【 0 2 2 7 】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはL I R 2に由来する。

【0228】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはLRHR RQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAAD AQEENLYAAVKDTQPEDGVEMDTRAAASEAPQDVTYAQLH S L T L R R K A T E P P P S Q E R E P P A E P S I Y A T L A I H (配列番号63) と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

10

【0229】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは、LRHR R R Q G K H W T S T Q R K A D F Q H P A G A V G P E P T D R G L Q W R S S P A A D A Q E E N L Y A A V K D T Q P E D G V E M D T R A A A S E A P Q D V T Y A Q L H S L T L R R K A T E P P P S Q E R E P P A E P S I Y A T L A I H (配列番号63) のアミノ酸配列を含む。

【0230】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはL I R 3に由来する。

20

【0231】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはRRQR HSKHRTSDQRKTDFQRPAGAAETEPKDRGLLRSSSPAADV QEENLYAAVKDTQSEDRVELDSQS PHDEDPQAVTYAPVKH SSPRREMASPPSSLSGEFLDTKDRQVEEDRQMDTEAAASE ASQDVTYAQLHSLTLR R K A T E P P P S Q E G E P P A E P S I Y A T L A I H (配列番号64) と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

30

【0232】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは、RRQR HSKHRTSDQRKTDFQRPAGAAETEPKDRGLLRSSSPAADV VQEENLYAAVKDTQSEDRVELDSQS PHDEDPQAVTYAPVK HSSPRREMASPPSSLSGEFLDTKDRQVEEDRQMDTEAAAS EASQDVTYAQLHSLTLR R K A T E P P P S Q E G E P P A E P S I Y A T L A I H (配列番号64) のアミノ酸配列を含む。

【0233】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはL I R 5に由来する。

40

【0234】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはQHWR QGKHRTL AQRQADFQRP P G A A E P E P K D G G L Q R R S S P A A D V Q G E N F C A A V K N T Q P E D G V E M D T R Q S P H D E D P Q A V T Y A K V K H S R P R R E M A S P P S P L S G E F L D T K D R Q A E E D R Q M D T E A A A S E A P Q D V T Y A Q L H S F T L R Q K A T E P P P S Q E G A S P A E P S V Y A T L A I H (配列番号65) と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

50

【0235】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは、QHW RQ G K H R T L A Q R Q A D F Q R P P G A A E P E P K D G G L Q R R S S P A A D V Q G E N F C A A V K N T Q P E D G V E M D T R Q S P H D E D P Q A V T Y A K V K H S R P R R E M A S P P S P L S G E F L D T K D R Q A E E D R Q M D T E A A A S E A P Q D V T Y A Q L H S F T L R Q K A T E P P P S Q E G A S P A E P S V Y A T L A I H (配列番号65)のアミノ酸配列を含む。

【0236】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはS I G L E C - 2に由来する。

10

【0237】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはK L Q R R W K R T Q S Q Q G L Q E N S S G Q S F F V R N K K V R R A P L S E G P H S L G C Y N P M M E D G I S Y T T L R F P E M N I P R T G D A E S S E M Q R P P P D C D D T V T Y S A L H K R Q V G D Y E N V I P D F P E D E G I H Y S E L I Q F G V G E R P Q A Q E N V D Y V I L K H (配列番号66)と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

20

【0238】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはK L Q R R W K R T Q S Q Q G L Q E N S S G Q S F F V R N K K V R R A P L S E G P H S L G C Y N P M M E D G I S Y T T L R F P E M N I P R T G D A E S S E M Q R P P P D C D D T V T Y S A L H K R Q V G D Y E N V I P D F P E D E G I H Y S E L I Q F G V G E R P Q A Q E N V D Y V I L K H (配列番号66)のアミノ酸配列を含む。

【0239】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはS I G L E C - 10に由来する。

【0240】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つはK I L P K R R T Q T E T P R P R F S R H S T I L D Y I N V V P T A G P L A Q K R N Q K A T P N S P R T P L P P G A P S P E S K K N Q K K Q Y Q L P S F P E P K S S T Q A P E S Q E S Q E E L H Y A T L N F P G V R P R P E A R M P K G T Q A D Y A E V K F Q (配列番号67)と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

30

【0241】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは、K I L P K R R T Q T E T P R P R F S R H S T I L D Y I N V V P T A G P L A Q K R N Q K A T P N S P R T P L P P G A P S P E S K K N Q K K Q Y Q L P S F P E P K S S T Q A P E S Q E S Q E E L H Y A T L N F P G V R P R P E A R M P K G T Q A D Y A E V K F Q (配列番号67)のアミノ酸配列を含む。

40

【0242】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは配列番号1と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、配列番号と少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態で

50

は、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは配列番号2と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは配列番号3と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%であるアミノ酸配列を含む。%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは配列番号4と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%であるアミノ酸配列を含む。%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは配列番号7と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは配列番号8と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0243】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメイン及び1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは同じタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは第1のタンパク質に由来し、且つ1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つは第1のタンパク質とは異なる第2のタンパク質に由来する。

【0244】

酵素抑制性ドメイン

いくつかの実施形態では、抑制性キメラ受容体は酵素抑制性ドメインを含む。いくつかの実施形態では、酵素抑制性ドメインはまた、酵素抑制性ドメインを欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、免疫調節細胞にて発現されるとキメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害することもできる。

【0245】

いくつかの実施形態では、酵素抑制性ドメインは酵素触媒ドメインを含む。いくつかの実施形態では、酵素触媒ドメインはCSK、SHP-1、PTEN、CD45、CD148、PTP-MEG1、PTP-PEST、c-CBL、CBL-b、PTPN22、LAR、PTPH1、SHIP-1、及びRasGAPから成る群から選択される酵素に由来する。

【0246】

いくつかの実施形態では、酵素抑制性ドメインは1以上の修飾を欠く他の点では同一である酵素抑制性ドメインと比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を調節する1以上の修飾を含む。いくつかの実施形態では、1以上の修飾は1以上の修飾を欠く他の点では同一である酵素抑制性ドメインと比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を低下させる。いくつかの実施形態では、1以上の修飾は1以上の修飾を欠く他の点では同一である酵素抑制性ドメインと比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を高める。

【0247】

活性化ドメイン及び共刺激ドメイン

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、本明細書で開示されている細胞は、活性化細胞内ドメインまたは共刺激細胞内ドメインを含む少なくとも1つの腫瘍標的キメラ受容体またはT細胞受容体をさらに含むことができる。いくつかの実施形態では、細胞は抑制性キメラ受容体を少なくとも1つ、及び腫瘍標的キメラ受容体を少なくとも1つ含む。細胞は、腫瘍標的CARを少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、少なくとも8つ、少なくとも9つ、または少なくとも10、またはそれ以上含むことができ、且つ少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、少なくとも8つ、少なくとも9つ、または少なくとも10、またはそれ以上の抑制性キメラ受容体を含むことができる。

10

【0248】

いくつかの実施形態では、活性化シグナル伝達ドメインは、3つの免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフ(ITAM)を含むCD3-タンパク質である。活性化シグナル伝達ドメインの他の例には、CD28、4-1BB、及びOX40が挙げられる。いくつかの実施形態では、細胞受容体は1を超える活性化シグナル伝達ドメインを含み、それぞれ、共刺激ドメインと呼ばれる。

【0249】

いくつかの実施形態では、腫瘍標的キメラ受容体はキメラ抗原受容体(CAR)または操作されたT細胞受容体である。いくつかの実施形態では、CARは腫瘍細胞の表面に発現されている1以上のタンパク質を結合する。

20

【0250】

いくつかの実施形態では、タンパク質がキメラ抑制性受容体に結合する前に、腫瘍標的キメラ受容体は細胞を活性化することができる。

【0251】

膜貫通ドメイン

抑制性キメラ受容体は、タンパク質結合ドメインを細胞内ドメインに連結する膜貫通ドメインを含有することができる。異なる膜貫通ドメインは異なる受容体安定性をもたらす。好適な膜貫通ドメインにはCD8、CD28、CD3zeta、CD4、4-1BB、OX40、ICOS、2B4、CD25、CD7、LAX、LAT、LAIR1、GRB-2、Dok-1、Dok-2、SLAP1、SLAP2、CD200R、SIRPアルファ、HAVR、GITR、PD-L1、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL2、CD94、KLRG-1、CEACAM1、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、及びSIGLEC-10が含まれるが、これらに限定されない。

30

【0252】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインはCD8、CD28、CD3zeta、CD4、4-1BB、OX40、ICOS、2B4、CD25、CD7、LAX、LAT、LAIR1、GRB-2、Dok-1、Dok-2、SLAP1、SLAP2、CD200R、SIRPアルファ、HAVR、GITR、PD-L1、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL2、CD94、KLRG-1、CEACAM1、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、及びSIGLEC-10から成る群から選択されるタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、細胞受容体の膜貫通ドメインはLAXの膜貫通ドメインである。いくつかの実施形態では、細胞受容体の膜貫通ドメインはCD28の膜貫通ドメインである。いくつかの実施形態では、細胞受容体の膜貫通ドメインはCD25の膜貫通ドメインである。いくつかの実施形態では、細胞受容体の膜貫通ドメインはCD7の膜貫通ドメインである。いくつかの実施形態では、細胞受容体の膜貫通ドメインはLATの膜貫通ドメインである。いくつかの実施形態では、細胞受容体の膜貫通ドメインはSIRPの膜貫通ドメインである。

40

【0253】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインは同じタン

50

パク質に由来する。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは第1のタンパク質に由来し、且つ細胞内シグナル伝達ドメインは第1のタンパク質とは異なる第2のタンパク質に由来し、その際、キメラ抑制性受容体はCD28に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0254】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインはFWVLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWV（配列番号20）と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインはFWVLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWV（配列番号20）のアミノ酸配列を含む。

10

【0255】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインは同じタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは第1のタンパク質に由来し、且つ細胞内シグナル伝達ドメインは第1のタンパク質とは異なる第2のタンパク質に由来し、その際、キメラ抑制性受容体はKIR2DL1に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0256】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインはILIGTSVVIIILFILLFFLL（配列番号76）と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインはILIGTSVVIIILFILLFFLL（配列番号76）のアミノ酸配列を含む。

20

【0257】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインは同じタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは第1のタンパク質に由来し、且つ細胞内シグナル伝達ドメインは第1のタンパク質とは異なる第2のタンパク質に由来し、その際、キメラ抑制性受容体はKLRG-1に由来する膜貫通ドメインを含む。

30

【0258】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインはVAIALGLLTAVLLSVLLYQWI（配列番号78）と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインはVAIALGLLTAVLLSVLLYQWI（配列番号78）のアミノ酸配列を含む。

【0259】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインは同じタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは第1のタンパク質に由来し、且つ細胞内シグナル伝達ドメインは第1のタンパク質とは異なる第2のタンパク質に由来し、その際、キメラ抑制性受容体はLAIR1に由来する膜貫通ドメインを含む。

40

【0260】

いくつかの態様では、膜貫通ドメインはILIGVSVVFLFCLLLVLFCL（配列番号79）と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは、ILIGVSVVFLFCLLLVLFCL（配列番号7

50

9) のアミノ酸配列を含む。

【0261】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインは同じタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは第1のタンパク質に由来し、且つ細胞内シグナル伝達ドメインは第1のタンパク質とは異なる第2のタンパク質に由来し、その際、キメラ抑制性受容体はLIR2に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0262】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインはVIGILVAVVLLLLLLLLLFLFLI (配列番号80) と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインはVIGILVAVVLLLLLLLLLFLFLI (配列番号80) のアミノ酸配列を含む。

10

【0263】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインは同じタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは第1のタンパク質に由来し、且つ細胞内シグナル伝達ドメインは第1のタンパク質とは異なる第2のタンパク質に由来し、その際、キメラ抑制性受容体はLIR3に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0264】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインはVLIGVSVAFVLLLLLFLLLFLLL (配列番号81) と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインはVLIGVSVAFVLLLLLFLLLFLLL (配列番号81) のアミノ酸配列を含む。

20

【0265】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインは同じタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは第1のタンパク質に由来し、且つ細胞内シグナル伝達ドメインは第1のタンパク質とは異なる第2のタンパク質に由来し、その際、キメラ抑制性受容体はLIR5に由来する膜貫通ドメインを含む。

30

【0266】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインはVLIGVLVVSI L L L S L L L F L L L (配列番号82) と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインはVLIGVLVVSI L L L S L L L F L L L (配列番号82) のアミノ酸配列を含む。

40

【0267】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインは同じタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは第1のタンパク質に由来し、且つ細胞内シグナル伝達ドメインは第1のタンパク質とは異なる第2のタンパク質に由来し、その際、キメラ抑制性受容体はSIGLEC-2に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0268】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインはVAVGLGSCLA I L I L A I C G L (配列番号83) と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少

50

なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは V A V G L G S C L A I L I L A I C G L (配列番号 83) のアミノ酸配列を含む。

【0269】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインは同じタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは第 1 のタンパク質に由来し、且つ細胞内シグナル伝達ドメインは第 1 のタンパク質とは異なる第 2 のタンパク質に由来し、その際、キメラ抑制性受容体は S I G L E C - 10 に由来する膜貫通ドメインを含む。

10

【0270】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは G A F L G I G I T A L L F L C L A L I I M (配列番号 84) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは G A F L G I G I T A L L F L C L A L I I M (配列番号 84) のアミノ酸配列を含む。

【0271】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは配列番号 16 と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは配列番号 17 と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは配列番号 18 と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは配列番号 19 と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは配列番号 21 と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む。

20

30

40

【0272】

例示的な膜貫通ドメインのアミノ酸配列の例を表 3 に示す。例示的な膜貫通ドメインの核酸配列の例を表 4 に示す。

【0273】

【表 3】

表 3—例示的な膜貫通ドメインのアミノ酸配列		
アミノ酸配列	配列番号	説明
I F S G F A G L L A I L L V V A V F C I L	1 6	L A X の膜貫通ドメイン
V A V A G C V F L L I S V L L L S G L	1 7	C D 2 5 の膜貫通ドメイン
A A L A V I S F L L G L G L G V A C V L A	1 8	C D 7 の膜貫通ドメイン
M E A D A L S P V G L G L L L L P F L V T L L A A L A V R A R E L P V S	1 9	L A T の膜貫通ドメイン
F W V L V V V G G V L A C Y S L L V T V A F I I F W V	2 0	C D 2 8 の膜貫通ドメイン
I V V G V V C T L L V A L L M A A L Y L V	2 1	S I R P α の膜貫通ドメイ ン
I L I G T S V V I I L F I L L F F L L	7 6	K I R 2 D L 1 の膜貫通ド メイン
V I G I L V A V I L L L L L L L L L F L I	7 7	L I R 1 の膜貫通ドメイン
V A I A L G L L T A V L L S V L L Y Q W I	7 8	K L R G 1 の膜貫通ドメイ ン
I L I G V S V V F L F C L L L L V L F C L	7 9	L A I R 1 の膜貫通ドメイ ン
V I G I L V A V V L L L L L L L L L F L I	8 0	L I R 2 の膜貫通ドメイン
V L I G V S V A F V L L L F L L L F L L L	8 1	L I R 3 の膜貫通ドメイン
V L I G V L V V S I L L L S L L L F L L L	8 2	L I R 5 の膜貫通ドメイン
V A V G L G S C L A I L I L A I C G L	8 3	S I G L E C - 2 の膜貫通 ドメイン
G A F L G I G I T A L L F L C L A L I M	8 4	S I G L E C - 1 0 の膜貫 通ドメイン

10

20

30

40

【 0 2 7 4 】

50

【表 4】

表 4－例示的な膜貫通ドメインの核酸配列		
核酸配列	配列番号	説明
TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGTGGAGT CCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGTAACAG TGGCCTTTATTATTTTCTGGGTG	2 2	C D 2 8 の膜貫通ドメイン
ATCCTGATCGGCACCAGCGTGGTCATCAT CCTGTTTATCCTGCTGTTCTTCCTGCTG	8 5	K I R 2 D L 1 の膜貫通ドメイン
GTGATCGGCATTCTGGTGGCCGTGATTCT GCTGCTCCTGCTGTTGCTGCTGCTGTTCT GATC	8 6	L I R 1 の膜貫通ドメイン
GTGGCCATTGCTCTGGGACTGCTTACAGC CGTGCTGCTGAGTGTGCTGCTGTACCAGT GGATC	8 7	K L R G 1 の膜貫通ドメイン
ATCCTGATCGGAGTGTCCGTGGTGGTTCTG TTCTGCCTGCTCCTGCTGGTGGTGGTGGT CTG	8 8	L A I R 1 の膜貫通ドメイン
GTGATCGGAATTCTGGTGGCCGTGGTGGT GCTCCTGCTGCTTCTCCTTCTGCTGTTCT GATC	8 9	L I R 2 の膜貫通ドメイン
GTGCTGATCGGAGTGTCTGTGGCTTTCGT GCTGCTCCTGTTCTCCTGCTGTTCTCCTG CCTG	9 0	L I R 3 の膜貫通ドメイン
GTGCTGATTGGCGTGCTGGTGGTGTCTAT CCTGCTCCTGTCACTGCTGCTGTTTCTGCT GCTC	9 1	L I R 5 の膜貫通ドメイン
GTGGCCGTTGGCCTGGGATCTTGTCTGGC CATTCTGATCCTGGCCATCTGCGGCCCTG	9 2	S I G L E C - 2 の膜貫通ドメイン
GGCGCCTTCTCGGCATCGGAATTACAGC CCTGCTGTTCTGCTGCTGGCTCTGATCAT CATG	9 3	S I G L E C - 1 0 の膜貫通ドメイン

10

20

30

【 0 2 7 5 】

いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインは細胞外タンパク質結合ドメインに物理的に連結されている。いくつかの実施形態では、細胞内シグナル伝達ドメインは膜貫通ドメインに物理的に連結されている。いくつかの実施形態では、膜貫通ドメインが細胞外タンパク質結合ドメインに物理的に連結され、且つ細胞内シグナル伝達ドメインは膜貫通ドメインに物理的に連結されている。

40

【 0 2 7 6 】

いくつかの実施形態では、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインは2つの細胞内シグナル伝達ドメインである。

【 0 2 7 7 】

いくつかの実施形態では、キメラ抑制性受容体はK I R 2 D L 1 に由来する第1の細胞内シグナル伝達ドメインと、L I R 2 に由来する第2の細胞内シグナル伝達ドメインとを

50

含む。いくつかの実施形態では、キメラ抑制性受容体はK I R 2 D L 1に由来する第1の細胞内シグナル伝達ドメインと、L I R 3に由来する第2の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの実施形態では、キメラ抑制性受容体はK I R 2 D L 1に由来する第1の細胞内シグナル伝達ドメインと、L I R 5に由来する第2の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの実施形態では、第1の細胞内シグナル伝達ドメインはさらにK I R 2 D L 1に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0278】

いくつかの実施形態では、キメラ抑制性受容体はL I R 2に由来する第1の細胞内シグナル伝達ドメインと、K I R 2 D L 1に由来する第2の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの実施形態では、第1の細胞内シグナル伝達ドメインはさらにL I R 2に由来する膜貫通ドメインを含む。

10

【0279】

いくつかの実施形態では、キメラ抑制性受容体はL I R 3に由来する第1の細胞内シグナル伝達ドメインと、K I R 2 D L 1に由来する第2の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの実施形態では、第1の細胞内シグナル伝達ドメインはさらにL I R 3に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0280】

いくつかの実施形態では、キメラ抑制性受容体はL I R 5に由来する第1の細胞内シグナル伝達ドメインと、K I R 2 D L 1に由来する第2の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの実施形態では、第1の細胞内シグナル伝達ドメインはさらにL I R 5に由来する膜貫通ドメインを含む。

20

【0281】

細胞外タンパク質結合ドメイン

本明細書に記載されている抑制性キメラ受容体は、細胞外タンパク質結合ドメインをさらに含む。

【0282】

いくつかの実施形態では、抑制性キメラ受容体を発現している免疫細胞は、複数の標的または抗原を認識するように遺伝子操作されており、これにより、腫瘍細胞上の固有の標的またはタンパク質発現パターンの認識が可能になる。

【0283】

いくつかの実施形態では、タンパク質は標的腫瘍上で発現されない。いくつかの実施形態では、非腫瘍細胞における発現は、腫瘍標的キメラ抗原受容体の活性化をもたらさずであろう発現レベルよりも少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4倍、少なくとも5倍、少なくとも6倍、少なくとも7倍、少なくとも8倍、少なくとも9倍、または少なくとも10倍またはそれ以上低い。

30

【0284】

いくつかの実施形態では、タンパク質は非腫瘍細胞上で発現される。

【0285】

いくつかの実施形態では、タンパク質は脳、神経組織、内分泌、内皮、骨、骨髄、免疫系、筋肉、肺、肝臓、胆嚢、膵臓、消化管、腎臓、膀胱、雄性生殖器、雌性生殖器、脂肪、軟組織、及び皮膚から成る群から選択される組織に由来する非腫瘍細胞上で発現される。

40

【0286】

いくつかの実施形態では、細胞外タンパク質結合ドメインはリガンド結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、リガンド結合ドメインは受容体由来のドメインであることができ、該受容体は、T細胞受容体(T C R)、B細胞受容体(B C R)、サイトカイン受容体、R T K受容体、セリン/スレオニンキナーゼ受容体、ホルモン受容体、免疫グロブリンスーパーファミリー受容体、及びT N F Rスーパーファミリー受容体から成る群から選択される。いくつかの実施形態では、細胞外タンパク質結合ドメインは受容体結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、細胞外タンパク質結合ドメインは抗原結合ドメ

50

インを含む。

【0287】

いくつかの実施形態では、本開示の抑制性キメラ受容体の細胞外タンパク質結合ドメインは、腫瘍抗原に特異的な単鎖Fv (scFv) のような抗原結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、細胞外タンパク質結合ドメインは、抗体、その抗原結合断片、F (ab)、F (ab')、単鎖可変断片 (scFv)、または単ドメイン抗体 (sdAb) を含む。

【0288】

「単鎖」という用語は、ペプチド結合によって直鎖で連結されるアミノ酸単量体を含む分子を指す。特定のそのような実施形態では、単鎖Fab分子にてFab軽鎖のC末端はFab重鎖のN末端に接続される。本明細書にさらに詳細に記載されているように、scFvは、ポリペプチド鎖によってそのC末端から重鎖の可変ドメイン (VH) のN末端に接続された軽鎖の可変ドメイン (VL) を有する。あるいは、scFvは、ポリペプチド鎖によってVHのC末端がVLのN末端に接続されているポリペプチド鎖を構成する。

10

【0289】

Fab断片 (抗原結合断片とも呼ばれる) は、それぞれ重鎖及び軽鎖の可変ドメインVL及びVHと共に、軽鎖の定常ドメイン (CL) 及び重鎖の第1の定常ドメイン (CH1) を含有する。可変ドメインは抗原結合に関与する相補性決定ループ (CDR、超可変領域とも呼ばれる) を含む。Fab'断片は、抗体ヒンジ領域からの1以上のシステインを含む重鎖CH1ドメインのカルボキシ末端での数個の残基の付加によってFab断片とは異なる。

20

【0290】

「F(ab')₂」断片はジスルフィド結合によってヒンジ領域の近くで結合された2つのFab'断片を含有する。F(ab')₂断片は、例えば、組換え法によって、またはインタクトな抗体のペプシン消化によって生成されてもよい。F(ab')断片は、例えば -メルカプトエタノールで処理することにより解離することができる。

【0291】

「Fv」断片は1つの重鎖可変ドメイン及び1つの軽鎖可変ドメインの非共有結合二量体を含む。

【0292】

「単鎖Fv」または「sFv」または「scFv」は抗体のVH及びVLのドメインを含み、これらのドメインは単一のポリペプチド鎖に存在する。一実施形態では、Fvポリペプチドは、VHドメインとVLドメインとの間にポリペプチドリンカーをさらに含み、それはscFvが抗原結合に望ましい構造を形成するのを可能にする。

30

【0293】

「単ドメイン抗体」または「sdAb」という用語は、抗体の1つの可変ドメインが他の可変ドメインの存在なしに抗原に特異的に結合する分子を指す。単ドメイン抗体及びその断片は、Arabi Ghahroudi et al., F E B S L e t t e r s , 1998, 414:521-526及びMuyldermans et al., T r e n d s i n B i o c h e m . S c i . , 2001, 26:230-245に記載されており、そのそれぞれは参照によってその全体が組み込まれる。単ドメイン抗体はsdAbまたはナノボディとしても知られている。sdAbsはかなり安定しており、抗体のFc鎖との融合パートナーとして容易に発現する (Harmsen MM, De Haard HJ (2007)) " Properties , production , and applications of camelid single-domain antibody fragments " . Appl . Microbiol Biotechnol . 77 (1) : 13 - 22) .

40

【0294】

「抗体断片」は、インタクトな抗体の一部、例えば、インタクトな抗体の抗原結合領域及び/または可変領域を含む。抗体断片には、例えば、Fv断片、Fab断片、F(ab)

50

’) 2 断片、 F a b ’ 断片、 s c F v (s F v) 断片、 及び s c F v - F c 断片が含まれる。

【 0 2 9 5 】

いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは、抗体、抗体の抗原結合断片、 F (a b) 断片、 F (a b ’) 断片、単鎖可変断片 (s c F v)、または単一ドメイン抗体 (s d A b) を含む。いくつかの実施形態では、抗原結合ドメインは単鎖可変断片 (s c F v) を含む。いくつかの実施形態では、各 s c F v は重鎖可変ドメイン (V H) 及び軽鎖可変ドメイン (V L) を含む。いくつかの実施形態では、 V H 及び V L はペプチドリンカーによって分離される。

【 0 2 9 6 】

いくつかの実施形態では、細胞外タンパク質結合ドメインはリガンド結合ドメインを含む。リガンド結合ドメインは受容体由来のドメインであることができ、該受容体は T C R、 B C R、 サイトカイン受容体、 R T K 受容体、 セリン / スレオニンキナーゼ受容体、 ホルモン受容体、 免疫グロブリンスーパーファミリー受容体、 及び T N F R スーパーファミリー受容体から成る群から選択される。いくつかの実施形態では、細胞外タンパク質結合ドメインは C D 2 0 または C D 1 9 を含む標的タンパク質に結合する。

【 0 2 9 7 】

結合ドメインの選択は、標的細胞の表面を定義するリガンドの種類と数に依存する。例えば、細胞外タンパク質結合ドメインは、「自己」組織もしくは正常組織のような非疾患状態に関連する標的細胞上の細胞表面マーカーとして作用するリガンドを認識するように選択されてもよく、または細胞外タンパク質結合ドメインは、がんもしくは自己免疫疾患のような特定の疾患状態に関連する標的上の細胞表面マーカーとして作用するリガンドを認識するように選択されてもよい。一般に、抑制性キメラ受容体の結合ドメインは非疾患状態の細胞表面マーカーから選択されてもよい一方で、腫瘍標的キメラ受容体の結合ドメインは疾患状態の細胞表面マーカーから選択されてもよい。したがって、本開示の抑制性キメラ受容体における細胞外タンパク質結合ドメインのリガンドとして作用してもよい細胞表面マーカーの例には正常組織に関連するものが挙げられ、腫瘍標的キメラ受容体におけるタンパク質結合ドメインのリガンドとして作用してもよい細胞表面マーカーの例には、癌細胞及び / または他の形態の疾患細胞に関連するものが挙げられる。いくつかの実施形態では、抑制性キメラ受容体は、操作された核酸によってコードされる非腫瘍細胞上のタンパク質に特異的に結合する所望のタンパク質結合ドメインを操作することによって、目的の非腫瘍タンパク質を標的とするように操作される。

【 0 2 9 8 】

標的またはエピトープに特異的に結合する細胞外タンパク質結合ドメイン (例えば、 s c F v) は、当該技術分野で理解される用語であり、そのような特異的な結合を決定する方法も当該技術分野で知られている。分子は、別の標的よりも特定の標的タンパク質とさらに頻繁に、さらに迅速に、さらに長い持続時間及び / またはさらに大きな親和性で反応するまたは会合するならば、特異的な結合を示すと言われる。第 1 の標的タンパク質に特異的に結合する細胞外タンパク質結合ドメイン (例えば、 s c F v) は第 2 の標的タンパク質に特異的に結合してもよいし、または結合しなくてもよい。そのため、特異的な結合は排他的な結合を (含めることはできるが) 必ずしも必要としない。いくつかの実施形態では、細胞外タンパク質結合ドメインは抗原結合ドメインである。

【 0 2 9 9 】

いくつかの実施形態では、細胞外タンパク質結合は高い結合親和性を有する。

【 0 3 0 0 】

いくつかの実施形態では、細胞外タンパク質結合は低い結合親和性を有する。

【 0 3 0 1 】

リンカー

いくつかの実施形態では、抑制性キメラ受容体はペプチドリンカーを含む。リンカーは一般に、 s c F v または s d A b のペプチドのようなタンパク質結合ドメインの 2 つのペ

10

20

30

40

50

プチドを連結するのに使用される。グリセリン・セリンに基づくリンカーを含む、当該技術分野で知られている任意の適切なリンカーが使用されてもよい。いくつかの実施形態では、s c F vの重鎖可変ドメイン(VH)及び軽鎖可変ドメイン(VL)はペプチドリンカーによって分離される。いくつかの実施形態では、s c F vは構造VH-L-VLまたはVL-L-VHを含み、その際、VHは重鎖可変ドメインであり、Lはペプチドリンカーであり、VLは軽鎖可変ドメインである。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーはGGS(配列番号23)、GGS GGS(配列番号24)、GGS GGS GGS(配列番号25)、GGS GGS GGS GGS(配列番号26)、GGS GGS GGS GGS GGS(配列番号27)、GGGS(配列番号28)、GGGS GGS(配列番号29)、GGGS GGS GGS(配列番号30)、GGGS GGS GGS GGS(配列番号31)、GGGS GGS GGS GGS GGS(配列番号32)、GGGS GGS(配列番号33)、GGGS GGS GGS(配列番号34)、GGGS GGS GGS GGS(配列番号35)、GGGS GGS GGS GGS GGS(配列番号36)、GGGS GGS GGS GGS GGS GGS(配列番号37)、及びTTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDQTTPGERSLPAFYPGTSGSCSGCSLSLP(配列番号94)から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。

10

【0302】

例示的なリンカーのアミノ酸配列を表5に示す。例示的なリンカーの核酸配列を表6に示す。

20

【0303】

30

40

50

【表 5】

表 5－例示的なリンカーのアミノ酸配列		
アミノ酸配列	配列番号	説明
GGS	2 3	(G ₂ S) ₁ s c F v のリンカー
GGSGGS	2 4	(G ₂ S) ₂ s c F v のリンカー
GGSGGSGGS	2 5	(G ₂ S) ₃ s c F v のリンカー
GGSGGSGGSGGS	2 6	(G ₂ S) ₄ s c F v のリンカー
GGSGGSGGSGGSGGS	2 7	(G ₂ S) ₅ s c F v のリンカー
GGGS	2 8	(G ₃ S) ₁ s c F v のリンカー
GGGSGGGS	2 9	(G ₃ S) ₂ s c F v のリンカー
GGGSGGGS GGGS	3 0	(G ₃ S) ₃ s c F v のリンカー
GGGSGGGS GGGS GGGS	3 1	(G ₃ S) ₄ s c F v のリンカー
GGGSGGGS GGGS GGGS GGGS	3 2	(G ₃ S) ₅ s c F v のリンカー
GGGGS	3 3	(G ₄ S) ₁ s c F v のリンカー
GGGGSGGGGS	3 4	(G ₄ S) ₂ s c F v のリンカー
GGGGSGGGGS GGGS	3 5	(G ₄ S) ₃ s c F v のリンカー
GGGGSGGGGS GGGS GGGS	3 6	(G ₄ S) ₄ s c F v のリンカー
GGGGSGGGGS GGGS GGGS GGGS	3 7	(G ₄ S) ₅ s c F v のリンカー
TTTPAPRPPTPAPTIALQPL SLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDQTTPGERSSLP AFYP GTSGSCSGCGSLSLP	9 4	リンカー

10

20

30

【0304】

【表 6】

表 6－例示的なリンカーの核酸配列		
核酸配列	配列番号	説明
GGAGGCGGAGGATCTGGTGG CGGAGGAAGTGGCGGAGGCG GTTCT	3 8	(G ₄ S) ₃ s c F v のリン カー

40

【0305】

スペーサーまたはヒンジドメイン

キメラ受容体はまた、ポリペプチドにてスペーサードメインまたはヒンジドメインを含有することもできる。いくつかの実施形態では、スペーサードメインまたはヒンジドメインは、抑制性キメラ受容体もしくは腫瘍標的キメラ受容体の細胞外ドメイン（例えば、タンパク質結合ドメインを含む）と膜貫通ドメインとの間、または抑制性キメラ受容体もし

50

くは腫瘍標的キメラ受容体の細胞内シグナル伝達ドメインと膜貫通ドメインとの間に位置する。スペーサドメインまたはヒンジドメインは、ポリペプチド鎖にて膜貫通ドメインを細胞外ドメイン及び/または細胞内シグナル伝達ドメインに連結するように機能する任意のオリゴペプチドまたはポリペプチドである。スペーサドメインまたはヒンジドメインは、抑制性キメラ受容体もしくは腫瘍標的キメラ受容体、もしくはそれらのドメインに柔軟性を提供する、または抑制性キメラ受容体もしくは腫瘍標的キメラ受容体、もしくはそれらのドメインの立体障害を防止する。いくつかの実施形態では、スペーサドメインまたはヒンジドメインは最大300までのアミノ酸（例えば、10～100のアミノ酸、または5～20のアミノ酸）を含んでもよい。いくつかの実施形態では、1以上のスペーサドメイン（複数可）が抑制性キメラ受容体または腫瘍標的キメラ受容体の他の領域に含まれていてもよい。

10

【0306】

例示的なスペーサドメインまたはヒンジドメインのアミノ酸配列を表7に示す。例示的なスペーサドメインまたはヒンジドメインの核酸配列を表8に示す。

【0307】

【表7】

表7—例示的なスペーサドメインまたはヒンジドメインのアミノ酸配列		
アミノ酸配列	配列番号	説明
AAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHL CPSPLFPGPSKP	39	CD28のヒンジ
ESKYGPPCPCP	40	IgG4の最小ヒンジ
ESKYGPPAPSAP	41	IgG4の最小ヒンジ、ジスルフィドなし
ESKYGPPCPPCP	42	IgG4 S228Pの最小ヒンジ、増強されたジスルフィド形成
EPKSCDKTHTCP	43	IgG1最小ヒンジ
AAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQP LSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIW APLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRN	44	拡張CD8aのヒンジ
TTTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACD	45	CD8aのヒンジ
ACPTGLYTHSGECCACNLGEGVAQPCGA NQTVCPECLDSVTFSDVVSATEPCKPCTEC VGLQSMSAPCVEADDAVCRCA YGYYQDE TTGRCEACRVCEAGSLVFSCQDKQNTVC EECPDGTYSDEADAEC	46	LNGFRのヒンジ
ACPTGLYTHSGECCACNLGEGVAQPCGA NQTVC	47	切詰め型LNGFRのヒンジ (TNFR-Cys1)
AVGQDTQEVIVPHSLPFKV	48	PDGFR-βの細胞外リンカー

20

30

40

【0308】

50

【表 8】

表 8 - 例示的なスペーサードメインまたはヒンジドメインの核酸配列		
核酸配列	配列番号	説明
GCAGCAGCTATCGAGGTGATGTATCCTCCGCC TACCTGGATAATGAAAAGAGTAATGGGACTAT CATTCATGTAAGGGAAGCATCTTGTCCCTC TCCCCTTTCCCGGTCCGTCTAAACCT	49	CD28のヒンジ
GAA AGC AAG TAC GGT CCA CCT TGC CCT AGC TGT CCG	50	IgG4の最小ヒンジ
GAA TCC AAG TAC GGC CCC CCA GCG CCT AGT GCC CCA	51	IgG4の最小ヒンジ、ジスルフィドなし
GAA TCT AAA TAT GGC CCG CCA TGC CCG CCT TGC CCA	52	IgG4 S228Pの最小ヒンジ、増強されたジスルフィド形成
GAA CCG AAG TCT TGT GAT AAA ACT CAT ACG TGC CCG	53	IgG1の最小ヒンジ
GCT GCT GCT TTC GTA CCC GTG TTC CTC CCT GCT AAG CCT ACG ACT ACC CCC GCA CCG AGA CCA CCC ACG CCA GCA CCC ACG ATTGCT AGC CAG CCC CTT AGT TTG CGA CCA GAA GCT TGT CGG CCT GCT GCT GGT GGC GCG GTA CAT ACC CGC GGC CTT GAT TTT GCTTGC GAT ATA TAT ATC TGG GCG CCT CTG GCC GGA ACA TGC GGG GTC CTC CTC CTT TCT CTG GTT ATT ACT CTC TAC TGT AAT CACAGG AAT	54	拡張CD8aのヒンジ
GCC TGC CCG ACC GGG CTC TAC ACT CAT AGC GGG GAA TGT TGT AAG GCA TGT AAC TTG GGT GAG GGC GTC GCA CAG CCC TGC GGAGCT AAC CAA ACA GTG TGC GAA CCC TGC CTC GAT AGT GTG ACG TTC TCT GAT GTT GTA TCA GCT ACA GAG CCT TGC AAA CCA TGTA CT GAG TGC GTT GGA CTT CAG TCA ATG AGC GCT CCA TGT GTG GAG GCA GAT GAT GCG GTC TGT CGA TGT GCT TAC GGA TAC TACCAA GAC GAG ACA ACA GGG CGG TGC GAG GCC TGT AGA GTT TGT GAG GCG GGC TCC GGG CTG GTG TTT TCA TGT CAA GAC AAG CAAAAT ACG GTC TGT GAA GAG TGC CCT GAT GGC ACC TAC TCA GAC GAA GCA GAT GCA GAA TGC	55	LNGFRのヒンジ
GCC TGC CCT ACA GGA CTC TAC ACG CAT AGC GGT GAG TGT TGT AAA GCA TGC AAC CTC GGG GAA GGT GTA GCC CAG CCA TGC GGG GCT AAC CAA ACC GTT TGC	56	切詰め型LNGFRのヒンジ (TNFR-Cys1)
GCTGTGGCCAGGACACGCAGGAGGTCATCGT GGTGCCACACTCCTTGCCCTTAAGGTG	57	PDGFR-βの細胞外リンカー

10

20

30

40

【0309】

いくつかの実施形態では、キメラ抑制性受容体は、タンパク質結合ドメインと膜貫通ドメインとの間にスペーサー領域をさらに含む。

【0310】

いくつかの実施形態では、スペーサー領域はCD8、CD4、CD7、CD28、IgG1、IgG4、FcRIII、LNGFR、及びPDGFRから成る群から選択されるタンパク質に由来する。いくつかの実施形態では、スペーサー領域はAAAIEMYP P P P Y L D N E K S N G T I I H V K G K H L C P S P L F P G P S K P (配列番号39)、E S K Y G P P C P S C P (配列番号40)、E S K Y G P P A P S A P (配

50

列番号41)、ESKYGPPCPPCP(配列番号42)、EPKSCDKTHTCP
 (配列番号43)、AAAFVPLVFLPAKPTTTPAPRPPTTPTIASQ
 PLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGV
 LLLSLVITLYCNHRN(配列番号44)、TTTPAPRPPTTPTTIA
 LQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD(配列番号45)、AC
 PTGLYTHSGECKACNLGEGVAQPCGANQTVCEPCLDSVT
 FSDVVSAATEPCKPCTECVGLQSMSAPCVEADDAVCRCAYG
 YYQDETTGRCEACRVCEAGSGLVFSQDKQNTVCEECPDG
 TYSDEADAEC(配列番号46)、ACPTGLYTHSGECKACNLGE
 GVAQPCGANQTV(配列番号47)、及びAVGQDTQEVIVVPHSL
 PFKV(配列番号48)から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【0311】

いくつかの実施形態では、スペーサー領域は配列番号39と少なくとも約80%、少な
 くとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少な
 くとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少な
 くとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であ
 るアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、スペーサー領域は配列番号40と少な
 くとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少な
 くとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少な
 くとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、また
 は約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、スペーサー領域
 は配列番号41と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少な
 くとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少な
 くとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少な
 くとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態
 では、スペーサー領域は配列番号42と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少な
 くとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少な
 くとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少な
 くとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む
 。いくつかの実施形態では、スペーサー領域は配列番号43と少なくとも約80%、少な
 くとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少な
 くとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少な
 くとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であ
 るアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、スペーサー領域は配列番号44と少な
 くとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少な
 くとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少な
 くとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、また
 は約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、スペーサー領域
 は配列番号45と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少な
 くとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少な
 くとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少な
 くとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態
 では、スペーサー領域は配列番号46と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少な
 くとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少な
 くとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少な
 くとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む
 。いくつかの実施形態では、スペーサー領域は配列番号47と少なくとも約80%、少な
 くとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少な
 くとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少な
 くとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であ

るアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、スパーサー領域は配列番号48と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、スパーサー領域は配列番号49と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0312】

いくつかの実施形態では、スパーサー領域はキメラ抑制性受容体の感受性を調節する。いくつかの態様では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を高める。いくつかの態様では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を低下させる。いくつかの態様では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を調節する。いくつかの態様では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を高める。いくつかの態様では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を低下させる。いくつかの実施形態では、スパーサー領域はスパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、免疫調節細胞にて発現されている腫瘍標的キメラ受容体の活性化の基本的な防止、減弱、または阻害を調節する。いくつかの実施形態では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を低下させる。いくつかの実施形態では、スパーサー領域は、スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を高める。

【0313】

いくつかの態様では、キメラ抑制性受容体は、膜貫通ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインとの間に配置され、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインのそれぞれに操作可能に連結される細胞内スパーサー領域をさらに含む。いくつかの実施形態では、キメラ抑制性受容体は、膜貫通ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインとの間に配置され、膜貫通ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメインのそれぞれに物理的に連結される細胞内スパーサー領域をさらに含む。

【0314】

いくつかの実施形態では、細胞内スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を調節する。いくつかの実施形態では、細胞内スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を高める。いくつかの実施形態では、細胞内スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の感受性を低下させる。いくつかの実施形態では、細胞内スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を調節する。

【0315】

いくつかの実施形態では、細胞内スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を高める。いくつかの実施形態では、細胞内スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、キメラ抑制性受容体の効力を低下させる。いくつかの実施形態では、細胞内スパーサー領域は、細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、免疫調節細胞にて発現されると、免疫調節細胞

10

20

30

40

50

胞で発現されている腫瘍標的キメラ受容体の活性化の基本的な防止、減弱、または阻害を調節する。いくつかの実施形態では、細胞内スペーサー領域は、細胞内スペーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を低下させる。いくつかの実施形態では、細胞内スペーサー領域は、細胞内スペーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を高める。

【0316】

抑制性キメラ受容体をコードするポリヌクレオチド

別の態様では、本明細書で提示されているのは、抑制性キメラ受容体をコードするポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの集合体、及びそのようなポリヌクレオチドを含むベクターである。抑制性キメラ受容体が多重鎖受容体である場合、ポリヌクレオチドの集合体を使用される。この場合、ポリヌクレオチドの集合体は単一のベクターまたは複数のベクターにクローニングすることができる。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、抑制性キメラ受容体をコードする配列を含み、その際、細胞外タンパク質結合ドメインをコードする配列は細胞内シグナル伝達ドメイン及び膜貫通ドメインをコードする配列と隣接し、且つ同じリーディングフレーム内にある。

10

【0317】

ポリヌクレオチドは、哺乳類細胞における発現のためにコドン最適化することができる。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドの配列全体は哺乳類細胞内での発現のためにコドン最適化されている。コドンの最適化は、コードしているDNAにて同義コドン（すなわち、同じアミノ酸をコードするコドン）の出現頻度が様々な種で偏っているという発見を指す。そのようなコドンの縮重は同一のポリペプチドが種々の核酸配列によってコードされるのを可能にする。種々のコドン最適化法が当該技術分野で知られており、例えば、少なくとも米国特許第5,786,464号及び同第6,114,148号に開示されている方法が挙げられる。

20

【0318】

抑制性キメラ受容体をコードするポリヌクレオチドは当該技術分野で既知の組換え方法を使用して、例えば、ポリヌクレオチドを発現している細胞からライブラリーをスクリーニングすることによって、それを含むことが既知であるベクターからそれを導出することによって、または標準的な技法を使用してそれを含有する細胞及び組織から直接単離することによって得ることができる。あるいは、ポリヌクレオチドはクローニングされるのではなく、合成で作成することができる。

30

【0319】

ポリヌクレオチドはベクターにクローニングすることができる。いくつかの実施形態では、当該技術分野において既知の発現ベクターが使用される。したがって、本開示は、細胞に直接形質導入することができる抑制性キメラ受容体を発現するレトロウイルス及びレンチウイルスのベクター構築物を含む。

【0320】

本開示はまた、細胞に直接形質移入することができるRNA構築物も含む。形質移入で使用するためのmRNAを生成する方法には、3'及び5'の非翻訳配列（「UTR」）（例えば、本明細書に記載されている3'及び/または5'のUTR）、5'キャップ（例えば、本明細書に記載されている5'キャップ）、及び/または内部リボソーム侵入部位（IRES）（例えば、本明細書に記載されているIRES）、発現される核酸、及びポリA尾部を含有する構築物を作り出すために、特別に設計されたプライマーによる鋳型の試験管内転写（IVT）と、その後続くポリA付加が関与する。そのように作り出されたRNAは異なる種類の細胞に効率的に形質移入することができる。いくつかの実施形態では、RNA抑制性キメラ受容体ベクターは、エレクトロポレーションによって細胞、例えば、T細胞またはNK細胞に形質導入される。

40

【0321】

細胞

50

一態様では、本開示は抑制性キメラ受容体で操作された細胞を提供する。細胞は、本明細書に記載されている抑制性キメラ受容体を発現するように操作された幹細胞、前駆細胞、及び/または免疫細胞であることができる。いくつかの実施形態では、免疫細胞に由来する細胞株が使用される。本明細書で提供されているような細胞の非限定的な例には、間葉系幹細胞（MSC）、ナチュラルキラー（NK）細胞、NK T細胞、自然リンパ系細胞、肥満細胞、好酸球、好塩基球、マクロファージ、好中球、間葉系幹細胞、樹状細胞、T細胞（例えば、CD8 + T細胞、CD4 + T細胞、ガンマデルタT細胞、及び制御性T細胞（CD4 +、FOXP3 +、CD25 +））、及びB細胞が挙げられる。いくつかの実施形態では、細胞は、多能性幹細胞、胚性幹細胞、成人幹細胞、骨髄幹細胞、臍帯幹細胞、または他の幹細胞のような幹細胞である。

10

【0322】

細胞は、本明細書に記載されている抑制性キメラ受容体を発現するように操作することができる。したがって、本開示は、抑制性キメラ受容体を発現するように操作された細胞（例えば、細胞集団）を提供し、その際、抑制性キメラ受容体はタンパク質結合ドメインと、膜貫通ドメインと、抑制性細胞内シグナル伝達ドメインとを含む。

【0323】

いくつかの実施形態では、免疫調節細胞はT細胞、CD8 + T細胞、CD4 + T細胞、ガンマデルタT細胞、細胞傷害性Tリンパ球（CTL）、制御性T細胞、ウイルス特異的T細胞、ナチュラルキラーT（NKT）細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、B細胞、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、自然リンパ系細胞、肥満細胞、好酸球、好塩基球、好中球、骨髄細胞、マクロファージ、単球、樹状細胞、ESC由来細胞、及びiPSC由来細胞から成る群から選択される。いくつかの実施形態では、免疫調節細胞はCD8 + T細胞である。いくつかの実施形態では、免疫調節細胞はCD4 + T細胞である。いくつかの実施形態では、免疫調節細胞はナチュラルキラーT（NKT）細胞である。いくつかの実施形態では、免疫調節細胞はナチュラルキラー（NK）細胞である。

20

【0324】

いくつかの実施形態では、細胞は自家である。いくつかの実施形態では、細胞は同種異系である。

【0325】

いくつかの実施形態では、免疫調節細胞はキメラ抑制性受容体を含み、その際、キメラ抑制性受容体は細胞外タンパク質結合ドメインと、膜貫通ドメインが細胞外タンパク質結合ドメインに操作可能に連結される膜貫通ドメインと、細胞内シグナル伝達ドメインが膜貫通ドメインに操作可能に連結される細胞内シグナル伝達ドメインとを含み、タンパク質がキメラ抑制性受容体に結合すると、キメラ抑制性受容体は細胞の表面上に発現されている腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減衰させるまたは阻害する。

30

【0326】

いくつかの実施形態では、細胞は、細胞の表面上に発現されている腫瘍標的キメラ受容体をさらに含む。いくつかの実施形態では、キメラ抑制性受容体は組換えで発現される。

【0327】

いくつかの実施形態では、タンパク質がキメラ抑制性受容体に結合する前に、腫瘍標的キメラ受容体は細胞を活性化することができる。いくつかの実施形態では、タンパク質がキメラ抑制性受容体に結合すると、キメラ抑制性受容体は活性化細胞からのサイトカイン産生を抑制する。いくつかの実施形態では、タンパク質がキメラ抑制性受容体に結合すると、キメラ抑制性受容体は標的細胞に対する細胞媒介性免疫応答を抑制し、その際、免疫応答は免疫調節細胞の活性化によって誘導される。いくつかの実施形態では、標的細胞は腫瘍細胞である。いくつかの実施形態では、標的細胞は非腫瘍細胞である。

40

【0328】

複数のキメラ受容体を発現する細胞

細胞は、本明細書に記載されている抑制性キメラ受容体を発現するように操作することができる。細胞は、抑制性キメラ受容体（例えば、iCAR）及び腫瘍標的CAR（例え

50

ば、aCAR)を発現するように操作することもできる。細胞が少なくとも1つの抑制性キメラ受容体及び少なくとも1つの腫瘍標的CARを発現するように操作される場合、細胞は、複数の抑制性キメラ受容体及び/または腫瘍標的キメラ受容体のタンパク質及び/またはポリヌクレオチドを発現することができる。いくつかの実施形態では、細胞は、少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、少なくとも8つ、少なくとも9つ、または少なくとも10以上の抑制性キメラ受容体のポリヌクレオチド及び/またはポリペプチドを発現する。いくつかの実施形態では、細胞は、少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、少なくとも8つ、少なくとも9つ、または少なくとも10以上の腫瘍標的キメラ受容体のポリヌクレオチド及び/またはポリペプチドを含有する。 10

【0329】

抑制性キメラ受容体で操作された細胞の調製方法

一態様では、本開示は、実験用または治療用の使用のために抑制性キメラ受容体を含む操作された免疫細胞を調製する方法を提供する。

【0330】

治療用の抑制性キメラ受容体で操作した細胞を作製するための生体外の手順は当該技術分野で周知である。例えば、細胞を哺乳類(例えば、ヒト)から単離し、本明細書で開示されている抑制性キメラ受容体を発現するベクターによって遺伝子操作(すなわち、試験管内で形質導入または形質移入される)する。抑制性キメラ受容体で操作した細胞は、治療上の利益を提供するために哺乳類レシピエントに投与することができる。哺乳類レシピエントは、ヒトであってもよく、抑制性キメラ受容体で操作した細胞はレシピエントに関して自家であることができる。代わりに、細胞はレシピエントに関して同種、同系、または異種であることができる。造血幹細胞及び造血前駆細胞の生体外の増殖の手順は、参照によって本明細書に組み込まれる米国特許第5,199,942号に記載されており、本開示の細胞に適用することができる。他の好適な方法は当該技術分野において既知であり、したがって、本開示は細胞の生体外の増殖の任意の特定の方法に限定されない。簡単に言えば、免疫エフェクター細胞(例えば、T細胞、NK細胞)の生体外の培養及び増殖は、(1)末梢血の採血または骨髓移植片からの哺乳類由来のCD34+造血幹細胞及び前駆細胞を回収することと; (2)そのような細胞を生体外で増殖させることとを含む。米国特許第5,199,942号に記載されている細胞増殖因子に加えて、flt3-L、IL-1、IL-3及びc-kitリガンドのような他の因子を細胞の培養及び増殖に使用することができる。 20 30

【0331】

いくつかの実施形態では、該方法は、細胞集団(例えば、細胞培養培地における)を所望の細胞密度(例えば、特定の細胞に基づく療法に十分な細胞密度)まで培養することを含む。いくつかの実施形態では、細胞集団は、抑制性プロテアーゼの活性を抑制する薬剤の非存在下で、または抑制性プロテアーゼの活性を抑制する薬剤の存在下で培養される。

【0332】

いくつかの実施形態では、細胞集団は、開始集団の細胞の少なくとも2倍の数を含む増殖した細胞集団を作り出す期間、培養される。いくつかの実施形態では、細胞集団は、開始集団の細胞の少なくとも4倍の数を含む増殖した細胞集団を作り出す期間、培養される。いくつかの実施形態では、細胞集団は、開始集団の細胞の少なくとも16倍の数を含む増殖した細胞集団を作り出す期間、培養される。 40

【0333】

使用方法

がんのような免疫関連障害の治療方法も包含される。当該方法は、本明細書に記載されているような抑制性キメラ受容体または免疫応答性抑制性キメラ受容体で操作した細胞を投与することを含む。いくつかの実施形態では、キメラ受容体またはそのようなキメラ受容体が発現する遺伝子操作された免疫応答細胞を含む組成物は、がんのような増殖性障害 50

の治療のために対象に全身性に、または直接、提供され得る。

【0334】

一態様では、本開示は、実験用または治療用の使用のために少なくとも1つの抑制性キメラ受容体（例えば、抑制性キメラ受容体（iCAR）で操作した細胞）を含む操作された免疫細胞を調製する方法を提供する。いくつかの実施形態では、操作された免疫細胞は、腫瘍標的少なくとも1つのキメラ受容体（例えば、iCAR及びaCARで操作された細胞）をさらに含む。

【0335】

いくつかの態様では、使用方法は、免疫調節細胞の表面上で本明細書に記載されているキメラ抑制性受容体を発現するように免疫調節細胞を操作することを含む、免疫調節細胞の表面で発現されたキメラ受容体によって誘導される細胞媒介性免疫応答を防止する、減弱させる、または阻害する方法を包含し、その際、同族タンパク質がキメラ抑制性受容体に結合すると、細胞内シグナル伝達ドメインがキメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する。他の態様では、使用方法は、キメラ抑制性受容体が同族タンパク質を結合するのに好適な条件下でキメラ抑制性受容体の同族タンパク質と本明細書に記載されているような単離された細胞または組成物を接触させることを含む、免疫調節細胞の表面で発現されたキメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する方法を包含し、その際、タンパク質がキメラ抑制性受容体に結合すると、細胞内シグナル伝達ドメインがキメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する。

【0336】

一般に、抑制性キメラ受容体は、腫瘍標的キメラ受容体（例えば、活性化するCAR）によって開始される免疫応答を防止する、減弱させる、阻害する、または抑制するために使用される。例えば、免疫調節細胞は抗原標的1（例えば、非腫瘍抗原）を認識する抑制性キメラ受容体と、抗原標的2（例えば、腫瘍標的）を認識する腫瘍標的キメラ受容体を発現する。例示的な免疫調節細胞が標的細胞と接触すると、抑制性キメラ受容体及び腫瘍標的キメラ受容体は、それらの同族抗原に結合してもよいし、または結合しなくてもよい。標的細胞が抗原標的1及び抗原標的2の双方を発現している非腫瘍細胞である例示的な例では、抑制性キメラ受容体及び腫瘍標的受容体の双方を活性化することができる。そのような場合、抑制性キメラ受容体の活性化は腫瘍標的キメラ受容体のシグナル伝達の防止、減弱、または阻害をもたらす、免疫調節細胞は活性化されない。同様に、標的細胞が抗原標的1のみを発現している非腫瘍細胞である例示的な例では、抑制性キメラ受容体だけを活性化することができる。対照的に、標的細胞が抗原標的2のみを発現する腫瘍細胞である例示的な例では、抑制性キメラ受容体を活性化することはできない一方で、腫瘍標的キメラ受容体を活性化することができ、免疫調節細胞の活性化をもたらすシグナル伝達をもたらす。

【0337】

腫瘍標的キメラ受容体によって開始される免疫応答の減弱は、腫瘍標的キメラ受容体の活性化の低下もしくは減少、腫瘍標的キメラ受容体のシグナル伝達の低下もしくは減少、または免疫調節細胞の活性化の低下もしくは減少であることができる。抑制性キメラ受容体は、抑制性キメラ受容体を欠く免疫調節細胞と比べた腫瘍標的キメラ受容体の活性化、免疫調節細胞のシグナル伝達または活性化と比べて、腫瘍標的キメラ受容体の活性化、腫瘍標的キメラ受容体によるシグナル伝達、または腫瘍標的キメラ受容体による免疫調節細胞の活性化を1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍以上減衰させることができる。いくつかの実施形態では、減衰は、活性化された後の腫瘍標的キメラ受容体の活性の低下または減少を指す。

【0338】

腫瘍標的キメラ受容体によって開始される免疫応答の防止は、腫瘍標的キメラ受容体の活性化の阻害もしくは減少、腫瘍標的キメラ受容体のシグナル伝達の阻害もしくは減少、または免疫調節細胞の活性化の阻害もしくは減少であることができる。抑制性キメラ受容

10

20

30

40

50

体は、抑制性キメラ受容体を欠く免疫調節細胞と比べた腫瘍標的キメラ受容体の活性化、免疫調節細胞のシグナル伝達または活性化と比べて、腫瘍標的キメラ受容体の活性化、腫瘍標的キメラ受容体によるシグナル伝達、または腫瘍標的キメラ受容体による免疫調節細胞の活性化を約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍以上防止することができる。いくつかの実施形態では、防止は活性化された後の腫瘍標的キメラ受容体の活性の遮断を指す。

【0339】

腫瘍標的キメラ受容体によって開始される免疫応答の阻害は、腫瘍標的キメラ受容体の活性化の阻害もしくは減少、腫瘍標的キメラ受容体のシグナル伝達の阻害もしくは減少、または免疫調節細胞の活性化の阻害もしくは減少であることができる。抑制性キメラ受容体は、抑制性キメラ受容体を欠く免疫調節細胞と比べた腫瘍標的キメラ受容体の活性化、免疫調節細胞のシグナル伝達または活性化と比べて、腫瘍標的キメラ受容体の活性化、腫瘍標的キメラ受容体によるシグナル伝達、または腫瘍標的キメラ受容体による免疫調節細胞の活性化を約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍以上阻害することができる。いくつかの実施形態では、阻害は活性化された後の腫瘍標的キメラ受容体の活性の低下または減少を指す。

10

【0340】

腫瘍標的キメラ受容体によって開始される免疫応答の抑制は、腫瘍標的キメラ受容体の活性化の阻害もしくは減少、腫瘍標的キメラ受容体のシグナル伝達の阻害もしくは減少、または免疫調節細胞の活性化の阻害もしくは減少であることができる。抑制性キメラ受容体は、抑制性キメラ受容体を欠く免疫調節細胞と比べた腫瘍標的キメラ受容体の活性化、免疫調節細胞のシグナル伝達または活性化と比べて、腫瘍標的キメラ受容体の活性化、腫瘍標的キメラ受容体によるシグナル伝達、または腫瘍標的キメラ受容体による免疫調節細胞の活性化を約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍以上抑制することができる。いくつかの実施形態では、抑制は活性化される前または活性化された後の腫瘍標的キメラ受容体の活性の低下または減少を指す。

20

【0341】

免疫応答は活性化された免疫調節細胞からのサイトカインまたはケモカインの産生及び分泌であることができる。免疫応答は標的細胞に対する細胞介在性の免疫応答であることができる。

30

【0342】

いくつかの実施形態では、キメラ抑制性受容体は活性化免疫調節細胞からのサイトカイン産生を抑制することができる。いくつかの実施形態では、キメラ抑制性受容体は、標的細胞に対する細胞介在性の免疫応答を抑制することができ、その際、免疫応答は免疫調節細胞の活性化によって誘導される。

【0343】

一態様では、本開示は、免疫細胞が本明細書で提供されている抑制性キメラ受容体を発現するように遺伝子操作され、操作された免疫細胞がそれを必要とする対象に投与される、一種の細胞療法を提供する。

40

【0344】

したがって、いくつかの実施形態では、該方法は、細胞に基づく療法を必要とする対象に増殖した細胞集団の細胞を送達して状態または障害を治療することを含む。いくつかの実施形態では、対象はヒト対象である。いくつかの実施形態では、状態または障害は自己免疫状態である。いくつかの実施形態では、状態または障害は免疫関連の状態である。いくつかの実施形態では、状態または障害はがん（例えば、原発性がんまたは転移性がん）である。いくつかの実施形態では、がんは固形がんである。いくつかの実施形態では、がんは骨髄疾患のような液性がんである。

50

【0345】

医薬組成物

抑制性キメラ受容体または免疫応答細胞は医薬組成物に製剤化することができる。本開示の医薬組成物は、1以上の薬学的にもしくは生理学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤と組み合わせて本明細書に記載されているような抑制性キメラ受容体（例えば、iCAR）、または免疫応答細胞（例えば、複数の抑制性キメラ受容体発現細胞）を含むことができる。そのような物質は無毒であるべきであり、有効成分の有効性を妨げるべきではない。担体または他の材料の正確な性質は、投与経路、例えば、経口、静脈内、皮膚または皮下、鼻、筋肉内、腹腔内の経路に依存することができる。特定の実施形態では、組成物は、目的の臓器（例えば、障害によって影響を受ける臓器）に直接注入される。代わりに、組成物は、例えば、循環系（例えば、腫瘍脈管系）への投与によって目的の臓器に間接的に提供されてもよい。増殖剤及び分化剤は、組成物の投与前、投与中、または投与後に提供されて、試験管内または生体内でのT細胞、NK細胞、またはCTL細胞の産生を増加させることができる。

10

【0346】

特定の実施形態では、組成物は、免疫応答細胞またはそれらの前駆細胞のような遺伝子操作された細胞と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物である。投与は自家または異種であることができる。例えば、免疫応答細胞または前駆細胞は1つの対象から得ることができ、同じ対象または適合性がある異なる対象に投与することができる。いくつかの実施形態では、本開示の免疫応答細胞またはその子孫は末梢血細胞に由来してもよく（例えば、生体内、生体外の、または試験管内に由来）、カテーテル投与、全身注射、局所注射、静脈内注射、または非経口投与を含む局所注入を介して投与されてもよい。本開示の治療用組成物（例えば、本開示の遺伝子操作した細胞を含有する医薬組成物）を投与する場合、それは一般に、注入可能な単位剤形（溶液、懸濁液、エマルジョン）で製剤化されるであろう。

20

【0347】

本開示の特定の態様は、本開示のキメラ受容体またはそのようなキメラ受容体を発現している遺伝子操作された細胞（例えば、本開示の免疫応答細胞）を含む組成物の製剤に関する。いくつかの実施形態では、遺伝子操作された細胞を含む本開示の組成物は選択されるpHに緩衝化されてもよい、限定しないで等張の水溶液、懸濁液、エマルジョン、分散液を含む無菌液体調製物、及び粘性組成物として提供されてもよい。液体調製物は通常、ゲル、他の粘性組成物、及び固形組成物よりも調製し易い。さらに、液体組成物は特に注入によって投与するのに都合がよくてもよい。いくつかの実施形態では、粘性組成物は、特定の組織とのさらに長い接触期間を提供するために適切な粘度範囲内で製剤化することができる。液体組成物または粘性組成物は、例えば、水、生理食塩水、リン酸緩衝化生理食塩水、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコールなど）及びそれらの好適な混合物を含有する溶媒または分散媒であることができる担体を含むことができる。

30

【0348】

経口投与用の医薬組成物は、錠剤、カプセル剤、粉末または液体の形態であることができる。錠剤はゼラチンまたはアジュバントのような固形担体を含むことができる。液体医薬組成物は一般に、水、石油、動物油または植物油、鉱油または合成油のような液体担体を含む。生理食塩水、デキストロスまたは他の糖類溶液、または、例えば、エチレングリコール、プロピレングリコールもしくはポリエチレングリコールのようなグリコールを含めることができる。

40

【0349】

静脈内、皮膚または皮下注射、または患部への注射については、有効成分は、発熱物質を含まず、好適なpH、等張性及び安定性を有する、非経口で許容される水溶液の形態であるであろう。当業者は、例えば、塩化ナトリウム注射、リンゲル注射、乳酸リンゲル注射のような等張ビヒクルを使用して好適な溶液を十分に調製することができる。必要に応

50

じて、保存剤、安定剤、緩衝剤、酸化防止剤、及び/または他の添加剤を含めることができる。いくつかの実施形態では、本開示の組成物は等張性である、すなわち、血液及び涙液と同じ浸透圧を有することができる。いくつかの実施形態では、所望の等張性は、例えば、塩化ナトリウム、デキストロース、ホウ酸、酒石酸ナトリウム、プロピレングリコール、または他の無機溶質もしくは有機溶質を使用して達成されてもよい。

【0350】

いくつかの実施形態では、本開示の組成物は、組成物の安定性及び無菌性を増強してもよい種々の添加剤をさらに含んでもよい。そのような添加剤の例には限定しないで、抗菌防腐剤、抗酸化剤、キレート剤、及び緩衝液が挙げられる。いくつかの実施形態では、微生物汚染は、限定しないでパラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸などを 10 含む種々の抗菌剤及び抗真菌剤のいずれかを含めることによって防止されてもよい。本開示の注入可能な医薬製剤の長期吸収は、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンのような吸収を遅延させる好適な薬剤の使用によってもたすことができる。いくつかの実施形態では、無菌の注入可能溶液は、所望のように種々の量の任意の他の成分と共に、本開示の遺伝子操作された細胞を十分な量の適切な溶媒に組み込むことによって調製することができる。そのような組成物は、滅菌の水、生理食塩水、グルコース、デキストロースなどのような好適な担体、希釈剤、または賦形剤と混合されてもよい。いくつかの実施形態では、組成物はまた、凍結乾燥することもできる。組成物は、投与経路及び所望の調製物に 20 応じて、湿潤剤、分散剤、pH緩衝剤、及び抗菌剤のような補助物質を含有することができる。

【0351】

いくつかの実施形態では、本開示の製剤の成分は、化学的に不活性であり、本開示の遺伝子操作された細胞の生存率または有効性に影響を及ぼさないように選択される。

【0352】

本開示の遺伝子操作された細胞の治療上の使用に関する1つの考慮事項は、最適な有効性を達成するために必要とされる細胞の量である。いくつかの実施形態では、投与される細胞の量は治療される対象によって変化するであろう。特定の実施形態では、それを必要とする対象に投与される遺伝子操作された細胞の量は 1×10^4 個の細胞 $\sim 1 \times 10^{10}$ 個の細胞の範囲であってもよい。いくつかの実施形態では、有効用量と見なされる細胞の正確な量は、特定の対象のサイズ、年齢、性別、体重、及び状態を含む、各対象に独特の 30 因子に基づいてもよい。投与量は本開示及び技術的知識に基づいて当業者によって容易に確認することができる。

【0353】

それが個体に与えられるべき本発明に係るポリペプチド、抗体、核酸、小分子、または他の薬学的に有用な化合物であるかどうかにかかわらず、投与は好ましくは、「治療有効量」または「予防有効量」（場合によっては、予防は治療と見なすことができるが）であり、これは個人に利益を示すのに十分である。投与される実際の量、ならびに投与の速度及び時間経過は治療されるタンパク質凝集疾患の性質及び重症度に依存するであろう。治療の指示、例えば、投与量の決定などは、一般開業医及び他の医師の責任の範囲内であり、通常、治療されるべき障害、個々の患者の状態、送達部位、投与方法、及び開業医に 40 知られている他の要因を考慮する。上記の技術及びプロトコルの例は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Osol, A. (ed), 1980に見いだすことができる。

【0354】

組成物は、治療されるべき状態に応じて単独で投与することができ、または他の治療と併用して同時投与または逐次投与することができる。

【0355】

キット

本開示のある特定の態様は、がんまたは他の疾患（例えば、免疫関連障害または自己免疫障害）の治療及び/または予防のためのキットに関する。特定の実施形態では、キット 50

は有効量の本開示の1以上のキメラ受容体、本開示の単離された核酸、本開示のベクター、及び/または本開示の細胞(例えば、免疫応答細胞)を含む治療用組成物または予防用組成物を含む。いくつかの実施形態では、キットは無菌容器を含む。いくつかの実施形態では、そのような容器は、箱、アンプル、ボトル、バイアル、チューブ、バッグ、ポーチ、プリスターバック、または当該技術分野で既知の他の好適な容器形態であることができる。容器はプラスチック、ガラス、ラミネート紙、金属ホイル、または薬物を保持するのに好適な他の材料で作られてもよい。

【0356】

いくつかの実施形態では、治療用または予防用の組成物は、がんまたは免疫関連疾患を有する、または発症するリスクがある対象に治療用または予防用の組成物を投与するための指示書と共に提供される。いくつかの実施形態では、指示書は障害の治療及び/または予防のための組成物の使用に関する情報を含んでもよい。いくつかの実施形態では、指示書には限定しないで、治療用または予防用の組成物、投薬スケジュール、障害もしくはその症状の治療または予防のための投与スケジュール、使用上の注意、警告、適応症、禁忌、過剰投与情報、有害反応、動物薬理学、臨床試験、及び/または参考文献の説明が含まれる。いくつかの実施形態では、指示書は、(存在する場合)容器上に、または容器に適用されるラベルとして、または容器内もしくは容器と共に供給される別個のシート、パンフレット、カード、またはフォルダとして、直接印刷され得る。

【0357】

さらなる実施形態

以下に提供されているのは、本発明の具体的な実施形態を説明する列挙された実施形態である：

実施形態1：キメラ抑制性受容体であって、

- ・細胞外タンパク質結合ドメインと；
- ・前記細胞外タンパク質結合ドメインに操作可能に連結されている、膜貫通ドメインと；
- ・膜貫通ドメインに操作可能に連結されている、1以上の細胞内シグナル伝達ドメインとを含み、

前記1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち少なくとも1つが、免疫調節細胞上に発現されている腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害することができる、前記キメラ抑制性受容体。

実施形態2：前記1以上の細胞内シグナル伝達ドメインがそれぞれSLAP1、SLAP2、Dok-1、Dok-2、LAIR1、GRB-2、CD200R、SIRP、HAVR、GITR、PD-L1、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL2、CD94、KLRG-1、CEACAM1、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、及びSIGLEC-10から成る群から選択されるタンパク質に由来する、実施形態1に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態3：前記膜貫通ドメインが前記1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つと同じタンパク質に由来する、実施形態1または2に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態4：前記膜貫通ドメインが、同じタンパク質の細胞外ドメインの少なくとも一部をさらに含む、実施形態3に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態5：前記膜貫通ドメインが第1のタンパク質に由来し、前記1以上の細胞内シグナル伝達ドメインが前記第1のタンパク質とは異なるタンパク質に由来する、実施形態1または2に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態6：前記1以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち1つがSLAP1に由来する、実施形態1～5のいずれか1つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態7：前記細胞内シグナル伝達ドメインがPAPAERPLPNPEGLDSDFLAVLSDYPSPDISPPIFRRGEKLRVISDEGGWWKAISLSTGRESYIPGICVARVYHGWLFELGRDKAEELLQLPDTKVGSFMIRESETKKGFYSLSVRHRQVKHYRIFRLPNNWYYISPRLTFQCLEDLVNHYSEVADGLCCVLTTPCLTQSTAAPAV

10

20

30

40

50

R A S S S P V T L R Q K T V D W R R V S R L Q E D P E G T E N P L G V D E S L F
 S Y G L R E S I A S Y L S L T S E D N T S F D R K K K S I S L M Y G G S K R K S
 S F F S S P P Y F E D (配列番号 4) または P A P A E R P L P N P E G L D S D F L
 A V L S D Y P S P D I S P P I F R R G E K L R V I S D E G G W W K A I S L S T G
 R E S Y I P G I C V A R V Y H G W L F E G L G R D K A E E L L Q L P D T K V G S
 F M I R E S E T K K G F Y S L S V R H R Q V K H Y R I F R L P N N W Y Y I S P R
 L T F Q C L E D L V N H Y S E V A D G L C C V L T T P C L T Q S T A A P A V R A
 S S S P V T L R Q K T V D W R R V S R L Q E D P E G T E N P L G V D E S L F S Y
 G L R E S I A S Y L S L T S E D N T S F (配列番号 5) と少なくとも約 8 0 %、少な
 くとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少な
 くとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少な
 くとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または約 1 0 0 % 同一であ
 るアミノ酸配列を含む、実施形態 6 に記載のキメラ抑制性受容体。

10

実施形態 8 : 前記細胞内シグナル伝達ドメインが P A P A E R P L P N P E G L D S D
 F L A V L S D Y P S P D I S P P I F R R G E K L R V I S D E G G W W K A I S L S
 T G R E S Y I P G I C V A R V Y H G W L F E G L G R D K A E E L L Q L P D T K V
 G S F M I R E S E T K K G F Y S L S V R H R Q V K H Y R I F R L P N N W Y Y I S
 P R L T F Q C L E D L V N H Y S E V A D G L C C V L T T P C L T Q S T A A P A V
 R A S S S P V T L R Q K T V D W R R V S R L Q E D P E G T E N P L G V D E S L F
 S Y G L R E S I A S Y L S L T S E D N T S F D R K K K S I S L M Y G G S K R K S
 S F F S S P P Y F E D (配列番号 4) または P A P A E R P L P N P E G L D S D F L
 A V L S D Y P S P D I S P P I F R R G E K L R V I S D E G G W W K A I S L S T G
 R E S Y I P G I C V A R V Y H G W L F E G L G R D K A E E L L Q L P D T K V G S
 F M I R E S E T K K G F Y S L S V R H R Q V K H Y R I F R L P N N W Y Y I S P R
 L T F Q C L E D L V N H Y S E V A D G L C C V L T T P C L T Q S T A A P A V R A
 S S S P V T L R Q K T V D W R R V S R L Q E D P E G T E N P L G V D E S L F S Y
 G L R E S I A S Y L S L T S E D N T S F (配列番号 5) のアミノ酸配列を含む、実施
 形態 6 に記載のキメラ抑制性受容体。

20

実施形態 9 : 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが S L A P 2 に由来
 する、実施形態 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

30

実施形態 1 0 : 前記細胞内シグナル伝達ドメインが R K S L P S P S L S S S V Q G Q
 G P V T M E A E R S K A T A V A L G S F P A G G P A E L S L R L G E P L T I V S
 E D G D W W T V L S E V S G R E Y N I P S V H V A K V S H G W L Y E G L S R E K
 A E E L L L L P G N P G G A F L I R E S Q T R R G S Y S L S V R L S R P A S W D
 R I R H Y R I H C L D N G W L Y I S P R L T F P S L Q A L V D H Y S E L A D D I
 C C L L K E P C V L Q R A G P L P G K D I P L P V T V Q R T P L N W K E L D S S
 L L F S E A A T G E E S L L S E G L R E S L S F Y I S L N D E A V S L D D A (配
 列番号 6) と少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なく
 とも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なく
 とも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なく
 とも約 9 9 %、または約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 9 に記載のキメ
 ラ抑制性受容体。

40

実施形態 1 1 : 前記細胞内シグナル伝達ドメインが R K S L P S P S L S S S V Q G Q
 G P V T M E A E R S K A T A V A L G S F P A G G P A E L S L R L G E P L T I V S
 E D G D W W T V L S E V S G R E Y N I P S V H V A K V S H G W L Y E G L S R E K
 A E E L L L L P G N P G G A F L I R E S Q T R R G S Y S L S V R L S R P A S W D
 R I R H Y R I H C L D N G W L Y I S P R L T F P S L Q A L V D H Y S E L A D D I
 C C L L K E P C V L Q R A G P L P G K D I P L P V T V Q R T P L N W K E L D S S
 L L F S E A A T G E E S L L S E G L R E S L S F Y I S L N D E A V S L D D A (配
 列番号 6) のアミノ酸配列を含む、実施形態 9 に記載のキメラ抑制性受容体。

50

実施形態 12：前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが K I R 2 D L 1 に由来する、実施形態 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 13：前記細胞内シグナル伝達ドメインが H R W C S N K K N A A V M D Q E S A G N R T A N S E D S D E Q D P Q E V T Y T Q L N H C V F T Q R K I T R P S Q R P K T P P T D I I V Y T E L P N A E S R S K V V S C P (配列番号 6 0) と少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 1 2 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 14：前記細胞内シグナル伝達ドメインが H R W C S N K K N A A V M D Q E S A G N R T A N S E D S D E Q D P Q E V T Y T Q L N H C V F T Q R K I T R P S Q R P K T P P T D I I V Y T E L P N A E S R S K V V S C P (配列番号 6 0) のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 2 に記載のキメラ抑制性受容体。 10

実施形態 15：前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが K L R G - 1 に由来する、実施形態 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 16：前記細胞内シグナル伝達ドメインが M T D S V I Y S M L E L P T A T Q A Q N D Y G P Q Q K S S S S R P S C S C L G S G (配列番号 6 1) と少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 1 5 に記載のキメラ抑制性受容体。 20

実施形態 17：前記細胞内シグナル伝達ドメインが M T D S V I Y S M L E L P T A T Q A Q N D Y G P Q Q K S S S S R P S C S C L G S G (配列番号 6 1) のアミノ酸配列を含む、実施形態では 1 5 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 18：前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが L A I R 1 に由来する、実施形態 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 19：前記細胞内シグナル伝達ドメインが H R Q N Q I K Q G P P R S K D E E Q K P Q Q R P D L A V D V L E R T A D K A T V N G L P E K D R E T D T S A L A A G S S Q E V T Y A Q L D H W A L T Q R T A R A V S P Q S T K P M A E S I T Y A A V A R H (配列番号 6 2) と少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 1 8 に記載のキメラ抑制性受容体。 30

実施形態 20：前記細胞内シグナル伝達ドメインが H R Q N Q I K Q G P P R S K D E E Q K P Q Q R P D L A V D V L E R T A D K A T V N G L P E K D R E T D T S A L A A G S S Q E V T Y A Q L D H W A L T Q R T A R A V S P Q S T K P M A E S I T Y A A V A R H (配列番号 6 2) のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 8 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 21：前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが L I R 2 に由来する、実施形態 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。 40

実施形態 22：前記細胞内シグナル伝達ドメインが L R H R R Q G K H W T S T Q R K A D F Q H P A G A V G P E P T D R G L Q W R S S P A A D A Q E E N L Y A A V K D T Q P E D G V E M D T R A A A S E A P Q D V T Y A Q L H S L T L R R K A T E P P P S Q E R E P P A E P S I Y A T L A I H (配列番号 6 3) と少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 2 1 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 23：前記細胞内シグナル伝達ドメインが L R H R R Q G K H W T S T Q R K 50

A D F Q H P A G A V G P E P T D R G L Q W R S S P A A D A Q E E N L Y A A V K D
 T Q P E D G V E M D T R A A A S E A P Q D V T Y A Q L H S L T L R R K A T E P P
 P S Q E R E P P A E P S I Y A T L A I H (配列番号 6 3) のアミノ酸配列を含む、実
 施形態 2 1 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 2 4 : 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが L I R 3 に由来
 する、実施形態 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 2 5 : 前記細胞内シグナル伝達ドメインが R R Q R H S K H R T S D Q R K T
 D F Q R P A G A A E T E P K D R G L L R R S S P A A D V Q E E N L Y A A V K D T
 Q S E D R V E L D S Q S P H D E D P Q A V T Y A P V K H S S P R R E M A S P P S
 S L S G E F L D T K D R Q V E E D R Q M D T E A A A S E A S Q D V T Y A Q L H S
 L T L R R K A T E P P P S Q E G E P P A E P S I Y A T L A I H (配列番号 6 4) と
 少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、
 少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、
 少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、
 または約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 2 4 に記載のキメラ抑制性受
 容体。

10

実施形態 2 6 : 前記細胞内シグナル伝達ドメインが R R Q R H S K H R T S D Q R K T
 D F Q R P A G A A E T E P K D R G L L R R S S P A A D V Q E E N L Y A A V K D T
 Q S E D R V E L D S Q S P H D E D P Q A V T Y A P V K H S S P R R E M A S P P S
 S L S G E F L D T K D R Q V E E D R Q M D T E A A A S E A S Q D V T Y A Q L H S
 L T L R R K A T E P P P S Q E G E P P A E P S I Y A T L A I H (配列番号 6 4) の
 アミノ酸配列を含む、実施形態 2 4 に記載のキメラ抑制性受容体。

20

実施形態 2 7 : 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが L I R 5 に由来
 する、実施形態 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 2 8 : 前記細胞内シグナル伝達ドメインが Q H W R Q G K H R T L A Q R Q A
 D F Q R P P G A A E P E P K D G G L Q R R S S P A A D V Q G E N F C A A V K N T
 Q P E D G V E M D T R Q S P H D E D P Q A V T Y A K V K H S R P R R E M A S P P
 S P L S G E F L D T K D R Q A E E D R Q M D T E A A A S E A P Q D V T Y A Q L H
 S F T L R Q K A T E P P P S Q E G A S P A E P S V Y A T L A I H (配列番号 6 5)
 と少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %
 、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %
 、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %
 、または約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 2 7 に記載のキメラ抑制性
 受容体。

30

実施形態 2 9 : 前記細胞内シグナル伝達ドメインが Q H W R Q G K H R T L A Q R Q A
 D F Q R P P G A A E P E P K D G G L Q R R S S P A A D V Q G E N F C A A V K N T
 Q P E D G V E M D T R Q S P H D E D P Q A V T Y A K V K H S R P R R E M A S P P
 S P L S G E F L D T K D R Q A E E D R Q M D T E A A A S E A P Q D V T Y A Q L H
 S F T L R Q K A T E P P P S Q E G A S P A E P S V Y A T L A I H (配列番号 6 5)
 のアミノ酸配列を含む、実施形態 2 7 に記載のキメラ抑制性受容体。

40

実施形態 3 0 : 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが S I G L E C -
 2 に由来する、実施形態 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 3 1 : 前記細胞内シグナル伝達ドメインが K L Q R R W K R T Q S Q Q G L Q
 E N S S G Q S F F V R N K K V R R A P L S E G P H S L G C Y N P M M E D G I S Y
 T T L R F P E M N I P R T G D A E S S E M Q R P P P D C D D T V T Y S A L H K R
 Q V G D Y E N V I P D F P E D E G I H Y S E L I Q F G V G E R P Q A Q E N V D Y
 V I L K H (配列番号 6 6) と少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約
 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約
 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約
 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または約 1 0 0 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形

50

態 30 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 32 : 前記細胞内シグナル伝達ドメインが K L Q R R W K R T Q S Q Q G L Q
E N S S G Q S F F V R N K K V R R A P L S E G P H S L G C Y N P M M E D G I S Y
T T L R F P E M N I P R T G D A E S S E M Q R P P P D C D D T V T Y S A L H K R
Q V G D Y E N V I P D F P E D E G I H Y S E L I Q F G V G E R P Q A Q E N V D Y
V I L K H (配列番号 66) のアミノ酸配列を含む、実施形態 30 に記載のキメラ抑制性
受容体。

実施形態 33 : 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが S I G L E C -
10 に由来する、実施形態 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 34 : 前記細胞内シグナル伝達ドメインが K I L P K R R T Q T E T P R P R
F S R H S T I L D Y I N V V P T A G P L A Q K R N Q K A T P N S P R T P L P P G
A P S P E S K K N Q K K Q Y Q L P S F P E P K S S T Q A P E S Q E S Q E E L H Y
A T L N F P G V R P R P E A R M P K G T Q A D Y A E V K F Q (配列番号 67) と少
なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 91 %、少
なくとも約 92 %、少なくとも約 93 %、少なくとも約 94 %、少なくとも約 95 %、少
なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 99 %、ま
たは約 100 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 33 に記載のキメラ抑制性受容
体。

実施形態 35 : 前記細胞内シグナル伝達ドメインが K I L P K R R T Q T E T P R P R
F S R H S T I L D Y I N V V P T A G P L A Q K R N Q K A T P N S P R T P L P P G
A P S P E S K K N Q K K Q Y Q L P S F P E P K S S T Q A P E S Q E S Q E E L H Y
A T L N F P G V R P R P E A R M P K G T Q A D Y A E V K F Q (配列番号 67) のア
ミノ酸配列を含む、実施形態 33 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 36 : 前記膜貫通ドメインが C D 8、C D 28、C D 3、C D 4、4 - I B
B、O X 40、I C O S、2 B 4、C D 25、C D 7、L A X、L A T、L A I R 1、G
R B - 2、D o k - 1、D o k - 2、S L A P 1、S L A P 2、C D 200 R、S I R P
、H A V R、G I T R、P D - L 1、K I R 2 D L 1、K I R 2 D L 2、K I R 2 D L
3、K I R 3 D L 2、C D 94、K L R G - 1、C E A C A M 1、L I R 2、L I R 3、
L I R 5、S I G L E C - 2、及び S I G L E C - 10 から成る群から選択されるタンパ
ク質に由来する、実施形態 1 ~ 35 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 37 : 前記キメラ抑制性受容体が C D 28 に由来する膜貫通ドメインを含む、
実施形態 1 ~ 36 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 38 : 前記膜貫通ドメインが F W V L V V V G G V L A C Y S L L V T V A F
I I F W V (配列番号 20) と少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約
90 %、少なくとも約 91 %、少なくとも約 92 %、少なくとも約 93 %、少なくとも約
94 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約
98 %、少なくとも約 99 %、または約 100 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形
態 37 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 39 : 前記膜貫通ドメインが F W V L V V V G G V L A C Y S L L V T V A F
I I F W V (配列番号 20) のアミノ酸配列を含む、実施形態 37 に記載のキメラ抑制性
受容体。

実施形態 40 : 前記キメラ抑制性受容体が K I R 2 D L 1 に由来する膜貫通ドメインを
含む、実施形態 1 ~ 36 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 41 : 前記膜貫通ドメインが I L I G T S V V I I L F I L L F F L L (配列
番号 76) と少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくと
も約 91 %、少なくとも約 92 %、少なくとも約 93 %、少なくとも約 94 %、少なくと
も約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、少なくと
も約 99 %、または約 100 % 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 40 に記載のキ
メラ抑制性受容体。

実施形態 42 : 前記膜貫通ドメインが I L I G T S V V I I L F I L L F F L L (配列 50

番号 76) のアミノ酸配列を含む、実施形態 40 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 43 : 前記キメラ抑制性受容体が KLRG-1 に由来する膜貫通ドメインを含む、実施形態 1 ~ 36 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 44 : 前記膜貫通ドメインが V A I A L G L L T A V L L S V L L Y Q W I (配列番号 78) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 43 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 45 : 前記膜貫通ドメインが V A I A L G L L T A V L L S V L L Y Q W I (配列番号 78) のアミノ酸配列を含む、実施形態 43 に記載のキメラ抑制性受容体。 10

実施形態 46 : 前記キメラ抑制性受容体が LAIR1 に由来する膜貫通ドメインを含む、実施形態 1 ~ 36 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 47 : 前記膜貫通ドメインが I L I G V S V V F L F C L L L L V L F C L (配列番号 79) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 46 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 48 : 前記膜貫通ドメインが I L I G V S V V F L F C L L L L V L F C L (配列番号 79) のアミノ酸配列を含む、実施形態 46 に記載のキメラ抑制性受容体。 20

実施形態 49 : 前記キメラ抑制性受容体が LIIR2 に由来する膜貫通ドメインを含む、実施形態 1 ~ 36 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 50 : 前記膜貫通ドメインが V I G I L V A V V L L L L L L L L F L I (配列番号 80) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 49 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 51 : 前記膜貫通ドメインが V I G I L V A V V L L L L L L L L F L I (配列番号 80) のアミノ酸配列を含む、実施形態 49 に記載のキメラ抑制性受容体。 30

実施形態 52 : 前記キメラ抑制性受容体が LIIR3 に由来する膜貫通ドメインを含む、実施形態 1 ~ 36 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 53 : 前記膜貫通ドメインが V L I G V S V A F V L L L F L L L F L L L (配列番号 81) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 52 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 54 : 前記膜貫通ドメインが V L I G V S V A F V L L L F L L L F L L L (配列番号 81) のアミノ酸配列を含む、実施形態 52 に記載のキメラ抑制性受容体。 40

実施形態 55 : 前記キメラ抑制性受容体が LIIR5 に由来する膜貫通ドメインを含む、実施形態 1 ~ 36 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 56 : 前記膜貫通ドメインが V L I G V L V V S I L L L S L L L F L L L (配列番号 82) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 55 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 57 : 前記膜貫通ドメインが V L I G V L V V S I L L L S L L L F L L L (50

配列番号 82) のアミノ酸配列を含む、実施形態 55 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 58 : 前記キメラ抑制性受容体が S I G L E C - 2 に由来する膜貫通ドメインを含む、実施形態 1 ~ 36 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 59 : 前記膜貫通ドメインが V A V G L G S C L A I L I L A I C G L (配列番号 83) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 58 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 60 : 前記膜貫通ドメインが V A V G L G S C L A I L I L A I C G L (配列番号 83) のアミノ酸配列を含む、実施形態 58 に記載のキメラ抑制性受容体。 10

実施形態 61 : 前記キメラ抑制性受容体が S I G L E C - 10 に由来する膜貫通ドメインを含む、実施形態 1 ~ 36 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 62 : 前記膜貫通ドメインが G A F L G I G I T A L L F L C L A L I I M (配列番号 84) と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% 同一であるアミノ酸配列を含む、実施形態 61 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 63 : 前記膜貫通ドメインが G A F L G I G I T A L L F L C L A L I I M (配列番号 84) のアミノ酸配列を含む、実施形態 61 に記載のキメラ抑制性受容体。 20

実施形態 64 : 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインが 2 つの細胞内シグナル伝達ドメインである、実施形態 1 ~ 63 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 65 : 前記キメラ抑制性受容体が K I R 2 D L 1 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインと、L I R 2 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、実施形態 64 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 66 : 前記キメラ抑制性受容体が K I R 2 D L 1 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインと、L I R 3 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、実施形態 64 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 67 : 前記キメラ抑制性受容体が K I R 2 D L 1 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインと、L I R 5 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、実施形態 64 に記載のキメラ抑制性受容体。 30

実施形態 68 : 前記第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインがさらに K I R 2 D L 1 に由来する膜貫通ドメインを含む、実施形態 65 ~ 67 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 69 : 前記キメラ抑制性受容体が L I R 2 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインと、K I R 2 D L 1 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、実施形態 64 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 70 : 前記第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインがさらに L I R 2 に由来する膜貫通ドメインを含む、実施形態 69 に記載のキメラ抑制性受容体。 40

実施形態 71 : 前記キメラ抑制性受容体が L I R 3 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインと、K I R 2 D L 1 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、実施形態 64 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 72 : 前記第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインがさらに L I R 3 に由来する膜貫通ドメインを含む、実施形態 71 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 73 : 前記キメラ抑制性受容体が L I R 5 に由来する第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインと、K I R 2 D L 1 に由来する第 2 の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、実施形態 64 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 74 : 前記第 1 の細胞内シグナル伝達ドメインがさらに L I R 5 に由来する膜貫通ドメインを含む、実施形態 73 に記載のキメラ抑制性受容体。 50

実施形態 75：前記タンパク質が標的腫瘍上で発現されない、実施形態 1～74 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 76：前記タンパク質が非腫瘍細胞上で発現される、実施形態 1～75 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 77：前記タンパク質が、脳、神経組織、内分泌、内皮、骨、骨髄、免疫系、筋肉、肺、肝臓、胆嚢、膵臓、消化管、腎臓、膀胱、雄性生殖器、雌性生殖器、脂肪、軟組織、及び皮膚から成る群から選択される組織に由来する非腫瘍細胞上で発現される、実施形態 76 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 78：前記細胞外タンパク質結合ドメインがリガンド結合ドメインを含む、実施形態 1～77 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 79：前記細胞外タンパク質結合ドメインが受容体結合ドメインを含む、実施形態 1～77 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 80：前記細胞外タンパク質結合ドメインが抗原結合ドメインを含む、実施形態 1～77 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 81：前記抗原結合ドメインが、抗体、抗体の抗原結合断片、F(a b)断片、F(a b')断片、単鎖可変断片(s c F v)、または単一ドメイン抗体(s d A b)を含む、実施形態 80 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 82：前記抗原結合ドメインが単鎖可変断片(s c F v)を含む、実施形態 80 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 83：各 s c F v が重鎖可変ドメイン(V H)及び軽鎖可変ドメイン(V L)を含む、実施形態 82 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 84：前記 V H 及び V L がペプチドリンカーによって分離される、実施形態 83 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 85：前記ペプチドリンカーが G G S (配列番号 23)、G G S G G S (配列番号 24)、G G S G G S G G S (配列番号 25)、G G S G G S G G S G G S (配列番号 26)、G G S G G S G G S G G S G G S (配列番号 27)、G G G S (配列番号 28)、G G G S G G G S (配列番号 29)、G G G S G G G S G G G S (配列番号 30)、G G G S G G G S G G G S G G G S (配列番号 31)、G G G S G G G S G G G S G G G S G G G S (配列番号 32)、G G G G S (配列番号 33)、G G G G S G G G G S (配列番号 34)、G G G G S G G G G S G G G G S (配列番号 35)、G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S (配列番号 36)、G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S (配列番号 37)、及び T T T P A P R P P T P A P T I A L Q P L S L R P E A C R P A A G G A V H T R G L D F A C D Q T T P G E R S S L P A F Y P G T S G S C S G C G S L S L P (配列番号 94) から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む、実施形態 84 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 86：前記 s c F v が、構造 V H - L - V L または V L - L - V H を含み、V H が前記重鎖可変ドメインであり、L が前記ペプチドリンカーであり、V L が前記軽鎖可変ドメインである、実施形態 83～85 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 87：前記膜貫通ドメインが前記細胞外タンパク質結合ドメインに物理的に連結される、実施形態 1～86 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 88：前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが前記膜貫通ドメインに物理的に連結される、実施形態 1～87 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 89：前記膜貫通ドメインが前記細胞外タンパク質結合ドメインに物理的に連結され、且つ前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが前記膜貫通ドメインに物理的に連結される、実施形態 1～88 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 90：前記細胞外タンパク質結合ドメインが高い結合親和性を有する、実施形態 1～89 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 91：前記細胞外タンパク質結合ドメインが低い結合親和性を有する、実施形態 1～89 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

10

20

30

40

50

実施形態 9 2 : 前記キメラ抑制性受容体が活性化された免疫調節細胞からのサイトカイン産生を抑制することができる、実施形態 1 ~ 9 1 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 9 3 : 前記キメラ抑制性受容体が、標的細胞に対する細胞介在性の免疫応答を抑制することができ、前記免疫応答が前記免疫調節細胞の活性化によって誘導される、実施形態 1 ~ 9 2 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 9 4 : 前記標的細胞が腫瘍細胞である、実施形態 1 ~ 9 3 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 9 5 : 前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインが 1 以上の修飾を含む、実施形態 1 ~ 9 4 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 9 6 : 前記 1 以上の修飾が、他の点では同一である非修飾受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の感受性を調節する、実施形態 9 5 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 9 7 : 前記 1 以上の修飾が、他の点では同一である非修飾受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の感受性を高める、実施形態 9 5 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 9 8 : 前記 1 以上の修飾が、他の点では同一である非修飾受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の感受性を低下させる、実施形態 9 5 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 9 9 : 前記 1 以上の修飾が、前記他の点では同一である非修飾受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の効力を調節する、実施形態 9 5 ~ 9 8 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 1 0 0 : 前記 1 以上の修飾が、前記他の点では同一である非修飾受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の効力を高める、実施形態 9 9 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 1 0 1 : 前記 1 以上の修飾が、前記他の点では同一である非修飾受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の効力を低下させる、実施形態 9 9 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 1 0 2 : 前記 1 以上の修飾が、前記他の点では同一である非修飾受容体と比べて、免疫調節細胞上で発現されると前記腫瘍標的キメラ受容体の活性化の基本的な防止、減弱、または阻害を調節する、実施形態 9 5 ~ 1 0 1 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 1 0 3 : 前記 1 以上の修飾が、前記他の点では同一である非修飾受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を低下させる、実施形態 1 0 2 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 1 0 4 : 前記 1 以上の修飾が、前記他の点では同一である非修飾受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を高める、実施形態 1 0 2 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 1 0 5 : 前記キメラ抑制性受容体が、前記細胞外タンパク質結合ドメインと前記膜貫通ドメインとの間に配置され、前記細胞外タンパク質結合ドメイン及び前記膜貫通ドメインのそれぞれに操作可能に連結されるスペーサー領域をさらに含む、実施形態 1 ~ 1 0 4 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 1 0 6 : 前記キメラ抑制性受容体が、前記細胞外タンパク質結合ドメインと前記膜貫通ドメインとの間に配置され、前記細胞外タンパク質結合ドメイン及び前記膜貫通ドメインのそれぞれに物理的に連結されるスペーサー領域をさらに含む、実施形態 1 ~ 1 0 4 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 1 0 7 : 前記スペーサー領域が、CD 8、CD 4、CD 7、CD 2 8、Ig G 1、Ig G 4、Fc R I I I、L N G F R、及び P D G F R から成る群から選択されるタンパク質に由来する、実施形態 1 0 5 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 1 0 8 : 前記スペーサー領域が A A A I E V M Y P P P Y L D N E K S N G T I I H V K G K H L C P S P L F P G P S K P (配列番号 3 9)、E S K Y G P P C P S C P (配列番号 4 0)、E S K Y G P P A P S A P (配列番号 4 1)、E S K Y G P P C

10

20

30

40

50

P P C P (配列番号 42)、E P K S C D K T H T C P (配列番号 43)、A A A F V P
 V F L P A K P T T T P A P R P P T P A P T I A S Q P L S L R P E A C R P A A G G
 A V H T R G L D F A C D I Y I W A P L A G T C G V L L L S L V I T L Y C N H R N
 (配列番号 44)、A C P T G L Y T H S G E C C K A C N L G E G V A Q P C G A N Q
 T V C E P C L D S V T F S D V V S A T E P C K P C T E C V G L Q S M S A P C V E
 A D D A V C R C A Y G Y Y Q D E T T G R C E A C R V C E A G S G L V F S C Q D K
 Q N T V C E E C P D G T Y S D E A D A E C (配列番号 46)、A C P T G L Y T H S
 G E C C K A C N L G E G V A Q P C G A N Q T V C (配列番号 47)、及び A V G Q D
 T Q E V I V V P H S L P F K V (配列番号 48) から成る群から選択されるアミノ酸配
 列を含む、実施形態 105 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 109：前記スパーサー領域が、前記スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の感受性を調節する、実施形態 105 ~ 108 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 110：前記スパーサー領域が、前記スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の感受性を高める、実施形態 109 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 111：前記スパーサー領域が、前記スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の感受性を低下させる、実施形態 109 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 112：前記スパーサー領域が、前記スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の効力を調節する、実施形態 105 ~ 111 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 113：前記スパーサー領域が、前記スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の効力を高める、実施形態 112 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 114：前記スパーサー領域が、前記スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の効力を低下させる、実施形態 112 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 115：前記スパーサー領域が、前記スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、免疫調節細胞にて発現されると前記腫瘍標的キメラ受容体の活性化の基本的な防止、減弱、または阻害を調節する、実施形態 105 ~ 114 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 116：前記スパーサー領域が、前記スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を低下させる、実施形態 115 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 117：前記スパーサー領域が、前記スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を高める、実施形態 115 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 118：前記キメラ抑制性受容体が、前記膜貫通ドメインと前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つとの間に配置され、前記膜貫通ドメイン及び前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つのそれぞれに操作可能に連結される細胞内スパーサー領域をさらに含む、実施形態 1 ~ 117 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 119：前記キメラ抑制性受容体が、前記膜貫通ドメインと前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つとの間に配置され、前記膜貫通ドメイン及び前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つのそれぞれに物理的に連結される細胞内スパーサー領域をさらに含む、実施形態 1 ~ 117 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 120：前記細胞内スパーサー領域が、前記細胞内スパーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の感受性を調節

10

20

30

40

50

する、実施形態 118 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 121：前記細胞内スペーサー領域が、前記細胞内スペーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の感受性を高める、実施形態 120 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 122：前記細胞内スペーサー領域が、前記細胞内スペーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の感受性を低下させる、実施形態 120 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 123：前記細胞内スペーサー領域が、前記細胞内スペーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の効力を調節する、実施形態 118 ~ 122 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

10

実施形態 124：前記細胞内スペーサー領域が、前記細胞内スペーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の効力を高める、実施形態 123 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 125：前記細胞内スペーサー領域が、前記細胞内スペーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、前記キメラ抑制性受容体の効力を低下させる、実施形態 123 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 126：前記細胞内スペーサー領域が前記細胞内スペーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、免疫調節細胞にて発現されると前記腫瘍標的キメラ受容体の活性化の基本的な防止、減弱、または阻害を調節する、実施形態 118 ~ 125 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

20

実施形態 127：前記細胞内スペーサー領域が、前記細胞内スペーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を低下させる、実施形態 126 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 128：前記細胞内スペーサー領域が、前記細胞内スペーサー領域を欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を高める、実施形態 126 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 129：前記抑制性キメラ受容体が、酵素抑制性ドメインをさらに含む、実施形態 1 ~ 128 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 130：前記酵素抑制性ドメインが、前記酵素抑制性ドメインを欠く他の点では同一であるキメラ抑制性受容体と比べて、免疫調節細胞にて発現されると腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害することができる、実施形態 129 に記載のキメラ抑制性受容体。

30

実施形態 131：前記酵素抑制性ドメインが酵素触媒ドメインを含む、実施形態 129 または 130 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 132：前記酵素触媒ドメインが CSK、SHP-1、PTEN、CD45、CD148、PTP-MEG1、PTP-PEST、c-CBL、CBL-b、PTPN22、LAR、PTPH1、SHIP-1、及び RasGAP から成る群から選択される酵素に由来する、実施形態 131 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 133：前記酵素抑制性ドメインが基本的な防止、減弱、または阻害を調節する 1 以上の修飾を含む、実施形態 129 ~ 132 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

40

実施形態 134：前記 1 以上の修飾が、前記 1 以上の修飾を欠く他の点では同一である酵素抑制性ドメインと比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を低下させる、実施形態 133 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 135：前記 1 以上の修飾が、前記 1 以上の修飾を欠く他の点では同一である酵素抑制性ドメインと比べて、基本的な防止、減弱、または阻害を高める、実施形態 133 に記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 136：前記腫瘍標的キメラ受容体が、キメラ抗原受容体 (CAR) または操作された T 細胞受容体 (TCR) である、実施形態 1 ~ 135 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

50

実施形 137：前記免疫調節細胞が T 細胞、CD8+T 細胞、CD4+T 細胞、ガンマデルタ T 細胞、細胞傷害性 T リンパ球 (CTL)、制御性 T 細胞、ウイルス特異的 T 細胞、ナチュラルキラー T (NKT) 細胞、ナチュラルキラー (NK) 細胞、B 細胞、腫瘍浸潤リンパ球 (TIL)、自然リンパ系細胞、肥満細胞、好酸球、好塩基球、好中球、骨髄細胞、マクロファージ、単球、樹状細胞、ESC 由来細胞、及び iPSC 由来細胞から成る群から選択される、実施形態 1 ~ 136 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 138：前記免疫調節細胞がナチュラルキラー (NK) 細胞である、実施形態 1 ~ 136 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体。

実施形態 139：実施形態 1 ~ 138 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制性受容体と薬学的に許容される担体とを含む組成物。

10

実施形態 140：実施形態 1 ~ 138 のいずれか 1 つに記載の抑制性キメラ受容体をコードする操作された核酸。

実施形態 141：実施形態 140 に記載の操作された核酸を含む発現ベクター。

実施形態 142：実施形態 142：実施形態 140 に記載の操作された核酸または実施形態 141 に記載の発現ベクターと、薬学的に許容される担体とを含む組成物。

実施形態 143：実施形態 1 ~ 138 のいずれか 1 つに記載の抑制性キメラ受容体を含む、単離された免疫調節細胞。

実施形態 144：前記細胞が、前記細胞の表面上に発現される腫瘍標的キメラ受容体をさらに含む、実施形態 143 に記載の単離された細胞。

実施形態 145：前記タンパク質が前記キメラ抑制性受容体に結合すると、前記キメラ抑制性受容体はキメラ抑制性受容体を欠く他の点では同一である細胞と比べて、前記腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する、実施形態 144 に記載の単離された細胞。

20

実施形態 146：キメラ抑制性受容体を含む単離された免疫調節細胞であって、前記キメラ抑制性受容体が、

- ・細胞外タンパク質結合ドメインと、
- ・膜貫通ドメインが前記細胞外タンパク質結合ドメインに操作可能に連結されている、前記膜貫通ドメインと；

- ・ 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインが前記膜貫通ドメインに操作可能に連結され、且つ前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインがそれぞれ SLAP1、SLAP2、Dok-1、Dok-2、LAIR1、GRB-2、CD200R、SIRP、HAVR、GITR、PD-L1、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL2、CD94、KLRG-1、CEACAM1、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、及び SIGLEC-10 から成る群から選択されるタンパク質に由来する、前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインとを含み、

30

前記タンパク質が前記キメラ抑制性受容体に結合すると、前記キメラ抑制性受容体は前記細胞の表面上に発現されている腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する、前記単離された免疫調節細胞。

実施形態 147：前記細胞が、前記細胞の前記表面上に発現される腫瘍標的キメラ受容体をさらに含む、実施形態 146 に記載の単離された細胞。

40

実施形態 148：単離された細胞であって、

- (a) キメラ抑制性受容体が、
- ・細胞外タンパク質結合ドメインと、
- ・膜貫通ドメインが前記細胞外タンパク質結合ドメインに操作可能に連結されている、前記膜貫通ドメインと；

- ・ 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインが前記膜貫通ドメインに操作可能に連結され、且つ前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインがそれぞれ SLAP1、SLAP2、Dok-1、Dok-2、LAIR1、GRB-2、CD200R、SIRP、HAVR、GITR、PD-L1、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL2、CD94、KLRG-1、CEACAM1、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、及び SIGLEC-10 から成る群から選択されるタンパク質に由来する、前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインとを含み、

50

L E C - 2、及び S I G L E C - 1 0 から成る群から選択されるタンパク質に由来する、前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、前記キメラ抑制性受容体と (b) 前記細胞の表面上に発現されている腫瘍標的キメラ受容体とを含み、前記タンパク質が前記キメラ抑制性受容体に結合すると、前記キメラ抑制性受容体は前記腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する、前記単離された細胞。

実施形態 1 4 9 : 前記キメラ抑制性受容体が組換えで発現される、実施形態 1 4 3 ~ 1 4 8 のいずれか 1 つに記載の単離された細胞。

実施形態 1 5 0 : 前記キメラ抑制性受容体がベクターから、または前記細胞のゲノム由来の選択された遺伝子座から発現される、実施形態 1 4 3 ~ 1 4 9 のいずれか 1 つに記載の単離された細胞。 10

実施形態 1 5 1 : 前記腫瘍標的キメラ受容体がキメラ抗原受容体 (C A R) または操作された T 細胞受容体である、実施形態 1 4 3 ~ 1 5 0 のいずれか 1 つに記載の単離された細胞。

実施形態 1 5 2 : 前記タンパク質が前記キメラ抑制性受容体に結合する前に、前記腫瘍標的キメラ受容体は前記細胞を活性化することができる、実施形態 1 4 3 ~ 1 5 1 のいずれか 1 つに記載の細胞。

実施形態 1 5 3 : 前記タンパク質が前記キメラ抑制性受容体に結合すると、前記キメラ抑制性受容体は前記活性化された細胞からのサイトカイン産生を抑制する、実施形態 1 4 3 ~ 1 5 2 のいずれか 1 つに記載の細胞。 20

実施形態 1 5 4 : 前記タンパク質が前記キメラ抑制性受容体に結合すると、前記キメラ抑制性受容体は、標的細胞に対する細胞媒介性免疫応答を抑制し、前記免疫応答は前記免疫調節細胞の活性化によって誘導される、実施形態 1 4 3 ~ 1 5 3 のいずれか 1 つに記載の細胞。

実施形態 1 5 5 : 前記膜貫通ドメインが前記細胞外タンパク質結合ドメインに物理的に連結される、実施形態 1 4 3 ~ 1 5 4 のいずれか 1 つに記載の細胞。

実施形態 1 5 6 : 前記細胞内シグナル伝達ドメインが前記膜貫通ドメインに物理的に連結される、実施形態 1 4 3 ~ 1 5 4 のいずれか 1 つに記載の細胞。

実施形態 1 5 7 : 前記膜貫通ドメインが前記細胞外タンパク質結合ドメインに物理的に連結され、且つ前記 1 以上の細胞内シグナル伝達ドメインのうち 1 つが前記膜貫通ドメインに物理的に連結される、実施形態 1 4 3 ~ 1 5 4 のいずれか 1 つに記載の細胞。 30

実施形態 1 5 8 : 前記標的細胞が腫瘍細胞である、実施形態 1 4 3 ~ 1 5 4 のいずれか 1 つに記載の単離された細胞。

実施形態 1 5 9 : 前記細胞が T 細胞、C D 8 + T 細胞、C D 4 + T 細胞、ガンマデルタ T 細胞、細胞傷害性 T リンパ球 (C T L)、制御性 T 細胞、ウイルス特異的 T 細胞、ナチュラルキラー T (N K T) 細胞、ナチュラルキラー (N K) 細胞、B 細胞、腫瘍浸潤リンパ球 (T I L)、自然リンパ系細胞、肥満細胞、好酸球、好塩基球、好中球、骨髄細胞、マクロファージ、単球、樹状細胞、E S C 由来細胞、及び i P S C 由来細胞から成る群から選択される、実施形態 1 4 3 ~ 1 5 8 のいずれか 1 つに記載の単離された細胞。

実施形態 1 6 0 : 前記細胞がナチュラルキラー (N K) 細胞である、実施形態 1 4 3 ~ 1 5 8 のいずれか 1 つに記載の単離された細胞。 40

実施形態 1 6 1 : 前記細胞が自家である、実施形態 1 4 3 ~ 1 6 0 のいずれか 1 つに記載の単離された細胞。

実施形態 1 6 2 : 前記細胞が同種異系である、実施形態 1 4 3 ~ 1 6 0 のいずれか 1 つに記載の単離された細胞。

実施形態 1 6 3 : 実施形態 1 4 3 ~ 1 6 2 のいずれか 1 つに記載の単離された細胞と、薬学的に許容される担体とを含む組成物。

実施形態 1 6 4 : 免疫調節細胞の表面に発現される腫瘍標的キメラ受容体によって誘導される細胞媒介性免疫応答を防止する、減弱させる、または阻害する方法であって、前記免疫調節細胞の前記表面上に実施形態 1 ~ 1 3 8 のいずれか 1 つに記載のキメラ抑制 50

性受容体を発現するように前記免疫調節細胞を操作することを含み、同族抗原が前記キメラ抑制性受容体に結合すると、前記細胞内シグナル伝達ドメインが前記腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する、前記方法。

実施形態 165：免疫調節細胞の表面上に発現される腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する方法であって、

キメラ抑制性受容体が同族抗原に結合するのに好適な条件下で実施形態 143 ~ 162 のいずれか 1 つに記載の単離された細胞または実施形態 163 に記載の組成物を前記キメラ抑制性受容体の前記同族抗原と接触させることを含み、

前記抗原が前記キメラ抑制性受容体に結合すると、前記細胞内シグナル伝達ドメインが前記腫瘍標的キメラ受容体の活性化を防止する、減弱させる、または阻害する、前記方法。

実施形態 166：前記腫瘍標的キメラ受容体がキメラ抗原受容体 (CAR) または操作された T 細胞受容体である、実施形態 164 に記載の方法。

実施形態 167：前記 CAR が腫瘍細胞の前記表面に発現されている 1 以上の抗原を結合する、実施形態 166 に記載の方法。

【実施例】

【0358】

以下は、本発明を実行するための具体的な実施形態の実施例である。これらの実施例は、例証目的で提示されているにすぎず、決して本発明の範囲を限定することを意図するものではない。使用される数値 (例えば、量、温度など) に対する正確さを確保する努力がなされているが、当然いくつかの実験によるエラー及び偏差が許容されるはずである。

【0359】

本発明の実施は、別途指示のない限り、当業者の範囲内で、タンパク質化学、生化学、組換え DNA 手法、及び薬理学の従来の方法を用いるであろう。そのような手法は、文献で完全に説明される。例えば、T. E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* (W. H. Freeman and Company, 1993); A. L. Lehninger, *Biochemistry* (Worth Publishers, Inc., current addition); Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd Edition, 1989); *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey and Sundberg *Advanced Organic Chemistry* 3rd Ed. (Plenum Press) Vols A and B (1992) を参照のこと。

【0360】

実施例 1：SLAP のシグナル伝達ドメインを持つ抑制性キメラ受容体は T 細胞の活性化を低下させる

方法及び材料

T 細胞の形質導入及び増殖

SLAP1 (Src-様アダプタータンパク質 - 1) の細胞内シグナル伝達ドメインを持つ抑制性キメラ受容体 (iCAR) を合成した。抑制性キメラ受容体は、IgG 分泌シグナル、FLAG タグ付きの抗 CD19 の scFv、CD8 のヒンジドメイン、CD28 の膜貫通ドメイン、及び SLAP1 の細胞内シグナル伝達ドメインを含んでいた。FLAG タグを iCAR における scFv の N 末端 (シグナル配列の後) に融合した。腫瘍標的 CAR (活性化 CAR、aCAR) も CD8 の分泌シグナル、Myc タグ付きの抗 CD20 の scFv、CD8 のヒンジドメイン、CD28 の膜貫通ドメイン、CD28 及び CD3 の細胞内シグナル伝達ドメインで構築した。Myc タグを aCAR におけるヒンジ領域で scFv の C 末端に融合した。CD19 及び CD20 を発現している標的細胞と接

10

20

30

40

50

触する、抗CD19-SLAP iCAR及び抗CD20-CD28/CD3 aCARを同時発現するT細胞の例示的な略図を図1Aに示す。

【0361】

表9は、合成された抑制性キメラ受容体及び腫瘍標的キメラ受容体の全配列を提供する。

【0362】

【表9】

表9-抑制性キメラ受容体及び腫瘍を標的とするキメラ受容体の配列		
配列番号	名称	配列
58	抗CD19-CD28 TMSLAP1 iCAR	METDTLLLWVLLLWVPGSTGAGGSDYKDDDDKGGSEVKLQE SGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWL VIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDITAIY YCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQKPD GTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATY FCQQGNTLPYTFGGGKLEITTTTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWLVVVGGVLCYSLLVTV AFIIFWVPAPAERPLNPEGLDSDFLAVLSDYSPDISPPIFRGE KLRVISDEGGWWKAISLSTGRESYIPGICVARVYHGWLFEGLG RDKAEELLQLPDTKVGSFMIRESETKKGFYSLSVRHRQVKHYR IFRLPNNWYYISPRLTFQCLEDLVNHYSEVADGLCCVLTTPCLT QSTAAPAVRASSPVTLRQKTVDWRRVSRLQEDPEGTENPLG VDESLFSYGLRESIASYLSLTSEDNTSF
59	抗CD20-CD28/CD3ζ aCAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGFITPTTGYPEYNQ KFKDRVTMTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRKVGK GVYYALDYWGQGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQS PSSLSASVGDRTITCRASGNIHNYLAWYQQKPKGVPKLLIYN TKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQHFWS SPWTFGGGKVEIKEQKLISEEDLNGAATTPAPRPPTPAPTIAL QPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWLVVVGGVLCY YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYP YAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQLPPR

10

20

30

40

【0363】

T細胞の形質導入

1日目に、 1×10^6 個の精製CD4+/CD8+ T細胞を解凍し、 3×10^6 のDyna beadsで刺激した後、 $0.2 \mu\text{g/mL}$ のIL-2を含む1mLのOptiMax T細胞増殖培地(Gibco)で培養した。T細胞には2日目に、抗CD20活性化CAR(aCAR)または抗CD19抑制性CAR(iCAR)の構成的発現をコードするレンチウイルス(それぞれ100K、GoStix(Tekara)によって定量)によって単独形質導入または同時形質導入した。

【0364】

3日目にDyna beadsを磁石で取り除いた。T細胞を計数し、継代した(0.5

50

$\times 10^6$ 個の細胞 / mL)。これらの細胞の一定分量を PE 結合抗 Myc 抗体及び BV 4 2 1 結合抗 FLAG 抗体 (それぞれ aCAR 及び iCAR に対応) で染色し、LX Cyt o F l e x フローサイトメトリー機を使用してそれらの導入遺伝子発現を定量した。その後の増殖の間、細胞を 2 日ごとに継代した (0.5×10^6 個の細胞 / mL)。

【0365】

T 細胞の共培養アッセイ

8 日目に、T 細胞を計数し、共培養アッセイのために 96 ウェルプレートに分配した。各ウェルは、細胞追跡バイオレット染料 (Invitrogen) で染色した 5×10^5 個の Raji 標的細胞及び 5×10^5 個の aCAR 発現 T 細胞を含有した。共培養物を 18 時間インキュベートした (37、5% CO₂)。

【0366】

9 日目に、共培養上清を回収し、培地中のサイトカインを、ヒト磁気 Luminesx アッセイ (R&D systems) 及び MAGPIX アナライザー (Millipore Sigma) を使用して測定した。

【0367】

結果

それぞれが異なる抗原を結合する iCAR 及び aCAR を発現している T 細胞にて T 細胞活性化を低減するまたは阻害する iCAR の能力を評価した。CD19 及び CD20 を発現している標的細胞と接触する、抗 CD20 - SLAP iCAR 及び抗 CD19 aCAR を同時発現する T 細胞の例示的な略図を図 1A に示す。抗 CD19 - SLAP iCAR 及び抗 CD20 aCAR によって形質導入された細胞は初代 T 細胞にて高レベルの表面発現を示した。aCAR のみで形質導入された T 細胞は、高い aCAR 発現を示し、iCAR 発現を示さなかった (図 1C) 一方で、aCAR と iCAR の双方によって同時形質導入された T 細胞は双方の CAR タンパク質の高レベルの発現を示した (図 1D)。陰性対照細胞はいずれの構築物の発現も示さなかった (図 1B)。

【0368】

抗 CD19 - SLAP iCAR は、CD19 及び CD20 を発現する Raji 細胞と共培養した後、抗 CD20 aCAR (aCD20 - 28z) によって誘導される T 細胞のサイトカイン産生を抑制した。Raji 細胞の抗 CD20 aCAR T 細胞との共培養は、TNF-、IFN-、及び IL-2 産生を誘導した (それぞれ図 2A、2B、及び 2C)。しかしながら、抗 CD20 aCAR と抗 CD19 SLAP iCAR の双方を発現している T 細胞は Raji 標的細胞との共培養後に TNF-、IFN-、及び IL-2 の産生を大幅に減少させた (**p > 0.01、***p > 0.001)。したがって、標的細胞上の同族リガンドへの iCAR の結合は、aCAR が誘導したサイトカイン産生を首尾よく減少させた。

【0369】

したがって、抗 CD19 - SLAP 融合 (iCAR) は、その後濃縮することなく、レンチウイルスで形質導入された CD4+ 及び CD8+ T 細胞にて高レベルで発現された。重要なことに、iCAR と aCAR の高レベルの同時発現は同時形質導入後に観察された。さらに、iCAR 及び aCAR が異なる細胞表面リガンド (それぞれ CD19 と CD20) を標的とする場合、CD19 - SLAP iCAR は T 細胞活性化応答 (サイトカイン TNF-、IFN-、及び IL-2 の産生) を抑制した。

【0370】

実施例 2: KIR2DL1、KLRG1、LAIR、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、または SIGLEC-10 のシグナル伝達ドメインを持つ抑制性キメラ受容体は T 細胞の活性化を低下させる

方法及び材料

T 細胞の形質導入と増殖

KIR2DL1、KLRG1、LAIR、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、または SIGLEC-10 の細胞内シグナル伝達ドメインを持つ抑制性キメラ受

10

20

30

40

50

容体を合成した。抑制性キメラ受容体はそれぞれ、CD8のシグナル、p e l Bのシグナル（CD8のシグナルのみを含むS I G L E C - 2及びS I G L E C - 10を除く）、V5タグを持つ抗H E R 2のs c F v、CD8のヒンジドメイン、及び表10に示すような膜貫通ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインの対合を含む。i C A Rにおけるs c F vのC末端にV5タグを融合した。腫瘍標的C A R（活性化C A R、a C A R）も、CD8の分泌シグナル、M y cタグ付き抗C D 2 0のs c F v、CD8のヒンジドメイン、C D 2 8の膜貫通ドメイン、C D 2 8及びC D 3 の細胞内シグナル伝達ドメインで構築する。M y cタグをa C A Rにおけるヒンジ領域でs c F vのC末端に融合する。

【0371】

表10はこの試験の膜貫通ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインの対合を提供する。

10

【0372】

【表10】

表10ー膜貫通ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインの対合	
膜貫通ドメイン	細胞内シグナル伝達ドメイン
K I R 2 D L 1	K I R 2 D L 1
L I R 1	K L R G 1
K L R G 1	K L R G 1
L A I R 1	L A I R 1
L I R 2	L I R 2
L I R 3	L I R 3
L I R 5	L I R 5
S I G L E C - 2	S I G L E C - 2
S I G L E C - 1 0	S I G L E C - 1 0

20

30

【0373】

表11は抑制性キメラ受容体及び腫瘍標的キメラ受容体の全配列を提供する。

【0374】

40

50

【表 1 1】

表 1 1 - 抑制性キメラ受容体及び腫瘍を標的とするキメラ受容体の配列		
配列番号	名称	配列
9 5	抗HER2 -CD8 ヒンジ-K IR2DL 1 TM- KIR2D L1 iC AR	MALPVTALLLPLALLLHAARPKYLLPTAAAGLLLLAAQPAM AQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQ MPGKGLEYMGLIYPGSDTKYSPSFQGQVTISVDKSVSTAY LQWSSLKPSDSAVYFCARHDVGYCTDRITCAKWPEYFQHW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQ KVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAG VPDRFSGSKSGTSASLAISGRSEDEADYYCASWDYTLGSW VFGGGTKLTVLGGKPIP NPLLGLDSTNGAATTPAPRPPTPA PTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDILIGTSVVIIL FILLFLLHRWC SNKNAAVMDQESAGNRTANSEDSDEQDP QEVTYTQLNHCVFTQRKITRPSQRPKTPPTDIIVYTELPNAES RSKVVSCP
9 6	抗HER2 -CD8ヒ ンジ-LI R1 TM -KLRG 1 iCA R	MALPVTALLLPLALLLHAARPKYLLPTAAAGLLLLAAQPAM AQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQ MPGKGLEYMGLIYPGSDTKYSPSFQGQVTISVDKSVSTAY LQWSSLKPSDSAVYFCARHDVGYCTDRITCAKWPEYFQHW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQ KVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAG VPDRFSGSKSGTSASLAISGRSEDEADYYCASWDYTLGSW VFGGGTKLTVLGGKPIP NPLLGLDSTNGAATTPAPRPPTPA PTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDVIGILVAVIL LLLLLLLLFLIMTDSVIYSMLELPTATQAQNDYGPQQKSSSS RPSCSCLGSG
9 7	抗HER2 -CD8ヒ ンジ-KL RG1 T M- KL RG1 i CAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPKYLLPTAAAGLLLLAAQPAM AQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWVRQ MPGKGLEYMGLIYPGSDTKYSPSFQGQVTISVDKSVSTAY LQWSSLKPSDSAVYFCARHDVGYCTDRITCAKWPEYFQHW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQ KVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDHTNRPAG VPDRFSGSKSGTSASLAISGRSEDEADYYCASWDYTLGSW VFGGGTKLTVLGGKPIP NPLLGLDSTNGAATTPAPRPPTPA PTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDV AIALGLLT AVLLSVLLYQWIMTDSVIYSMLELPTATQAQNDYGPQQKSS SSRPSCSCLGSG

10

20

30

40

50

98	抗HER2- CD8ヒンジ -LAIR1 TM-LAIR1 iCAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPKYLLPTAAAGLLLLAAQP AMAQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAW VRQMPGKGLEYMGLIYPGSDTKYSPSFQGQVTISVDKSV STAYLQWSSLKPSDSA VYFCARHDVGYCTDRTCAKWPEY FQHWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSV SAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIY DHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGRSEDEADYYCA SWDYTL SGWVFGGGTKLTVLGGKPIP NPLLGLDSTNGAA TTTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD FACDILIGVSVVFLFCLLLLVLFLCHRQNIKQGP PRSKDE EQKPQRPDLAVDVLERTADKATVNGLPEKDRETDTSAL AAGSSQEVTYAQLDHWALTQRTARAVSPQSTKMAESIT YAAVARH	10
99	抗HER2- CD8ヒンジ -LIR2 TM-LIR2 iCAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPKYLLPTAAAGLLLLAAQP AMAQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAW VRQMPGKGLEYMGLIYPGSDTKYSPSFQGQVTISVDKSV STAYLQWSSLKPSDSA VYFCARHDVGYCTDRTCAKWPEY FQHWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSV SAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIY DHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGRSEDEADYYCA SWDYTL SGWVFGGGTKLTVLGGKPIP NPLLGLDSTNGAA TTTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD FACDVIGILVAVLLLLLLLLLFLILRHRRQGHWTSTQRK ADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAV KDTQPEDGVEMDTRAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRRKAT EPPSQEREPPEPSIYATLAIH	20
100	抗HER2- CD8ヒンジ -LIR3 TM-LIR3 iCAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPKYLLPTAAAGLLLLAAQP AMAQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAW VRQMPGKGLEYMGLIYPGSDTKYSPSFQGQVTISVDKSV STAYLQWSSLKPSDSA VYFCARHDVGYCTDRTCAKWPEY FQHWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSV SAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIY DHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGRSEDEADYYCA SWDYTL SGWVFGGGTKLTVLGGKPIP NPLLGLDSTNGAA TTTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD FACDVLIGVSVAFVLLLFLLFLRRQRHSHKRTSDQRK TDFQRPAGAAETEPKDRGLLRSSPAADVQEENLYAAVK DTQSEDRVELDSQSPHDEDPQAVTYAPVKHSSPRREMASP PSSLSGEFLDTKDRQVEEDRQMDTEAAASEASQDVTYAQ LHSLTLRRKATEPPSQEGEPPEPSIYATLAIH	30

40

50

101	抗HER2- CD8ヒンジ -LIR5 TM-LIR 5 iCAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPKYLLPTAAAGLLLLAAQP AMAQVQLVQSGAEVKKPAGESLKISCKGSGYSFTSYWIAW VRQMPGKGLEYMGLIYPGSDTKYSPSFQGQVTISVDKSV STAYLQWSSLKPSDSA VYFCARHDVGYCTDRTCAKWPEY FQHWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSV SAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIY DHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGFRSEDEADYYCA SWDYTLSGWVFGGGTKLTVLGGKPIPPLLGLDSTNGAA TTTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD FACDVLIGVLVVSILLLSLLFLLQHWQRQKHRTLAQRQ ADFQRPPGAAEPEPKDGGLQRRSSPAADVQGENFCAAVK NTQPEDGVEMDTRQSPHDEDPQAVTYAKVKHSRPREM ASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTY AQLHSFTLRQKATEPPPSQEGASPAEPSVYATLAIH	10
102	抗HER2- CD8ヒンジ -SINGLE C-2 TM -SINGLE C-2 iC AR	MALPVTALLLPLALLLHAARPKYLLPTAAAGLLLLAAQP AMAQVQLVQSGAEVKKPAGESLKISCKGSGYSFTSYWIAW VRQMPGKGLEYMGLIYPGSDTKYSPSFQGQVTISVDKSV STAYLQWSSLKPSDSA VYFCARHDVGYCTDRTCAKWPEY FQHWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSV SAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIY DHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGFRSEDEADYYCA SWDYTLSGWVFGGGTKLTVLGGKPIPPLLGLDSTNGAA TTTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD FACDVAVGLGSCAILILAICGLKLQRRWKRTQSQQGLQE NSSGQSFVRNKKVRRAPLSEGPLSLGCYNPMMEDGISYT TLRFPEMNIPRTGDAESSEMQRPPDCDDTVTYSALHKRQ VGDYENVIPDFPEDEGIHYSELIQFGVGERPQAQENVYVILKH	20
103	抗HER2- CD8ヒンジ -SINGLE C-10 T M-SIG LEC-10 iCAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPKYLLPTAAAGLLLLAAQP AMAQVQLVQSGAEVKKPAGESLKISCKGSGYSFTSYWIAW VRQMPGKGLEYMGLIYPGSDTKYSPSFQGQVTISVDKSV STAYLQWSSLKPSDSA VYFCARHDVGYCTDRTCAKWPEY FQHWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSV SAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIY DHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAISGFRSEDEADYYCA SWDYTLSGWVFGGGTKLTVLGGKPIPPLLGLDSTNGAA TTTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD FACDGAFLGIGITALLFLCLALIMKILPKRRTQTETPRPRFS RHSTILDYINVVPTAGPLAQKRNQKATPNSPRTPPLPGAPS PESKKNQKKQYQLPSFPEPKSSTQAPESQESQEELHYATL NFPGVRPRPEARMPKGTQADYAEVKFQ	30

40

50

59	抗CD20- CD28/C D3ζ aC AR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVK VSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGFITPTTGYP EYNQKFKDRVTMTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR RKVGKGVYYALDYWGQGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASGNIHNYLAWYQQK GKVPKLLIYNTKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLPED VATYYCQHFWSPPWTFGGGTKVEIKEQKLISEEDLNGAAT TTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA CDFWVWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLHSD YMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADA PAYKQGQNLNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPENGGKP RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH LYQGLSTATKDTYDALHMQLPPR
----	----------------------------------	---

10

【0375】

T細胞の形質導入

1日目に、 1×10^6 個の精製CD4+/CD8+ T細胞を解凍し、 3×10^6 のDyna beadsで刺激した後、 $0.2 \mu\text{g}/\text{mL}$ のIL-2を含む1mLのOpti-
mizer CTS T細胞増殖培地(Gibco)で培養する。T細胞には2日目に、抗CD20活性化CAR(aCAR)または抗HER2抑制性CAR(iCAR)の構成的発
現をコードするレンチウイルス(それぞれ100K、GoStix(Tekara)によ
って定量化)によって単独形質導入または同時形質導入する。

20

【0376】

3日目にDyna beadsを磁石で取り除く。T細胞を計数し、継代する(0.5×10^6 細胞/mL)。これらの細胞の一定分量をPE結合抗Myc抗体及びBV421結
合抗V5抗体(それぞれaCAR及びiCARに対応)で染色し、LXCytoFlex
フローサイトメトリー機を使用してそれらの導入遺伝子発現を定量する。その後の増殖
の間、細胞を2日ごとに継代する(0.5×10^6 個の細胞/mL)。

30

【0377】

T細胞共培養アッセイ

8日目に、T細胞を計数し、共培養アッセイのために96ウェルプレートに分配する。
Raji細胞の2つの集団: CD20+を内因性n発現する親系統、及び外因性HER
過剰発現するRaji系統(CD20+HER2+)を調べる。各ウェルは、細胞追跡バ
イオレット染料(Invitrogen)で染色した 5×10^4 個のRaji標的細胞及
び 5×10^4 個のaCAR発現T細胞を含有した。共培養物を18時間インキュベートす
る(37°C、5%CO₂)。

【0378】

9日目に、共培養上清を回収し、培地中のサイトカインを、ヒト磁気Luminexア
ッセイ(R&Dsystems)及びMAGPIXアナライザー(Millipore
Sigma)を使用して測定する。

40

【0379】

結果

それぞれが異なる抗原を結合するiCAR及びaCARを発現するT細胞におけるT細胞
活性化を減らすまたは阻害するiCARの能力を評価する。

【0380】

KIR2DL1、KLRG1、LAIR、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、またはSIGLEC-10に由来する抑制性細胞内シグナル伝達ドメインを有す
る抗HER2 iCARは、HER2及びCD20を発現するRaji細胞との共培養の

50

後、抗CD20 aCAR (aCD20 - 28z) によって誘導されるT細胞サイトカインの産生を抑制する。Raji細胞の抗CD20 aCAR T細胞との共培養はTNF- α 、IFN- γ 、及びIL-2の産生を誘導した。しかしながら、抗CD20 aCARとKIR2DL1、KLRG1、LAIR、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、またはSIGLEC-10に由来する抑制性細胞内シグナル伝達ドメインを有する抗HER2 iCARとの双方を発現しているT細胞は、Raji標的細胞との共培養の後、TNF- α 、IFN- γ 、及びIL-2の産生を有意に減少させた。したがって、標的細胞上の同族リガンドへのiCARの結合は、aCARが誘導したサイトカイン産生を首尾よく減少させる。

【0381】

KIR2DL1、KLRG1、LAIR、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、またはSIGLEC-10に由来する抑制性細胞内シグナル伝達ドメインを有する抗HER2 iCARは、レンチウイルスで形質導入されたCD4+及びCD8+T細胞にてその後、濃縮することなく高レベルで発現される。iCAR及びaCARの高レベルの同時発現は同時形質導入の後、観察される。加えて、KIR2DL1、KLRG1、LAIR、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、またはSIGLEC-10に由来する抑制性細胞内シグナル伝達ドメインを有する抗HER2 iCARはiCAR及びaCARが異なる細胞表面リガンド(それぞれHER2及びCD20)を標的とする場合、T細胞活性化応答(サイトカインTNF- α 、IFN- γ 、及びIL-2の産生)を抑制する。

【0382】

実施例3：KIR2DL1、KLRG1、LAIR、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、またはSIGLEC-10のシグナル伝達ドメインを持つ抑制性キメラ受容体はNK細胞の活性化を低下させる

方法及び材料

NK細胞の形質導入及び増殖

上記の実施例2に記載されているようにKIR2DL1、KLRG1、LAIR、LIR2、LIR3、LIR5、SIGLEC-2、またはSIGLEC-10の細胞内シグナル伝達ドメインを持つ抑制性キメラ受容体を合成する。

【0383】

マイトマイシンCで処理したK562フィーダー細胞でNK細胞を10日間増殖させ、続いてaCAR及びiCAR構築物用の各レンチウイルス 7.5×10^5 pgによって形質導入する。評価される構築物の配列は上記の表11に示されている。4日後、選択のためにピューロマイシンを細胞に添加する。

【0384】

NK細胞の細胞傷害性アッセイ

さらに3日後、遺伝子操作されたNK細胞と標的細胞：親Raji細胞(WT)またはHER2抗原を過剰発現するように操作されたRaji細胞を共培養することによって細胞障害性アッセイを実施する。(1)25,000個のNK細胞と50,000個のRaji細胞に対する比率で3つ組にて別々に各標的細胞型と共に、操作されたNK細胞を培養する、または(2)指定された型の25,000個のNK細胞と共に1:1:1の比率で共培養される25,000個のRaji HER2のみ及び25,000個の二重抗原HER2+Raji細胞の混合物として操作されたNK細胞を培養する(二重抗原標的は異なる膜色素で染色され、フローサイトメトリーでそれらを区別することができる)。一晚培養した後、細胞を生存率色素で染色し、フローサイトメトリーでカウントする。標的細胞の減少は $100\% \times (1 - \text{標的数} / \text{標的数}(NV))$ として定量化される。

【0385】

結果

それぞれが異なる抗原を結合するiCAR及びaCARを発現するNK細胞におけるNK細胞活性化を減らすまたは阻害するiCARの能力を評価する。

10

20

30

40

50

【0386】

K I R 2 D L 1、K L R G 1、L A I R、L I R 2、L I R 3、L I R 5、S I G L E C - 2、またはS I G L E C - 1 0に由来する抑制性細胞内シグナル伝達ドメインを有する抗H E R 2 i C A Rは、H E R 2及びC D 2 0を発現するR a j i細胞との共培養の後、抗C D 2 0 a C A R (a C D 2 0 - 2 8 z)のNK細胞媒介性細胞障害性を抑制する。R a j i標的細胞と抗C D 2 0 a C A R NK細胞の共培養は親標的細胞の細胞障害性を誘導した。しかしながら、抗C D 2 0 a C A RとK I R 2 D L 1、K L R G 1、L A I R、L I R 2、L I R 3、L I R 5、S I G L E C - 2、またはS I G L E C - 1 0に由来する抑制性細胞内シグナル伝達ドメインを有する抗H E R 2 i C A Rとの双方を発現しているNK細胞はR a j i標的細胞との共培養の後、細胞障害性を低下させた。したがって、標的細胞上の同族リガンドへのi C A Rの結合は、a C A Rが誘導した細胞障害性を首尾よく低下させる。

10

【0387】

K I R 2 D L 1、K L R G 1、L A I R、L I R 2、L I R 3、L I R 5、S I G L E C - 2、またはS I G L E C - 1 0に由来する抑制性細胞内シグナル伝達ドメインを有する抗H E R 2 i C A Rは、レンチウイルスで形質導入されたNK細胞にてその後、濃縮することなく高レベルで発現される。i C A R及びa C A Rの高レベルの同時発現は同時形質導入の後、観察される。加えて、K I R 2 D L 1、K L R G 1、L A I R、L I R 2、L I R 3、L I R 5、S I G L E C - 2、またはS I G L E C - 1 0に由来する抑制性細胞内シグナル伝達ドメインを有する抗H E R 2 i C A Rはi C A R及びa C A Rが異なる細胞表面リガンド(それぞれH E R 2及びC D 2 0)を標的とする場合、NK細胞活性(NK細胞媒介性細胞障害性)を抑制する。

20

【0388】

実施例4：NK細胞活性化の低下における種々の抑制性キメラ受容体の評価

方法及び材料

個々のi C A R及びa C A Rの構築物をレンチウイルス粒子にパッケージし、500 U / m LのI L - 2及び20 n g / u LのI L - 1 5と共にK 5 6 2フィーダー細胞で10日間増殖させた後の初代NK細胞に形質導入するために使用した。ウイルスの量はp 2 4力価(形質導入あたり750,000 p g)によって設定された。i C A R構築物はp u r o Rカセットを含有したので、形質導入後4~7日目にピューロマイシンをNK細胞培養物に添加し、その時点で発現をフローサイトメトリーで評価し、12,500個のNK細胞と合計50,000個の腫瘍細胞による殺傷アッセイのためにNK細胞をマイクロウェルプレートに移した。(1) a C A R抗原F L T 3のみを発現している腫瘍細胞と共に、(2) a C A R抗原F L T 3及びi C A R抗原E M C Nの双方を発現している腫瘍細胞と共に、または(3)混合した双方の腫瘍細胞型と共にNK細胞を培養した。16~18時間後、培養物をフローサイトメトリーによって分析し、各型の残りの生きている標的細胞を数えた。所与のNK細胞型のa C A Rが介在する殺傷(基本差分)は、先ず総殺傷(標的のみの条件と比較した標的の減少)を計算し、次に対照(i C A Rのみ)NK細胞による総殺傷を差し引くことによって定量した。i C A Rが介在する保護はi C A R抗原の有無にかかわらず、標的間のa C A Rが介在する殺傷の変化として定量した。殺傷アッセイの上清をT N F 分泌について分析し、a C A R及びi C A Rの実績測定基準を殺傷と類似して計算した。発現分析については、i C A Rをa V 5 - A l e x a f l u o r 6 4 7で染色し、a C A Rをa F L A G - B V - 4 2 1で染色した。細胞を、i C A R + / - 及びa C A R + / - の発現状態に基づいて4つの象限に割り当て、「% a C A R + i C A R +」及び「% a C A R + i C A R - ではない」を評価できるようにした(a C A R + i C A R - はゲートから外し、潜在的に有毒なC A R - NK細胞は回避すべきである)。発現レベルをさらに分析するために、a C A R + i C A R + 亜集団のa C A R及びi C A Rの蛍光強度の中央値(M F I)を測定し、それぞれの蛍光チャンネルにて形質導入されていないNK細胞のM F Iによって基準化した。各i C A Rについては、1~3回の生物学的複製を実行した(同じマーカー型の異なる点として示される)。XとYの誤差線(該当す

30

40

50

る場合) : + / - 平均値の標準誤差。

【0389】

評価された抗EMCN iCAR構築物は細胞内ドメインに関して表12に示される形式を使用した。評価された抗FLT3 aCAR構築物も表12に示す。

【0390】

【表12】

表12-抑制性キメラ受容体及び腫瘍を標的とするキメラ受容体の配列		
配列番号	名称	配列
104	抗EMCN-CD8ヒンジ-KIR2DL1-TM-KIR2DL1 iCAR (CD8 SS太字、EMCN scFv斜体、V5+N GAAリンカー太字斜体)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLKESGPGLVQPSQTL <i>SLTCTVSGFSLSRyDMHWVRQPPGQGLEWMGVIWGNNGNTH</i> <i>YHSALKSRLSISRDTSKSQVFLKMNSLQTEDTAIYFCTLR</i> KDW <i>GPGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPPSLSVALG</i> <i>QSVSISCKSSQSLVASENTYLNWLLQSPGRSPKRLIYQVSKLD</i> <i>SGVPDRFSGSGSEKDFTLKISRVEAEDLGVIYCLQGIHLPWTF</i> GGG <i>TKLELKGKPIP</i> NLLGLDSTNGAAT TPAPRPPTPAPT ALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDILIGTSVVIILF ILLFFLLHRWCSNKKNAAVMDQESAGNRTANSEDSDEQD PQEVTYTQLNHCVFTQRKITRPSQRPKTPPTDIIVYTELPN AESRSKVVSCP
105	抗EMCN-CD8ヒンジ-LIR1-TM-KLRG1 iCAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLKESGPGLVQPSQTL LTCTVSGFSLSRyDMHWVRQPPGQGLEWMGVIWGNNGNT HYHSALKSRLSISRDTSKSQVFLKMNSLQTEDTAIYFCTLR IKDWGPGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPPS LSVALGQSVSISCKSSQSLVASENTYLNWLLQSPGRSPK RLIYQVSKLD <i>SGVPDRFSGSGSEKDFTLKISRVEAEDLGVI</i> <i>YCLQGIHLPWTFGGG</i> TKLELKGKPIP NLLGLDSTNGAAT TTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF ACDVIGILVAVILLLLLLLLLLFLIMTDSVIYSMLLELPTATQA QNDYGPQKSSSRPSCSCLGSG
106	抗EMCN-CD8ヒンジ-KLRG1-TM-KLRG1 iCAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLKESGPGLVQPSQTL LTCTVSGFSLSRyDMHWVRQPPGQGLEWMGVIWGNNGNT HYHSALKSRLSISRDTSKSQVFLKMNSLQTEDTAIYFCTLR IKDWGPGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPPS LSVALGQSVSISCKSSQSLVASENTYLNWLLQSPGRSPK RLIYQVSKLD <i>SGVPDRFSGSGSEKDFTLKISRVEAEDLGVI</i> <i>YCLQGIHLPWTFGGG</i> TKLELKGKPIP NLLGLDSTNGAAT TTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF ACDVAIALGLLTAVLLSVLLYQWIMTDSVIYSMLLELPTAT QAQNDYGPQKSSSRPSCSCLGSG

10

20

30

40

50

107	抗EMCN- CD8ヒンジ -LAIR1 TM-LAIR1 iCAR	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLKESGPGLVQPSQTLS LTCTVSGFSLSRYSRDMHWVRQPPGQGLEWMGVIWNGNT HYHSALKSRLSISRDTSSQVFLKMNSLQTEDTAIFYFCTLR IKDWGPGTMVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSDIVMTQTTPS LSVALGQSVSISCKSSQSLVASENTYLNWLLQSPGRSPK RLIYQVSKLDSGVPDRFSGSGSEKDFTLKISRVEAEDLGVI YCLQGIHLPWTFGGGKLELKGKPIPPLLGLDSTNGAAT TTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF ACDILIGVSVVFLFCLLLVLFCLHRQNQIKQPPRSKDEE QKPQQRPDLAVDVLERADKATVNGLEPKDRETDTLSALA AGSSQEVTYAQLDHWALTQRTARAVSPQSTKPMASITY AAVARH
108	抗EMCN- CD8ヒンジ -LIR2 TM-LIR2 iCAR	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLKESGPGLVQPSQTLS LTCTVSGFSLSRYSRDMHWVRQPPGQGLEWMGVIWNGNT HYHSALKSRLSISRDTSSQVFLKMNSLQTEDTAIFYFCTLR IKDWGPGTMVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSDIVMTQTTPS LSVALGQSVSISCKSSQSLVASENTYLNWLLQSPGRSPK RLIYQVSKLDSGVPDRFSGSGSEKDFTLKISRVEAEDLGVI YCLQGIHLPWTFGGGKLELKGKPIPPLLGLDSTNGAAT TTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF ACDVIGILVAVVLLLLLLLLLFLILRHRQKHWSTQRK ADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAV KDTQPEDGVEMDTRAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRRKAT EPPPSQEREPPAEPsiyatLAIH
109	抗EMCN- CD8ヒンジ -LIR3 TM-LIR3 iCAR	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLKESGPGLVQPSQTLS LTCTVSGFSLSRYSRDMHWVRQPPGQGLEWMGVIWNGNT HYHSALKSRLSISRDTSSQVFLKMNSLQTEDTAIFYFCTLR IKDWGPGTMVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSDIVMTQTTPS LSVALGQSVSISCKSSQSLVASENTYLNWLLQSPGRSPK RLIYQVSKLDSGVPDRFSGSGSEKDFTLKISRVEAEDLGVI YCLQGIHLPWTFGGGKLELKGKPIPPLLGLDSTNGAAT TTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF ACDVLIGVSVAFVLLLFLLLFLLLRRQRHSHKRTSDQRKT DFQRPAGAAETEPKDRGLLRSSPAADVQEENLYAAVKD TQSEDRVELDSQSPHDEDPQAVTYAPVKHSSPREMASPP SSLSGEFLDKDRQVEEDRQMDTEAAASEASQDVTYAQL HSLTLRRKATEPPPSQEGEPPAEPsiyatLAIH

10

20

30

40

50

1 1 0	抗EMCN－ CD8ヒンジ －LIR5 TM－LIR 5 iCAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLKESGPGLVQPSQTL TCTVSGFSLRYDMHWVRQPPGQGLEWMGVIWGNNGNTHY HSALKSRLSISRDTSKSQVFLKMNSLQTEDTAIFYCTLRIKD WGPGTMVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSDIVMTQTTPPSLSVA LGQSVSISCKSSQSLVASDENTYLNWLLQSPGRSPKRLIYQV SKLDSGVPDRFSGSGSEKDFTLKISRVEAEDLGVYYCLQGI HLPWTFGGGKLELKGKPIPNNLLGLDSTNGAATTPAPRP PTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDVLIGV LVVSILLLSLLLFLLLQHWRRQKHRTLAQRQADFQRPPGAA EPEPKDGGGLQRRSSPAADVQGENFCAAVKNTQPEDGVEMD TRQSPHDEDPAVITYAKVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDT KDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVITYAQLHSFTLRQKAT EPPSQEGASPAEPSVYATLAIH	10
1 1 1	抗EMCN－ CD8ヒンジ －SINGLE C－2 TM －SINGLE C－2 iC AR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLKESGPGLVQPSQTL TCTVSGFSLRYDMHWVRQPPGQGLEWMGVIWGNNGNTHY HSALKSRLSISRDTSKSQVFLKMNSLQTEDTAIFYCTLRIKD WGPGTMVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSDIVMTQTTPPSLSVA LGQSVSISCKSSQSLVASDENTYLNWLLQSPGRSPKRLIYQV SKLDSGVPDRFSGSGSEKDFTLKISRVEAEDLGVYYCLQGI HLPWTFGGGKLELKGKPIPNNLLGLDSTNGAATTPAPRP PTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDVAVG LGSCLAAILLAICGLKLQRRWKRTQSQQGLQENSSQSFFVR NKKVRRAPLSEGPLSLGHCYNPMMEDGISYTTLRFPEMNIPR TGDAESSEMQRPPPCDDTVTYSALHKRQVGDYENVIPDFP EDEGIHYSELIQFGVGERPQAQENVVYVILKH	20
1 1 2	抗EMCN－ CD8ヒンジ －SINGLE C－10 T M－S I G L E C－1 0 iCAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLKESGPGLVQPSQTL TCTVSGFSLRYDMHWVRQPPGQGLEWMGVIWGNNGNTHY HSALKSRLSISRDTSKSQVFLKMNSLQTEDTAIFYCTLRIKD WGPGTMVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSDIVMTQTTPPSLSVA LGQSVSISCKSSQSLVASDENTYLNWLLQSPGRSPKRLIYQV SKLDSGVPDRFSGSGSEKDFTLKISRVEAEDLGVYYCLQGI HLPWTFGGGKLELKGKPIPNNLLGLDSTNGAATTPAPRP PTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDGAFL GIGITALFLCLALIIMKILPKRRTQTETPRPRFSRHSTILDYI NVVPTAGPLAQKRNQKATPNSPRTPLPPGAPSPESKKNQKK QYQLPSFPEPKSSTQAPESQESQEELHYATLNFGVVRPRPEA RMPKGTQADYAEVKFQ	30

40

50

1 1 3	(G 4 S) 3 リンカーを伴 う抗EMCN s c F vのヌ クレオチド配 列	CAGGTGCAGCTGAAAAGAGTCTGGACCTGGACTGGTGCA GCCCAGCCAAACACTGAGCCTGACCTGTACCGTGTCCG GCTTCAGCCTGAGCAGATACGACATGCACTGGGTCCGA CAGCCTCCAGGACAAGGCTTGGAAATGGATGGGCGTGAT CTGGGGCAACGGCAACACACTATCACAGCGCCCTGA AGTCCC GGCTGAGCATCAGCAGAGATAACAGCAAGAG CCAGGTGTTCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGAGG ACACCGCCATCTATTTCTGCACCCTGCGGATCAAGGATT GGGGCCCTGGCACAATGGTCACCGTTTCTAGCGGAGGC GGAGGATCTGGTGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGTT CTGATATCGTGATGACCCAGACACCTCCTAGCCTGTCTG TGGCTCTGGGCCAGTCTGTGTCCATCAGCTGCAAGAGC AGCCAGAGCCTGGTGGCCTCCGACGAGAACACCTACCT GAATTGGCTGCTGCAGAGCCCCGGCAGAAGCCCCAAGA GACTGATCTACCAGGTGTCCAAGCTGGACAGCGGCGTG CCCGATAGATTTTCTGGCAGCGGCAGCGAGAAGGACTT CACCTGAAGATCTCCAGAGTGGAAGCCGAGGACCTGG GCGTGTACTACTGTCTGCAAGGCATCCATCTGCCTTGG CCTTTGGAGGCGGCACAAAGCTGGAAGTGGAACTGAAA	10 20
1 1 4	抗F L T 3の s c F v	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTA YMESSLRSED TAVYYCATFALFGFREQA FDIWGQGT T V T VSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLT TISSLQPEDLATYYCQSYSTPFTFGPGTKV DIK	30
1 1 5	抗F L T 3 - C D 2 8 / C D 3 と a C A R (I g K シグナル配列 は太字、A G G S - F L A Gは斜体)	METDTLLLWVLLLVPGSTGAGGSDYKDDDDKGGSEV QLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWVRQAP GQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCATFALFGFREQA FDIWGQGT T V T V S SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFLT TISSLQPEDLATYYCQSYSTPFTFGPGTKVDI KTTTPAPRPPTPAPTIALQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACDFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL HSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSR SADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	40

116	SS (IgK) - FLA G-抗FLT3-CD28 / CD3ζ aCARのヌクレオチド配列 (Kozakは太字斜体)	<p>GCCGCCACCATGGAAACCGACACACTGCTGCTGTGGGT GCTGCTTCTTTGGGTGCCCGGATCTACAGGTGCCGGCG GAAGCGACTACAAGGACGACGATGACAAAGGCCGGCAG CGAGGTTCAACTGGTACAAAGCGGAGCCGAGGTAAG AAACCAGGGAGTAGCGTCAAAGTGTCTGCAAAGCCTC AGGCGGCACATTCAGTAGCTATGCTATTTTCATGGGTAC GCCAAGCACCAGGACAGGGGGCTGGAGTGGATGGGCGG GATTATCCCCATCTTCGGTACGGCAAACCTATGCACAAA AGTTCCAGGGACGAGTCACCATCACGGCTGATAAGTCC ACCTCCACCGCCTATATGGAGCTGAGTTCCCTTCGGAG CGAGGATACTGCTGTGTATTATTGTGCCACGTTTCGCACT GTTTCGGTTTTTCGGGAGCAGGCGTTTGATATTTGGGGAC AAGGCACAACGGTCACGGTCAGTTCAGGCGGAGGGGG ATCAGGGGGTGGGGGGTTCAGGTGGCGGTGGAAGTGAC ATTCAGATGACCCAGAGTCCCTCTTCATTGAGTGCGAG CGTCGGTGATCGGGTTACGATAACCTGTAGGGCCTCCC AAAGTATATCATCATATTTGAACTGGTACCAACAGAAA CCTGGGAAAGCGCCGAAGCTCCTTATCTATGCTGCCAG CTCTTTGCAAAGCGGTGTGCCCTCACGGTTCTCCGGTAG TGGGTCCGGGACCGACTTCACTTTGACCATCAGCAGCC TTCAGCCAGAGGATCTTGCCACTTATTACTGCCAGCAAT CTTATAGCACACCGTTTACATTCGGTCCAGGCACAAAG GTAGACATTAAGACCACCACACCAGCTCCTAGACCTCC AACTCCTGCTCCTACAATCGCCCTGCAGCCACTGAGTCT GAGGCCAGAGGCTTGTAGACCTGCTGCAGGCGGAGCCG TGCATACAAGAGGACTGGATTTGCCTGCGACTTCTGG GTGCTCGTGGTTGTTGGCGGAGTGCTGGCCTGTTACAG CCTGCTGGTTACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTCCG AAGCAAGCGGAGCCGGCTGCTGCACAGCGATTACATGA ACATGACCCCTCGGAGGCCCGGACCTACCAGAAAGCAC TACCAGCCTTACGCTCCTCCTAGAGATTTCCGCCCTAC CGGTCCAGAGTGAAGTTCAGCAGATCCGCCGATGCTCC CGCCTATAAGCAGGGCCAGAACCAGCTGTACAACGAGC TGAACCTGGGGAGAAGAGAAGAGTACGACGTGCTGGA CAAGCGGAGAGGCAGAGATCCTGAAATGGGCGGCAAG CCCAGACGGAAGAATCCTCAAGAGGGCCTGTATAATGA GCTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAG ATCGGAATGAAGGGCGAGCGCAGAAGAGGCAAGGGAC ACGATGGACTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACCAAG GATACCTATGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCTCC AAGATAA</p>
-----	---	--

10

20

30

40

50

【0391】

結果

NK細胞は、活性化キメラ受容体 (aCAR) と、異なる抑制性受容体に由来する種々の抑制性ドメイン形式を有する抑制性キメラ受容体 (iCAR) とを発現するように操作された。NK細胞は、aCARのみによって、または示された種々の抑制性ドメインを有するiCARとの組み合わせによってウイルスで形質導入された。

【0392】

遺伝子操作されたNK細胞をCAR発現について評価した。図3に示すように、aCAR + iCAR + NK細胞 (上のパネル) の間で、抗FLT3 aCARの発現は一般にバ

ックグラウンドの10倍を超え、抗EMCN iCARの発現は一般に100倍を超えた。LIRファミリーの構築物は他の構築物と比べて著しく高い発現を示した。CAR発現集団のプロファイルも評価され(下のパネル)、総集団は5%未満のaCAR+iCAR-細胞を含有し、種々のiCAR形式について割合が変化するaCAR+iCAR+の集団を有し、KLRG1、LIR2、LIR3、LIR5、及びSIGLEC-2の形式はaCAR+iCAR+である細胞を一貫して50%を超えて有することを示した。再び、LIRファミリーのiCARは、他の構築物と比べてaCAR+iCAR+細胞の割合が高いことを特に一般的に示した。

【0393】

次に、標的細胞の抗FLT3 aCARが誘導するNK細胞介在性殺傷及びNK細胞のサイトカイン産生についての抗EMCN iCARによる低減を評価した。低減は、標的SEM細胞のそれぞれについて別々に(「別個」：aCAR抗原FLT3のみのSEM細胞及びaCAR/iCAR抗原FLT3/EMCN同時発現SEM細胞を別々に)、または標的細胞及び非標的細胞の混合集団の背景(「混合」：aCAR抗原FLT3のみのSEM細胞と、aCAR/iCAR抗原FLT3/EMCN同時発現SEM細胞を同じ培養で一緒に)で決定した。図4に示すように、LIR2、LIR3、LIR5、KIR2DL1、LAIR1、及びSIGLEC-2由来の抗EMCN iCAR形式を発現するNK細胞は、殺傷における一貫したaCARが介在する実績(上のパネル)と、双方の殺傷におけるiCARが介在する保護(上のパネル)及びサイトカインの減少(下のパネル)を示し、SIGLEC-10及びKLRG1の構築物は実績でさらに異なる。

【0394】

この結果は、NK細胞がaCARとiCARを同時発現し、iCARリガンドの非存在下でaCARリガンド依存性に標的細胞を上手く殺傷し、サイトカインを上手く生成するように上手く操作されたことを実証しており、種々のiCAR形式はNKが介在する殺傷及びサイトカイン生成をiCARリガンド依存性に上手く低減した。

【0395】

参照による組み込み

本出願に引用された公開文献、特許、特許出願、及び他の文献は全て、あたかも各個別の公開文献、特許、特許出願、または他の文献があらゆる目的のために参照により援用されるように個別に示されるのと同じ範囲まで、あらゆる目的のために、それらの全体において参照により本明細書に援用される。

【0396】

均等物

様々な特定の実施形態が図示及び記載されてきたが、上記明細書は制限的ではない。本開示の趣旨及び範囲(複数可)から逸脱することなく、様々な変更を行うことができることが理解されるであろう。多くの変型は、本明細書の範囲を考慮すれば当業者に明らかとなるであろう。

10

20

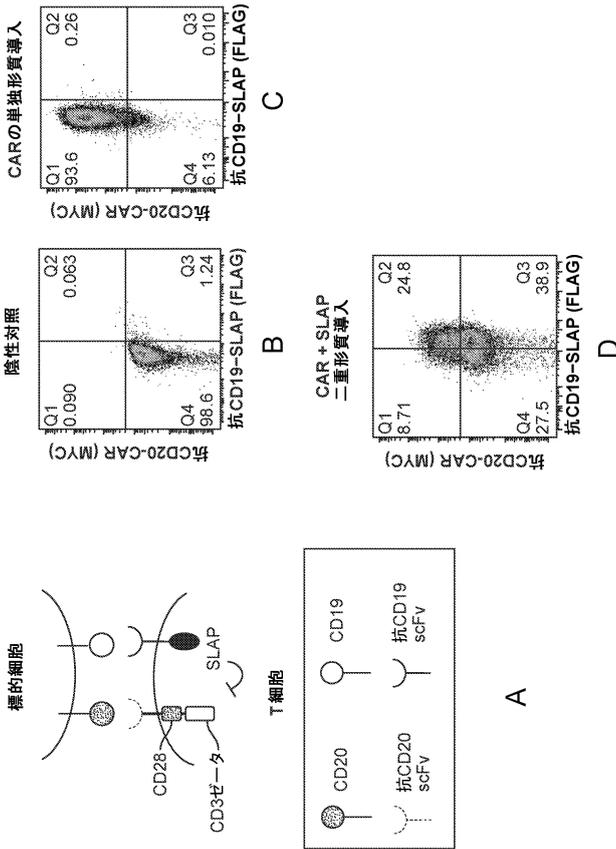
30

40

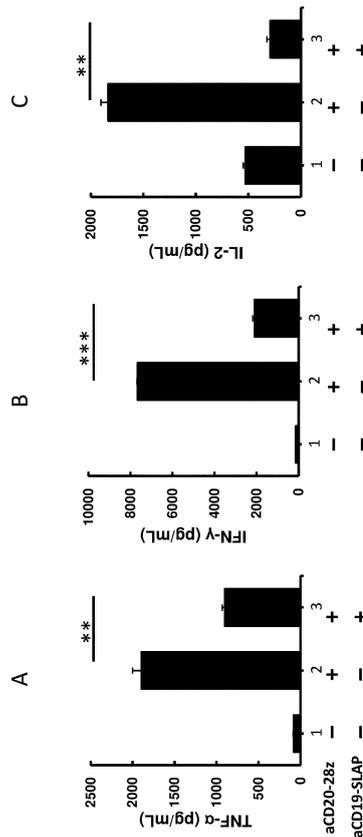
50

【 図 面 】

【 図 1 】



【 図 2 】



10

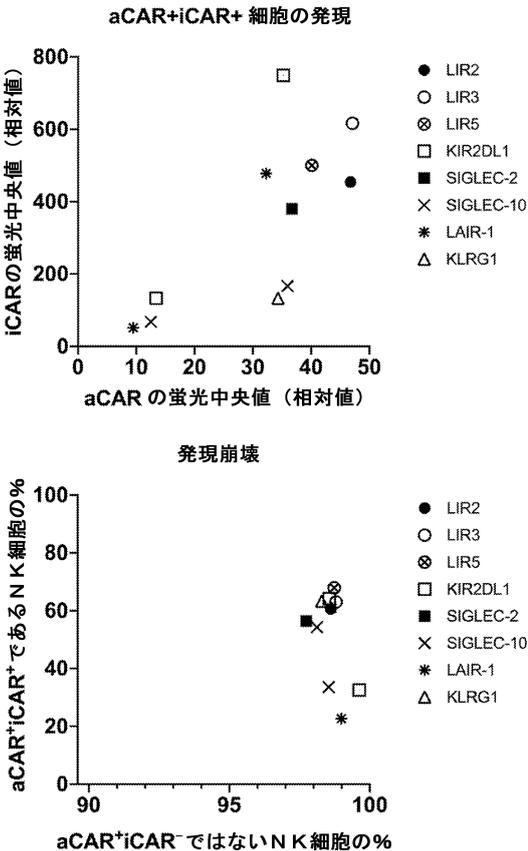
20

30

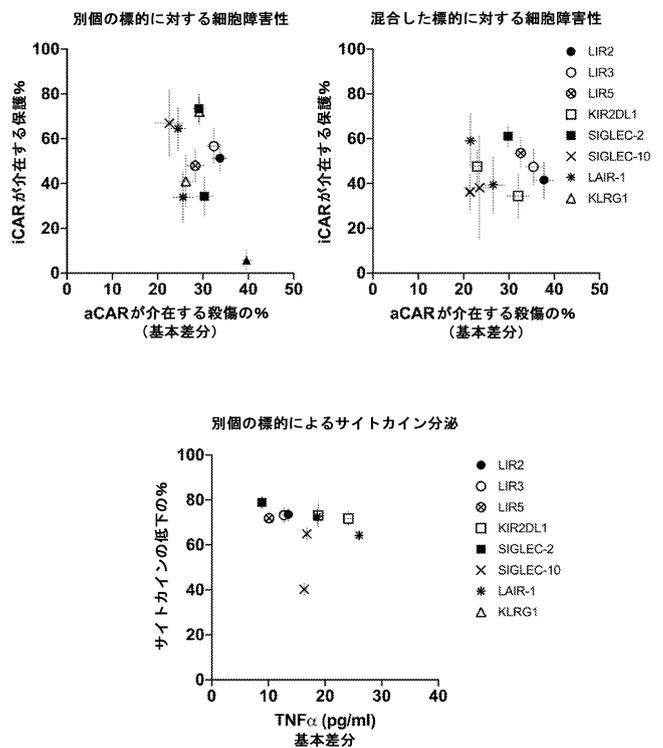
40

50

【 図 3 】



【 図 4 】



50

【 手続補正書 】

【 提出日 】 令和 4 年 10 月 27 日 (2022.10.27)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】 明細書

【 補正対象項目名 】 配列表

【 補正方法 】 追加

【 補正の内容 】

【 配列表 】

2023515471000001.app

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/018847

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - C07K 14/705; C07K 16/30 (2021.01)
CPC - C07K 14/70503; C07K 2317/622; C07K 2319/03; C07K 2319/74 (2021.05)

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
see Search History document

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2020/0016204 A1 (UCL BUSINESS PLC) 16 January 2020 (16.01.2020) entire document	1-3
P, X	WO 2020/065406 A2 (IMPACT-BIO LTD. et al) 02 April 2020 (02.04.2020) entire document	1-3
A	US 2018/0346541 A1 (TRUSTEES OF BOSTON UNIVERSITY) 06 December 2018 (06.12.2018) entire document	1-3
A	WO 2019/068007 A1 (IMPACT-BIO LTD. et al) 04 April 2019 (04.04.2019) entire document	1-3
A	WO 2016/075612 A1 (RINAT NEUROSCIENCE CORP. et al) 19 May 2016 (19.05.2016) entire document	1-3
E	WO 2021/035093 A1 (SENTI BIOSCIENCES, INC. et al) 25 February 2021 (25.02.2021) entire document	1-3

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "D" document cited by the applicant in the international application
 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
 "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
26 May 2021

Date of mailing of the international search report
JUN 22 2021

Name and mailing address of the ISA/US
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450
Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer
Harry Kim

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/018847

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

- 1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
 - b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
- 2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
- 3. Additional comments:
SEQ ID NOs: 4-6 and 60-67 were searched.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2021/018847

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: 10

- 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.: 4-15
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a). 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:

- 1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims. 30
- 2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
- 3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

- 4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee. 40
 - 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.

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 K 35/15 (2015.01)
 A 6 1 K 35/17 (2015.01)
 A 6 1 K 35/76 (2015.01)
 A 6 1 K 38/02 (2006.01)
 A 6 1 K 31/7088(2006.01)
 A 6 1 K 48/00 (2006.01)
 A 6 1 K 47/68 (2017.01)
 A 6 1 K 47/64 (2017.01)
 C 0 7 K 14/725 (2006.01)
 C 0 7 K 14/705 (2006.01)
 C 1 2 N 5/078(2010.01)

F I

A 6 1 K 35/15
 A 6 1 K 35/17
 A 6 1 K 35/76
 A 6 1 K 38/02
 A 6 1 K 31/7088
 A 6 1 K 48/00
 A 6 1 K 47/68
 A 6 1 K 47/64
 C 0 7 K 14/725
 C 0 7 K 14/705
 C 1 2 N 5/078

テーマコード (参考)

4 H 0 4 5

,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,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,
 LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,
 RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,Z
 W

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100188433

弁理士 梅村 幸輔

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100214396

弁理士 塩田 真紀

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ゴードリー ラッセル モリソン

アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州 サウスサンフランシスコ コーポレイト ドライブ
 2 ファースト フロア センティ バイオサイエンシズ インコーポレイテッド内

(72)発明者 グズマン アヤラ マルセラ

アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州 サウスサンフランシスコ コーポレイト ドライブ
 2 ファースト フロア センティ バイオサイエンシズ インコーポレイテッド内

(72)発明者 リー ゲイリー

アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州 サウスサンフランシスコ コーポレイト ドライブ
 2 ファースト フロア センティ バイオサイエンシズ インコーポレイテッド内

(72)発明者 フランケル ニコラス

アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州 サウスサンフランシスコ コーポレイト ドライブ
 2 ファースト フロア センティ バイオサイエンシズ インコーポレイテッド内

F ターム (参考) 4B065 AA94X AB01 AC14 BA02 CA24 CA44

4C076 AA95 CC27 CC41 EE41 EE41N EE59 FF34

